

СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ ПРИ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИИ С УЛЬТРАДИСПЕРСНЫМИ АЛМАЗАМИ ДЕТОНАЦИОННОГО СИНТЕЗА И БЕЛКАМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Н. В. Белько^{1,2*}, М. П. Самцов¹, Г. А. Гусаков¹, И. И. Хлудеев³,
А. П. Луговский¹, А. А. Луговский⁴

УДК 535.34;547.97

¹ НИИ прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко

Белорусского государственного университета,
220045, Минск, Беларусь; e-mail: nikita.belko@gmail.com

² Белорусский государственный университет,
220030, Минск, Беларусь

³ Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,
220013, Минск, Беларусь

⁴ Учреждение БГУ “Республиканский центр проблем человека”, 220045, Минск, Беларусь

(Поступила 5 февраля 2020)

Исследованы спектральные свойства молекул индотрикарбоцианинового красителя в процессе образования комплексов с ультрадисперсными алмазами в водных растворах. Образование комплексов сопровождается исчезновением полосы поглощения H^* -агрегатов при 514 нм и bathochromным смещением максимума длинноволнового поглощения с 706 до 718 нм. Спектр испускания красителя практически не изменяется, а максимум спектра возбуждения флуоресценции смещается с 706 до 710 нм. На основании анализа спектров ИК поглощения установлено, что в процессе комплексообразования красителя с ультрадисперсными алмазами важную роль играют карбоксильные группы в молекулах красителя. В присутствии сыворотки крови человека комплексы распадаются и молекулы красителя связываются с белками сыворотки крови, что подтверждается существенным увеличением времени жизни и степени поляризации их флуоресценции. Полученные комплексы могут применяться в качестве основы флуоресцентных биосенсоров.

Ключевые слова: цианиновые красители, ультрадисперсные алмазы, сыворотка крови, комплексообразование, абсорбционная спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия.

Spectral properties of an indotricarbocyanine dye upon complex formation with nanodiamonds in aqueous medium were studied. Complex formation is accompanied by the disappearance of the H^ -aggregated band at 514 nm as well as by a bathochromic shift of the electronic absorption peak from 706 to 718 nm. At the same time, the emission spectrum of the dye is almost unchanged, and the fluorescence excitation peak is shifted from 706 to 710 nm. Based on the analysis of IR absorption spectra, it was found that carboxyl groups in the dye molecules play an important role in the complex formation of the dye with nanodiamonds. In the presence of human blood serum, complexes break down and dye molecules bind to serum proteins, which is confirmed by a significant increase in the lifetime and fluorescence anisotropy. The complexes obtained can be used as a basis of fluorescent biosensors.*

Keywords: cyanine dyes, nanodiamonds, blood serum, complex formation, absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy.

SPECTRAL PROPERTIES OF AN INDOTRICARBOCYANINE DYE UPON COMPLEX FORMATION WITH DETONATION NANODIAMONDS AND HUMAN SERUM PROTEINS

N. V. Belko^{1,2*}, M. P. Samtsov¹, G. A. Gusakov¹, I. I. Khludееv³, A. P. Lugovski¹, A. A. Lugovski⁴

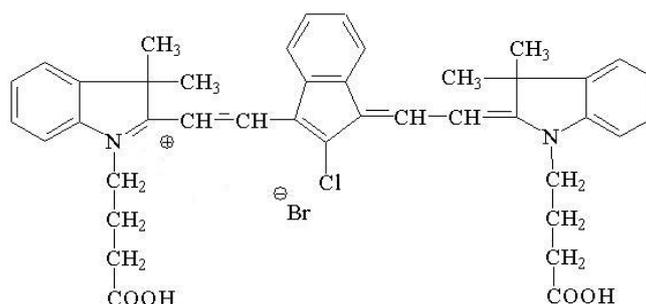
(¹ A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of the Belarusian State University, Minsk, 220045, Belarus; e-mail: nikita.belko@gmail.com; ² Belarusian State University, Minsk, 220030, Belarus; ³ Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, 220013, Belarus; ⁴ Belarusian State University, “Republican Center for Human Problems”, Minsk, 220045, Belarus)

Введение. Ультрадисперсные алмазы (УДА) являются малотоксичным, стабильным, химически инертным и биосовместимым наноматериалом [1—8], обладающим большой активной поверхностью [9]. Предпринимаются попытки использования УДА в медицине, например, для доставки лекарственных средств и визуализации биологических процессов [3, 8, 10—22].

Возможное направление развития флуоресцентных биологических зондов — создание комплексов наноалмазов с органическими красителями, молекулы которых обладают необходимыми спектрально-люминесцентными свойствами. В этом плане класс цианиновых (полиметиновых) красителей, широко используемых в науке и технике [23, 24], обладает рядом достоинств. Наиболее важным для обеспечения возможности их применения в биомедицине является расположение полос поглощения и испускания цианиновых красителей в спектральной области прозрачности биологических тканей (700—900 нм) [25, 26]. Вместе с тем многие соединения этого класса плохо растворимы в воде [23, 27—34]. В таком случае для обеспечения биосовместимости в структуру молекул вводятся заместители, обеспечивающие гидрофильность соединения [33, 35—37], или создают различные конъюгаты [34, 38]. Известно [16, 39], что УДА могут применяться для иммобилизации различных биологически активных веществ путем адсорбции либо создания ковалентно связанных комплексов. Способность УДА к направленной доставке органических молекул продемонстрирована *in vivo* [8, 16, 20, 21]. Роль УДА не ограничивается иммобилизацией органических молекул, они также способствуют усилению и расширению спектра действия некоторых лекарственных препаратов при их введении в состав конъюгатов с УДА [17, 40].

Цель данной работы — исследование спектрально-люминесцентных характеристик индотрикарбоцианинового красителя в процессе взаимодействия с наноалмазами детонационного синтеза, а также поведения таких комплексов в модельной биологической среде, содержащей сыворотку крови человека. Выбор красителя обусловлен тем, что данное соединение ранее применялось в качестве эффективного фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии [41].

