

ПРОЦЕССЫ РАСТВОРЕНИЯ КРАУН-ЗАМЕЩЕННОГО ФТАЛОЦИАНИНАТА МАГНИЯ В ВОДЕ В ПРИСУТСТВИИ БРОМИДОВ АЛКИЛТРИМЕТИЛАММОНИЯ

© 2022 г. Т. Г. Мовчан¹, *, А. Ю. Чернядьев¹, Е. В. Плотникова¹, А. Ю. Цивадзе¹

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
Ленинский просп., 31, Москва, 119071 Россия

*e-mail: movchan_tamara@mail.ru

Поступила в редакцию 07.11.2021 г.

После доработки 22.11.2021 г.

Принята к публикации 27.11.2021 г.

Методами электронной спектроскопии поглощения и люминесцентной спектроскопии проведен анализ процессов растворения окта-краун-замещенного фталоцианината магния ($MgCr_8Pc$) в воде при добавлении бромидов додецил-, тетрадецил- и гексадецилтриметиламмония. В предмицеллярной области концентрации ПАВ доминирует агрегирование $MgCr_8Pc$, индуцируемое ПАВ. Выше критической концентрации мицеллообразования ПАВ $MgCr_8Pc$ полностью дезагрегирует до мономеров, при этом тенденция к его мономеризации возрастает с увеличением длины алкильной цепи в молекуле ПАВ, о чем свидетельствуют результаты измерений электронных спектров поглощения, флуоресценции и кинетики затухания флуоресценции. Увеличение времени жизни флуоресценции $MgCr_8Pc$ по мере компактизации мицелл указывает на снижение степени их гидратации, приводящее к уменьшению полярности среды в микроокружении $MgCr_8Pc$. В растворах бромида гексадецилтриметиламмония $MgCr_8Pc$ обладает интенсивной флуоресценцией как при комнатной температуре, так и после быстрой заморозки до 77 К, что подтверждает сохранение молекул $MgCr_8Pc$ в мицеллах в дезагрегированном состоянии даже при такой низкой температуре. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использования $MgCr_8Pc$ в растворах бромидов алкилтриметиламмония при фотодинамической терапии опухолей совместно с процедурами криолиза.

DOI: 10.31857/S0023291222010098

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, фталоцианины и их производные помимо использования в качестве красителей нашли применение в качестве компонентов солнечных батарей, носителей информации в перезаписываемых CD- и DVD-дисках [1, 2], катализаторов окисления спиртов, тиолов, сульфидов и других химических реакций [2, 3], а также фотосенсибилизаторов (ФС) в фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний [4, 5]. Метод ФДТ основан на способности ФС селективно накапливаться в ткани опухолей и при локальном воздействии облучения определенной длины волны генерировать синглетный кислород или другие агрессивные формы кислорода, что приводит к гибели опухолевых клеток [3–5].

Повышенный интерес к фталоцианинам как претендентам на роль ФС обусловлен их высокой стабильностью, доступностью, способностью к интенсивному (с коэффициентом экстинкции $\epsilon \geq 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) поглощению света в красной области (670–770 нм) спектра, что позволяет акти-

вировать эти соединения излучением, глубоко проникающим в ткани человека [3–5]. Однако склонность фталоцианинов к самоагрегации в воде и других полярных средах является основной проблемой при использовании как в ФДТ, так и в процессах окисления, поскольку их агрегаты фактически не обладают способностью генерировать синглетный кислород, а активный центр фталоцианинатов металлов оказывается недоступным для молекул субстрата каталитического процесса, что приводит к уменьшению каталитической активности материалов на их основе [3–7].

Проблема агрегации фталоцианинов решалась синтетическим путем за счет введения на периферии макроцикла заместителей с различными функциональными группами, препятствующими ассоциации этих молекул в полярных растворителях [6–9], а также путем использования органических растворителей в смеси с водой [3, 10]. Так, наличие в молекулах фталоцианинатов металла сульфо-, карбоксильных, краун-эфирных и других групп позволило достичь более высокой их растворимости, но не привело к полной дезагрегации как в во-

де, так и в физиологических растворах (содержащих ионы калия и натрия) – молекулы этих соединений находились в растворе в виде ассоциатов (преимущественно Н-димеров) [6–9, 11–13]. Согласно работам [9, 12, 13], присутствие ионов калия в водной среде повышает растворимость фталоцианинов с краун-эфирными заместителями, но из-за большего (по сравнению с размером полости краун-эфирного фрагмента) размера этих ионов приводит к катион-индуцированной агрегации с образованием кофациальных димеров (Н-димеров).

Эффективным методом повышения степени дезагрегации металлокомплексов фталоцианинов оказалась адсорбция и солубилизация (в мицеллах) поверхностно-активных веществ (ПАВ) или дифильных блок-сополимеров. Эти системы способны обеспечить надежную изоляцию соседних хромофоров и доставить молекулу-фотосенсибилизатор к клетке – объекту атаки синглетным кислородом [11–14]. Мицеллярные растворы ПАВ благоприятствуют протеканию химических реакций в локальном микрообъеме.

Эффективное управление агрегационным состоянием и, как следствие, фотокаталитической активностью металлокомплексов фталоцианинов, осуществляется и с помощью их иммобилизации в полимерные матрицы или адсорбции на поверхности твердых минеральных носителей, препятствующих агрегации макроциклов. В роли таких носителей могут использоваться нанодисперсные порошки металлов и их оксидов, а также различные дисперсные природные минералы, в том числе алюмосиликаты [3]. С помощью ПАВ можно регулировать состояние поверхности твердых минеральных носителей для обеспечения адсорбции на ней металлокомплексов фталоцианинов различной природы.

Среди функционально замещенных фталоцианинов одним из перспективных ФС является окта[(4'-бензо-15-краун-5)окси]фталоцианинат магния ($Mgcr_8Pc$), поскольку он обладает интенсивным поглощением [11–15] в фототерапевтическом окне и способностью локализоваться как в ядрах, так и в цитоплазме опухолевых клеток согласно данным флуоресцентной микроскопии и результатам изучения цитотоксичности по отношению к опухолевым клеткам HeLa [14].

Ранее эффект дезагрегации $Mgcr_8Pc$ в водном растворе был достигнут в присутствии мицелл додецилсульфата (ДСН), додецилбензолсульфоната и дезоксихолата натрия [11–13]. Результаты исследований электронных спектров поглощения (ЭСП) и спектров ЯМР привели авторов работ [11, 12] к выводу о предпочтительном использовании анионных ПАВ (АПАВ) для достижения дезагрегации $Mgcr_8Pc$ в воде с помощью ПАВ. Выбор иона натрия в качестве противоиона был связан с близостью его геометрических параметров и раз-

меров полости бензо-15-краун-5-эфира, позволяющей иону находиться внутри нее. В качестве объяснения механизма дезагрегации молекул $Mgcr_8Pc$ в присутствии АПАВ предложена [11] гипотеза о синергизме взаимодействий, таких как комплексообразование ионов натрия с краун-эфирными фрагментами в его молекуле (по типу гость–хозяин), электростатическое взаимодействие полярной головной группы ДСН с комплексно-связанным ионом натрия и гидрофобные взаимодействия ароматических протонов с протонами метиленовых групп углеводородной цепи ДСН.

