

02

Исследование спектральных свойств нековалентных комплексов водорастворимого полизамещенного производного фуллерена C₆₀ и хлорина е6 в полярных растворителях

© Н.С. Горячев^{1,2,5}, А.Ю. Белик¹, А.Ю. Рыбкин^{1,5}, П.А. Михайлов^{4,2}, О.А. Краевая¹, П.А. Трошин^{3,1}, А.И. Котельников^{1,2}

¹ Институт проблем химической физики РАН,
142432 Черноголовка, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Россия

³ Сколковский институт науки и технологий,
121205 Москва, Россия

⁴ Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН,
119991 Москва, Россия

⁵ Московский государственный областной университет,
105005 Москва, Россия

e-mail: kotel@icp.ac.ru

Поступила в редакцию 07.12.2018 г

В окончательной редакции 01.02.2019 г.

Принята к публикации 05.02.2019 г.

Методами абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии показано образование нековалентных комплексов на основе водорастворимого производного фуллерена (ВПФ) и хлорина е6, растворенных в воде или в этаноле, за счет электростатических взаимодействий. В результате образования таких комплексов происходит изменение спектра поглощения хлорина е6 со сдвигом в красную область и эффективное тушение интенсивности его флуоресценции. Константы тушения комплексов Штерн–Фольмера составляют $7.3 \cdot 10^5$ и $2 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$ в воде и этаноле соответственно. Показано, что в водном растворе в среднем комплекс состоит из 1 молекулы ВПФ и 3 молекул красителя, в то время как в этаноле это соотношение составляет 1:1.

DOI: 10.21883/OS.2019.06.47762.360-18

Введение

В настоящее время большое внимание в качестве потенциальных фотодинамических препаратов привлекают фуллерены и их производные. При возбуждении квантом света они с вероятностью, близкой к единице, переходят в триплетное состояние и в зависимости от полярности среды эффективно генерируют либо синглетный кислород $^1\text{O}_2$, либо супероксид анион-радикал O_2^- и другие активные радикалы [1]. Однако нативный фуллерен обладает слабым поглощением в красной области спектра, наиболее подходящей для фотодинамической терапии (ФДТ). Для решения этой проблемы предлагается создавать структуры, в которых фуллерен объединен с красителем, поглощающим свет в данной области спектра и далее передающим возбуждение или электрон на фуллерен [2–9].

В литературе имеется ряд работ, посвященных изучению комплексов фуллеренов с различными красителями: фталоцианином (с атомом Zn и без), Ni(2)-дипорфирином и порфирином [2–4]. Показано, что фуллерены с красителями образуют устойчивые некова-

лентные комплексы, в которых происходит перенос электрона, приводящий к тушению флуоресценции. Однако описанные в этих работах структуры на основе фуллерена C₆₀ и порфириновых красителей нерастворимы в воде и по этой причине малоприменимы для применения в биологии и медицине. В работах [5–7] были исследованы комплексы водорастворимых производных фуллеренов (ВПФ) с ксантоновыми красителями и водорастворимым производным фталоцианина — препаратом „Фотосенс“, применяющимся в клинической практике [8].

С точки зрения ФДТ особый интерес представляет краситель хлорин е6. В настоящее время его различные производные широко используются в клинической практике в качестве фотосенсибилизаторов [10,11]. Они обладают высоким поглощением в красной области спектра, низкой темновой токсичностью и долгим временем жизни триплетного состояния [12,13]. Объединив хлорин и фуллерен в одну структуру, можно ожидать значительного усиления ее фотодинамической активности. Взаимодействие π -орбиталей молекулы хлорина и ядра фуллерена приводит к изменению электрон-

ных и колебательных уровней возбужденного красителя как в составе нековалентного комплекса, так и при образовании ковалентных диад, в результате чего значительно изменяются как фотофизические свойства хлорина е6 (спектры поглощения и квантовый выход флуоресценции), так и эффективность генерации активных форм кислорода [9,14–16]. В результате такого взаимодействия открывается возможность переноса возбуждения или электрона с фотовозбужденного красителя на фуллерен, что, в конечном счете, может значительно усилить фотодинамическое действие диады хлорин–фуллерен [9]. На возможность такого эффекта в комплексах фуллеренов с хлорином ранее указывалось в патенте [17].

