

УДК 535.37

ВЛИЯНИЕ ОКРУЖЕНИЯ НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ЛАНТАНОИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ.

II. Флуоресценция Yb комплекса мезотетрафенилпорфирина в растворах

Г. К. Чудинова, И. А. Наговицын, В. В. Савранский

Проведено сравнительное исследование влияния жирных кислот с различной длиной алифатического заместителя ($C_{15} - C_{23}$) и липида (L - α -фосфатидилхолин дипальмитоила) на флуоресценцию Yb комплекса мезотетрапорфирина (YbТФП) в растворах дихлорметана. Показано влияние на интенсивность флуоресценции YbТФП в видимой и ИК областях спектра добавленных в раствор жирных кислот и липида. Максимальную флуоресценцию YbТФП наблюдали в видимой области при соотношении YbТФП/стеариновая кислота = 3:2; YbТФП/липид = 2:3. Флуоресценция YbТФП в видимой области (680 нм) в растворах, содержащих арахидоновую кислоту (C_{20}), в 10 – 15 раз выше, чем в стеариновой кислоте (C_{18}) и бегеновой кислоте (C_{22}), но в ИК диапазоне (975 нм) флуоресценция в растворе со стеариновой кислотой в 4 – 8 раз выше, чем в растворах с добавлением других жирных кислот.

Yb комплексы порфиринов флуоресцируют в области 922 – 1040 нм с наиболее интенсивной полосой в области 974 – 980 нм [1, 2]. Недостатком ИК флуоресценции Yb комплексов является низкий квантовый выход: $10^{-4} - 10^{-5}$. В то же время использование маркеров, флуоресцирующих в ИК диапазоне, очень выгодно для методов биохимического и медицинского анализов с флуоресцентной регистрацией, так как позволяет пренебречь фоновой флуоресценцией белка и, тем самым, повысить чувствительность анализа.

Повысить эффективность флуоресценции можно встраиванием вещества в упорядоченные среды, такие как мицеллярные растворы и ленгмюровские пленки. В нашей группе впервые исследованы флуоресценция в ИК диапазоне и сенсibilизированная флуоресценция Yb^{3+} -, Dy^{3+} -, Tm^{3+} -комплексов мезотетрафенилпорфиринов в ленгмюровских пленках [3 – 6]. В дальнейшем Yb комплекс мезотетрафенилпорфирина был использован нами для создания чувствительной системы на основе ленгмюровских пленок для флуоресцентного иммуноанализа [3, 7].

Первая статья данной серии посвящена выбору условий максимальной флуоресценции водорастворимого Yb комплекса мезо(*p*-сульфофенил)порфирина в водных растворах поверхностно-активных веществ [8]. В настоящей работе исследовано влияние различных жирных кислот и липида в растворе дихлорметана на флуоресценцию в видимом и ИК диапазоне спектра нерастворимого в водной среде Yb комплекса мезотетрафенилпорфирина ($YbTФП$).

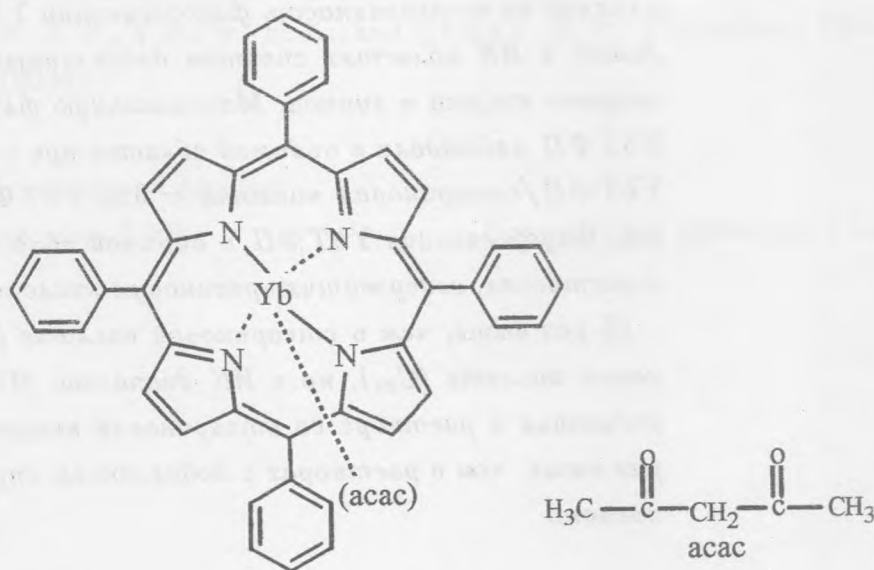


Рис. 1. Структурная формула Yb комплекса мезотетрафенилпорфирина.