Однако позднее разрушение агрегатов $Mgcr_8Pc$ в воде было достигнуто с помощью катионных ПАВ (КПАВ): бромидов алкилтрифенилфосфония ($C_nTФФБ$ с $n = 8, 12, 14, 16$) [15–17], которые широко применяются в качестве антимикробных препаратов, переносчиков лекарственных средств и генного материала [18]. Проведены исследования по солубилизации и мономеризации бромидов тетрадецил- и гексадецилтриметиламмония в насыщенных водных растворах $Mgcr_8Pc$ [19].

Данная работа продолжает начатые нами исследования по дезагрегации $Mgcr_8Pc$ в воде с помощью КПАВ, различающихся структурой молекул, и посвящена анализу методами электронной спектроскопии поглощения и флуоресцентной спектроскопии влияния длины алкильной цепи в гомологическом ряду бромидов алкилтриметиламмония ($C_nТАБ$ с $n = 10, 12, 14$ и 16) на растворимость $Mgcr_8Pc$ в воде до мономеров, а также устойчивости мицелл $C_{16}ТАБ$ при низкой температуре (77 К).

Следует отметить, что эти исследования представляют интерес не только с точки зрения применения $Mgcr_8Pc$ в ФДТ, но и для развития представлений о механизме модифицирования органических и неорганических (в частности, металлооксидных) наноструктур макроциклическими соединениями, обладающими выраженными функциональными свойствами (химическими, электрофизическими, оптическими и др.).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы

Синтез и очистка окта[(4'-бензо-15-краун-5)окси]фталоцианината магния, (рис. 1), проведенные в Институте физиологически активных веществ РАН совместно с Институтом физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, описаны в работе [11]. Препараты ПАВ гомологического ряда $C_nТАБ$: $C_{10}ТАБ$ (I), $C_{12}ТАБ$ (II), $C_{14}ТАБ$ (III) и $C_{16}ТАБ$ (IV) – бромиды додецил-, тетрадецил- и гексадецилтриметиламмония соответственно (Acros Organics, содержание

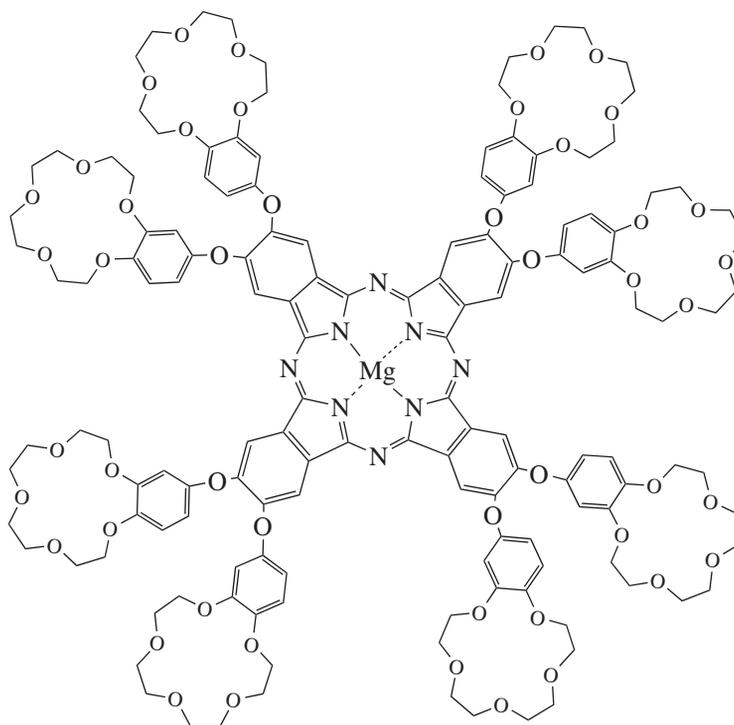


Рис. 1. Структурная формула окта[(4'-бензо-15-краун-5)окси]фталоцианината магния.

основного вещества 99.8%) дополнительной очистке не подвергали.

Растворы ПАВ с концентрацией в интервале $c_1 = 0.0004\text{--}0.7$ М готовили на тридистилляте воды со значением электропроводности не больше $4 \times 10^{-6} \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-1}$, а также в фосфатном буфере с рН 7.4, используемом в биологических исследованиях. Содержание Mgcr_8Pc в растворах ПАВ находилось в интервале значений 0.1–15 мкМ. Все измерения проводили при комнатной температуре (27°C).

Спектрофотометрические измерения проводили с помощью сканирующего спектрофотометра UV-2800 (UNICO, США) методом, аналогичным использованному нами ранее [14, 16, 17]. Растворы Mgcr_8Pc помещали в кварцевые кюветы с длиной оптического пути $l = 1$ см. При анализе спектров поглощения Mgcr_8Pc в различных средах основное внимание уделено длинноволновой области (500–900 нм), поскольку именно в ней наиболее заметны изменения при варьировании состава среды.

Спектры флуоресценции водных растворов Mgcr_8Pc –ПАВ записаны на модульном спектрофлуориметре Fluorolog 3 (Horiba Jobin Yvon S.A.S., Франция) при длинах волн возбуждения 356 и 650 нм и оптической ширине щели 5 нм. В диапазоне 800–1600 нм спектры флуоресценции регистрировали с использованием детектора на основе InGaAs с одной решеткой типа Черни–Терне-

ра. На рисунках представлены исправленные на спектральную чувствительность ФЭУ/решетки (истинные) спектры флуоресценции.

