

Закономерности генерации синглетного кислорода индотрикарбацианиновым красителем с объемными заместителями в структуре молекулы

М. П. Самцов¹⁾, Д. С. Тарасов^{1, 2)}, Е. С. Воропай²⁾

¹⁾ *Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь, e-mail: dmitrij-tarasov@list.ru*

²⁾ *Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Исследованы фотофизические свойства индотрикарбацианинового красителя с ортофениленовым мостиком в цепи сопряжения и двумя заместителями – полиэтиленгликолями (ПЭГ) массой 300 Да (ПК1), и его аналога без ПЭГ (ПК2). Показано, что увеличение квантового выхода образования синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) с концентрацией ПК2 в малополярном хлороформе вызвано ростом доли контактных ионных пар в растворе и проявлением эффекта тяжелого атома (анион Br^-). Показано, что наличие объемных заместителей (ПЭГ300) в структуре ПК1 изменяет эффективность генерации $^1\text{O}_2$.

Ключевые слова: индотрикарбацианиновые красители; полиэтиленгликоль; ионная пара; фотофизические свойства; синглетный кислород; концентрационные закономерности.

Regularities of generation of singlet oxygen by an indotricarbocyanine dye with bulk substituents in the structure of the molecule

M. P. Samtsov¹⁾, D. S. Tarasov^{1, 2)}, E. S. Voropay²⁾

¹⁾ *A. N. Sevchenko Institute for Applied Physical Problems of Belarusian State University, Minsk, Belarus, e-mail: dmitrij-tarasov@list.ru*

²⁾ *Belarusian State University, Minsk, Belarus*

The photophysical properties of an indotricarbocyanine dye with an orthophenylene bridge in the conjugation chain and two 300 Da polyethylene glycols (PEG) substituents (PD1) and its analogue without PEG (PD2) have been studied. It has been shown that the increase in the quantum yield of the formation of singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) with a concentration of PD2 in low-polarity chloroform is due to an increase in the fraction of contact ion pairs in solution and the manifestation of the effect of the anion heavy atom (Br^-). It has been shown that the presence of PEG300 in the dye structure changes the efficiency of singlet oxygen generation.

Keywords: indotricarbocyanine dyes; polyethylene glycol; ion pairs; photophysical properties; singlet oxygen; concentration regularities.

Введение

В насыщенных воздухом растворах некоторая часть энергии возбуждения молекул полиметиновых красителей (ПК) расходуется на сенсбилизацию образования синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), который в определенной степени определяет эффективность ПК в качестве фотосенсбилизатора для фотодинамической терапии. В связи с этим установление закономерностей образования $^1\text{O}_2$ молекулами в условиях, соответствующих биологическим тканям, представляется важным для выявления механизма фотоактивности новых соединений. Поскольку индотрикарбациа-

ниновые красители локализованы в раковых клетках в области с низкой диэлектрической проницаемостью, то малополярные растворители представляются адекватной модельной средой.

В данной работе приведены результаты исследований фотофизических свойств в органических растворителях различной полярности соединения, которое перспективно в качестве фотосенсибилизатора [1].

1. Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования выступали ковалентно связанный с двумя цепочками ПЭГ300 индотрикарбоцианиновый краситель ПК1 с хлорзамещенным ортофениленовым мостиком в полиметиновой цепи сопряжения, его аналог – краситель ПК2 без заместителей ПЭГ, оба с анионом Br^- (рис. 1). В качестве растворителей использовались этанол и хлороформ. При проведении экспериментов для повышения концентрации аниона Br^- при постоянной концентрации красителя использовалась растворимая в органике соль - тетрабутиламмоний бромид (ТБАБ).

