

Исследование ассоциации тетраметилтрибензотетраазахлорина в бинарных смесях полярных растворителей и в коллоидных растворах НП АВ

А. П. Ластовой,^{a,b}@ Г. В. Авраменко^a

^aРоссийский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125480 Москва, Россия

^bФедеральное государственное унитарное предприятие Государственный научный центр "НИОПИК", 123995 ГСП 5, Москва, Россия

@E-mail: a.p.lastovoj@mail.ru

В работе исследовано поведение безметалльного тетраметилтрибензотетраазахлорина (H_2TBAC) в бинарных смесях полярных растворителей; рассматривается иммобилизация H_2TBAC в коллоидных растворах неионогенных поверхностно-активных веществ (НПАВ). Посредством УФ-ВИД спектроскопии изучено явление ассоциации H_2TBAC в растворах НПАВ. Обосновано влияние условий и времени хранения растворов на ассоциацию H_2TBAC , иммобилизованного в растворах НПАВ. Описан вероятный механизм ассоциации H_2TBAC в бинарных смесях растворителей в результате образования сольватированных агрегатов, в электронных спектрах которых наблюдается значительное уменьшение интенсивности поглощения и уширение основных полос поглощения, что наиболее заметно для главного максимума Q-полосы. Ассоциаты, особенно в присутствии воды, имеют электронный спектр, существенно отличающийся от спектра мономерной формы исчезновением главного максимума Q-полосы при 748 нм, а также изменением формы ЭСП в области 550-650 нм и 670-780 нм, что является результатом образования агрегатов. Показана обратимость ассоциации при добавлении ДМСО как со-растворителя в количестве более 40% об. к растворам H_2TBAC в Pluronic F-68.

Ключевые слова: Тетраазахлорин, агрегация, *H*-ассоциат, *face-to-face*, УФ-ВИД спектроскопия, неионогенные ПАВ.

Investigation of Tetramethyltribenzotetraazachlorin Association in Binary Mixtures of Polar Solvents and in Colloidal Solutions of Nonionic Surfactant

Anton P. Lastovoy,^{a,b}@ and Gregory V. Avramenko^a

^aD. I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047 Moscow, Russia

^bResearch Institute of Organic Intermediates and Dyes, 123995 Moscow, Russia

@Corresponding author E-mail: a.p.lastovoj@mail.ru

The phenomena of association often occurs in concentrated solutions of porphyrins and their analogues, where high content of a substance leads to specific and nonspecific intermolecular interactions, changing their physico-chemical and spectral properties. Photochemical properties of porphyrin solutions including tetraazachlorins strongly depend on the degree of aggregation. The association suppresses the fluorescence and ability of these compounds to initiate formation of singlet oxygen, which is the basis for photodynamic therapy. Understanding the factors of tetraazachlorins aggregation in solution is important for selection of appropriate materials, preventing it, and for creation on their basis of pharmaceutical preparations containing tetraazachlorins as active components. In this paper we investigate the behavior of metal-free tetramethyltribenzotetraazachlorin (H_2TBAC) in binary mixtures of polar solvents and in colloidal solutions of nonionic surfactants. The phenomenon of H_2TBAC association in

solutions of nonionic surfactant is studied by means of UV-VIS spectroscopy. The influence of the conditions and time of storage solutions on the association of H₂TBTAC immobilized in a matrix of nonionic surfactant is substantiated. We describe the probable mechanism of H₂TBTAC association due to the formation of associates of a higher level. They are characterized by a significant decrease in the intensity of the absorption and broadening of the main absorption bands, it is noticed for the main Q-band maximum. Associates especially in the presence of water have the electronic spectrum, which differs from that of the monomeric form of the disappearance of the main Q-band maximum at 748 nm, and the change in the form of electronic spectrum in the range 550-650 nm and 670-780 nm. The reversibility of the association was observed when co-solvent (DMSO) in an amount of more than 40% vol. was added to aqueous solutions of Pluronic F-68 containing H₂TBTAC. We have hypothesized a face-to-face aggregation to take place in the investigated solutions. The specific solvation of tertiary nitrogen atoms of tetraazachlorin aggregates with proton-donor solvents (especially water) leads to the formation H-association of H₂TBTAC in binary solution. When H₂TBTAC is immobilized in colloidal solutions of nonionic surfactants degree of tetraazachlorin association depends on the hydrophilic-lipophilic properties of the high-molecular substance. The lower HLB increases the content of monomeric form in the solution.

Keywords: Tetraazachlorin, aggregation, H-associate, face-to-face, UV-vis spectroscopy, nonionic surfactants.

Введение

Тетраазахлорины являются гидрированными производными тетраазапорфина. В настоящий момент в литературе мало сведений об этих соединениях,^[1-5] ввиду чего изучение их физико-химических свойств представляет большой интерес. С точки зрения практической значимости, тетраазахлорины, как и большинство аналогичных соединений, имеют большой потенциал для применения, например, в качестве сенситизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний.^[6,7]

Явления ассоциации (агрегации) часто проявляются в концентрированных растворах порфиринов и их аналогов, при этом возникают специфические и неспецифические межмолекулярные взаимодействия, вследствие чего могут меняться физико-химические и спектрально-люминесцентные свойства порфиринов.^[8,9] Фотохимические свойства растворов порфиринов и их аналогов, в т.ч. тетраазахлоринов, сильно зависят от степени их ассоциации,^[10] что является критичным фактором при использовании этих соединений в ФДТ, т.к. при ассоциации гасится их флуоресценция и исчезает способность инициировать образование синглетного кислорода, что лежит в основе ФДТ.^[11-13] Изучение факторов агрегации тетраазахлоринов в растворах является важным моментом при выборе соответствующих веществ, ее предотвращающих, и для создания на их основе лекарственных препаратов, содержащих тетраазахлорины в качестве активных компонентов.