Эксперимент. Индотрикарбоцианиновый краситель



хорошо растворяется в органических растворителях, но является гидрофобным. Водные растворы красителя получены путем введения стокового этанольного раствора красителя в воду. Концентрация этанола в водных растворах 5 об.%. После завершения процесса стабилизации спектра поглощения красителя в водном растворе (~100 мин после приготовления) [42] этот раствор смешивали с водной суспензией УДА в соотношении 1:1.

Исследования проведены с УДА детонационного синтеза марки УДА-ГО-СП (ЗАО “Синта”, Беларусь). Исходный порошок отжигали в вакууме (10^{-2} Па) в течение 1 ч при 750 °С. При таких условиях термической обработки на поверхности УДА содержится минимальное количество функциональных групп с преобладанием в приповерхностном слое большого количества оборванных связей атомов углерода, стабилизированных сопряженными полиеновыми системами [43]. Суспензия порошка УДА в воде при концентрации УДА 0.25 г/л готовилась в ультразвуковой ванне (частота ультразвука 35 кГц, мощность 60 Вт) в течение 45—60 мин при комнатной температуре. После ультразвукового воздействия суспензии обрабатывали в центрифуге в течение 60 мин при ускорении 1300g. Супернатант отделяли от осадка и использовали в экспериментах.

Образцы для регистрации спектров ИК поглощения готовили путем высушивания растворов естественным образом при комнатной температуре. Затем образцы досушивали при температуре 50 °С в течение 15 ч, перемешивали с порошком KBr в соотношении 1:500 и прессовали в таблетки. Исходный краситель в кристаллическом состоянии также исследовали в таблетках KBr. Сыворотку крови получали посредством свертывания образцов крови здоровых доноров и осаждения клеточного сгустка центрифугированием.

Спектры поглощения зарегистрированы на спектрофотометре SOLAR PV 1251 или спектрофотометре PerkinElmer Lambda 1050, спектры ИК поглощения — на Фурье-спектрометре Bruker Vertex 70. Спектры возбуждения, испускания и время жизни флуоресценции, степень поляризации флуоресценции измерены с помощью спектрофлуориметра SPEX Fluorolog. Время жизни флуоресценции определено методом коррелированного счета фотонов при возбуждении излучением полупроводникового лазера $\lambda = 650$ нм. Спектры флуоресценции красителя в присутствии сыворотки крови измерены при возбуждении лазерным излучением с $\lambda = 684$ нм с помощью спектрофлуориметра собственного производства.

Результаты и их обсуждение. Спектральная зависимость оптической плотности водной суспензии УДА представлена на рис. 1 (кривая 1). Форма спектра в логарифмическом масштабе аппроксимируется линейной функцией $\lg D = f(\lg \lambda)$ с коэффициентом корреляции >0.99 . Форма спектра не изменяется при уменьшении на порядок толщины слоя образца суспензии, что свидетельствует о пренебрежимо малом влиянии многократного светорассеяния. Линейность спектра в логарифмическом масштабе и отсутствие многократного рассеяния позволяют использовать установленную Геллером эмпирическую зависимость формы спектра от размеров рассеивающих частиц [44] для определения размеров наноалмазов в суспензии. На основании этой зависимости из спектров оптической плотности водных суспензий УДА рассчитан размер наноалмазов суспензии в диапазоне концентраций 0.2—1.0 г/л. Усредненное значение диаметра частиц с учетом полидисперсности УДА ~ 150 нм. В оптической плотности суспензии УДА в течение 1 месяца не наблюдалось изменений, что свидетельствует о седиментационной стабильности размера частиц за время проведения экспериментальных исследований. В спектре электронного поглощения водного раствора исследуемого красителя проявляются две интенсивные полосы (кривая 2). Как показано в [42], широкая полоса в области 600—800 нм обусловлена суперпозицией поглощения мономеров и димеров красителя с максимумами при 706 и 658 нм. Узкая полоса при 514 нм обусловлена присутствием в растворе H^* -агрегатов, которые представляют собой самоорганизующиеся из молекул красителя наноструктурированные объекты [42].

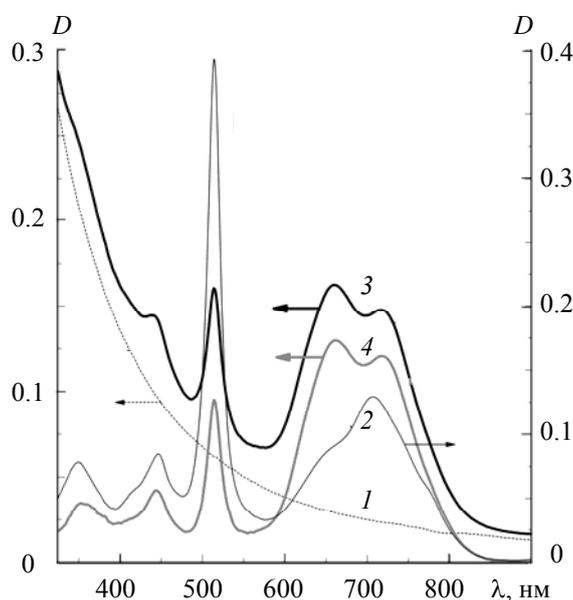


Рис. 1. Спектры поглощения: 1 — водной суспензии УДА концентрации 0.5 г/л; 2 и 3 — индотрикарбоцианинового красителя в воде при концентрации 5 мкМ и после смешивания в соотношении 1:1 этого раствора с водной суспензией УДА концентрации 0.25 г/л; 4 — результат вычитания из спектра 3 спектра 1 при концентрации красителя 2.5 мкМ и концентрации УДА 0.25 г/л; толщина слоя 1 см

При смешивании водной суспензии УДА и раствора красителя спектры поглощения представляют собой суперпозицию рассеяния УДА и поглощения красителя (рис. 1, кривая 3). Вычитание сигнала светорассеяния УДА из общего спектра позволяет выделить составляющую, обусловленную

поглощением красителя (кривая 4). В результате такого преобразования коротковолновый участок спектра приобретает форму, аналогичную спектру поглощения красителя в водно-этанольном растворе, что свидетельствует о неизменности размера УДА при введении в раствор красителя (~150 нм).