Измерения кривых затухания флуоресценции Mgcr_8Pc выполнены методом счета единичных фотонов с помощью модуля FluoroHub, управляемого программой DataStation 2.6, при использовании импульсного светодиода (NanoLED) с $\lambda_{\text{макс}} = 370$ нм в качестве источника возбуждения. Времена жизни флуоресценции Mgcr_8Pc определяли путем моделирования экспериментальных кривых одноэкспоненциальной функцией в программе DAS 6.6.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние концентрации C_n ПАВ на растворимость Mgcr_8Pc в воде. Электронные спектры поглощения

Как известно [11–13], октакраунзамещенный фталоцианинат магния в воде растворяется незначительно и медленно. Ранее [16] нами было показано, что в диапазоне 500–900 нм спектр поглощения Mgcr_8Pc в воде содержит широкую бесструктурную полосу с максимумом при 634 нм, которая отражает тенденцию Mgcr_8Pc к образованию димеров и более крупных агрегатов [12, 13]. В воде Mgcr_8Pc обнаруживает только слабую флуоресценцию с максимумом в области 800 нм [16], соответствующую его агрегатам, которые образуются в результате π – π -стэкинга молекул фталоцианината

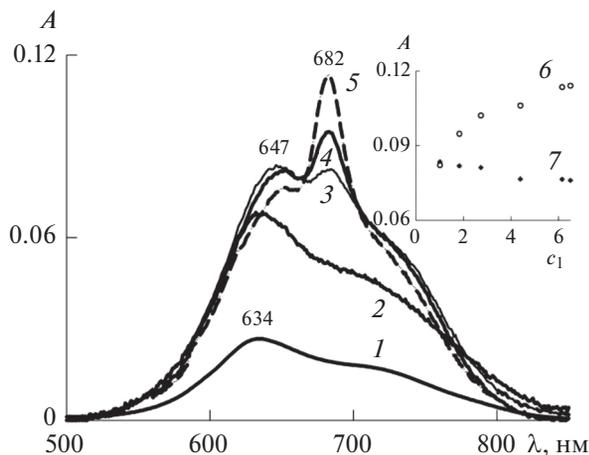


Рис. 2. ЭСП системы $\text{MgCr}_8\text{Pc-I}$ –вода при концентрации MgCr_8Pc 0.6 мкМ и содержании I c_1 , ед. ККМ: 0 (1), 0.6 (2), 1.0 (3), 1.9 (4) и 6.2 (5). Вставка – зависимости оптической плотности (A) в максимумах поглощения мономеров (6) и димеров (7) от концентрации I (c_1 , в ед. ККМ), построенные на основании кривых 2–5, т.е. при концентрации MgCr_8Pc 0.6 мкМ.

магния. Растворение MgCr_8Pc в воде может быть обусловлено образованием водородных связей между атомами кислорода краун-эфирных фрагментов и молекулами воды, а также водородными связями молекул воды с атомами азота в мезо-положениях фталоцианинового кольца.

Присутствие ПАВ гомологического ряда C_nTAB ($n = 10, 12, 14, 16$) и изменение их концентрации оказывает значительное влияние на агрегационное поведение MgCr_8Pc в воде, о чем можно судить по изменениям в спектрах поглощения. В качестве ПАВ использовали соединения I, II, III и IV со значениями ККМ 65, 15, 3.8 и 1 мМ соответственно [20], измеренными в отсутствие солилизата. При дальнейшем изложении условимся обозначать концентрацию ПАВ как c_1 и выражать (для удобства сравнения) в единицах их ККМ, а концентрацию MgCr_8Pc – как c_2 .

На рис. 2 для системы $\text{MgCr}_8\text{Pc-I}$ –вода приведены ЭСП при постоянной концентрации MgCr_8Pc $c_2 = 0.6$ мкМ и переменной концентрации ПАВ c_1 . При $c_1 = 0.6$ ККМ спектр поглощения MgCr_8Pc (кривая 2) еще аналогичен его спектру в воде (кривая 1). Более высокое, чем в воде, значение оптической плотности при 634 нм указывает на увеличение количества димеров, образующихся, по-видимому, за счет разрушения более крупных агрегатов MgCr_8Pc . Усиливающаяся влияние I с дальнейшим ростом его содержания отражается в изменении формы спектра поглощения. Так, при $c_1 \approx$ ККМ в спектре поглощения просматриваются два максимума (вблизи 682 и 647 нм) примерно одинаковой интенсивности (кривая 3). Мак-

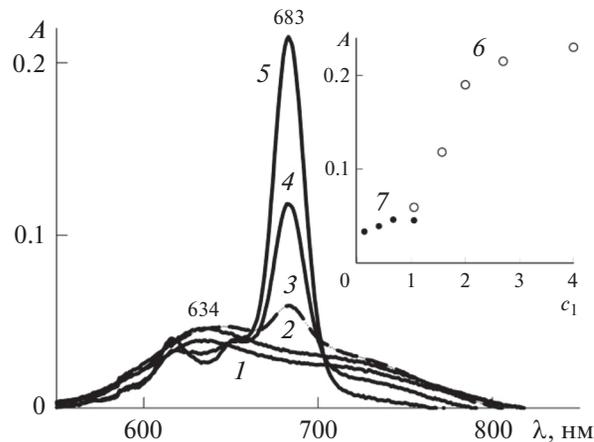


Рис. 3. ЭСП системы $\text{MgCr}_8\text{Pc-II}$ –вода при концентрации MgCr_8Pc 1.33 мкМ и содержании II c_1 , ед. ККМ: 0.4 (1), 0.7 (2), 1.1 (3), 1.6 (4) и 4 (5). Вставка – зависимости оптической плотности (A) в максимумах поглощения мономеров (6) и димеров (7) от концентрации II (c_1 , в ед. ККМ), построенные на основании кривых 1–5, т.е. при концентрации MgCr_8Pc 1.33 мкМ.

симум при 682 нм характерен для мономерного MgCr_8Pc . В интервале $c_1 = 1$ –6 ККМ высота пика при 682 нм немного растет, а при 647 нм снижается (кривые 4, 5), что указывает на увеличение количества мономеров MgCr_8Pc в растворе за счет разрушения его димеров.

Нагляднее эту тенденцию иллюстрируют зависимости оптической плотности (A) в максимумах поглощения мономеров (7) и димеров (8) MgCr_8Pc от концентрации I (c_1 , в ед. ККМ). Они построены на основании спектров, приведенных рис. 2, и размещены на его вставке. Ввиду небольшого повышения оптической плотности при 682 нм и незначительного ее снижения в области 647 нм можно говорить лишь о частичной дезагрегации MgCr_8Pc в мицеллярных растворах I под влиянием этого ПАВ.

В системе $\text{MgCr}_8\text{Pc-II}$ –вода (рис. 3) при концентрации MgCr_8Pc $c_2 = 1.33$ мкМ, как и в присутствии I, при низких концентрациях ПАВ ($c_1 = 0.4$ –0.7 ККМ) в спектре поглощения MgCr_8Pc наблюдается повышение оптической плотности при сохранении формы полосы (кривые 1, 2), а при $c_1 \approx$ ККМ – изменение формы спектра (кривая 3). В отличие от I, в присутствии II второй максимум (при 683 нм) интенсивнее, чем первый, а его высота резко возрастает при меньшей (1.6 ККМ) концентрации ПАВ (кривая 4). Зависимость оптической плотности при 683 нм от концентрации II (кривая 6, на вставке) демонстрирует резкий рост в интервале $c_1 = 1$ –2 ККМ с последующим его замедлением при увеличении содержания ПАВ.