Создание гибридных наноструктур фуллерен–хлорин является одним из перспективных путей создания новых эффективных фотосенсибилизаторов, который привлекает множество исследователей. Полученные в настоящей работе данные могут представлять интерес с точки зрения исследования механизмов взаимодействия ВПФ с хлорином е6 при объединении их в одну гибридную наноструктуру, а также анализа поведения таких структур в полярных растворителях.

Материалы и методы

В работе исследовались фотофизические свойства нековалентных комплексов ВПФ–хлорин. Данные комплексы образуются при введении в раствор водорастворимых производных фуллерена C_{60} , которые имеют 5 положительных зарядов на аддендах, и водорастворимого производного хлорина е6, обладающего тремя отрицательными зарядами (схема).

В работе использовались водорастворимые поликатионные производные фуллерена, которые были получены путем присоединения к сфероиду фуллерена пяти аддендов, как описано в работе [18]. Синтез производного хлорина е6 описан в работе [9]. Производные фуллерена данного типа обладают высокой растворимостью в воде ($> 100 \text{ mg/ml}$). Структура ВПФ и хлорина е6 доказывалась методами ИК и УФ спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ^1H и ^{13}C и электроспрей–масс-спектрометрии. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Cary-60, спектры стационарной флуоресценции — на спектрофлуориметре Cary-Eclipse.

Спектры поглощения исходного красителя заметно отличаются в воде и в спиртовом растворе, максимумы поглощения Q -полос в воде и спирте составляют 643 и 663 nm соответственно. Исследование спектров стационарной флуоресценции хлорина показало похожую зависимость от растворителя, максимумы флуоресценции составляют 651 nm для водных растворов и 668 nm для этанола. Батохромные сдвиги поглощения и флуоресценции у производного хлорина при переходе от воды к спирту связаны с изменениями диэлектрической проницаемости среды.

Исследование спектров поглощения и спектров стационарной флуоресценции красителя при последовательном введении в кювету, содержащую раствор хлорина е6, возрастающих объемов раствора ВПФ показало, что при увеличении концентрации ВПФ происходит изменение спектра поглощения хлорина е6, сопровождающееся его смещением в красную область как в водном растворе, так и в растворе этанола (рис. 1, *a* и 2, *b*). Одновременно при добавлении ВПФ наблюдается интенсивное тушение стационарной флуоресценции красителей (рис. 1, *b* и 2, *b*).

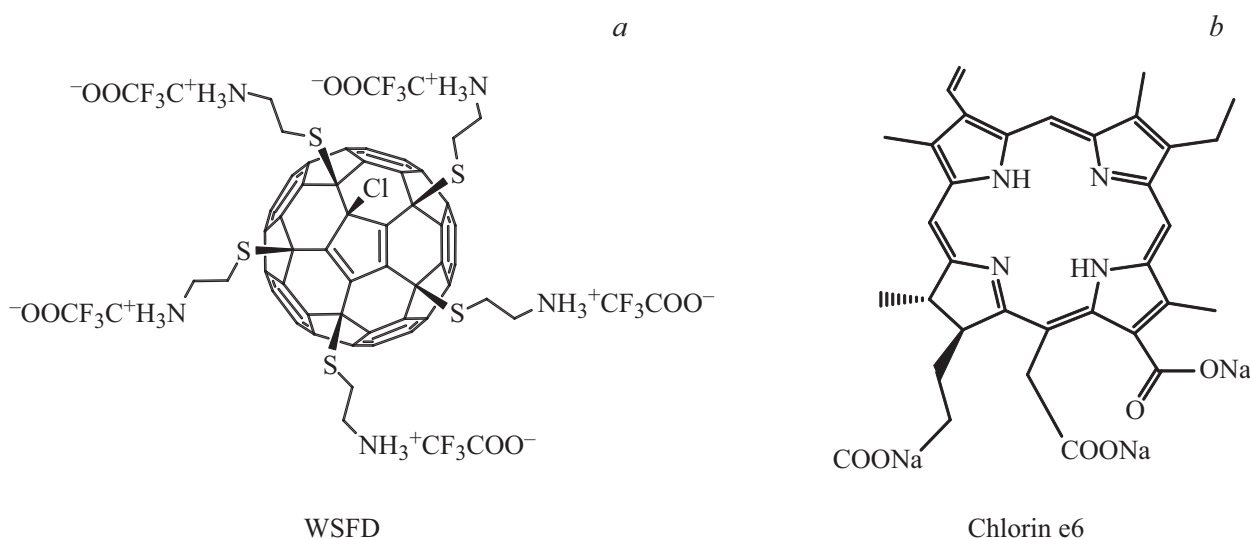


Схема.