После смешивания с суспензией УДА спектр поглощения красителя претерпевает значительные трансформации. С течением времени происходит уменьшение оптической плотности в полосе поглощения H^+ -агрегатов при 514 нм с одновременным ее повышением при 660 и 718 нм (рис. 2, а, б). Через ~30 мин спектр поглощения суспензии, содержащей краситель и нанодиамазы, перестает изменяться. После стабилизации спектра дополнительное разбавление раствора водой практически не приводит к изменению его формы (рис. 2, в). В то же время при разбавлении в два раза исходного раствора красителя водой до смешивания с суспензией УДА уменьшается вклад коротковолновой полосы при 514 нм в спектр поглощения, хотя существенных качественных изменений формы полос не происходит (рис. 2, г). Это свидетельствует о том, что трансформации в спектре поглощения красителя в присутствии УДА невозможно объяснить снижением концентрации красителя.

В спектре поглощения красителя в присутствии УДА проявляются полосы с максимумами при 660 и 718 нм (рис. 3, кривая 1). В спектре слабоконцентрированного (0.5 мкМ) водного раствора, где проявляются только мономеры красителя, присутствует единственный максимум при 706 нм (кривая 2). В таком растворе мономеры красителя обладают флуоресценцией с максимумом при 738 нм, спектр возбуждения флуоресценции мономеров красителя по форме и положению совпадает со спек-

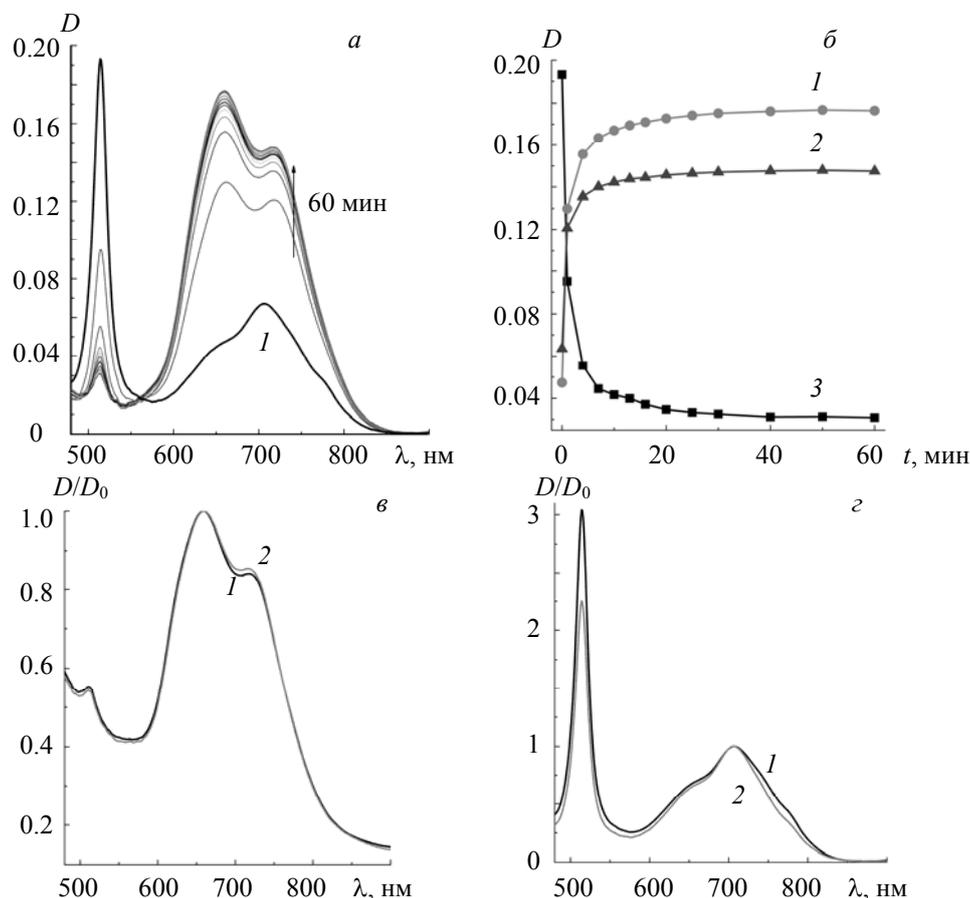


Рис. 2. Спектры поглощения (а) красителя после смешивания водного раствора с водной суспензией УДА в соотношении 1:1 в течение 60 мин и в отсутствие УДА (1); б — кинетика изменения оптической плотности в основных максимумах поглощения: 660 (1), 718 (2) и 514 нм (3); концентрация красителя 2.5 мкМ, концентрация УДА 0.25 г/л, толщина слоя 1 см; в — нормированные спектры поглощения через 60 мин после смешивания водного раствора индотрикарбоцианинового красителя с водной суспензией УДА в соотношении 1:1 (1) и после дополнительного разбавления водой в 2 раза (2); г — нормированные (при 706 нм) спектры поглощения исходного водного раствора красителя (1) и после его разбавления водой в соотношении 1:1 (2)

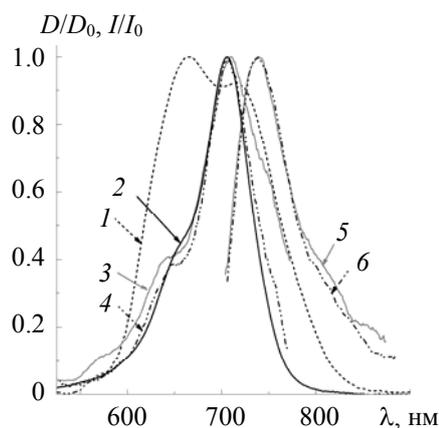


Рис. 3. Нормированные спектры поглощения (1, 2), возбуждения флуоресценции ($\lambda_{\text{рег}} = 800$ нм) (3, 4), испускания флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 690$ нм) (5, 6) красителя в водной суспензии УДА (1, 3, 5), мономеров красителя в водном растворе (2, 4, 6); концентрация УДА 0.13 г/л, концентрация красителя в суспензии УДА 1.3 мкМ, концентрация красителя в водном растворе 0.5 мкМ, толщина слоя 1.0 см