В системах $\text{MgCr}_8\text{Pc-PAV}$ –вода влияние III (рис. 4) и IV (рис. 5) на процесс дезагрегации

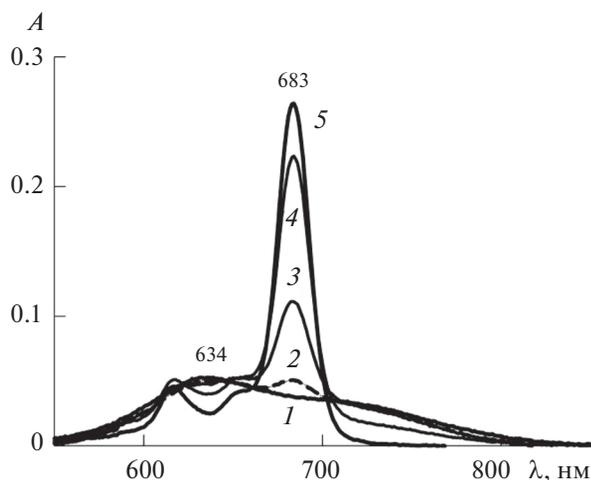


Рис. 4. ЭСП системы $MgCr_8Pc$ –III–вода при концентрации $MgCr_8Pc$ 1.1 мкМ и концентрации III (ед. ККМ) 0.36 (1), 0.8 (2), 1.05 (3), 1.9 (4), 3.2 (5).

$MgCr_8Pc$ в воде ($c_2 = 1.1$ мкМ) оказывается более эффективным по сравнению с влиянием II. В частности, в присутствии III в спектре поглощения $MgCr_8Pc$ появление пика мономера (кривая 2 на рис. 4) и заметный рост его высоты наблюдаются при меньшей концентрации ПАВ, чем в присутствии II (кривые 3–5 на рис. 4, кривые 2 и 3 на рис. 5). В случае IV в спектре поглощения $MgCr_8Pc$ высокоинтенсивная полоса мономера присутствует уже при $c_1 = 1.3$ ККМ.

На вставке рис. 5 показаны зависимости оптической плотности мономеров $MgCr_8Pc$ от концентрации II (4), III (5) и IV (6). Видно, что значения A резко возрастают с увеличением концентрации ПАВ примерно до 2 ККМ, а затем их рост замедляется. При этом эффект увеличения A тем больше, чем длиннее алкильная цепь в молекуле ПАВ.

Усиление влияния ПАВ при увеличении его содержания в растворе на процессы дезагрегации $MgCr_8Pc$, наблюдаемое по изменениям в ЭСП систем $MgCr_8Pc$ –ПАВ–вода связано с проявлением различного рода межмолекулярных взаимодействий. Как уже было отмечено выше, в воде присутствуют в основном агрегаты $MgCr_8Pc$, устойчивость которых определяется стэкинг-взаимодействием ароматических электронов фталоцианината магния, а также наличием водородных связей между атомами кислорода краун-эфирных фрагментов и атомами азота с молекулами воды. В присутствии ПАВ указанные взаимодействия ослабевают. Так, поверхностно-активные ионы, адсорбируясь на поверхности макроциклов, предотвращают стэкинг-взаимодействия ароматических систем. Разрушая водородные связи между атомами кислорода краун-эфирных фрагментов и атомами азота с молекулами воды, они формируют новые –

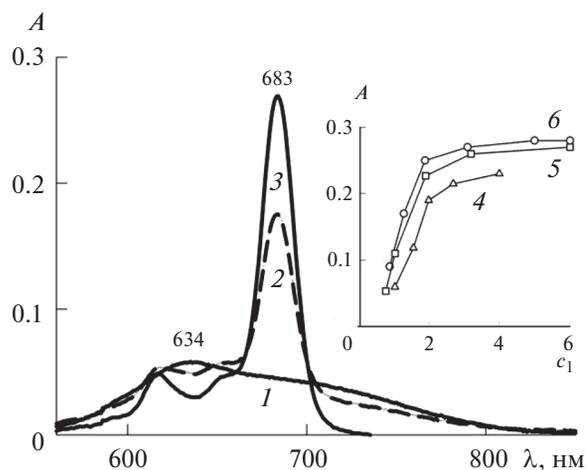


Рис. 5. ЭСП системы $MgCr_8Pc$ –IV–вода при концентрации $MgCr_8Pc$ 1.1 мкМ и содержании IV c_1 , ед. ККМ: 0.1 (1), 1.3 (2) и 1.7 (3). Вставка – зависимости оптической плотности при 683 нм от концентрации (в ед. ККМ) II (4), III (5) и IV (6).

между кислородными атомами краун-эфира и полярными группами поверхностно-активных катионов. Однако из-за больших размеров полярной группы (по сравнению с размером полости краун-эфирного фрагмента) это взаимодействие приводит к катион-индуцированной агрегации молекул $MgCr_8Pc$ подобно тому, как это происходит в присутствии катионов калия в воде [9, 12, 13]. Отсюда следует, что при низких концентрациях I–IV еще преобладают гидрофобные силы притяжения между молекулами фталоцианината магния, что объясняет его преимущественно агрегированное состояние.

С ростом содержания ПАВ при некоторой его концентрации, уменьшающейся с увеличением поверхностной активности молекулы, гидрофобные взаимодействия между молекулами $MgCr_8Pc$ перестают доминировать, что приводит к разрушению димеров и появлению мономеров.

Увеличение оптической плотности $MgCr_8Pc$ в растворах II, III и IV при повышении их содержания (наиболее резко в интервале $c_1 = 1–2$ ККМ с последующим замедлением) свидетельствует о том, что мономеризация $MgCr_8Pc$ реализуется в основном за счет солюбилизации в мицеллах этих ПАВ, количество которых достаточно для включения 1 мкМ фталоцианината магния.

Обнаруженная тенденция к повышению эффективности дезагрегации $MgCr_8Pc$ в мицеллярных растворах I, II, III и IV с ростом числа атомов C (n_C) в алкильной цепи молекулы ПАВ, по-видимому, обусловлена снижением полярности микроокружения молекул $MgCr_8Pc$, предотвращающей их агрегации систем $MgCr_8Pc$ –ПАВ–вода, приведенные ниже.