Достаточно много работ посвящено изучению влияния растворителей на агрегацию водорастворимых порфиринов.^[14-16] Существует два предельных типа агрегации. Первый тип – это *face-to-face* агрегация, характеризующаяся гипохромным и гипсохромным сдвигом полос в электронных спектрах поглощения (ЭСП) относительно полос мономерных форм и их значительным уширением.^[8,17-19] Ко второму типу относят *face-to-edge* агрегацию, которая характеризуется батохромным сдвигом полос поглощения и острыми максимумами, но, главным образом, в отличие от *face-to-face* агрегатов,

face-to-edge обладают сильной флуоресценцией.^[8,18,20] Последние исследования подтверждают, что агрегация имеет место как в неводных, так и в водных растворах. В литературе встречается мало упоминаний о применении НП АВ для предотвращения агрегации порфиринов в растворах.^[13,21] В связи с этим основной задачей нашей работы было объяснить природу изменений в ЭСП тетраметилтрибензотетраазахлорина в растворах НП АВ, смоделировав аналогичное поведение в бинарных смесях полярных растворителей.

Экспериментальная часть

Материалы

Безметалльный тетраметилтрибензотетраазахлорин (H₂TBTAC) (Рисунок 1) синтезирован в ФГУП ГНЦ «НИОПИК».^[22] В работе использовали ряд неионогенных ПАВ с различным значением гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ): Pluronic F-68 (Sigma) (ГЛБ 29), Lutrol F-127 (BASF) (ГЛБ 22) – блок-сополимеры этиленоксида и пропиленоксида, Cremophor EL (Fluka) (ГЛБ 12-14) – полиэтоксиллированное касторовое масло, а также Эмулсолы 2, 3 и 6 (опытные образцы ФГУП ГНЦ «НИОПИК»), которые представляют собой полигликолевые эфиры α-токоферола (Рисунок 1), отличающиеся содержанием этиленоксидных и пропиленоксидных блоков.

В качестве растворителей использовали бензол (для спектрофотометрии), тетрагидрофуран (ТГФ), хлороформ, этанол 95 %, ацетонитрил (HPLC-gradient grade), диметилсульфоксид (ДМСО, 98 % димексид), дистиллированную воду, фильтрованную через систему Milli-Q. Хлороформ предварительно перегоняли, остальные растворители использовали без очистки.

Электронные спектры поглощения (ЭСП) регистрировали на УФ-ВИД спектрофотометре Hewlett Packard 8453, используя кварцевые кюветы с длиной оптического пути 0,1, 0,2 и 1,0 см.

Получение коллоидных растворов неионогенных ПАВ с иммобилизованным H₂TBTAC

Навеску H₂TBTAC добавляли к расплаву Pluronic F-68, интенсивно перемешивая при нагревании. Добавляли дистиллированную воду, так, чтобы концентрация Pluronic F-68 составила 4 %, затем перемешивали до полного

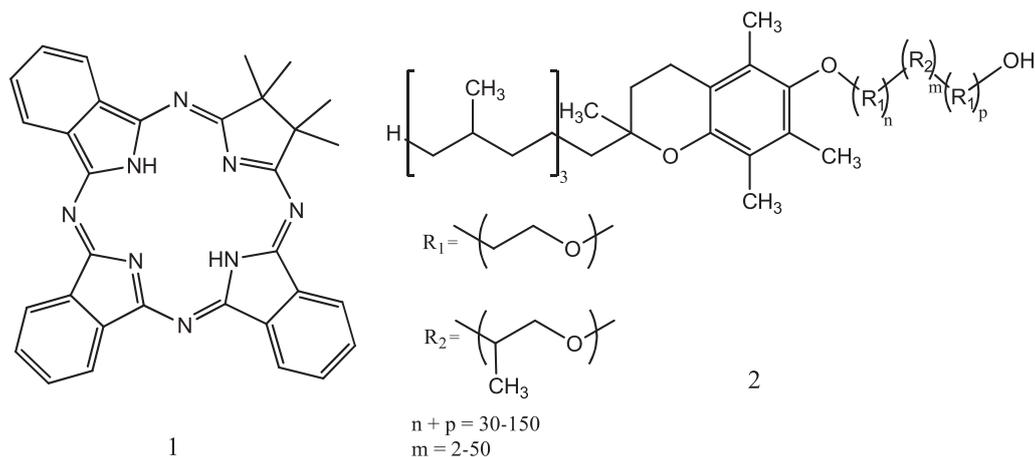


Рисунок 1. Структурные формулы $H_2TBTCAS$ (1) и Эмуксола (2).

растворения неионогенного ПАВ. Раствор фильтровали через поликарбонатную мембрану (Millipore, Type GS) с размером пор 0,22 мкм. ЭСП полученного раствора снимали относительно раствора 4 % Pluronic F-68 в кювете с длиной оптического пути $l = 1$ см. Аналогичную процедуру применяли при приготовлении растворов в других неионогенных ПАВ. Lutrol F 127, Stomphor EL, Эмуксолы 3, 6 и 2. ЭСП снимали непосредственно после приготовления растворов, а затем через каждые сутки в течение недели.

Количественное определение содержания $H_2TBTCAS$, иммобилизованного в коллоидном растворе НП АВ, проводили путем смыва невключенного $H_2TBTCAS$ с мембраны бензолом после фильтрования. Для этого в бюкс наливали 5 мл бензола и погружали предварительно высушенную мембрану с не-включенным $H_2TBTCAS$, герметично закрывали и оставляли до полной потери окраски мембраной. Полученный раствор осушали при помощи $CaCl_2$, затем снимали его ЭСП относительно бензола. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 748 нм 3 раза, затем находили ее среднее значение. По молярному коэффициенту поглощения для данной длины волны определяли содержание невключенного $H_2TBTCAS$. Зная массу загруженного и невключенного $H_2TBTCAS$, а также объем полученного раствора, находили концентрацию $H_2TBTCAS$, иммобилизованного в растворе НП АВ.