тром поглощения (кривые 2, 4, 6). В растворах с УДА спектры возбуждения и испускания флуоресценции красителя (кривые 3, 5) в целом схожи по форме с соответствующими спектрами красителя в водном растворе. При этом максимум спектра возбуждения флуоресценции красителя в присутствии УДА смещен с 706 до 710 нм и спектр имеет большую полуширину (1824 см^{-1} по сравнению с 1431 см^{-1} для свободных мономеров), а спектр испускания характеризуется несколько большей интенсивностью в длинноволновой области. Полученные результаты свидетельствуют о том, что полоса поглощения при 718 нм соответствует мономерам красителя, связанным с поверхностью УДА, а полоса с максимумом на 660 нм обусловлена поглощением димеров, которые не обладают флуоресценцией [42]. При этом флуоресценция содержащих УДА и краситель суспензий определяется испусканием мономеров красителя в воде, а также мономеров в составе комплексов УДА–краситель. Степень поляризации флуоресценции свободных мономеров красителя в водном растворе $31 \pm 2 \%$, а ее время жизни 0.5 ± 0.1 нс. Для красителя в суспензии УДА данные параметры имеют такие же значения в пределах ошибки измерений. Различия в степени поляризации и времени жизни флуоресценции, если и существуют, то не превышают 4 % и 0.2 нс. Полученные данные свидетельствуют о том, что основной вклад в спектры возбуждения и испускания флуоресценции вносят свободные мономеры красителя, хотя в соответствии со спектрами поглощения их доля в суспензии комплексов УДА–краситель мала. Длинноволновое крыло спектров возбуждения и испускания флуоресценции характеризует свечение мономеров, связанных с наноалмазами.

В связи с разнообразием химического состава поверхности наноалмазов в зависимости от условий их обработки [39, 45, 46] для комплексообразования с молекулами красителя выбраны образцы УДА, параметры которых изучены ранее [43]. Условия термической обработки (вакуумный отжиг при $750 \text{ }^\circ\text{C}$) позволили получить наноалмазы с минимальным количеством поверхностных функциональных групп [43]. Для используемых порошков на поверхности УДА преобладают группы $\geq\text{C-O-C}\leq$ в составе ангидридов кислот, эфиров, лактонов и эпоксидов [43]. На поверхности УДА также могут присутствовать полиеновые фрагменты [47, 48].

Поскольку в структуре молекул исследуемого красителя содержатся карбоксильные группы, существует возможность образования водородных связей между молекулой красителя и подходящими функциональными группами на поверхности наноалмазов. В работе [21] отмечено, что грани частиц УДА имеют разный электростатический потенциал — от положительного до отрицательного. Исследуемый краситель является катионным, следовательно, электростатические взаимодействия также могут способствовать его связыванию с УДА. Молекула красителя содержит протяженную π -электронную систему из полиметиновой цепи и ароматических концевых групп. Благодаря этому краситель обладает предрасположенностью к дисперсионным взаимодействиям [49]. Вследствие того что на поверхности наноалмазов присутствуют полиеновые фрагменты [47, 48], дисперсионные взаимодействия актуальны в комплексообразовании красителя с УДА.

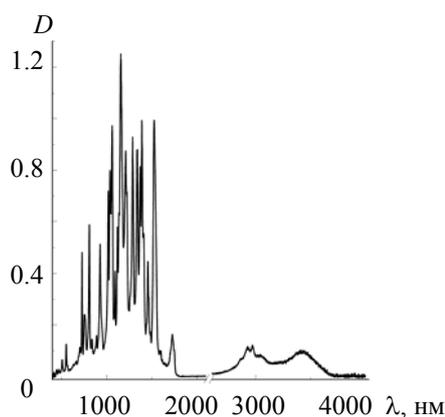


Рис. 4. Спектр ИК поглощения исходного красителя

Для установления природы связей, участвующих в образовании комплексов УДА–краситель, проанализированы спектры ИК поглощения. Приготовление комплексов происходит в несколько этапов: первый — растворение исходного красителя в этаноле; второй — введение стокового этанольного раствора в водную среду; третий — смешивание полученного водно-этанольного раствора красителя с водной суспензией УДА. В связи с этим проведено сравнение спектров ИК поглощения для трех образцов. Образец № 1 представляет собой исходный краситель в кристаллическом состоянии. Образец № 2 получен из водно-этанольного раствора красителя после окончания процесса H^* -агрегации (рис. 1, кривая 2). Образец № 3 приготовлен из водно-этанольного раствора красителя, смешанного с суспензией УДА (рис. 2, а). Отнесение полос в спектрах ИК поглощения выполнено на основании данных [50—52].

Спектр ИК поглощения исходного красителя приведен на рис. 4. В диапазоне $500\text{—}1600\text{ см}^{-1}$ в спектре проявляются деформационные колебания $C\text{—}H$ -связей, $C\text{—}C$ -связей углеродного скелета, а также $C\text{—}O$ -связей в карбоксиле. В диапазоне $1700\text{—}1760\text{ см}^{-1}$ проявляется полоса средней интенсивности, связанная с колебаниями связи $C=O$. Наконец, в диапазоне $2500\text{—}3700\text{ см}^{-1}$ наблюдаются широкие полосы валентных колебаний —OH -группы, на которые в диапазоне $2800\text{—}3100\text{ см}^{-1}$ накладываются полосы валентных колебаний связей $C\text{—}H$.

В процессе образования H^* -агрегатов красителя в водно-этанольном растворе и их распада при добавлении УДА (образцы № 2, 3) не происходит существенных изменений в форме и положении полос поглощения в диапазоне $500\text{—}1550\text{ см}^{-1}$. Основные изменения наблюдаются в областях поглощения гидроксильных и карбонильных групп. В связи с этим спектры образцов при проведении сравнительного анализа нормированы на интенсивность полосы поглощения с максимумом $1523\text{—}1527\text{ см}^{-1}$, которая связана с колебаниями углеродного скелета в ароматических кольцах. Полученные результаты приведены на рис. 5.