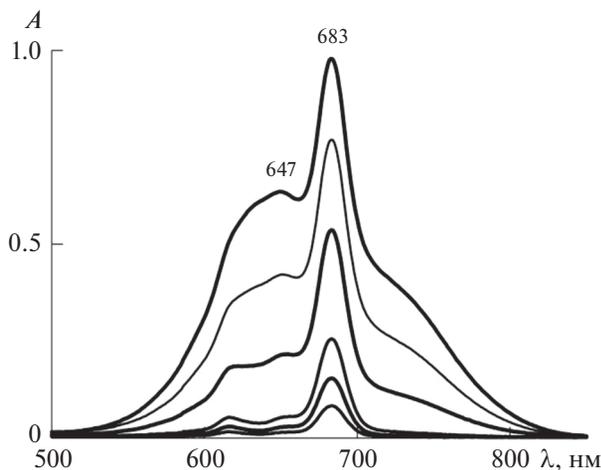


Рис. 6. ЭСП системы $MgCr_8Pc$ –II–вода при концентрации II $c_1 = 4$ ККМ и разной концентрации $MgCr_8Pc$ (снизу вверх): 0.2, 0.3, 0.7, 1.3, 2.6, 6.2 и 8 мкМ.

Влияние концентрации $MgCr_8Pc$ на его растворимость в водной и фосфатно-буферной средах в присутствии мицелл C_nTAB

На рис. 6 приведены ЭСП системы $MgCr_8Pc$ –II–вода в интервале $c_2 = 0.2$ –8 мкМ и концентрации II $c_1 = 4$ ККМ. С ростом концентрации $MgCr_8Pc$ увеличивается интенсивность полосы поглощения мономеров. Однако при $c_2 > 6$ мкМ наблюдаются изменения формы спектра: уширение полосы мономеров, сопровождающееся ростом максимума поглощения в области 647 нм и появлением плеча в длинноволновой части спектра. Эти изменения указывают на уменьшение доли мономеров в смеси с агрегатами в растворе, что, вероятно, связано с межмолекулярным взаимодействием $MgCr_8Pc$.

На основе спектроскопических данных, приведенных на рис. 6, получена зависимость оптической плотности мономеров $MgCr_8Pc$ от его концентрации c_2 в системе $MgCr_8Pc$ –II–вода (рис. 7, кривая 1, пустые треугольники) при концентрации II $c_1 = 4$ ККМ. На этом же рисунке показаны аналогичные зависимости $A(c_2)$ (кривые 2, 3) в интервале $c_2 = 0.5$ –15 мкМ, полученные ранее [19] для систем $MgCr_8Pc$ –III–вода (при концентрации III $c_1 \approx 3$ ККМ) и $MgCr_8Pc$ –IV–вода (при концентрации IV $c_1 = 6$ ККМ). Экспериментальные данные, относящиеся к III и IV, представлены пустыми квадратами и кружками соответственно.

Из рис. 7 следует, что графическая зависимость $A(c_2)$ для мономеров $MgCr_8Pc$ в присутствии II только в небольшом диапазоне $c_2 = 0.1$ –5 мкМ отвечает уравнению Бугера–Ламберта–Бера, а рассчитанный коэффициент молярной экстинкции $\epsilon = 1.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Отклонение экспериментальных данных от линейной зависимости при

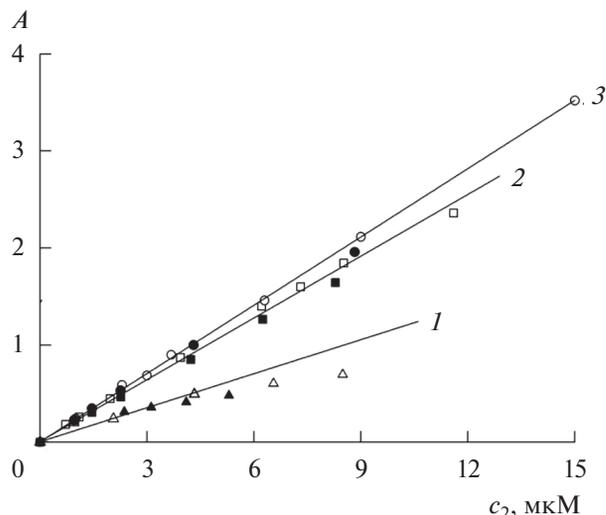


Рис. 7. Зависимости оптической плотности (A) в максимумах поглощения мономеров $MgCr_8Pc$ от его концентрации (c_2) в системах $MgCr_8Pc$ –ПАВ–вода (1–3, пустые символы) и $MgCr_8Pc$ –ПАВ–PBS (заполненные символы). ПАВ – II (1, треугольники), III (2, квадраты) и IV (3, кружки). Пояснения в тексте.

$c_2 \geq 6$ мкМ (пустые треугольники для прямой 1 на рис. 7) сопровождается изменениями формы спектра поглощения $MgCr_8Pc$ (рис. 6).

В присутствии III и IV зависимости $A(c_2)$ линейны в большем диапазоне $c_2 = 0.5$ –15 мкМ, а их наклон определяет значения $\epsilon = 2.13 \times 10^5$ и $2.64 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ соответственно [19]. Полученные значения ϵ (в единицах $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), близкие к величинам ϵ для $MgCr_8Pc$ в дихлорметане (1.64 [11] и 2.09 [19]) и в растворах ДСН (1.7 [11] и 2.7 в интервале $c_2 = 1$ –10 мкМ [15]), отражают высокую эффективность II, III и IV в мономеризации $MgCr_8Pc$ в воде.

Замена водной среды на фосфатный буфер (PBS) с pH 7.4 приводит к снижению интенсивности поглощения $MgCr_8Pc$ в присутствии этих ПАВ, но незначительному. На рис. 7 экспериментальные зависимости $A(c_2)$ для систем $MgCr_8Pc$ –ПАВ–PBS (pH 7.4) показаны заполненными символами – треугольниками, квадратами и кружками для II, III и IV соответственно. Можно заметить, что заполненные символы расположены немного ниже прямых, аппроксимирующих экспериментальные данные $A(c_2)$ для растворов в воде. Рассчитанные коэффициенты молярной экстинкции $MgCr_8Pc$ в растворах II, III и IV в PBS с pH 7.4 (ϵ_{683} , $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) равны 1.1, 1.9 и 2.25 соответственно. Полученные значения отражают тенденцию к увеличению интенсивности поглощения мономеров с ростом длины алкильной цепи ПАВ, но обнаруживают небольшое снижение по сравнению со значениями поглощения в водной среде.