Yb комплекс мезотетрафенилпорфирина был любезно предоставлен к.х.н. В. Д. Румянцевой (Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова). Методика синтеза и спектральные характеристики редкоземельных комплексов порфиринов представлены в работах [2, 9 – 11]. Структурная формула

Уб комплекса мезотетрафенилпорфирина приведена на рис. 1. В работе были использованы липид (*L*- α -фосфатидилхолин дипальмитоил) и жирные кислоты (фирма Sigma, США) с алифатическими заместителями различной длины: C_{15} (пентадекановая, ПК), C_{16} (гексадекановая, ГК), C_{18} (арахиновая, АК), C_{20} (стеариновая, СК), C_{22} (бегеновая, БК), C_{23} (трикосановая, ТК). Растворитель – дихлорметан – CH_2Cl_2 (фирма “Химмед”, Россия). Растворы УбТФП жирных кислот и липида готовили в концентрациях 10^{-3} М. Для спектральных измерений растворы разбавляли до концентраций 10^{-6} М и смешивали в необходимых объемных соотношениях. Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-VIS 3100, спектры флуоресценции на спектрофлуориметре Shimadzu 5001 (Япония). При измерении спектров флуоресценции щели возбуждения/эмиссии составляли 3/20 нм. Отметим, что в работе [12] флуоресценцию Уб комплексов порфиринов в растворах измеряли при щелях, составляющих 0.4 мм (возбуждения и эмиссии). Для того, чтобы уменьшить влияние рассеянного света, при измерении спектров флуоресценции использовали фильтр ЖС-16. Интегральная интенсивность флуоресценции – величина, использованная для представления результатов, – это площадь под кривой спектра флуоресценции, которую рассчитывали по программе Microcal Origin v. 5.0.

Спектры поглощения растворов УбТФП в дихлорметане (10^{-6} М) приведены на рис. 2. Для смесей УбТФП со стеариновой кислотой (рис. 2а) и для других жирных кислот (спектры не показаны) оптическая плотность уменьшается с уменьшением концентрации УбТФП. Диаграмма состав-оптическая плотность (при 420 нм) для УбТФП в смеси со стеариновой кислотой (рис. 2с, 1), как и с другими жирными кислотами близка к линейной зависимости, что говорит об отсутствии сильного взаимодействия между жирными кислотами и УбТФП. Влияние стеариновой кислоты сводится к простому разбавлению УбТФП (рис. 2а; с, 1). В растворах смеси с липидом оптическая плотность УбТФП уменьшается по сравнению с простым разбавлением нелинейно, максимум полосы Сорс сдвигается относительно ее максимума в спектре поглощения однокомпонентного раствора УбТФП (рис. 2б; с, 2). Полярная группа липида, по-видимому, взаимодействует с ионом U^{3+} и вызывает отклонение от линейности в диаграмме (рис. 2с, 2).

Спектры флуоресценции УбТФП в видимой области в растворе с липидом (рис. 3а) и с СК сдвинуты (рис. 3б) относительно положения полосы флуоресценции УбТФП (рис. 3а, спектр 1) в растворе без добавок. При определенном молярном соотношении липида и УбТФП (40% порфирина) флуоресценция комплекса возрастает в 4 раза (рис.