Исследование обратимости агрегации $H_2TBTCAS$, иммобилизованного в Pluronic F-68 разной концентрации

Навеску $H_2TBTCAS$ растворяли в 7 г расплава Pluronic F-68, непрерывно перемешивая. Добавляли 35 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивали при помощи магнитной мешалки до полного растворения Pluronic F-68. Разбавлением исходного 20 % раствора Pluronic F-68 с иммобилизованным $H_2TBTCAS$ получали 15 % и 10 % растворы. Готовили серию из 2 %, 3 % и 4 % растворов Pluronic F-68 с иммобилизованным $H_2TBTCAS$ путем разбавления каждого из исходных 20 %, 15 % и 10 % растворов смесью растворителей H_2O -ДМСО, с объемной долей ДМСО 40 % об., 50 % об., 60 % об., 70 % об. и 80 % об. Снимали ЭСП полученных растворов непосредственно после их приготовления относительно смесей того же состава, не содержащих $H_2TBTCAS$, и впоследствии каждые сутки в течение недели.

Результаты и их обсуждение

Влияние природы растворителя на агрегацию $H_2TBTCAS$

Электронный спектр поглощения $H_2TBTCAS$ в бензоле, представленный на Рисунке 2А, показывает присутствие нескольких интенсивных полос, обусловленных $\pi-\pi^*$ переходами: так называемая Q-полоса в виде дублета при 748 (с колебательными спутниками при 710 и 683 нм) и при 604 нм, а также широкая полоса Sore в УФ области, типичная для всех родственных порфиринам соединений. Молярный коэффициент поглощения тетраазахлорина в бензоле для главного максимума Q-полосы при 748 нм составляет $153000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Экспериментально было доказано, что в бензоле тетраазахлорин не склонен к ассоциации при концентрации менее $7,2 \cdot 10^{-5}$ М. Бензол является слабосольватирующим растворителем для $H_2TBTCAS$, в то же время он вступает в $\pi-\pi$ -взаимодействие с макроциклом тетраазахлорина, что и обуславливает растворение.

Изучение спектров поглощения $H_2TBTCAS$ в бинарных смесях полярных растворителей показало, что с ростом полярности системы растворителей происходит характерное уменьшение молярного коэффициента поглощения главного максимума Q-полосы (Таблица 1) и уширение ее главной составляющей, что говорит о процессах агрегации (Рисунок 2Б). Стоит отметить, что в полярных растворителях исчезает спутник Q-полосы при 710 нм. Кроме того, из Рисунка 2А видно, что спектр поглощения $H_2TBTCAS$ в бензоле имеет более разрешенные полосы по сравнению со спектром в хлороформе. В совокупности с уменьшением молярного коэффициента поглощения более чем в два раза (около $70000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) можно утверждать, что $H_2TBTCAS$ склонен к частичной агрегации в хлороформе. Несмотря на чрезвычайно низкую растворимость $H_2TBTCAS$ в ДМСО и этаноле, достигнутая степень растворения была достаточной, чтобы отразить влияние других полярных растворителей, сольватохромные изменения, а

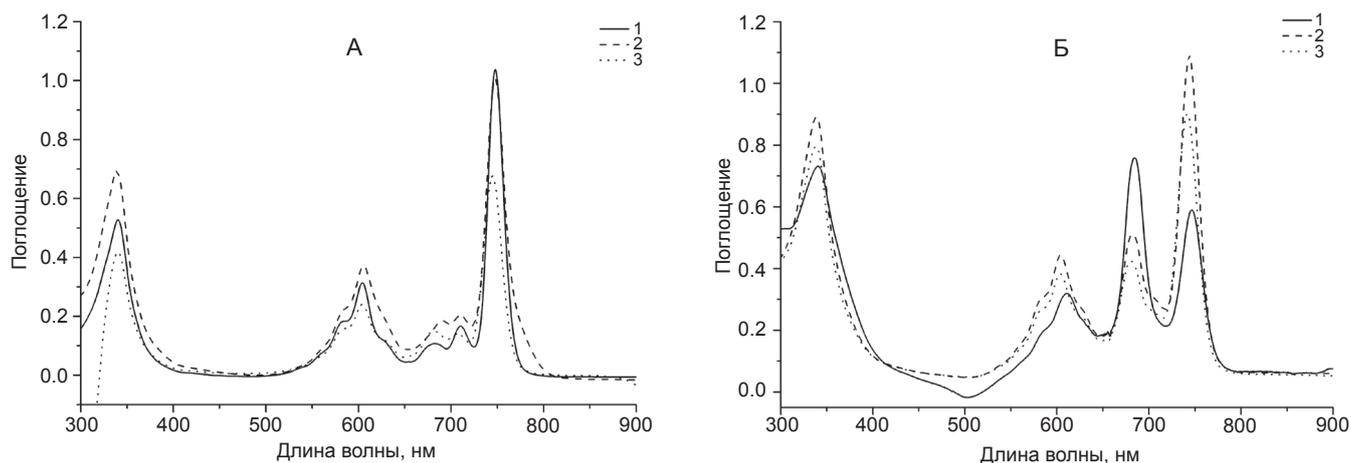


Рисунок 2. ЭСП H_2TBTAS при растворении в бинарных смесях растворителей. А: 1 – C_6H_6 $6,8 \cdot 10^{-6}$ М ($l = 1$ см), 2 – $CHCl_3$ $1,44 \cdot 10^{-5}$ М ($l = 1$ см), 3 – ДМСО-ТГФ (1:1) $6,95 \cdot 10^{-5}$ М ($l = 0,2$ см). Б: 1 – ДМСО $13,9 \cdot 10^{-5}$ М ($l = 1$ см), 2 – ДМСО- C_2H_5OH (95 %) (1:1) $6,95 \cdot 10^{-5}$ М ($l = 1$ см), 3 – ДМСО- CH_3CN (1:1) $6,95 \cdot 10^{-5}$ М ($l = 1$ см).

