

## СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИММЕТРИЧНОГО ТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ (ТИКС) В РАСТВОРАХ

In water-alcoholic solution over the concentrations  $10^{-3}$  to  $10^{-7}$  M the polymethine dye studied is in the associated state. In blood serum the dye is associated with biological macromolecules. An analysis for the spectral and luminescence properties of the dye in serum has revealed the absence of the dye associates in this medium. In low-polarity solutions the dye takes the form of various-type ion pairs.

Исследование спектрально-люминесцентных свойств полиметиновых красителей (ПК) в биологических системах различной степени сложности является актуальной проблемой. Это связано с перспективами использования ПК в качестве фотосенсибилизаторов для фототерапии [1–9]. В работе приведены результаты исследования спектрально-люминесцентных свойств типичного фотосенсибилизатора индоленинового трикарбоцианинового красителя (ТИКС) в растворах различной природы.

### Материал и методика

Исправленные спектры флуоресценции регистрировались с помощью спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex, спектры поглощения – с помощью спектрофотометра PV 1251 A или Specord UV VIS. Длительность флуоресценции красителя определялась на разработанном в лаборатории импульсном спектрофлуориметре [10, 11]. Характеристики люминесценции полиметиновых красителей зависят от температуры раствора, в связи с чем образцы всегда термостатировались. Набор сред для исследований повторял их в той же последовательности, как при манипуляциях по введению красителя подопытным животным, и включал этиловый спирт, водно-спиртовую смесь (19:1) и сыворотку крови телят. Флуоресценция при изменении концентрации красителя регистрировалась в кюветах разной толщины.

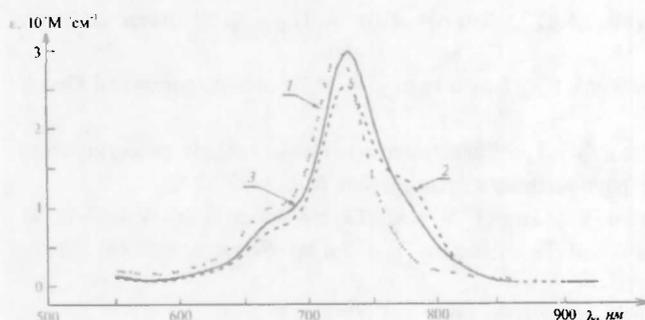
### Результаты и их обсуждение

Установлено, что в этиловом спирте в диапазоне концентраций  $10^{-7}$ – $10^{-3}$  М электронные спектры поглощения красителя сохраняют форму и положение, выполняется закон Бера. Спектры, квантовый выход и длительность флуоресценции для этих растворов также остаются без изменений. При введении красителя в водно-спиртовую смесь его спектр поглощения претерпевает значительные изменения. В спектре, в отличие от раствора в спирте, проявляются два максимума (на длине волны  $\lambda_1=670$  нм и  $\lambda_2=730$  нм), полуширина спектра увеличивается до 178 нм. В спектрах поглощения при изменении температуры наблюдается изобестическая точка, что свидетельствует о существовании в растворах двух поглощающих центров. Спектры флуоресценции красителя в водно-спиртовой смеси сдвигаются в коротковолновую область по сравнению с органическими растворителями, а квантовый выход флуоресценции уменьшается примерно на порядок. Изменение температуры или концентрации растворов приводит к обратимой деформации спектров поглощения, при нагревании образцов увеличивается интенсивность флуоресценции. Из полученных данных следует, что краситель ТИКС в водно-спиртовом растворе в диапазоне концентраций  $10^{-7}$ – $10^{-3}$  М находится преимущественно в ассоциированном состоянии.

С целью выяснения агрегатного состояния красителя в крови подопытных животных проведен анализ спектрально-люминесцентных свойств ТИКС в сыворотке крови. Наибольшая концентрация красителя в сыворотке составляла величину такую же, как при его введении подопытным животным (из расчета 5 мг на килограмм массы животного). Спектры поглощения красителя, введенного с максимальной концентрацией из водно-спиртового раствора в сыворотку, приобретают форму, характерную для красителя в мономерном состоянии. Максимум полосы поглощения по сравнению с этанольным раствором испытывает bathochromное смещение на 15 нм и расположен на  $\lambda=740$  нм. Молярный коэффициент поглощения увеличивается по сравнению с водно-спиртовым раствором более чем в 2 раза (в максимуме составляет величину  $\epsilon=1,9 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ). Нагревание в диапазоне  $5^\circ\text{C} \div 45^\circ\text{C}$  красителя в сыворотке приводит уже не к разгоранию, а тушению флуоресценции. Полученные данные свидетельствуют, что в сыворотке краситель находится в мономерном состоянии.