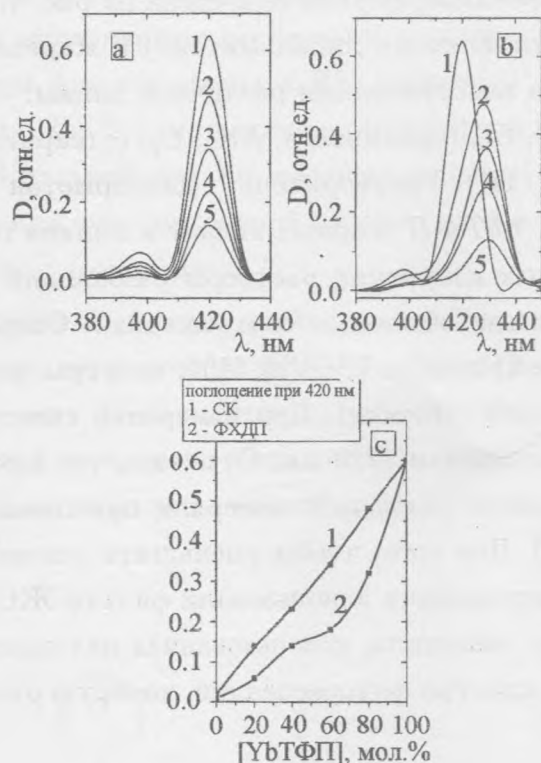


Рис. 2. Спектры поглощения $D(\lambda)$ раствора $YbTФП$ ($10^{-6} M$) со стеариновой кислотой (а) и с липидом (б) при различной объемной доле $YbTФП$ в смеси растворимых компонентов: 1 – 100%; 2 – 80%; 3 – 60%; 4 – 40%; 5 – 20% $YbTФП$ и диаграмма состав растворимых компонентов (vol.% $YbTФП$) – свойства (оптическая плотность D при 420 нм) (с).

За, спектр 4) по сравнению с однокомпонентным раствором $YbTФП$. Интенсивность флуоресценции без и в присутствии СК (20 – 40% мол.в растворенной компоненте) остается почти постоянной (рис. 3б, спектры 1 – 3), а при дальнейшем увеличении содержания СК (60 – 80% мол.) снижается в 1.5 – 2.2 раза (рис. 3б, спектры 4 – 6).

Ион Yb^{3+} также влияет и на флуоресценцию порфиринового макроцикла в видимой области. Собственную флуоресценцию безметального ТФП наблюдали при 660 нм (спектр не показан). Ион Yb^{3+} тушит собственную флуоресценцию ТФП. Раствор $YbTФП$ ($10^{-6} M$) имеет на этой длине волны флуоресценцию в 15 раз меньше по интенсивности, чем раствор ТФП той же концентрации (6 и 86 отн. ед., соответственно).

Добавление жирных кислот ($C_{15} - C_{23}$) в раствор $YbTФП$, по сравнению с добавлением липида (рис. 3а), незначительно влияет на интенсивность флуоресценции. Так,