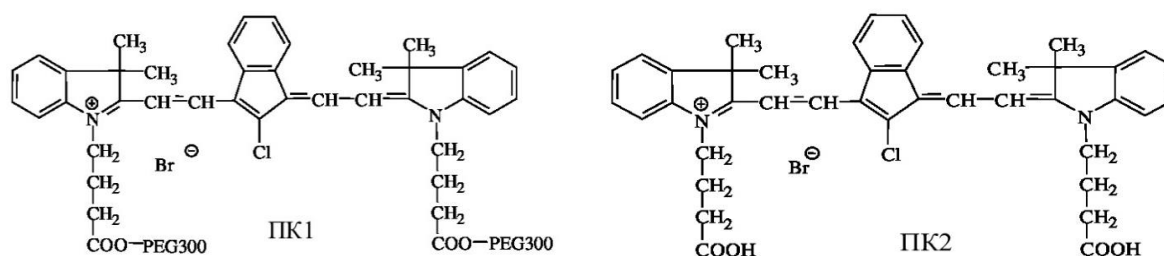


Рис. 1. Структурные формулы исследованных красителей

Флуоресцентные характеристики красителей регистрировались с помощью спектрофлуориметра Fluorolog, электронные спектры поглощения – спектрофотометров PV 1251В фирмы Solar или MC 122 фирмы Proscan.

Люминесценцию синглетного кислорода в спектральной области 1270 нм регистрировали с помощью установки, созданной в лаборатории фотоники молекул Института физики НАН Беларуси [2]. Квантовый выход образования синглетного кислорода (γ_Δ) определялся относительным методом. В качестве эталона использован 5, 10, 15, 20-тетракис(4-N-метилпиридил)порфирин в этаноле ($\gamma_\Delta = 0,77 \pm 0,04$), а в хлороформе – тетрафенилпорфирин (ТФП), для которого $\gamma_\Delta = 0,74 \pm 0,05$. Для возбуждения в этой установке использовано излучение полупроводникового лазера с $\lambda = 667$ нм. В процессе измерений определялась длительность свечения синглетного кислорода при фотосенсибилизации эталонными и исследованными соединениями. Для эталонных соединений этот параметр имел значение 12 ± 1 мкс в этаноле и 248 ± 6 мкс в хлороформе.

2. Результаты и их обсуждение

В результате исследований для красителей в полярном этаноле установлено, что в диапазоне концентраций от 10^{-8} М до 10^{-5} М сохраняется форма спектра и положение максимума основной полосы поглощения. При этом спектры

поглощения подчиняются закону Бугера-Ламберта-Бера, молярный коэффициент поглощения превышает $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ (таблица). Спектры флуоресценции красителей в этаноле не зависят от длины волны возбуждения и сформированы одной полосой. Спектры возбуждения флуоресценции исследованных красителей совпадают по форме с их спектрами поглощения при регистрации в пределах полосы флуоресценции. Квантовый выход флуоресценции не зависит от концентрации раствора. Кинетика затухания флуоресценции исследованных красителей аппроксимируется одной экспонентой, значения времени жизни приведены в таблице. Такие свойства красителей согласуются с представлениями о диссоциации их молекул в полярном растворителе.

Фотофизические характеристики индотрикарбоцианиновых красителей

Растворитель	Краситель ($C_{кр}$, М)	λ_{abs}^{max} , нм	$\Delta\lambda_{abs}$, нм	$\epsilon \times 10^{-5}$, $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}$	λ_f^{max} , нм	τ , нс	ϕ_f	γ_{Δ}
Этанол	ПК1 (10^{-8} - 10^{-6})	723	48	2,5	749	1,2	0,24	0,031
	ПК2 (10^{-8} - 10^{-5})	724	50	2,6	755	0,9	0,21	0,050
хлороформ	ПК1 (10^{-5})	732	50	2,1	763	1,6	0,23	0,032
	ПК1 (10^{-7})	732	50	2,4	761	1,6	0,23	0,032
	ПК2 (10^{-5})	780	93	1,4	763	1,5	-	0,104
					807	2,1		
	ПК2 (10^{-7})	736	95	1,5	763	1,5	-	0,022
					807	2,1		

При изменении концентрации красителей ПК1 и ПК2 в этаноле в диапазоне от $5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ до 10^{-5} M квантовый выход образования синглетного кислорода γ_{Δ} имеет постоянное значение и составляет для ПК1 – $\gamma_{\Delta} = 0,031 \pm 0,005$ и $\gamma_{\Delta} = 0,050 \pm 0,008$ для ПК2. Введение в этанольные растворы этих красителей дополнительной соли ТБАБ (10^{-2} M) не приводит к изменению значений квантовых выходов генерации синглетного кислорода.