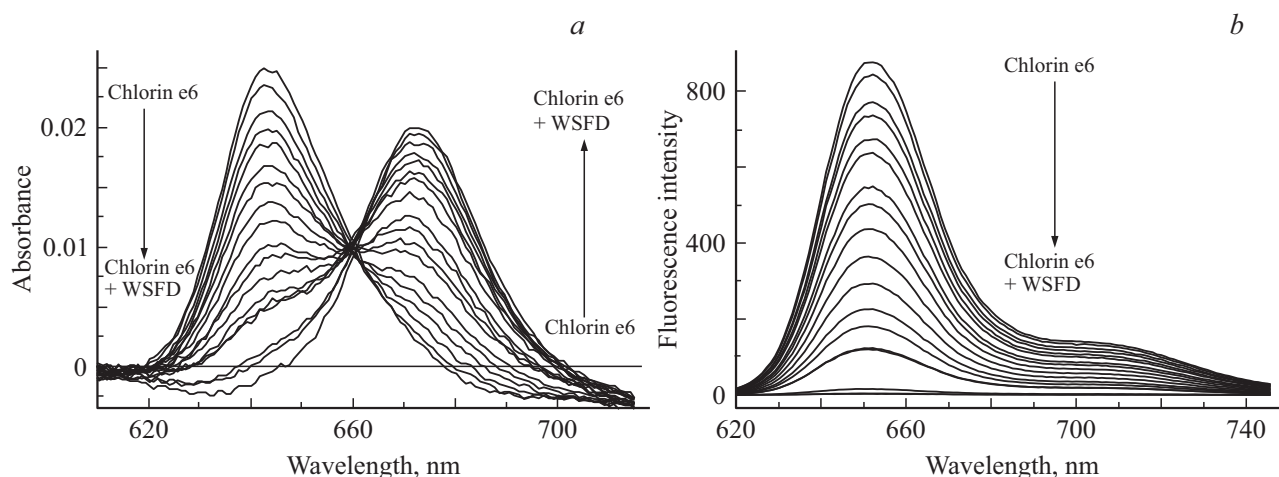


Рис. 1. Изменение спектров поглощения (а) и флуоресценции (b) хлорина е6 в водном растворе при последовательном добавлении ВПФ. Концентрация хлорина е6 — $5 \cdot 10^{-6}$ М, конечная концентрация ВПФ — $1.8 \cdot 10^{-6}$ М.

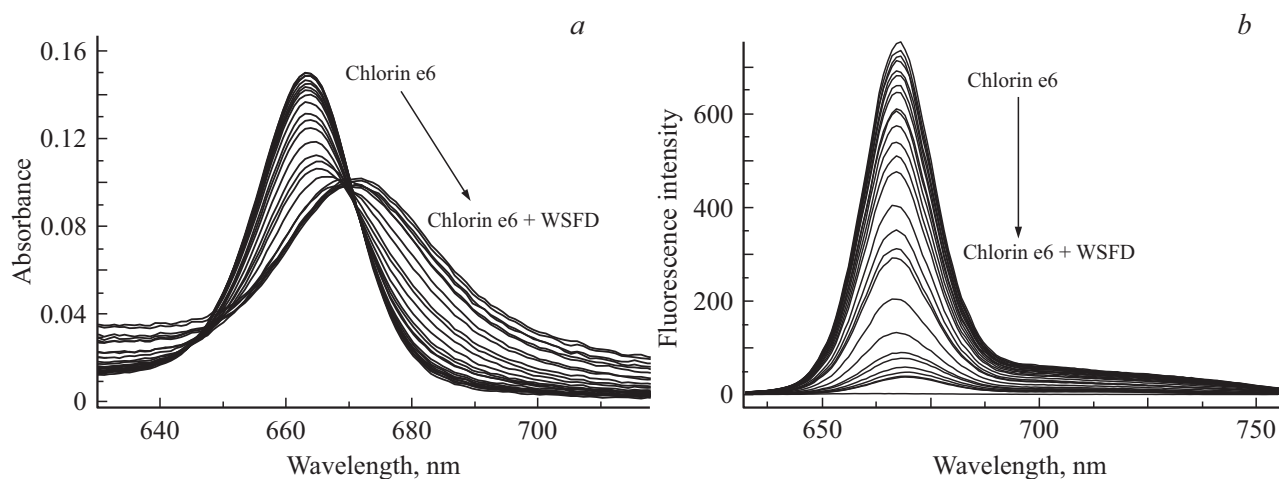


Рис. 2. Изменение спектров поглощения (а) и флуоресценции (b) хлорина е6 в этаноле при последовательном добавлении ВПФ. Концентрация хлорина е6 — $5 \cdot 10^{-6}$ М, конечная концентрация ВПФ — $9.2 \cdot 10^{-6}$ М.