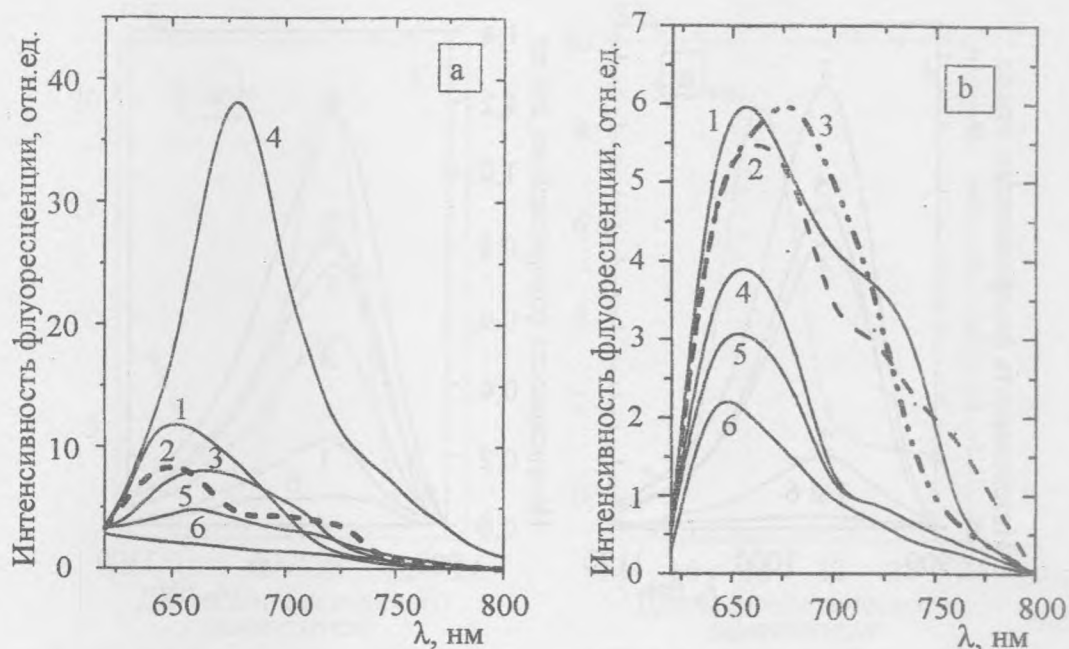


Рис. 3. Спектры флуоресценции в видимой области $YbT\Phi\Pi$ с липидом (а) и стеариновой кислотой (б) при различной объемной доле $YbT\Phi\Pi$ в смеси растворенных компонентов: 1 – 100 мол.% $YbT\Phi\Pi$; 2 – 80%; 3 – 60%; 4 – 40%; 5 – 20%; 6 – 100% липида или стеариновой кислоты.

при добавлении СК, изменение окружения $YbT\Phi\Pi$ сдвигает флуоресценцию в видимой области с 660 до 680 нм (рис. 3б, спектр 3). Аналогичный сдвиг максимума флуоресценции в видимой области спектра наблюдали и в случае других жирных кислот, тогда как в ИК области спектра максимум флуоресценции наблюдали на той же длине волны, что и в однокомпонентном растворе $YbT\Phi\Pi$.

Максимумы полос в спектрах ИК флуоресценции $YbT\Phi\Pi$ при различном содержании липида и СК находятся там же, где и максимумы флуоресценции $YbT\Phi\Pi$ в дихлорметане (рис. 4а, б). Следует отметить, что существуют оптимальные соотношения $YbT\Phi\Pi$ /липид = 3:2 и $YbT\Phi\Pi$ /СК = 2:3, при которых собственная флуоресценция в ИК области $YbT\Phi\Pi$ возрастает в 6 и 35 раз соответственно (рис. 4а, спектр 3; рис. 4б, спектр 4). Из сравнения влияния добавок на флуоресценцию в видимой и ИК областях можно предположить, что механизмы передачи энергии и высвечивания в видимой и ИК областях спектра различны. На флуоресценцию в ИК диапазоне, по-видимому, оказывает значительное влияние взаимодействие анионных групп липида и жирных кислот с ионом Yb^{3+} .

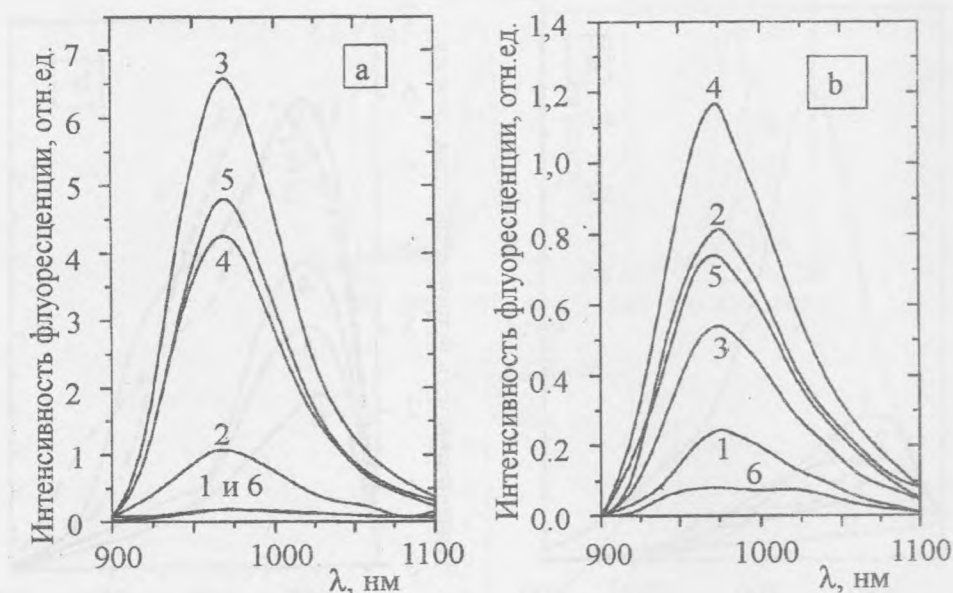


Рис. 4. Спектры флуоресценции в ИК области $YbT\Phi\Pi$ с липидом (a) и стеариновой кислотой (b): 1 – 100 мол.% $YbT\Phi\Pi$; 2 – 80%; 3 – 60%; 4 – 40%; 5 – 20%; 6 – 100% липида или стеариновой кислоты.