При переходе к малополярному хлороформу для красителя ПК2 наблюдается значительный рост γ_{Δ} при изменении концентрации раствора, происходит увеличение этого параметра с $\gamma_{\Delta} = 0,022 \pm 0,004$ при $C_{кр} = 2,6 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ до $\gamma_{\Delta} = 0,104 \pm 0,016$ при $C_{кр} = 5,8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, т. е. в 4,7 раза (рис. 2). При этом длительность затухания фосфоресценции $^1\text{O}_2$ в указанном диапазоне изменения концентрации красителя составляла 248 ± 6 мкс. Для красителя ПК1 при изменении концентрации зарегистрирована такая же длительность затухания фосфоресценции $^1\text{O}_2$, а квантовый выход образования синглетного кислорода в пределах погрешности измерений имеет постоянное значение и составляет $\gamma_{\Delta} = 0,032 \pm 0,003$. Эффективность образования синглетного кислорода красителем ПК1 не изменяется при введении ТБАБ ($C_{соли} = 10^{-2} \text{ M}$).

Для красителя ПК1 в малополярном хлороформе в спектрах поглощения и флуоресценции не обнаруживаются признаков многокомпонентности. С увеличением концентрации раствора от 10^{-8} до 10^{-5} M не изменяется положение максимума и полуширина полосы поглощения, остается постоянной форма и положение спектра

флуоресценции при изменении длины волны возбуждения, квантовый выход и длительность затухания флуоресценции имеют постоянное значение $\phi_f = 0,23$ и $1,6$ нс соответственно. Кинетика затухания флуоресценции аппроксимируется одной экспонентой. Степень поляризации флуоресценции при возбуждении на длине волны 650 нм имеет постоянное значение при регистрации в пределах полосы флуоресценции и составляет $8,5\%$. Форма спектра возбуждения флуоресценции не зависит от длины волны регистрации в пределах полосы флуоресценции и совпадает по форме со спектром поглощения. Добавление соли ТБАБ (10^{-2} М) к растворам ПК1 в малополярном хлороформе не влияет на фотофизические характеристики красителя.

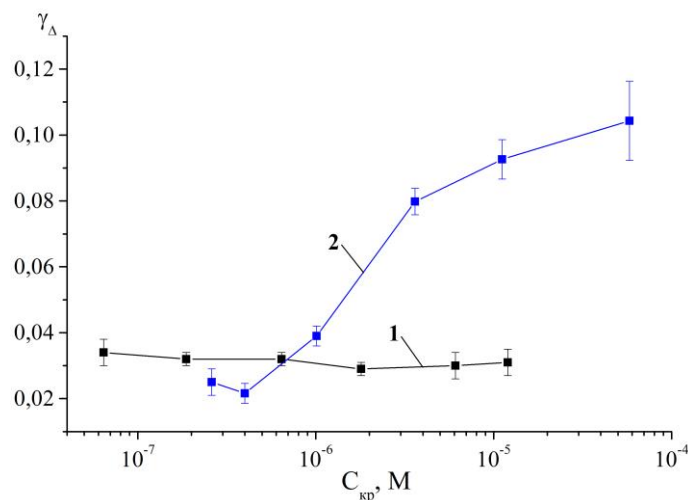


Рис. 2. Зависимость квантовых выходов генерации синглетного кислорода ПК1 (1) и ПК2 (2) в хлороформе от концентрации красителя