Для исходного красителя в диапазоне частот $2500\text{—}3700\text{ см}^{-1}$ (рис. 5, а) кроме полос валентных колебаний связей $C\text{—}H$ наблюдаются три широкие полосы с максимумами ~ 3420 , 3000 и 2550 см^{-1} , которые относятся к колебаниям гидроксильных групп. Полоса с максимумом $\sim 3420\text{ см}^{-1}$ может быть отнесена к колебаниям группы —OH в молекуле воды (адсорбированная влага). Полоса с максимумом $\sim 3000\text{ см}^{-1}$ и слабая полоса в диапазоне $2500\text{—}2700\text{ см}^{-1}$ обусловлены валентными колебаниями связанной группы —OH в карбоксиле красителя. Наличие полос поглощения в диапазоне $2500\text{—}3200\text{ см}^{-1}$ характерно для карбоновых кислот с сильными межмолекулярными водородными связями, возникающими между карбоксильными группами [50, 51]. Наличие водородных связей между карбоксильными группами подтверждается и формой полосы поглощения карбонила, представляющей собой дублет с максимумами 1725 и 1748 см^{-1} (рис. 5, б). Расщепление полосы поглощения карбонила часто наблюдается при димеризации карбоновых кислот, когда в образце одновременно присутствуют димеры и мономеры [53, 54]. Подобный эффект характерен для полимеров карбоновых кислот в кристаллическом состоянии [54, 55].

Для образца № 2, содержащего H^* -агрегаты красителя, в спектре ИК поглощения исчезают полосы ~ 3000 и $2500\text{—}2700\text{ см}^{-1}$ (рис. 5, а), что свидетельствует о полном отсутствии межмолекулярных связей по карбоксильным группам. Полоса адсорбированной воды заметно усиливается, причем преимущественно за счет связанных молекул (3250 см^{-1}). Проявляется также дополнительная полоса

поглощения с максимумом 1645 см^{-1} (рис. 5, б), соответствующая деформационным колебаниям группы $-\text{OH}$ в молекуле воды вследствие гидратации высвободившихся карбоксильных групп. Для полосы поглощения карбонила наблюдается высокочастотный сдвиг максимума с 1725 до 1735 см^{-1} (рис. 5, б), что свидетельствует об ослаблении водородных связей карбоксильной группы. Отсюда следует, что карбоксильные группы не участвуют в образовании H^* -агрегатов красителя. Можно предположить, что агрегация молекул красителя происходит за счет ван-дер-ваальсова взаимодействия.

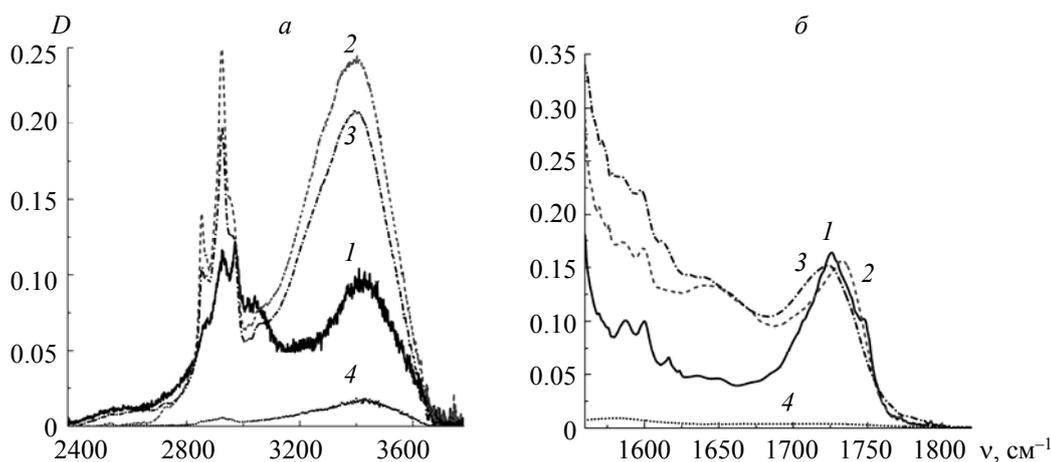


Рис. 5. Спектры ИК поглощения исходного красителя (1); образца № 2, полученного из водно-этанольного раствора красителя после окончания процесса самоорганизации H^* -агрегатов (2); образца № 3, изготовленного из водно-этанольного раствора красителя, смешанного с суспензией УДА (3); порошка УДА (4) в частотных диапазонах $2400\text{—}3500$ (а) и $1600\text{—}1800\text{ см}^{-1}$ (б)

При смешивании водно-этанольного раствора красителя и суспензии УДА (образец № 3) происходит падение интенсивности полосы электронного поглощения H^* -агрегатов (рис. 2, а) и рост в области поглощения димеров красителя при 660 нм . При этом в спектрах ИК поглощения вновь появляются слабые полосы при 3000 и $2500\text{—}2700\text{ см}^{-1}$ (рис. 5, а). Полоса поглощения карбонила испытывает низкочастотный сдвиг с 1735 до 1723 см^{-1} (рис. 5, б), что свидетельствует о возникновении водородных связей между карбоксильными группами, по-видимому, вследствие образования димеров. При этом отметим рост интенсивности полос в области $1550\text{—}1600\text{ см}^{-1}$ (рис. 5, б), которые можно отнести к поглощению ионизованной карбоксильной группы ($-\text{COO}^-$). В обсуждаемых диапазонах частот спектра ИК поглощения образца № 3 собственное поглощение УДА не вносит заметного вклада (кривая 4).

На основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что добавка УДА приводит к депротонированию части карбоксильных групп в молекулах красителя. При этом происходит смещение электронной плотности, приводящее к ослаблению ван-дер-ваальсова взаимодействия между молекулами красителя и разрушению H^* -агрегатов. Отсюда следует, что за взаимодействие с поверхностью нанодиазмов ответственны карбоксильные группы в молекулах красителя.