Наблюдаемая в ИК области спектра флуоресценция при этом может быть описана как собственная флуоресценция иона Yb^{3+} с $4f$ уровня; также происходит внутримолекулярный перенос энергии с триплетных уровней лиганда на резонансные уровни РЗИ [13, 14]. Как уже упоминалось, порфириновые комплексы Yb^{3+} флуоресцируют в области 922 – 1040 нм. Исследование Yb комплексов водорастворимых и неводорастворимых порфиринов в растворах и водно-липосомальных смесях при комнатной температуре и 77 K показали полное совпадение флуоресценции в твердой и жидкой фазах. Такое совпадение означает стабильность координационной сферы иона металла [15]. Результаты идентификации структуры Штарка уровней Yb^{3+} в некоторых комплексах Yb -порфиринов представлены в работе [16]. Данные о положении спектральных линий ИК флуоресценции Yb -комплексов тетрабензопорфирина для различных растворителей при 77 K и 300 K представлены в работе [17]. Отметим, что целью данной работы является экспериментально определить условия оптимального усиления флуоресценции исследуемого порфирина для его последующего использования в качестве маркера для иммуноанализа. Идентификация спектральных переходов при взаимодействии $YbT\Phi\Pi$ и таких веществ, как липиды и жирные кислоты, требует дальнейшего исследования.

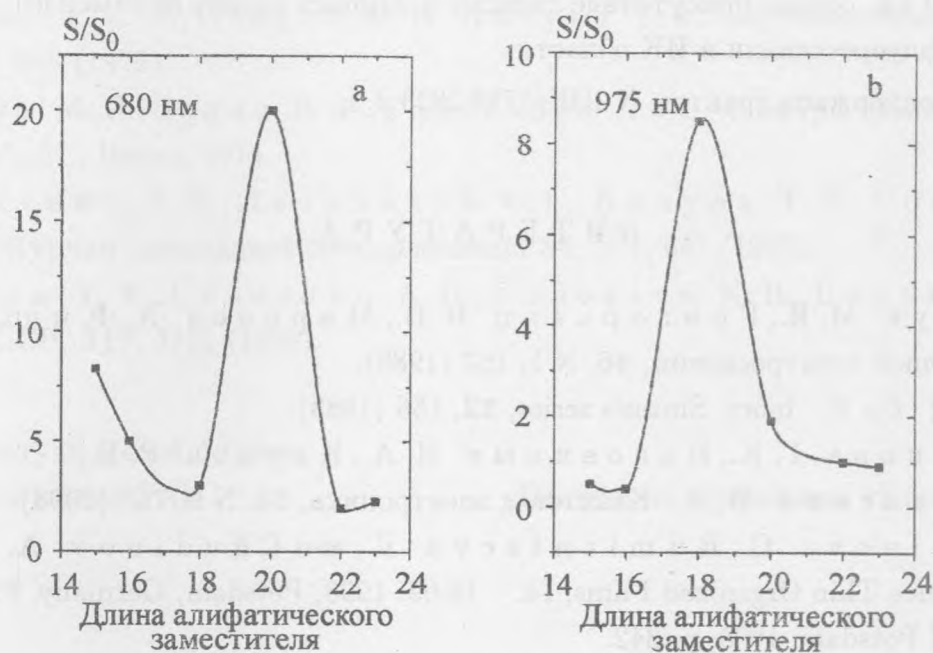


Рис. 5. Влияние длины алифатической цепи матрицы (жирной кислоты) на флуоресценцию комплекса $YbTbP$ в дихлорметане при 680 (a) и 975 (b) нм; S – интегральная интенсивность флуоресценции $YbTbP$; S_0 – интегральная интенсивность собственной флуоресценции $YbTbP$ в чистом дихлорэтане.

Влияние длины алифатических заместителей жирных кислот продемонстрировано на рис. 5. Наши измерения показали, что существует оптимальная длина алифатического заместителя, при которой флуоресценция максимальна. Флуоресценция $YbTbP$ (при 680 нм) в растворах, содержащих арахидоновую кислоту (C_{20}), в 10 – 15 раз выше, чем в СК (C_{18}), и бегеновой кислоте (C_{22}), но при 975 нм флуоресценция в растворе с СК в 4 – 8 раз больше. Для всех исследованных жирных кислот максимальную флуоресценцию в ИК диапазоне наблюдали при содержании 40 – 60 мол. % жирной кислоты в растворяемой смеси с $YbTbP$.