также смоделировать агрегацию для объяснения явлений ассоциации H_2TBTAS в растворах НПАВ.

Помимо очевидной *face-to-face* агрегации тетраазахлорина в ДМСО^[16,19] и бинарных смесях растворителей на его основе, нельзя пренебрегать специфической сольватацией H_2TBTAS молекулами растворителя. В литературе^[16,23] описываются случаи специфической сольватации порфиразинов различными растворителями. Утверждается, что при агрегации уменьшается макроциклический эффект, в связи с чем ослабевает экранирование координационного центра (H_2N_4), что делает его доступным для сольватации электронодонорными (ДМСО, MeCN, ТГФ) или протондонорными растворителями (C_2H_5OH , H_2O), причем протондонорные растворители вступают во взаимодействие с третичными атомами азота $=N-$, а электронодонорные во взаимодействие с центральными иминоводородами $-NH$, при этом формируются комплексы с переносом протона (КПП), называемые Н-ассоциатами. Образование КПП чаще

всего сопровождается батохромным сдвигом полос поглощения.^[23]

Нами было замечено, что при использовании воды в качестве одного из компонентов бинарного растворителя форма ЭСП тетраазахлорина существенно меняется. При увеличении содержания воды в бинарных смесях $C_2H_5OH-H_2O$ (Рисунок 3) наблюдается уменьшение интенсивности главного максимума Q -полосы и его батохромный сдвиг (Таблица 1), уширение всех полос поглощения, а также размытие второй составляющей Q -полосы при 605 нм и колебательных спутников при 684 и 706 нм. Все это говорит об образовании агрегатов, предположительно высокого порядка, причем настолько крупных, что часть из них выпадает в осадок. Анализ данных Таблицы 1 показывает, что для бинарной смеси протондонорных растворителей $C_2H_5OH-H_2O$ с увеличением акцепторного числа^[24] (т.е. с увеличением содержания воды в смеси) максимум главной составляющей Q -полосы батохромно сдвигается с 743 нм на 753 нм, что хорошо объясняется теорией образования КПП (Н-ассоциата).^[23]

Таблица 1. Сдвиги длины волны поглощения главного максимума Q -полосы в зависимости от вида растворителя (СС – слабосольватирующий, ПД – протондонорный, ЭД – электронодонорный).

Растворитель	Вид растворителя	Диэлектрическая проницаемость растворителей и их смесей ^[24]	Акцепторное число смесей растворителей ^[24]	Длина волны поглощения главного максимума Q -полосы, нм	Молярный коэффициент поглощения, л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹
C_6H_6	СС	2,3	–	748	152300
$CHCl_3$	слабый ПД	4,8	–	748	70000
ДМСО	ЭД	48,9	–	747	4250
ДМСО- C_2H_5OH (1:1)	ЭД+ПД	36,6	–	744	15700
ДМСО- CH_3CN (1:1)	ЭД+ЭД	43,2	–	741	13000
ДМСО-ТГФ (1:1)	ЭД+ЭД	28,2	–	745	48700
C_2H_5OH	ПД	24,3	37,9	743	15500
$C_2H_5OH-H_2O$ (4:1)	ПД+ПД	35,1	41,3	744	9200
$C_2H_5OH-H_2O$ (3:2)	ПД+ПД	46,0	44,7	748	2050
$C_2H_5OH-H_2O$ (1:4)	ПД+ПД	67,7	51,4	753	1330

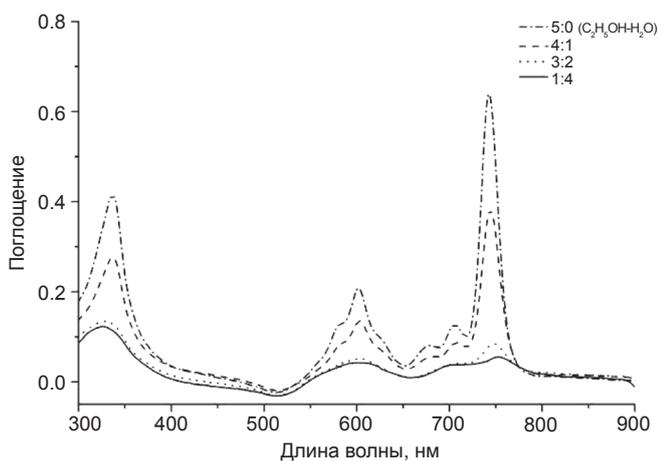


Рисунок 3. ЭСП H_2TBTAC ($4,13 \cdot 10^{-5}$ М) в $C_2H_5OH-H_2O$ с различным соотношением компонентов бинарной смеси растворителей.

Электронодонорные растворители не вызывают явного батохромного сдвига, в отличие от протонодонорных, однако изменение длины волны главного максимума Q -полосы, вероятно, тоже связано с сольватохромными эффектами. Все вышеописанные эксперименты позволили смоделировать и объяснить явления агрегации, наблюдаемые при иммобилизации H_2TBTAC в растворах НПВВ.