Спектрально-люминесцентные характеристики ТИКС в различных средах

Растворитель	$\lambda_{\text{max}}^{\text{ab}}$ , нм	$\Delta\lambda$ , нм	$\epsilon_{\text{max}}, 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$	$\lambda_{\text{max}}^{\text{f}}$ , нм	$\phi_f (10^\circ\text{C})$	$P, \%$ (20°C)	$\tau$ , нс
Этанол	725	50	3,0	750	0,29	25,9	1,4
Вода-этанол (19:1)	670	178	0,7	738	0,02	–	–
Хлористый метилен	730	78	2,5	755	0,20	–	–
Сыворотка крови	740	57	1,9	763	0,30	46,3	1,4



Спектры поглощения красителя ТИКС в этаноле (1); хлористом метиле (2); хлористом метиле, содержащем  $10^3 \text{ M}$  триметилбензиламмонийхлорид (3)

Наблюдаемое смещение спектров поглощения и флуоресценции ТИКС в сыворотке крови по сравнению с этанольным раствором коррелирует с изменениями в спектрах при переходе к малополярным растворителям. Так, в хлористом метиле также наблюдается смещение максимума полосы

поглощения в длинноволновую область по сравнению с этанолом, увеличивается полуширина с 50 до 78 нм (рисунок). Полученные данные свидетельствуют о низкой диэлектрической постоянной окружения молекул ТИКС в сыворотке крови, что является характерным при образовании комплексов пигментов с биологическими макромолекулами [12]. Измерения степени поляризации флуоресценции показали, что в сыворотке она имеет значение 0,46, близкое к предельно возможному для неподвижных диполей. В этаноле, где время жизни молекул красителя в возбужденном состоянии такое же, как в сыворотке, степень поляризации составляет 0,26. Значение степени поляризации флуоресценции в сыворотке свидетельствует, что молекулы красителя за время жизни в возбужденном состоянии не успевают

изменить свою ориентацию в этой среде. Полученные поляризационные и спектральные данные свидетельствуют о том, что молекулы красителей в сыворотке крови связываются с биологическими макромолекулами.

В спектрах поглощения красителя в хлористом метиле, в отличие от спектров в сыворотке, на длинноволновом крае проявляется плечо в области  $\lambda=775$  нм. Вклад новой полосы в суммарный спектр поглощения возрастает при разбавлении раствора красителя от  $C=10^{-5}$ М до  $C=10^{-6}$ М. Введение в раствор соли – триметилбензиламмонийхлорида – в концентрации  $C=10^{-3}$ М приводит к исчезновению длинноволнового плеча и возрастанию поглощения в максимуме полосы. Нагревание раствора красителя в хлористом метиле от 14 до 50°C вызывает падение коэффициента поглощения в максимуме полосы и рост поглощения в длинноволновом плече. Наблюдаемые температурные изменения и солевые эффекты в спектрах поглощения красителя свидетельствуют о существовании в малополярных растворителях ионных пар различных типов. Полоса одной из них лежит в коротковолновой части спектра, а другой – в длинноволновой. Прочность пар зависит от природы аниона, температуры и от полярности растворителя [13, 14]. В связи с этим изменение одного из факторов приводит к смещению равновесия в сторону одного из типов ионных пар. Аналогичные эффекты рассматривались в работе [13] для индолениновых красителей иного строения.

Работа частично выполнена за счет средств Фонда фундаментальных исследований в рамках проекта Ф97-230.

1. Воропай Е.С., Самцов М.П., Луговский А.П. и др. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 1996. №3. С. 23.
2. Voropay E.S., Samtsov M.P., Lugovskiy A.P. et al. // Experimental Oncology. 1997. Vol. 19. №1. P. 56.
3. Воропай Е.С., Самцов М.П. // Современные вопросы оптики, радиационного материаловедения, информатики, радиофизики и электроники. Мн., 1997. С. 88.
4. Schastak S.I., Enzmann V., Jungel A. et al. // Laser Medizim. 1997. Vol.13. P. 50.
5. Воропай Е.С., Самцов М.П., Чалов В.Н. и др. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 1999. №1. С.8.
6. Diwu Z., Lown W.J. // Pharmac. Ther. 1994. Vol. 63. №1. P. 1.
7. Bellnier D.A., Potter W.R., Lurine A. et al. // Photochem. Photobiol. 1995. Vol. 6. № 5. P. 896.
8. Lipshutz G. S., Castro D. J., Saxton R.E. et al. // Laryngoscope. 1994. Vol. 104. P. 996.
9. Жаврид Э.А., Истомин Ю.П., Александрова Е.Н. и др. // Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии. Мн., 1999. С. 396.
10. Воропай Е.С., Данилевич В.В., Чернявский А.Ф. // Журн. прикл. спектр. 1993. Т.58. № 1–2. С. 13.
11. Воропай Е.С., Самцов М.П. // Современные вопросы оптики, радиационного материаловедения, информатики, радиофизики и электроники. Мн., 1996. Ч. 2. С. 97.
12. Кочубеев Г.А., Фролов А.А., Гуринович Г.П. // Химическая физика. 1989. Т. 8. №9. С. 1184.
13. Ищенко А.А. Строение и спектрально-люминесцентные свойства полиметиновых красителей. Киев, 1994. С. 232.
14. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. М. 1991.

Поступила в редакцию 03.01.2000.