Предпринимаются попытки использования УДА для направленной доставки лекарственных веществ в живом организме [3, 8, 10, 16, 20, 21]. Для введения гидрофобного индотрикарбоцианинового красителя в биологические системы можно применить его иммобилизацию на нанодиазах. Связывание цианиновых красителей с биомолекулами приводит к существенным изменениям их спектрально-люминесцентных свойств [56—59] по сравнению с водными растворами. Ранее изучено изменение спектральных свойств индотрикарбоцианинового красителя при добавлении сыворотки крови человека в его водные растворы [60]. Показано, что по мере возрастания концентрации сыворотки от 0 до 2 об.% в водном растворе наблюдается сдвиг максимума поглощения красителя с 706 до 730 нм . Краситель связывается преимущественно с сывороточным альбумином человека (САЧ), причем максимум поглощения при 730 нм соответствует связанным молекулам красителя [60].

Для исследования влияния сыворотки крови на комплексы красителя с нанодиазами алиquotы сыворотки крови, обеспечивающие увеличение ее суммарной концентрации с шагом 0.25 об.%, добавляли в образец после того, как заканчивался процесс стабилизации формы спектра поглощения

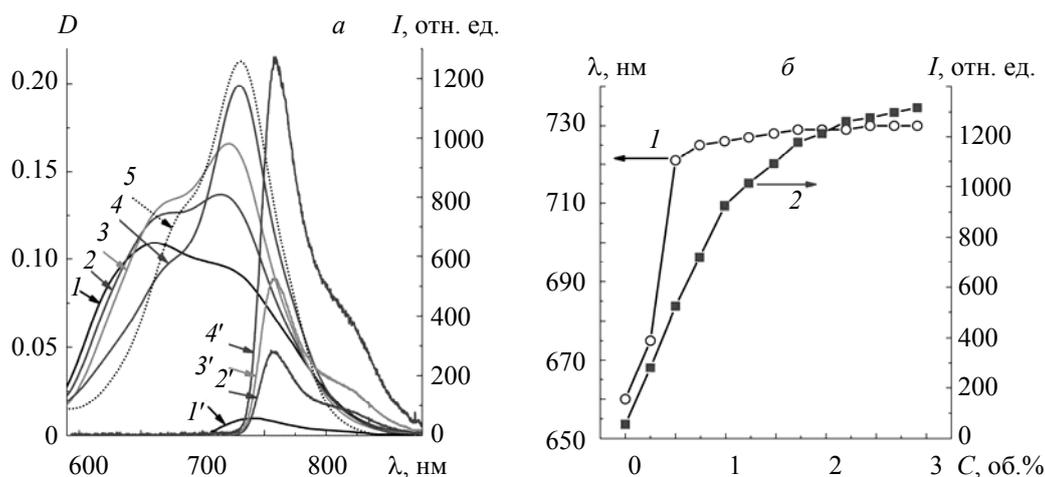


Рис. 6. Спектры поглощения (1—4) и флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 684$ нм) (1'—4') красителя в суспензии УДА при концентрации сыворотки крови 0 (1, 1'), 0.25 (2, 2'), 0.5 (3, 3'), 2.2 об.% (4, 4'); спектр поглощения водно-этанольного раствора красителя, содержащего 2 об.% сыворотки крови (5), при концентрации красителя 1 мкМ и толщине слоя 1 см (а); б — положение максимума спектра поглощения (1) и интенсивность в максимуме спектра флуоресценции (2) в зависимости от концентрации сыворотки крови; концентрация красителя 13 мкМ, концентрация УДА 0.49 г/л, толщина слоя 2 мм

водной суспензии комплексов УДА–краситель. При повышении концентрации сыворотки крови от 0 до 3 об.% в водной среде, содержащей комплексы красителя с наноалмазами, в спектре поглощения образца наблюдаются повышение оптической плотности и сдвиг максимума с 660 до 730 нм (рис. 6). При этом максимум спектра флуоресценции смещается с 738 до 756 нм, а интенсивность возрастает в ~ 20 раз (рис. 6, б). Положение максимума поглощения выходит на постоянное значение при концентрации сыворотки ~ 2 об.%. Спектр поглощения приближается к спектру раствора красителя, содержащего 2 об.% сыворотки крови, но не содержащего УДА (рис. 6, а, кривая 5).

Первоначальный батохромный сдвиг полосы поглощения при добавлении 0.25 об.% сыворотки крови может быть связан с распадом димеров красителя на мономеры. Поскольку мономеры красителя обладают флуоресценцией в отличие от димеров [42], распад последних приводит к усилению интенсивности свечения. При дальнейшем повышении концентрации сыворотки мономеры красителя связываются с биомолекулами, в результате чего наблюдаются дальнейшее батохромное смещение максимума поглощения и увеличение интенсивности флуоресценции. О связывании красителя с биомолекулами свидетельствуют значительное увеличение времени жизни его флуоресценции до 1.8 ± 0.1 нс, а также рост степени поляризации флуоресценции до 43 ± 2 % в растворах, содержащих 3 об.% сыворотки крови человека. Изменение формы спектра поглощения при введении сыворотки крови указывает на распад комплексов красителя с наноалмазами в присутствии биомолекул. При этом спектры поглощения и флуоресценции красителя в присутствии сыворотки крови человека для растворов, полученных с комплексами УДА–краситель или при введении красителя через стоковый раствор, совпадают по форме и положению. Также для обоих растворов совпадают время затухания 1.8 ± 0.1 нс и степень поляризации 43 ± 2 % флуоресценции красителя. Такое совпадение спектрально-люминесцентных свойств красителя свидетельствует о том, что в обоих случаях молекулы красителя локализованы в одних и тех же сайтах связывания с биоструктурами.

На основании полученных данных можно заключить, что после попадания в среду с сывороткой крови молекулы красителя десорбируются с поверхности УДА и переносятся преимущественно в составе комплексов с молекулами САЧ, к которым они демонстрируют сродство согласно [60]. Десорбция красителя с наноалмазов в присутствии сыворотки крови свидетельствует о более прочном связывании красителя с компонентами сыворотки крови, чем с УДА.

Заключение. В водной среде индотрикарбоцианиновый краситель образует комплексы с ультрадисперсными алмазами. Комплексы характеризуются максимумом поглощения, батохромно смещенным относительно спектра свободных мономеров красителя. Связывание красителя с наноалмазами приводит к частичному тушению флуоресценции, а ее время жизни и степень поляризации практиче-

ски не изменяются. В соответствии со спектрами ИК поглощения ведущую роль в комплексообразовании играют карбоксильные группы молекул красителя.