Ассоциация H_2TBTAC , иммобилизованного в растворах неионогенных ПАВ

На Рисунке 4А приведен спектр поглощения высокодисперсной суспензии ассоциатов H_2TBTAC , стабилизированной Pluronic F-68 (PIF68). Являясь полярным гибкоцепным ВМС, PIF68 обладает высоким сродством к воде (ГЛБ 29), образуя в ней сильно гидратированные молекулярные клубки. Исходя из общих понятий и законов коллоидной химии, макромолекулы

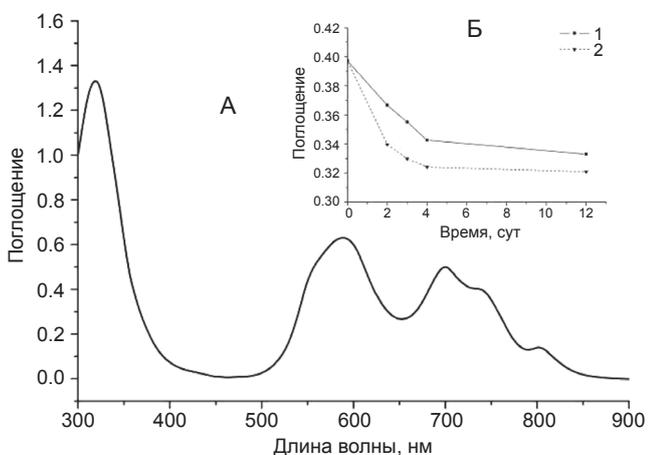


Рисунок 4. А: ЭСП H_2TBTAC , иммобилизованного в коллоидном растворе 4 % PIF68 (0,086 мг/мл, $l = 1$ см). Б: Уменьшение интенсивности поглощения H_2TBTAC в PIF68 на 740 нм при хранении (1 – в темноте, 2 – на свету).

данного ВМС в водном растворе располагаются таким образом, что метильные группы пропиленоксидных блоков обращены внутрь молекулярного клубка, образуя гидрофобное ядро, внутри которого происходит иммобилизация H_2TBTAC в результате адсорбции PIF68 на поверхности тетраазахлорина.

В то же время гидрофобное ядро молекулярного клубка остается достаточно проницаемым для воды, при этом взаимодействие между водой и H_2TBTAC оказывается сильнее, чем межмолекулярные взаимодействия PIF68 и тетраазахлорина, что приводит к его моментальной агрегации и изменению ЭСП. При этом происходит не только исчезновение главного максимума Q -полосы, уширение основных полос поглощения, но и появляется новая полоса на 802 нм. Похожие спектральные изменения мы наблюдали при растворении H_2TBTAC в бинарной смеси этанол-вода (Рисунок 3).

При иммобилизации H_2TBTAC в неионогенном ПАВ Lutrol F 127 (LuF127) тетраазахлорин находится частично в мономерной форме в свежеприготовленном растворе, что подтверждается присутствием четкого главного максимума Q -полосы при 746 нм (молярный коэффициент поглощения при 746 нм $12000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) с колебательными спутниками.

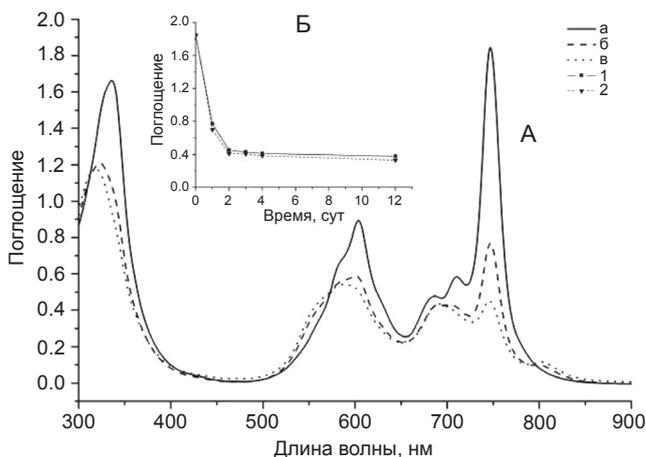


Рисунок 5. А: ЭСП H_2TBTAC , иммобилизованного в коллоидном растворе 4 % LuF127 (0,080 мг/мл, $l = 1$ см); а – свежеприготовленный, б – через сутки, в – через двое суток. Б: Уменьшение интенсивности поглощения H_2TBTAC в LuF127 на 746 нм при хранении (1 – в темноте, 2 – на свету).

Расположение макромолекулы LuF127 в водном растворе аналогично расположению Pluronic F-68, однако, за счет наличия большего количества пропиленоксидных блоков, LuF127 является более гидрофобным и лучше адсорбируется на H_2TBTAC , при этом ассоциация тетраазахлорина в водном растворе LuF127 происходит не так быстро, как в PIF68 (Рисунок 5А). Динамика агрегации тетраазахлорина в коллоидных растворах PIF68 и LuF127 (Рисунки 4Б, 5Б) позволяет утверждать, что со временем количество образовавшегося в системе ассоциата становится постоянным. В то же время результаты флуоресцентной спектроскопии показали их слабую флуоресценцию, что говорит о присутствии в системе незначительного количества мономерной

формы H_2TBVAC , т.к., в отличие от мономеров, *face-to-face* агрегаты не способны к флуоресценции. Было отмечено, что при хранении растворов H_2TBVAC в PIF68 и LuF127 на свету интенсивность поглощения главного максимума Q -полосы несколько ниже. При наличии мономерной формы под воздействием рассеянного солнечного света в растворах порфиринов начинают протекать фотохимические реакции, в результате чего молекулы мономеров H_2TBVAC могут разрушаться, что и приводит в нашем случае к несколько большему падению оптической плотности растворов, хранившихся на свету, по сравнению с растворами, хранившимися в темноте.