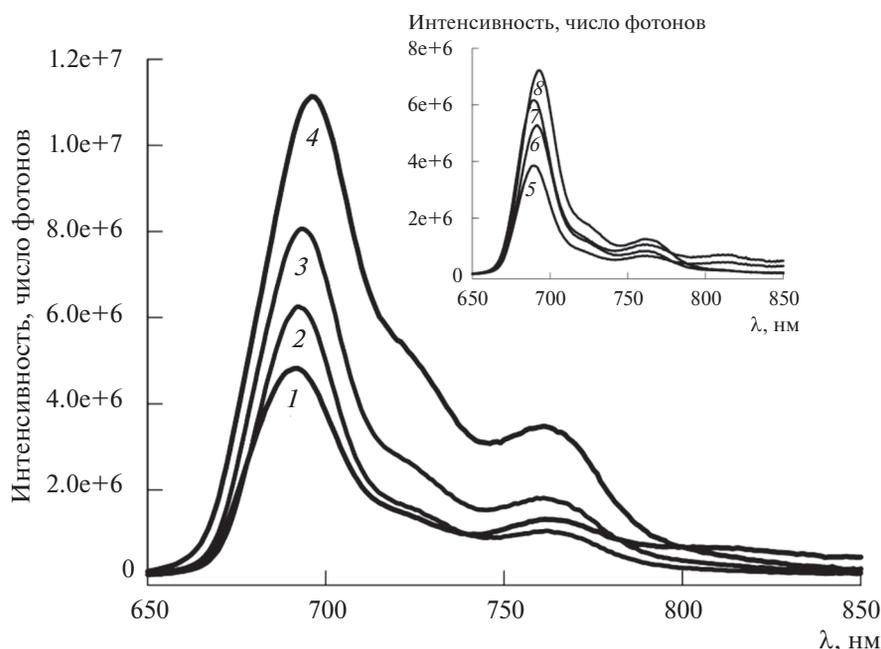


Рис. 8. Спектры флуоресценции системы MgCr_8Pc –ПАВ–вода при концентрации MgCr_8Pc 1.1 мкМ в присутствии мицелл I (1), II (2), III (3) и IV (4). На вставке – спектры флуоресценции систем MgCr_8Pc –ПАВ–PBS с pH 7.4 при концентрации MgCr_8Pc 0.9 мкМ в присутствии мицелл I (5), II (6), III (7) и IV (8); длина волны возбуждения 356 нм.

Это снижение (при замене воды на PBS с pH 7.4) может быть связано с присутствием димеров MgCr_8Pc , сформировавшихся под влиянием катиона калия [9, 12, 13] в буферной среде и сохранившихся в небольшом количестве в присутствии мицелл ПАВ.

Спектры и кинетика затухания флуоресценции MgCr_8Pc в этаноле и водных растворах C_nTAB

В спектрах флуоресценции MgCr_8Pc , находящегося в водных мицеллярных растворах I с $c_1 = 10$ ККМ и в растворах II, III и IV с $c_1 = 6$ ККМ, наблюдается полоса с максимумом в диапазоне 692–695 нм, интенсивность которой увеличивается с ростом длины алкильной цепи ПАВ (кривые 1–4 на рис. 8). Спектры флуоресценции MgCr_8Pc в мицеллярных растворах I, II, III и IV в фосфатном буфере с pH 7.4 содержат полосы (кривые 5–8 на вставке рис. 8), близкие по интенсивности к измеренным в водных мицеллярных растворах тех же ПАВ. Таким образом, в буферных растворах также преобладают процессы мономеризации MgCr_8Pc . Незначительное снижение интенсивности флуоресцентного излучения MgCr_8Pc в мицеллярных растворах ПАВ при переходе от водной среды к буферной подтверждает гипотезу о присутствии небольшого количества димеров, которые не излучают.

Измерения при длинах волн возбуждения 356 и 650 нм показали, что положение максимумов

флуоресценции MgCr_8Pc в водных растворах II, III и IV не зависит от длины возбуждения. Близкое соответствие нормированных спектров поглощения (кривые 1–3) и флуоресценции (кривые 4–6) для растворов II (3, 6), III (2, 5) и IV (1, 4) при $c_1 = 6$ ККМ, построенных с использованием шкалы волновых чисел (рис. 9), позволяет сделать вывод о практически полной мономеризации MgCr_8Pc при $c_2 = 1.1$ мкМ. Нестрогое соответствие спектров правилу зеркальной симметрии может объясняться методическими особенностями: регистрацией спектров поглощения при ширине щели 1 нм, а спектров флуоресценции – при 5 нм. В случае I ($c_1 = 10$ ККМ, $c_2 = 0.6$ мкМ) существенное нарушение правила зеркальной симметрии (сравните кривые 7, 8 во вставке на рис. 9) подтверждает предположение лишь о частичной дезагрегации MgCr_8Pc в этой среде.

Кривые затухания флуоресценции MgCr_8Pc в мицеллярных растворах II, III и IV при его содержании $c_2 = 0.56$ мкМ характеризуются одноэкспоненциальным спадом интенсивности, о чем свидетельствует линейность кривых, построенных в полулогарифмических координатах, используемых в программах DataStation 2.4 и DAS 6.6. Найденные времена жизни флуоресценции MgCr_8Pc (τ) составили 5.59, 5.67 и 6.38 нс для II, III и IV соответственно. Относительно большое значение τ в случае IV, свидетельствует о слабополярном микроокружении мономеров MgCr_8Pc в мицел-

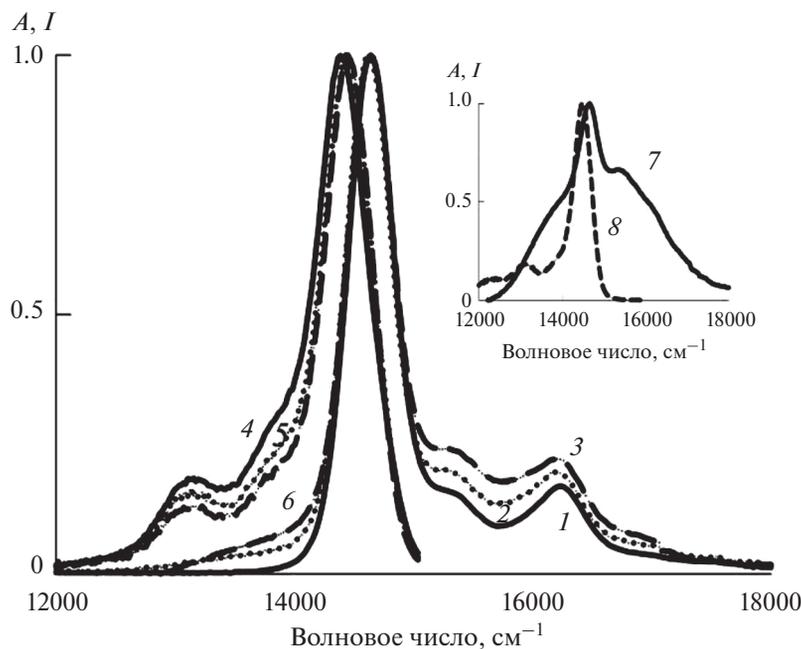


Рис. 9. Нормированные спектры поглощения (1–4) и флуоресценции (5–8) систем MgCr_8Pc –ПАВ–вода при концентрации MgCr_8Pc 1.1 мкМ и $c_1 = 6$ ККМ. ПАВ – II (3, 6), III (2, 5), IV (1, 4). На вставке – нормированные спектры поглощения (7) и флуоресценции (8) системы MgCr_8Pc –I–вода при $c_1 = 10$ ККМ и содержании MgCr_8Pc 0.6 мкМ.