Таким образом, в результате проведенных исследований были выбраны оптимальные условия для флуоресценции Yb комплекса мезотетрафенилпорфирина. Интенсивность флуоресценции $YbTbP$ зависит от длины алифатического заместителя жирной кислоты и от соотношения $YbTbP$ и жирной кислоты или липида. Ион Yb^{3+} тушит собственную флуоресценцию мезотетрафенилпорфирина при 660 нм. В присутствии липида и жирных кислот максимум флуоресценции $YbTbP$ в видимой области сдви-

гается до 680 нм, однако присутствие липидов и жирных кислот не изменяет положения максимума флуоресценции в ИК области.

Работа поддержана грантом N НШ-1788.2003.2.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Г а й д у к М. И., Г р и г о р ь я н ц В. В., М и р о н о в А. Ф. и др. Журнал прикладной спектроскопии, **46**, N 1, 163 (1986).
- [2] W o n g С.- Р. Inorg. Sintesis series, **22**, 156 (1983).
- [3] Ч у д и н о в а Г. К., Н а г о в и ц ы н И. А., К а р п о в Р. Е., С а в р а н с к и й В. В. Квантовая электроника, **33**, N 9, 765 (2003).
- [4] С h u d i н о в а G., R u m i a n t s e v a V., and С h u d i н о в А. European Conference Thin Organized Films, 14. – 18.09. 1998, Potsdam, Germany, Proceedings. Univ. of Potsdam, 1998, p. 342.
- [5] С h u d i н о в а G., R u m i a n t s e v a V., and N a g o v i t s y n I. VIIIth International Conference on Spectroscopy and Chemistry of Porphyrins and their Analogs, Book of Abstracts, Minsk, Republic of Belarus, Sept. 22 – 26, 1998, p. 81.
- [6] Н а г о в и ц ы н И. А., Ч у д и н о в а Г. К., Р у м я н ц е в а В. Д., Л о б а н о в А. В. VI Международная конференция “Научно-технические технологии”, 25 – 29 октября 1999, Москва, Россия, тезисы докладов. МГАТХТ им. Ломоносова, 1999, с. 208.
- [7] Н а г о в и ц ы н И. А., Ч у д и н о в а Г. К. ДАН, **382**, N 2, 267 (2002).
- [8] Ч у д и н о в а Г. К., Н а г о в и ц ы н И. А., С а в р а н с к и й В. В. Краткие сообщения по физике ФИАН, N 7, 3 (2004).
- [9] G a i d u k M., G r i g o r y a n t s V., M i r o n o v A., and R u m y a n t s e v a V. Proc. Estonian Acad. Sci. Phys. Math., **40**, N 3, 198 (1991).
- [10] A d l e r A., L o n g o F. R., F i n a r e l l i J. D., et al. J. Org. Chem., **32**, 476 (1967).
- [11] W o n g С.- Р., V e n t e i c h e r R. F., H o r r o c k s W., and D e W. J. Am. Chem. Soc., **96**, N 22, 7149 (1974).
- [12] M e n g J. X., L i K. F., Y u a n J., et al. Chem. Phys. Lett., **332**, 313 (2000).
- [13] S o i n i E. and L o v g r e n T. Critical Reviews in Analytical Chemistry, **18**, 105 (1987).

- [14] Соловьев К. Н., Цвирко М. П., Качура Т. Ф. Оптика и спектроскопия, **40**, N 4, 648 (1976).
- [15] Гайдук М. И., Золин В. Ф., Гайгехова Л. С. "Спектры люминесценции европия", М., Наука, 1974.
- [16] Шушкевич И. К., Дворников С. С., Качура Т. Ф., Соловьев К. Н. Журнал прикладной спектроскопии, **34**, N 4, 647 (1981).
- [17] Качура Т. Ф., Севченко А. Н., Соловьев К. Н., Цвирко М. П. ДАН СССР, **217**, 1121 (1974).

ЦЕНИ Института общей физики

им. А. М. Прохорова РАН

Поступила в редакцию 21 июня 2004 г.