На Рисунке 6А приведен спектр поглощения H_2TBVAC , иммобилизованного в коллоидном растворе Cremophor EL (CrEL), причем в данном НПВ H_2TBVAC находится, по большей части в виде мономера, что подтверждается высоким значением молярного коэффициента поглощения при 748 нм ($48000 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$), формой ЭСП, а также высокой флуоресценцией. Высокая липофильность и разветвленная структура макромолекулы CrEL также обеспечивает хорошее экранирование H_2TBVAC от взаимодействий с водой, поэтому процесс ассоциации тетраазахлорина в растворе CrEL протекает достаточно медленно по сравнению с его ассоциацией в LuF127. Тем не менее, вода, содержащаяся в некотором количестве внутри гидрофобного ядра, образуемого молекулами CrEL, со временем вызывает частичную ассоциацию тетраазахлорина, о чем говорит динамика уменьшения интенсивности поглощения основного максимума Q -полосы при хранении раствора (Рисунок 6Б).

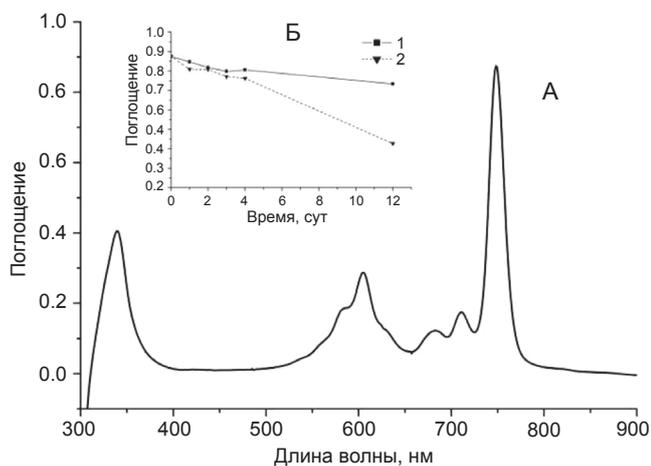


Рисунок 6. А: ЭСП H_2TBVAC , иммобилизованного в коллоидном растворе 10 % CrEL (0,096 мг/мл, $l = 0,1$ см). Б: Уменьшение интенсивности поглощения H_2TBVAC в CrEL на 748 нм при хранении (1 – в темноте, 2 – на свету).

При хранении раствора на свету было замечено его явное фотообесцвечивание. Спустя две недели оптическая плотность уменьшилась более чем в два раза. Данный факт косвенно подтверждает наличие в растворе большого количества фотоактивных мономеров.

Спектральные свойства тетраазахлорина в свежеприготовленных растворах разных марок Эмукола

аналогичны его спектральным свойствам в растворе CrEL (Рисунок 7А). В то же время содержание мономерной формы H_2TBVAC в свежеприготовленных растворах 4 % Эмукола разных марок, судя по коэффициентам молярной экстинкции при 748 нм (Эмукол 2 – $28100 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$, Эмукол 3 – $21000 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$, Эмукол 6 – $25300 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$), почти в два раза меньше, чем в растворе CrEL. Данные флуоресцентной спектроскопии также подтверждают присутствие мономерной формы H_2TBVAC в растворах Эмуколов, но в меньшем, чем в растворах CrEL, количестве.

Эмуколы являются аналогами PIF68 и LuF127. Наличие гидрофобного фрагмента в виде токоферола улучшает адсорбцию этих НПВ на поверхности макроциклов H_2TBVAC по сравнению с адсорбцией PIF68 и LuF127. Различное содержание этиленоксидных и пропиленоксидных фрагментов в Эмуколах разных марок приводит к разной степени экранирования тетраазахлорина от взаимодействий с растворителем и, как следствие, к разной скорости его ассоциации. При хранении растворов в течение 5 суток была отмечена явная ассоциация H_2TBVAC , иммобилизованного в Эмуколе 3 и 6 (Рисунок 7Б).

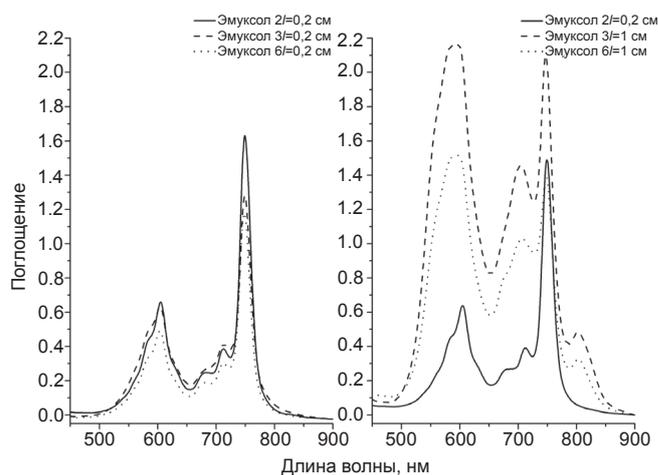


Рисунок 7. ЭСП H_2TBVAC , иммобилизованного в коллоидных растворах 4 % Эмукола разных марок: А – свежеприготовленные растворы, Б – через 5 суток (концентрация H_2TBVAC – в Эмуколе 2 0,152 мг/мл, в Эмуколе 3 0,160 мг/мл, в Эмуколе 6 0,122 мг/мл).

Мы предполагаем, что в коллоидных растворах НПВ H_2TBVAC присутствует в виде смеси мономерной формы и *face-to-face* агрегатов. Агрегаты, в отличие от мономерной формы, обладают слабой экстинкцией, имеют широкие полосы поглощения и не способны к флуоресценции. Форма ЭСП тетраазахлорина в свежеприготовленных растворах PIF68, а также в растворах LuF127 и Эмуколов после недели хранения, в целом совпадает с формой спектров агрегатов высокого порядка, полученных в бинарной смеси этанол-вода. Попытка объяснить поведение тетраазахлорина в растворах НПВ привела к выдвиганию следующей гипотезы. Чем более гидрофобен ПАВ, и, вероятно, чем более разветвлена его структура, тем сильнее он адсорбируется на макроциклах H_2TBVAC и экранирует

его от взаимодействия с водой, препятствуя агрегации.