лах этого ПАВ. Для сравнения укажем, что в полярном 96%-ном растворе этанола [21] мономеры этого производного фталоцианина характеризуются меньшим временем τ , равным 5.42 нс [16]. Таким образом, эксперимент по затуханию флуоресценции MgCr_8Pc в мицеллярных растворах II, III и IV выявил тенденцию к снижению полярности среды в микроокружении его мономеров с ростом длины алкильной цепи (n_C) в молекулах C_nTAB .

Из физико-химии ПАВ известно, что при удлинении алкильного радикала (т.е. с ростом n_C) в гомологическом ряду C_nTAB увеличиваются размер мицелл и плотность упаковки в них мономеров ПАВ. При более плотной упаковке мономеров затрудняется проникновение молекул воды в мицеллу, что снижает степень ее гидратации. Поэтому в зависимости от места локализации молекулы-зонда в мицелле, а при одинаковой локализации – в зависимости от степени гидратации будет изменяться полярность микроокружения зонда. В качестве возможных вариантов локализации молекул солюбилизиата в мицеллах ПАВ рассматривают: 1) адсорбцию на поверхности мицеллы, 2) встраивание между полярными головными группами молекул ПАВ и несколькими ближайшими к ним CH_2 -группами гидрофобных “хвостов” и 3) более глубокое проникновение в углеводородное ядро мицеллы. Такому более глубокому проникновению молекулы MgCr_8Pc с краун-эфирными фрагментами внутрь мицелл II, III и IV мешают ее размеры, а адсорбции на поверхности – небольшая степень

гидрофилизации краун-эфирных фрагментов. К тому же измеренные значения времени жизни флуоресценции MgCr_8Pc в присутствии мицелл II, III и IV указывают на его слабополярное микроокружение, едва ли реализуемое при адсорбции на поверхности мицеллы. Второй вариант локализации мономеров MgCr_8Pc в мицеллах этих ПАВ представляется более предпочтительным. Отсюда следует, что полярность микроокружения молекул MgCr_8Pc , солюбилизированных в мицеллах II, III и IV, снижается с увеличением длины алкильной цепи (ростом n_C).

Заметим, что в аналогичных системах на основе C_nTAB (при $n = 12, 14, 16$) для тетрасульфофталоцианината цинка (ZnPcS_4) в работе [7] получена иная тенденция – снижение полярности микроокружения молекул ZnPcS_4 с уменьшением n_C . Снижение полярности авторы [7] объяснили более глубоким проникновением компактной молекулы ZnPcS_4 в ядро мицеллы с менее плотной упаковкой мономеров ПАВ, что достигается при меньшем значении n_C . Различие в структуре молекул MgCr_8Pc и ZnPcS_4 приводит к разным тенденциям в изменении времени жизни флуоресценции этих металлофталоцианинов в мицеллах C_nTAB при удлинении алкильной цепи ПАВ, т.е. при переходе от II к IV.

Таким образом, результаты исследований затухания флуоресценции MgCr_8Pc в мицеллярных растворах II, III и IV подтвердили предположение

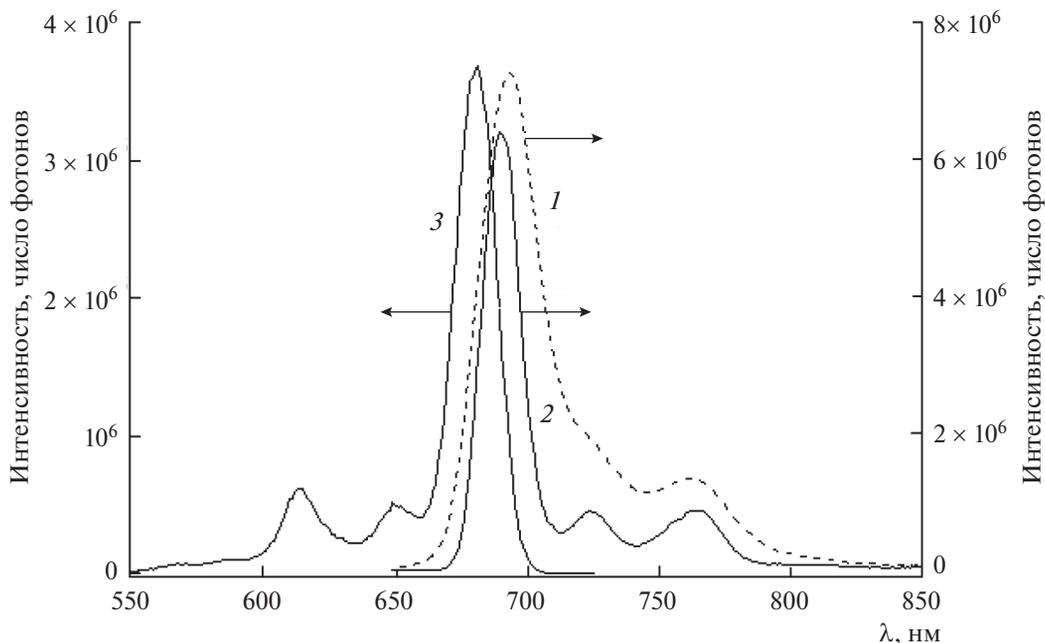


Рис. 10. Спектры флуоресценции системы $\text{MgC}_8\text{Pc-IV}$ –вода при концентрации MgC_8Pc 1.1 мкМ и концентрации IV $c_1 = 10$ ККМ при температуре 300 (1) и 77 К (2); длина волны возбуждения 615 нм. Спектр возбуждения флуоресценции для переходов с $\lambda_{\text{макс}}$ 720 и 770 нм при температуре 77 К (3).

о влиянии полярности микроокружения солиоблизированного “зонда” на усиление интенсивности поглощения и флуоресценции при увеличении n_c .

Спектры флуоресценции MgC_8Pc в водном растворе $C_{16}\text{TAB}$ при температуре 77 К

На рис. 10 показаны спектры флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 615$ нм) системы $\text{MgC}_8\text{Pc-IV}$ –вода с концентрацией MgC_8Pc $c_2 = 1.1$ мкМ и концентрацией IV $c_1 = 10$ ККМ при температуре 300 (1) и 77 К (2). Там же приведен спектр возбуждения флуоресценции для переходов с $\lambda_{\text{макс}}$ 720 и 770 нм при температуре 77 К (3). При замораживании мицеллярного раствора MgC_8Pc до температуры жидкого азота (77 К) интенсивность спектра флуоресценции (кривая 2) мало изменяется по сравнению с интенсивностью спектра при комнатной температуре (кривая 1), что свидетельствует о сохранении всего набора молекул красителя в дезагрегированном состоянии в условиях глубокой заморозки. Данный факт свидетельствует о возможности применения MgC_8Pc в качестве фотосенсибилизатора ФДТ опухолей совместно с процедурами криолиза, также убивающего “плохие” клетки.