Для красителя ПК2 при переходе к малополярному хлороформу наблюдаются значительные изменения спектральных свойств. В спектре поглощения этого красителя в хлороформе проявляются две полосы с максимумами в области 780 нм и 736 нм. При этом при увеличении концентрации красителя происходит увеличение вклада коротковолновой полосы в суммарный спектр поглощения и соответственно уменьшение вклада в длинноволновую. На длине волны $\lambda = 763$ нм присутствует изобестическая точка, наличие которой указывает на присутствие в растворе ПК2 в хлороформе двух поглощающих центров. Введение дополнительной соли ТБАБ сопровождается уменьшением вклада полосы с максимумом на $\lambda = 780$ нм в спектр поглощения красителя ПК2. В спектре флуоресценции ПК2 в хлороформе присутствуют две полосы, соотношение которых зависит от длины волны возбуждающего излучения. Так при возбуждении в диапазоне длин волн $600 - 720$ нм в спектре проявляются два максимума на $\lambda_1 = 766$ нм и $\lambda_2 = 805$ нм. Кинетики затухания флуоресценции при регистрации в этих максимумах существенным образом различаются. Так при возбуждении лазером с $\lambda = 650$ нм кинетика затухания флуоресценции при регистрации на 740 нм аппроксимируется одной экспонентой с длительностью $1,5$ нс, а при регистрации на 810 нм кинетика затухания флуоресценции наилучшим образом аппроксимируется двумя экспонентами с временами затухания $1,5$ и $2,1$ нс. В спектре возбуждения флуоресценции при регистрации в области 760 нм

проявляются полосы в коротковолновой области (300–500 нм) по форме и положению близкие к спектру поглощения красителя и одна полоса с максимумом на 735 нм. А при регистрации на длинноволновом краю спектра флуоресценции проявляется еще одна интенсивная полоса, положение которой совпадает с наиболее длинноволновой полосой в спектре поглощения.

Приведенные спектрально-люминесцентные данные свидетельствуют о присутствии в растворе красителя ПК2 в малополярных хлороформе двух поглощающих и флуоресцирующих центров, которые могут быть отнесены к различным ионным формам красителя: контактные ионные пары и свободные ионы. Наблюдаемые изменения спектрально-люминесцентных свойств ПК2 в малополярных хлороформе связано с изменением состояния равновесия его ионных форм в растворе. Так как введение дополнительной соли или увеличение концентрации красителя приводит к увеличению доли контактных ионных пар, то коротковолновую компоненту в спектрах поглощения и флуоресценции ПК2 можно отнести на счет молекул красителя присутствующих в растворе в форме контактных ионных пар, а более длинноволновую – к свободным ионам.

Возрастание квантового выхода генерации синглетного кислорода для ПК2 в малополярных растворах с ростом концентрации красителя коррелирует с увеличением доли присутствия его молекул в форме контактных ионных пар. Это позволяет заключить, что имеет место концентрационное увеличение квантового выхода генерации синглетного кислорода из-за роста выхода молекул в триплетное состояние вследствие проявления эффекта тяжелого атома, в качестве которого в данном случае выступает бром-анион красителя.

Учитывая слабую зависимость спектрально-люминесцентных характеристик красителя ПК1 в малополярном хлороформе от его концентрации и при введении соли ТБАБ, а также их близость со спектрально-люминесцентными характеристиками контактных ионных пар красителя ПК2, можно заключить, что краситель ПК1 в малополярном хлороформе находится преимущественно в форме контактных ионных пар. Молекулярный вес заместителей из двух цепочек полиэтиленгликолей сопоставим с весом основы красителя ПК1. По всей видимости полиэтиленгликоли обволакивают молекулу красителя, что препятствует отдалению аниона от катиона красителя. Наблюдаемое значительное различие в значениях квантового выхода генерации синглетного кислорода ПК1 и ПК2 в условиях, когда оба красителя находятся преимущественно в форме контактных ионных пар (не менее чем в 2,5 раза) по нашему мнению обусловлено наличием двух ПЭГ300 на концевых группах у ПК1, которое снижает вероятность столкновения хромофора молекул с растворенным кислородом, что препятствует сенсбилизации $^1\text{O}_2$.

Библиографические ссылки

1. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A. A. Lugovski [et al.] // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2016. Vol. 316. P. 31–36.
2. Высокочувствительные лазерные флуорометры для ближнего инфракрасного и видимого диапазонов / А. С. Сташевский [и др.] // Приборы и методы измерений. 2011. Т. 2, № 1. С. 25–31.