Наблюдаемые эффекты позволяют сделать вывод, что в исследуемых растворах происходит образование нефлуоресцирующих статических комплексов ВПФ-хлорин. Сдвиг спектра поглощения красителя в структуру комплекса в красную область указывает на изменение электронных уровней комплекса по сравнению со свободным красителем, а тушение стационарной флуоресценции — на эффективный перенос электрона из возбужденного синглетного состояния красителя на ядро фуллера.

Из анализа спектров поглощения и флуоресценции можно рассчитать отношение молекул хлорин: ВПФ в составе комплекса. Допуская, что изменение флуоресценции пропорционально количеству потушенных (связанных) молекул хлорина и принимая, что их флуоресценция потушена полностью, было рассчитано соотношение количества добавленного ВПФ к потушенному хлорину при каждой концентрации ВПФ. Было уста-

новлено, что одна молекула ВПФ образует комплекс с 3 молекулами хлорина в воде и с 1 молекулой хлорина — в этаноле (рис. 3). Как видно из рис. 3, данные, посчитанные независимо по поглощению и флуоресценции, совпадают, что также подтверждает образование нефлуоресцирующих статических комплексов.

Анализ данных по тушению интенсивности стационарной флуоресценции красителей в координатах Штерна–Фольмера (рис. 4) позволяет из наклона линейного участка зависимости при минимальных значениях концентрации ВПФ определить константу тушения комплекса ВПФ-хлорин, на которую влияет как изменение ионной силы раствора, так и полярность растворителя. Константа тушения составляет $7.3 \cdot 10^5$ и $2.0 \cdot 10^5 \text{ М}^{-1}$ для воды и этанола соответственно (рис. 4). Высокие значения констант указывают на участие в образовании комплексов электростатических взаимодействий. Отклонение графиков в координатах Штерна–Фольмера от

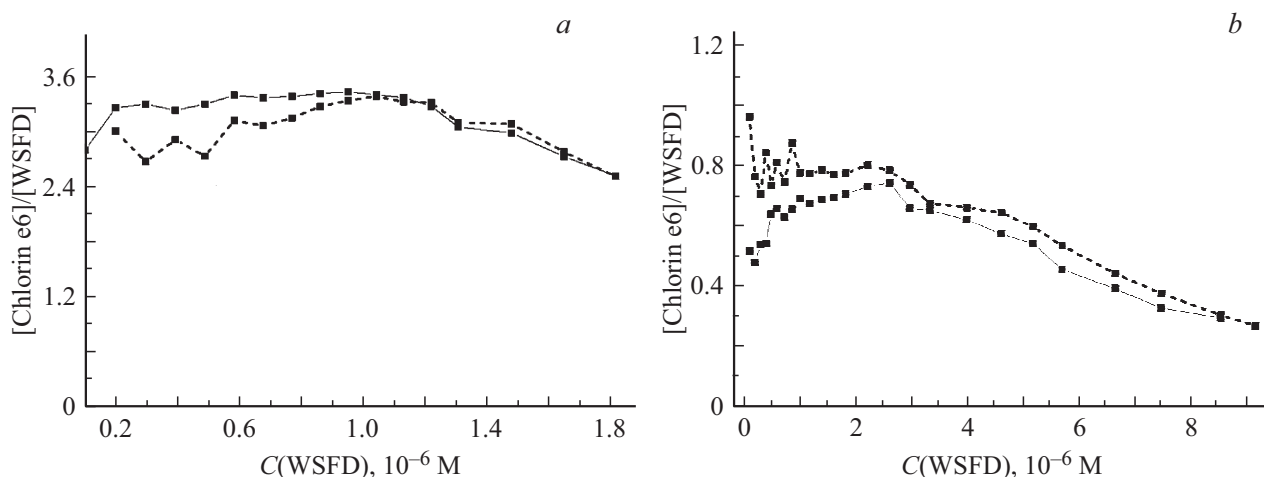


Рис. 3. Расчет отношения ВПФ: хлорин в составе комплекса в зависимости от концентрации ВПФ в воде (а) и спирте (б), расчет проводится по спектрам поглощения (сплошная кривая) и флуоресценции (штриховая кривая).