В присутствии сыворотки крови человека комплексы УДА–краситель распадаются, и молекулы красителя связываются с компонентами сыворотки. При этом максимум поглощения красителя смещается bathochromно, а интенсивность, степень поляризации и время жизни флуоресценции существенно возрастают. Данные наблюдения свидетельствуют о том, что молекулы красителя более прочно связываются с белками сыворотки крови, чем с наноалмазами.

Комплексы УДА–краситель могут рассматриваться в качестве эффективных флуоресцентных зондов, флуоресценция которых включается при связывании красителя с белками сыворотки крови. Излучение флуоресценции с максимумом при 756 нм попадает в окно наибольшей прозрачности биологических тканей [25, 26], не перекрывается с люминесценцией эндогенных молекул [61] и может использоваться для биомедицинской диагностики *in vivo*. Инфузионные растворы гидрофобного индотрикарбоцианинового красителя для внутривенных инъекций можно получать путем иммобилизации на поверхности ультрадисперсных алмазов.

- [1] A. M. Schrand, H. Huang, C. Carlson, J. J. Schlager, E. Osawa, S. M. Hussain, L. Dai. *J. Phys. Chem. B*, **111**, N 1 (2007) 2—7
- [2] A. M. Schrand, L. Dai, J. J. Schlager, S. M. Hussain, E. Osawa. *Diamond Relat. Mater.*, **16**, N 12 (2007) 2118—2123
- [3] A. M. Schrand, S. A. C. Hens, O. A. Shenderova. *Critic. Rev. Sol. State Mater. Sci.*, **34**, N 1-2 (2009) 18—74
- [4] A. S. Barnard. *Analyst*, **134**, N 9 (2009) 1751—1764
- [5] X. Zhang, W. Hu, J. Li, L. Tao, Y. Wei. *Toxicol. Res.*, **1**, N 1 (2012) 62—68
- [6] V. N. Mochalin, O. Shenderova, D. Ho, Y. Gogotsi. *Nat. Nanotech.*, **7**, N 1 (2012) 11—23
- [7] H. B. Man, D. Ho. *J. Lab. Autom.*, **18**, N 1 (2013) 12—18
- [8] L. Lai, A. S. Barnard. *J. Nanosci. Nanotech.*, **15**, N 2 (2015) 989—999
- [9] B. V. Spitsyn, S. A. Denisov, N. A. Skorik. *Diamond Relat. Mater.*, **19**, N 2-3 (2010) 123—127
- [10] K. B. Holt. *Philosoph. Transact. Royal Soc. A: Mathemat., Phys. Engin. Sci.*, **365**, N 1861 (2007) 2845—2861
- [11] K. K. Liu, M. F. Chen, P. Y. Chen, T. J. F. Lee, C. L. Cheng, C. C. Chang, Y. P. Ho, J. I. Chao. *Nanotech.*, **19**, N 20 (2008) 205102
- [12] K. K. Liu, C. C. Wang, C. L. Cheng, J. I. Chao. *Biomater.*, **30**, N 26 (2009) 4249—4259
- [13] T. L. Wee, Y. W. Mau, C. Y. Fang, H. L. Hsu, C. C. Han, H. C. Chang. *Diamond Relat. Mater.*, **18**, N 2-3 (2009) 567—573
- [14] N. Mohan, Y. K. Tzeng, L. Yang, Y. Y. Chen, Y. Y. Hui, C. Y. Fang, H. C. Chang. *Adv. Mater.*, **22**, N 7 (2010) 843—847
- [15] Y. Y. Hui, C. L. Cheng, H. C. Chang. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **43**, N 37 (2010) 374021
- [16] J. M. Say, C. van Vreden, D. J. Reilly, L. J. Brown, J. R. Rabeau, N. J. C. King. *Biophys. Rev.*, **3**, N 4 (2011) 171—184
- [17] E. K. Chow, X. Q. Zhang, M. Chen, R. Lam, E. Robinson, H. Huang, D. Schaffer, E. Osawa, A. Goga, D. Ho. *Sci. Trans. Med.*, **3**, N 73 (2011) 73ra21
- [18] A. Krueger. *J. Mat. Chem.*, **21**, N 34 (2011) 12571—12578
- [19] V. Petrakova, A. Taylor, I. Kratochvilova, F. Fendrych, J. Vacik, J. Kucka, J. Stursa, P. Cigler, M. Ledvina, A. Fiserova, P. Kneppo. *Adv. Funct. Mater.*, **22**, N 4 (2012) 812—819
- [20] R. G. Mendes, A. Bachmatiuk, B. Büchner, G. Cuniberti, M. H. Rummeli. *J. Mater. Chem. B*, **1**, N 4 (2013) 401—428
- [21] D. Ho, C. H. K. Wang, E. K. H. Chow. *Sci. Adv.*, **1**, N 7 (2015) e1500439
- [22] K. Turcheniuk, V. Mochalin. *Nanotech.*, **28**, N 25 (2017) 252001
- [23] A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, G. B. Behera. *Chem. Rev.*, **100**, N 6 (2000) 1973—2012
- [24] F. Würthner, T. E. Kaiser, C. R. Saha-Möller. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**, N 15 (2011) 3376—3410
- [25] R. R. Anderson, J. A. Parrish. *J. Investig. Dermatol.*, **77**, N 1 (1981) 13—19
- [26] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik. *CA: Cancer J. Clinic.*, **61**, N 4 (2011) 250—281
- [27] S. Li, L. He, F. Xiong, Y. Li, G. Yang. *J. Phys. Chem. B*, **108**, N 30 (2004) 10887—10892