CrEL не только препятствует агрегации, но и может способствовать частичному разрушению ассоциатов H_2 TBTAC в отличие от PIF68, который лишь предотвращает их дальнейшее укрупнение и седиментацию. Такое поведение было продемонстрировано в одном из опытов по моделированию агрегации в смесях растворителей. На Рисунке 8 представлены спектры H_2 TBTAC при растворении его в этаноле и водно-спиртовой смеси с последующим добавлением CrEL и PIF68. При добавлении CrEL к раствору H_2 TBTAC в спирте происходила дезагрегация H_2 TBTAC, увеличивалась интенсивность полос спектра, а при добавлении CrEL к раствору H_2 TBTAC в водно-спиртовой смеси, менялась и форма спектра. Добавление же PIF68 никаких изменений не вызывало. Это еще раз подтверждает различную способность CrEL и PIF68 адсорбироваться на поверхности макроциклов H_2 TBTAC и экранировать его от взаимодействия с растворителем.

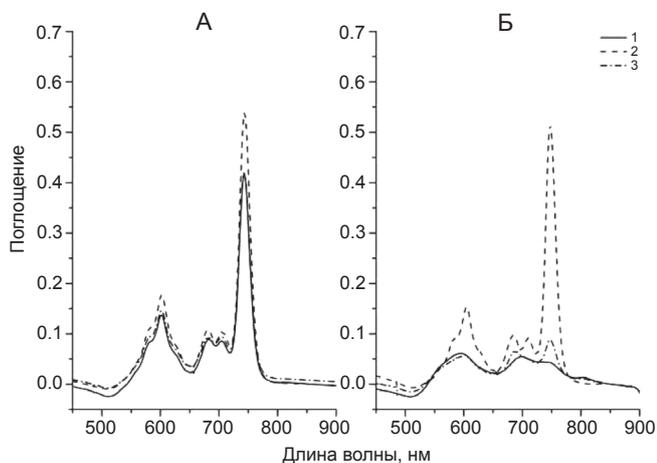


Рисунок 8. А: ЭСП H_2 TBTAC в C_2H_5OH (1) и при добавлении CrEL (2) и PIF68 (3); Б: ЭСП H_2 TBTAC в бинарном растворителе $C_2H_5OH+H_2O$ (1:1) (1) и при добавлении CrEL (2) и PIF68 (3).

Влияние ДМСО на разрушение агрегатов H_2 TBTAC, иммобилизованного в растворах Pluronic F-68 разной концентрации

На Рисунке 9 представлены спектры поглощения H_2 TBTAC в PIF68 при добавлении ДМСО в качестве со-растворителя. Непосредственно после добавления ДМСО в концентрации 60 % об. происходит разрушение агрегатов тетраазахлорина, при добавлении 70 % об. и более ДМСО коллоидная система мутнеет и теряет агрегативную устойчивость. Добавление 40 % об. и менее ДМСО не вызывает изменений ЭСП по сравнению с раствором тетраазахлорина, иммобилизованного в PIF68 (Рисунок 9А). Было отмечено, что чем больше в растворе содержится НПРАВ, тем быстрее происходит потеря системой агрегативной устойчивости. Так, в системах, содержащих 4, 3 и 2 % PIF68 и 60 % об. ДМСО, потеря коллоидным раствором агрегативной устойчивости наблюдалась спустя 1, 4 и 6 суток, соответственно.

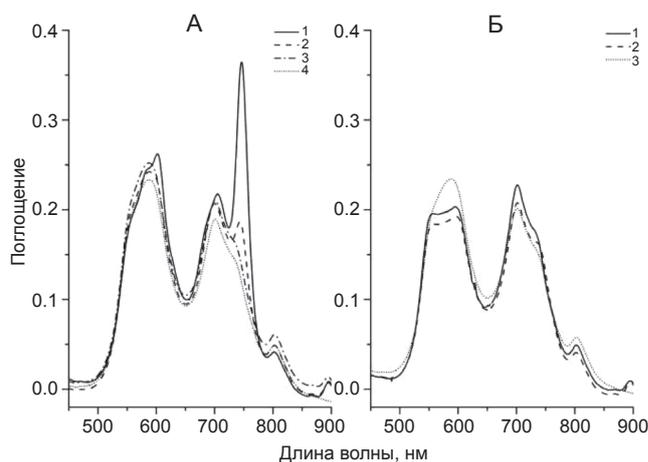


Рисунок 9. А: ЭСП H_2 TBTAC в растворе PIF68 при добавлении ДМСО (1 – 2 % PIF68 + 60 % об. ДМСО, 2 – 2 % PIF68 + 50 % об. ДМСО, 3 – 2 % PIF68 + 40 % об. ДМСО, 4 – 2 % PIF68 без ДМСО). Б: ЭСП H_2 TBTAC в растворе PIF68 при добавлении ДМСО по прошествии 9 суток (1 – 2 % PIF68 + 50 % об. ДМСО, 2 – 2 % PIF68 + 40 % об., 3 – 2 % PIF68).

Наблюдаемые явления связаны со способностью ДМСО сильно гидратироваться в водных растворах, изменяя при этом структуру воды. Такое явление называется гидротропией.^[25] При этом уменьшается сродство PIF68 к воде, что вызывает изменение конформации этого ВМС с конформации рыхлого молекулярного клубка, в виде которого он находится в водных растворах, на конформацию глобулы в присутствии ДМСО. Описанные конформационные изменения приводят к усилению межмолекулярного взаимодействия агрегатов H_2 TBTAC и PIF68, за счет чего и происходит их разрушение. Появление свободных мономеров H_2 TBTAC регистрируется по увеличению интенсивности поглощения главного максимума Q-полосы. Со временем, при достижении термодинамического равновесия, система приходит в начальное состояние (Рисунок 9Б).