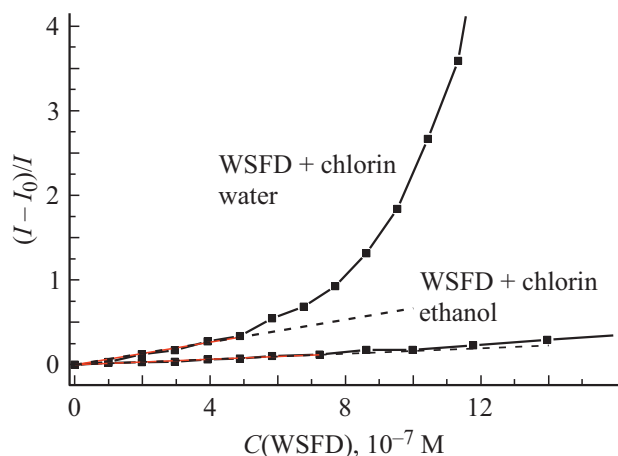


Рис. 4. Константы Штерна–Фольмера комплексов ВПФ-хлорин в воде и спирте.

линейных при повышении концентрации ВПФ можно объяснить вкладом динамического тушения или образованием более крупных ассоциатов краситель–фуллерен вплоть до наноструктур с размерами ~ 100 nm, как это было показано методом динамического светорассеяния для производных фуллерена подобного типа [5]. Весь набор спектров поглощения хлорина в воде был разложен на две компоненты, используя начальный и конечный спектры поглощения в качестве базовых. Качество разложения контролировалось по суммарному количеству различных форм хлорина, которое должно сохраняться на протяжении всего разведения. Аналогичным образом были разложены спектры поглощения хлорина в спирте (рис. 5). Как видно из спектров поглощения комплекса ВПФ-хлорин в воде и этаноле, представленных на рис. 5, Q -полосы поглощения хлорина при объединении его в комплекс с фуллереном смещаются в красную область спектра, что свидетельствует об изменении диэлектри-

ческого окружения, косвенно подтверждая образование статических комплексов.

В настоящей работе описаны результаты исследования спектральных и фотофизических свойств нековалентных комплексов, образующихся в полярных растворителях (воде и этиловом спирте) за счет взаимодействия полизамещенного катионного производного фуллерена с водорастворимым производным хлорина еб. Методами спектрофотометрии и стационарной флуориметрии было показано, что в водном растворе и в этаноле при взаимодействии поликатионного производного фуллерена и красителя хлорина происходит образование комплекса за счет электростатических взаимодействий, причем эффективность комплексообразования и структура комплексов зависят от полярности среды. Полу-

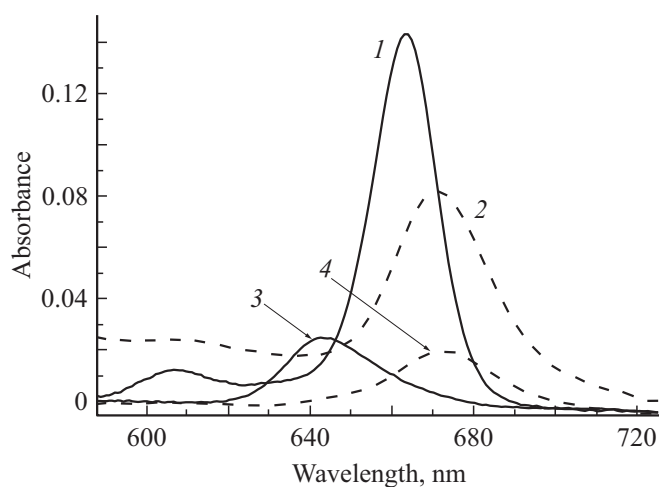


Рис. 5. Спектры поглощения свободного хлорина и комплекса ВПФ-хлорин. Концентрация хлорина еб (свободного и в составе комплекса) $5 \cdot 10^{-6}$ М. 1 — хлорин еб в этаноле, 2 — ВПФ-хлорин в этаноле, 3 — хлорин еб в водном растворе, 4 — ВПФ-хлорин в водном растворе.

ченные данные могут представлять интерес с точки зрения исследования механизмов взаимодействия ВПФ с хлорином еб и дальнейшей оценки их совместного фотодинамического действия.