- [28] H. von Berlepsch, S. Kirstein, R. Hania, A. Pugzlys, C. Böttcher. *J. Phys. Chem. B*, **111**, N 7 (2007) 1701—1711
- [29] А. К. Чибисов, Т. Д. Славнова, Х. Гёрнер. *Рос. нанотехнол.*, **3**, № 1-2 (2008) 26—41
- [30] S. Chakraborty, P. Debnath, D. Dey, D. Bhattacharjee, S. A. Hussain. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **293** (2014) 57—64
- [31] N. Sato, T. Fujimura, T. Shimada, T. Tani, S. Takagi. *Tetrahedron Lett.*, **56**, N 22 (2015) 2902—2905
- [32] S. Van Der Wal, J. Kuil, A. R. P. M. Valentijn, F. W. B. Van Leeuwen. *Dyes and Pigments*, **132** (2016) 7—19
- [33] X. Qiu, L. Xu, Y. Zhang, A. Yuan, K. Wang, X. Zhao, J. Wu, H. Guo, Y. Hu. *Mol. Pharmac.*, **13**, N 3 (2016) 829—838
- [34] S. Uthaman, A. P. Mathew, H. J. Park, B. I. Lee, H. S. Kim, K. M. Huh, I. K. Park. *Carbohydr. Polym.*, **181** (2018) 1—9
- [35] A. A. Lugovskii, M. P. Samtsov, K. N. Kaplevskiy, D. Tarasau, E. S. Voropay, P. T. Petrov, Y. P. Istomin. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **316** (2016) 31—36
- [36] T. Lin, A. Yuan, X. Zhao, H. Lian, J. Zhuang, W. Chen, Q. Zhang, G. Liu, S. Zhang, W. Cao, C. Zhang. *Acta Biomater.*, **53** (2017) 427—438
- [37] A. V. Sorokin, I. Y. Ropakov, R. S. Gryniov, M. M. Vilkisky, V. M. Liakh, I. A. Borovoy, S. L. Yefimova, Y. V. Malyukin. *Dyes and Pigments*, **152** (2018) 49—53
- [38] Y. Chen, Z. Li, H. Wang, Y. Wang, H. Han, Q. Jin, J. Ji. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**, N 11 (2016) 6852—6858
- [39] A. Krueger, D. Lang. *Adv. Funct. Mater.*, **22**, N 5 (2012) 890—906
- [40] В. А. Лапина, С. В. Бушук, Т. А. Павич, А. В. Воробей. *Журн. прикл. спектр.*, **83** (2016) 347—353 [V. A. Lapina, S. V. Bushuk, T. A. Pavich, A. V. Vorobey. *J. Appl. Spectr.*, **83**, N 3 (2016) 344—349]
- [41] Е. С. Воропай, М. П. Самцов, К. Н. Каплевский, Д. Г. Мельников, Л. С. Ляшенко. *Изв. РАН. Сер. физ.*, **71**, № 1 (2007) 145—149
- [42] Н. В. Белько, М. П. Самцов, Г. А. Гусаков, Д. С. Тарасов, А. А. Луговский, Е. С. Воропай. *Журн. прикл. спектр.*, **85**, № 6 (2018) 868—878 [N. V. Belko, M. P. Samtsov, G. A. Gusakov, D. S. Tarasau, A. A. Lugovskii, E. S. Voropay. *J. Appl. Spectr.*, **85**, N 6 (2019) 997—1005]
- [43] Г. А. Гусаков, А. А. Луговский, А. П. Луговский, М. П. Самцов, В. А. Пархоменко, И. И. Азарко. *Журн. прикл. спектр.*, **87**, № 1 (2020) 33—42 [G. A. Gusakov, A. A. Lugovskii, A. P. Lugovskii, M. P. Samtsov, V. A. Parhomenko, I. I. Azarko. *J. Appl. Spectr.*, **87** (2020)]
- [44] W. Heller, H. B. Klevens, H. Oppenheimer. *J. Chem. Phys.*, **14**, N 9 (1946) 566—567
- [45] I. I. Kulakova. *Phys. Solid State*, **46**, N 4 (2004) 636—643
- [46] Y. Liu, Z. Gu, J. L. Margrave, V. N. Khabashesku. *Chem. Mater.*, **16**, N 20 (2004) 3924—3930
- [47] К. В. Рейх. *Письма в ЖЭТФ*, **94**, № 1 (2011) 23—27
- [48] А. Е. Алексенский, А. Я. Вуль, С. В. Коняхин, К. В. Рейх, Л. В. Шаронова, Е. Д. Эйдельман. *ФТТ*, **54**, № 3 (2012) 541—548
- [49] A. H. Herz. *Adv. Coll. Interf. Sci.*, **8**, N 4 (1977) 237—298
- [50] Л. Беллами. *Инфракрасные спектры сложных молекул*, Москва, Иностр. лит. (1963) 231—232
- [51] Л. Беллами. *Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул*, Москва, Мир (1971) 287—288
- [52] L. M. Piharco, R. V. de Barros. *Langmuir*, **16**, N 24 (2000) 9331—9337
- [53] B. G. Cox. *Acids and Bases: Solvent Effects on Acid-Base Strength*, Oxford, Oxford University Press (2013) 44—45
- [54] R. C. Millikan, K. S. Pitzer. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, N 14 (1958) 3515—3521
- [55] P. J. Corish, W. H. T. Davison. *J. Chem. Soc.* (1955) 2431—2436
- [56] T. D. Slavnova, H. Görner, A. K. Chibisov. *J. Phys. Chem. B*, **111**, N 33 (2007) 10023—10031
- [57] H. von Berlepsch, E. Brandenburg, B. Koks, C. Böttcher. *Langmuir*, **26**, N 13 (2010) 11452—11460
- [58] K. Vus, U. Tarabara, A. Kurutos, O. Ryzhova, G. Gorbenco, V. Trusova, N. Gadjev, T. Deligeorgiev. *Mol. BioSyst.*, **13**, N 5 (2017) 970—980
- [59] E. S. Voropay, M. P. Samtsov, L. S. Lyashenko. *J. Bel. State Univ. Phys.*, **1** (2017) 28—33
- [60] Н. В. Белько, И. И. Хлудеев, В. П. Зорин, М. П. Самцов. *Вести БГПУ. Сер. 3*, № 1 (2018) 14—20
- [61] M. Monici. *Biotech. Ann. Rev.*, **11** (2005) 227—256