Выводы

В настоящей статье представлены результаты исследований ассоциации H_2 TBTAC в бинарных смесях полярных растворителей и в коллоидных растворах НПРАВ. Нами была выдвинута гипотеза о том, что в исследованных растворах имеет место *face-to-face* агрегация, осложняющаяся в бинарных смесях растворителей специфической сольватацией третичных атомов азота тетраазахлорина протонодонорными растворителями (в особенности водой), что приводит к образованию сольватированных агрегатов (*H*-ассоциатов). При иммобилизации H_2 TBTAC в коллоидных растворах неионогенных ПАВ количество мономерной формы зависит от гидрофильно-липофильных свойств ВМС и его структуры, причем, чем лучше НПРАВ адсорбируются на поверхности макроциклов тетраазахлорина и чем сильнее экранируют его от взаимодействия с водой, тем больше мономерной формы H_2 TBTAC присутствует

в растворе. Данные результаты послужили основой для разработки технологии иммобилизации H₂ТВТАС в растворе CrEL, где было достигнуто наи-большее содержание мономерной формы по сравнению с остальными исследованными НПАВ, что позволило изучить фотодинамическую активность соединения *in vitro* и *in vivo*.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы. Авторы выражают благодарность Лукьянцу Е.А. за полезную дискуссию, а также Макаровой Е.А., Дудкину С.В. за предоставленные образцы тетраазахлорина и Калиниченко В.Н. за образцы Эмуксолов.

Список литературы

References

1. Makarova E.A., Luk'yanets E.A. *Uspekhi Khimii Porfirinov* **2007**, Vol. 5, 28-49 (in Russ.).
2. Makarova E.A., Lukyanets E.A. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, 13, 188-202.
3. Fukuda T., Kobayashi N. *Dalton Trans.* **2008**, 4685-4704.
4. Kuzmitsky V.A., Makarova E.A., Pershukevich P.P., Shushkevich I.K., Solovyov K.N., Tusov V.B. *Chem. Phys.* **2004**, 298, 1-16.
5. Dudkin S.V., Makarova E.A., Fukuda T., Kobayashi N., Lukyanets E.A. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2994-2996.
6. Robertson C.A., Hawkins Evans D., Abrahamse H. *J. Photochem. Photobiol., B* **2009**, 96, 1-8.
7. Nyman E.S., Hynninen P.H. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **2004**, 73, 1-28.
8. Yefimova S., Lebed A., Sorokin A., Guralchuk G., Borovoy I., Malyukin M. *J. Mol. Liq.* **2012**, 165, 113-118.
9. Juzenas P., Juzeniene A., Rotomskis R., Moan J. *J. Photochem. Photobiol., B* **2004**, 75, 107-110.
10. Schutte W.J., Sluyters-Rehbach M., Sluyters J.H. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 6069-6073.
11. Palewska K., Sworakowski J., Lipinski J., Nespurek S. *J. Photochem. Photobiol., A* **2011**, 223, 149-156.
12. Kostka M., Zimcik P., Miletin M., Klemnera P., Kopecky K., Musil Z. *J. Photochem. Photobiol., A* **2006**, 178, 16-25.
13. DeRosa M.C., Crutchley R.J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 233-234, 351-371.
14. Arslan S., Yilmaz I. *Polyhedron* **2007**, 26, 2387-2394.
15. Yarasir M.N., Kandaz M., Filiz Senkal B., Koca A., Salih B. *Polyhedron* **2007**, 26, 5235-5242.
16. Tarakanov P.A., Donzello M.-P., Koifman O.I., Stuzhin P.A. *Macroheterocycles* **2011**, 4, 177-183.
17. Bilgiçli A.T., Yaraşir M.N., Kandaz M., Rıza Özkaya A. *Polyhedron* **2010**, 29, 2498-2510.
18. Günsel A., Yaraşir M.N., Kandaz M., Koca A. *Polyhedron* **2010**, 29, 3394-3404.
19. Saka E.T., Gol C., Durmus M., Kantekin H., Bıyıklıoğlu Z. *J. Photochem. Photobiol., A* **2012**, 241, 67-78.
20. Goto K., Omae R., Yamaji M., Shinmyozu T. *J. Photochem. Photobiol., A* **2008**, 194, 92-96.
21. Zhientaev T.M., Melik-Nubarov N.S., Litmanovich E.A., Aksenova N.A., Glagolev N.N., Solov'eva A.B. *Vysokomolekulyarnye Soedineniya* **2009**, 5, 757-767 (in Russ.).
22. Barkanova S.V., Bystritskij G.I., Vorozhtsov G.N. *et al. Tetraazachlorins as Photosensitizers for Photodynamic Therapy of Cancer*. Patent 2278119 RF, MPK C07D487/22, C07F3/06, A61K31/40. FGUP «GNC «NIOPIK». – # 2004135497/04; published 20.06.2006 (in Russ.).
23. Berezin D.B. *Makrotsiklicheskiy effekt i strukturnaya khimiya porfirinov [Macrocyclic Effect and Structural Chemistry of Porphyrins]* Moscow: KRASAND, **2010**. 424 p. (in Russ.).
24. Moskva V.V. *Soros. Obrazovat. Zh.* **1999**, 4, 44-50 (in Russ.).
25. Pletnev M.Yu. *Kosmetiko-gigienicheskie mojuschie sredstva [Cosmetic and Sanitary Cleaners]*. Khimija, **1990**. 272 p. (in Russ.).

Received 27.06.2012

Accepted 24.11.2012