Финансирование работы

Исследования поддержаны государственным заданием ФАНО (№ государственной регистрации 01201361875), синтез соединения ВПФ выполнялся в рамках гранта РФФИ № 15-29-01200 офи_м.

Список литературы

- [1] Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, Arakane K, Miyata N, Goda Y et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125. N 42. P. 12803-9. doi 10.1021/ja0355574
- [2] Ray A., Chattopadhyay S., Bhattacharya S. // *Spectrochim. Acta A.* 2011. V. 79. N 5. P. 1435–1442. doi 10.1016/j.saa.2011.04.083
- [3] Ray A., Santhosh K., Bhattacharya S. // *Spectrochim. Acta A.* 2011. V. 78. N 5. P. 1364–1375. doi 10.1016/j.saa.2011.01.011
- [4] Bhattacharya S., Hashimoto M., Fujimoto A., Kimura T., Uno H., Komatsu N. // *Spectrochim. Acta A.* 2008. V. 70. N 2. P. 416–424. doi 10.1016/j.saa.2007.12.004
- [5] Belik A.Y., Rybkin A.Y., Voronov I.I., Goryachev N.S., Volyniuk D., Grazulevicius J.V. et al. // *Dye Pigment.* 2017. V. 139. P. 65–72. doi 10.1016/j.dyepig.2016.11.025
- [6] Barinov A.V., Goryachev N.S., Poletaeva D.A., Rybkin A.Y., Kornev A.B., Troshin P.A. et al. // *Nanotechnologies Russ.* 2012. V. 7. N 7–8. P. 409–414. doi 10.1134/S1995078012040039
- [7] Kotelnikov A.I., Rybkin A.Y., Goryachev N.S., Belik A.Y., Troshin P.A. // *Opt. Spectrosc.* 2016. V. 120. N 3. P. 397–403. doi 10.1134/S0030400X16030152
- [8] Kotelnikov A.I., Rybkin A.Y., Goryachev N.S., Belik A.Y., Kornev A.B., Troshin P.A. // *Dokl. Phys. Chem.* 2013. V. 452. N 2. P. 229–232. doi 10.1134/S0012501613080046
- [9] Belik A.Y., Mikhailov P.A., Kraevaya O.A., Rybkin A.Y., Khakina E.A., Goryachev N.S. et al. // *Dokl. Phys. Chem.* 2017. V. 477. N 2. P. 222–226. doi 10.1134/S0012501617120065
- [10] Macdonald I.J., Dougherty T.J. // *J. Porphyrins Phthalocyanines.* 2001. V. 5. N 2. P. 105–129. doi 10.1002/jpp.328
- [11] Sternberg E.D., Dolphin D., Bruckner C. // *Tetrahedron.* 1998. V. 54. N17. P. 4151–4202. doi 10.1016/S0040-4020(98)00015-5
- [12] Ando T, Irie K, Koshimizu K, Takemura T, Hoyoku N, Akio I et al. // *Tetrahedron.* 1990. V. 46. N 17. P. 5921–5930. doi 10.1016/S0040-4020(01)87917-5
- [13] Zenkevich E., Sagun E., Knyukshto V., Shulga A., Mironov A., Efremova O. et al. // *J. Photochem. Photobiol. B.* 1996. V. 33. N 2. P. 171–180. doi 10.1016/1011-1344(95)07241-1
- [14] Ohkubo K., Kotani H., Shao J., Pandey R.K., Fujitsuka M., Ito O. et al. // *Angew. Chem.* 2004. V. 116. N 7. P. 871–874. doi 10.1002/ange.200352870
- [15] Tkachenko N.V., Rantala L., Tauber A.Y., Helaja J., Hynninen P.H., Lemmetyinen H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1999. V. 121. N 13. P. 9378–9387. doi 10.1021/ja9915605
- [16] Zheng G., Dougherty T.J., Pandey R.K. // *Chem. Commun.* 1999. V.24. P. 2469–2470. doi 10.1039/a906889i
- [17] Andreev S.M., Laptev V.P., Ovchinnikov A.E., Panferova N.G., Petrov V.V., Romanova V.S. // *Patent.* 2007. WO2007075119A1
- [18] Troshina O.A., Troshin P.A., Peregudov A.S., Kozlovskiy V.I., Balzarini J., Lyubovskaya R.N. // *Org. Biomol.Chem.* 2007. V. 5. N 17. P. 2783–91. doi 10.1039/b705331b