Сравнение кривых 1 и 2 показывает, что после замораживания наблюдается гипсохромный сдвиг спектра флуоресценции и уменьшение полуширины полос эмиссии. Спектр флуоресценции при 77 К становится более разрешенным в силу уменьшения заселенности колебательных спутников электрон-

ных переходов при охлаждении. Обнаруженные различия во флуоресценции MgC_8Pc при 77 и 298 К типичны для растворов органических красителей, охлажденных до температуры жидкого азота [22].

Спектр возбуждения флуоресценции MgC_8Pc при 77 К (кривая 3) хорошо соответствует правилу зеркальной симметрии по отношению к спектру флуоресценции (сравните кривые 2 и 3), что подтверждает связь флуоресценции с электронными переходами в области Q-полос поглощения фталоцианината магния, то есть переходы поглощения и эмиссии относятся к одним и тем же электронным уровням молекулы MgC_8Pc [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мицеллярные растворы бромидов децил-, додецил-, тетрадецил- и гексадецилтриметиламмония в воде и фосфатном буфере с рН 7.4 обладают способностью эффективно разрушать агрегаты MgC_8Pc , усиливающейся с увеличением длины алкильной цепи в молекуле ПАВ, о чем свидетельствуют данные ЭСП, флуоресцентной спектроскопии и кинетики затухания флуоресценции. Относительно большие значения времени жизни флуоресценции τ MgC_8Pc в мицеллярных растворах бромидов додецил-, тетрадецил- и гексадецилтриметиламмония (5.59, 5.67 и 6.38 нс соответственно) указывают на слабополярное микроокружение мономеров MgC_8Pc . Увеличение τ с ростом компактности мицелл, обусловленным

удлинением алкильной цепи в молекуле ПАВ, подтверждает влияние степени гидратации мицелл на полярность микроокружения молекулы-зонда. С ее уменьшением усиливается эффективность мономеризации $MgCr_8Pc$.

При быстром замораживании мицеллярного раствора бромида гексадецилтриметиламмония до температуры 77 К находящиеся в нем молекулы фталоцианината магния остаются полностью дезагрегированными, что указывает на потенциальную возможность применения $MgCr_8Pc$ в мицеллярных растворах катионного ПАВ для ФДТ опухолей совместно с криотерапией, например, для фотодинамической обработки контура убитых при криотерапии папиллом или злокачественных опухолей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят д.х.н. В.Е. Баулина (Институт физиологически активных веществ РАН), любезно предоставившего окта[4'-бензо-15-краун-5]оксифталоцианинат магния. Флуоресцентные измерения проведены на оборудовании Центра коллективного пользования ФМИ ИФХЭ РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась в рамках госзадания, регистрационный номер 122011300052-1.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цивадзе А.Ю. // Успехи химии. 2004. Т. 73. С. 6.
2. Vashurin A., Kuzmin I., Titov V., Pukhovskaya S., Razumov M., Golubchikov O., Koifman O. // Макрогетероциклы/Macroheterocycles. 2015. Т. 8. С. 351.
3. Градова М.А., Осташевская И.И., Градов О.В., Лобанов А.В., Иванов В.Б. // Макрогетероциклы/Macroheterocycles. 2018. Т. 11. С. 404.
4. Лукьянец Е.А. // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2013. Т. 2. № 3. С. 3.
5. Якубовская Р.И., Плютинская А.Д., Лукьянец Е.А. // Рос. биотерапевт. журн. 2014. Т. 13. № 4. С. 65.
6. Zhou L., Chen E., Jin W., Wang Y., Zhou J., Wei S. // RSC Adv. 2016. V. 45. P. 15170.
7. Jadhao M., Mukherjee S., Joshi R., Kumar H., Ghosh S.K. // RSC Adv. 2016. V. 6. P. 77161.
8. Li X.-y., He X., Ng A.C.H., Wu C., Ng D.K.P. // Macromolecules. 2000. V. 33. P. 2119.
9. Овсянникова Е.В., Ширяев А.А., Калашикова И.П., Баулин В.Е., Цивадзе А.Ю., Андреев В.Н., Алпатов Н.М. // Макрогетероциклы/Macroheterocycles. 2013. Т. 6. С. 274.
10. Zekeriya B., Volkan C., Dilek C., Halit K. // J. Organomet. Chem. 2014. V. 749. P. 18.
11. Гольдшлегер Н.Ф., Черняк А.В., Калашикова И.П., Баулин В.Е., Цивадзе А.Ю. // Журн. общей химии. 2012. Т. 82. С. 856.
12. Гольдшлегер Н.Ф., Баулин В.Е., Цивадзе А.Ю. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. С. 117.
13. Гольдшлегер Н.Ф., Лобач А.С., Гак В.Ю., Калашикова И.П., Баулин В.Е., Цивадзе А.Ю. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. С. 496.
14. Лапина М.А., Норко С.И., Гольдшлегер Н.Ф., Баулин В.Е., Терентьев А.А. // Рос. биотерапевт. журн. 2018. Т. 17. № 5. С. 40.
15. Мовчан Т.Г., Аверин А.А., Баулин Д.В., Плотникова Е.В., Баулин В.Е., Цивадзе А.Ю. // Коллоид. журн. 2018. Т. 80. С. 528.
16. Мовчан Т.Г., Чернядьев А.Ю., Плотникова Е.В., Аверин А.А., Цивадзе А.Ю., Баулин В.Е. // Коллоид. журн. 2018. Т. 80. С. 694.
17. Мовчан Т.Г., Русанов А.И., Плотникова Е.В. // Коллоид. журн. 2021. Т. 83. С. 443.
18. Beyer K., Leine D., Blume A. // Colloids Surf. B. 2006. V. 49. P. 31.
19. Мовчан Т.Г., Русанов А.И., Плотникова Е.В. // Коллоид. журн. 2021. Т. 83. С. 187.
20. Мовчан Т.Г., Шекин А.К., Соболева И.В., Хлебунова Н.Р., Плотникова Е.В., Русанов А.И. // Коллоид. журн. 2015. Т. 77. С. 189.
21. Prasath R., Bhavana P. // J. Heterocycl. Chem. 2012. V. 49. P. 1044.
22. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М.: Мир, 1986.