

УДК 535.372

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ РАТИОМЕТРИЧЕСКИЕ ТЕРМОМЕТРЫ НА ОСНОВЕ ДИАД ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА И МЕТАЛЛИРОВАННОГО ЦИНКОМ ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНА

© 2023 г. А. В. Поволоцкий¹, *, О. С. Смирнова¹, Д. А. Солдатова¹, Д. А. Лукьянов¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Санкт-Петербургский государственный университет”, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: alexey_povolotskiy@spbu.ru

Поступила в редакцию 07.07.2023 г.

После доработки 17.07.2023 г.

Принята к публикации 28.07.2023 г.

Порфирины и их производные, как правило, характеризуются способностью к излучению двух полос флуоресценции. Представлены результаты исследования зависимости отношения интенсивности этих полос от температуры в диапазоне 25–75°C для неметаллированного и металлизированного цинком порфирина, а также порфириновых диад в растворах 1,2-дихлорэтана. Выполнен сравнительный анализ термометрических параметров на основе данных молекул.

DOI: 10.31857/S0367676523702824, EDN: FFIAPS

ВВЕДЕНИЕ

Ратиометрические методы измерения физических величин основаны на получении зависимости относительных значений, что имеет преимущество по сравнению с методами, основанными на использовании абсолютных значений. Основным преимуществом ратиометрических методов является увеличение точности измеряемого параметра, поскольку удается избежать погрешности, вносимой флуктуациями абсолютных значений. Флуоресцентная ратиометрическая термометрия использует именно такой подход [1], при котором физическим параметром, зависящим от температуры, является относительная интенсивность флуоресценции (FIR – fluorescence intensity ratio, англ.). Сенсоры, работающие на основе флуоресцентной термометрии представляют собой аналитические инструменты нового поколения [2, 3]. Данные сенсоры, будучи молекулярными флуорофорами, обладают, как правило, высоким квантовым выходом люминесценции, не токсичны, имеют высокую проникающую способность через клеточную мембрану, способны формировать гибридные структуры с металлическими наночастицами. Таким образом, с помощью молекулярных флуоресцентных ратиометрических сенсоров можно неинвазивно измерять температуру в различных системах, в том числе *in vivo*, а флуоресцентный сигнал обеспечивает высокую чувствительность даже при измерении температуры таких малых объектов, как клетки и даже наночастицы.

Благодаря своим уникальным оптическим свойствам, порфирины активно исследуются и исполь-

зуются в различных областях диагностики и сенсорики, таких как тераностика [4], температурно-зависимая спектроскопия фотолюминесценции [5], фотосенсибилизация [6], высокоэффективная сенсорики [7], формирование гибридных наноструктур [8] и т.д. Известно, что спектры флуоресценции порфиринов зависят от температуры, в том числе, меняется соотношение полос флуоресценции, что может использоваться при создании термометров на их основе. Более того, известно, что металлизирование порфиринов приводит к вырождению молекулярных орбиталей порфирина, связанного с формированием более симметричной молекулы [9]. Однако, до сих пор в литературе нет данных о влиянии температуры на спектры излучения порфириновых диад. В том числе, не известно, каким образом изменится температурная зависимость спектров флуоресценции при формировании диад из одинаковых молекул порфирина или сочетании в дной диаде неметаллированного и металлизированного порфирина.

Данная работа посвящена изучению температурных зависимостей флуоресценции тетрафенилпорфирина (TRP), тетрафенилпорфирина, металлизированного цинком (ZnTRP), а также диад TRP-TRP и TRP-ZnTRP, определены их термометрические параметры и сделан вывод о перспективности применения порфириновых диад в качестве молекулярных флуоресцентных термометров.

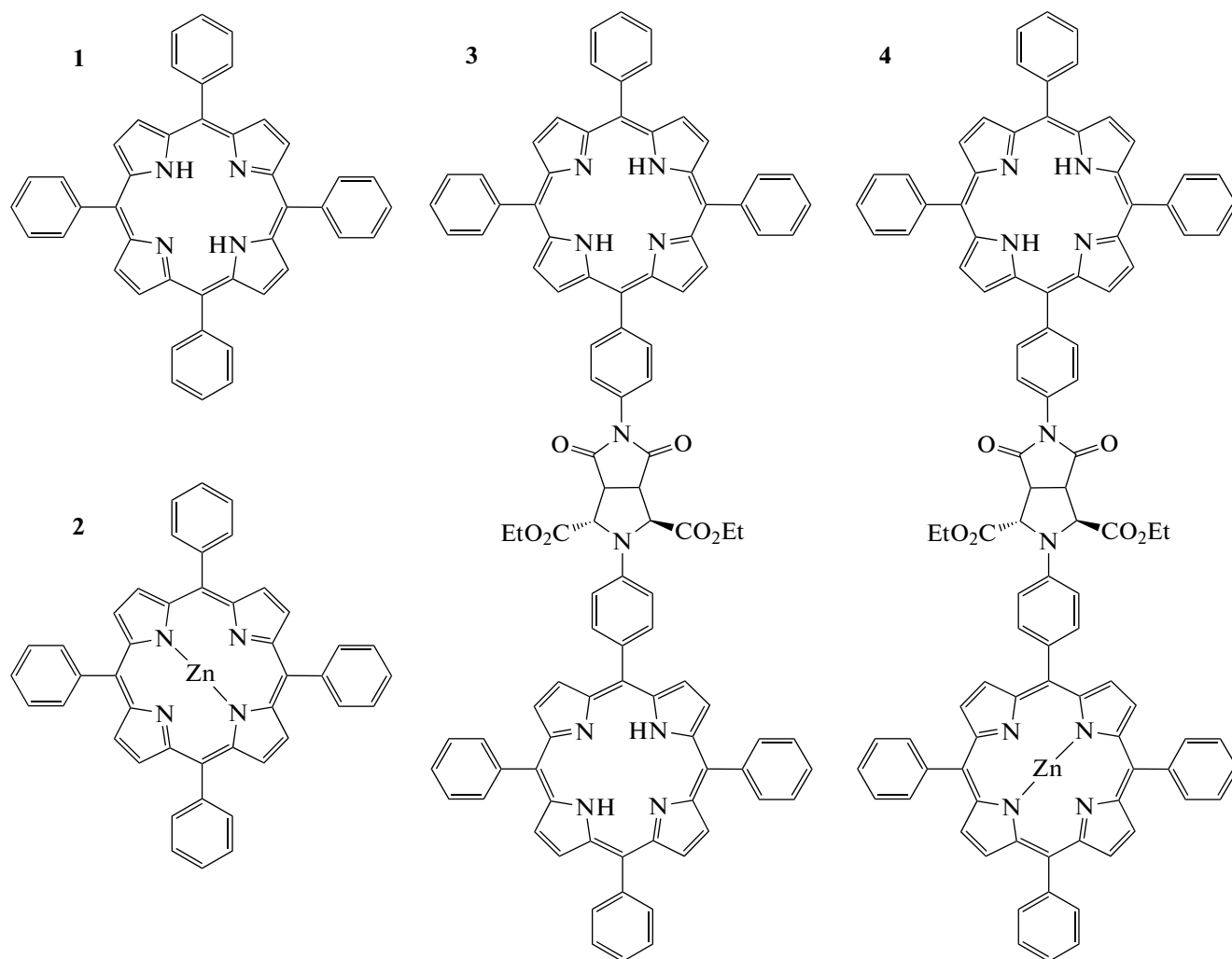


Рис. 1. Структуры исследуемых молекул.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез

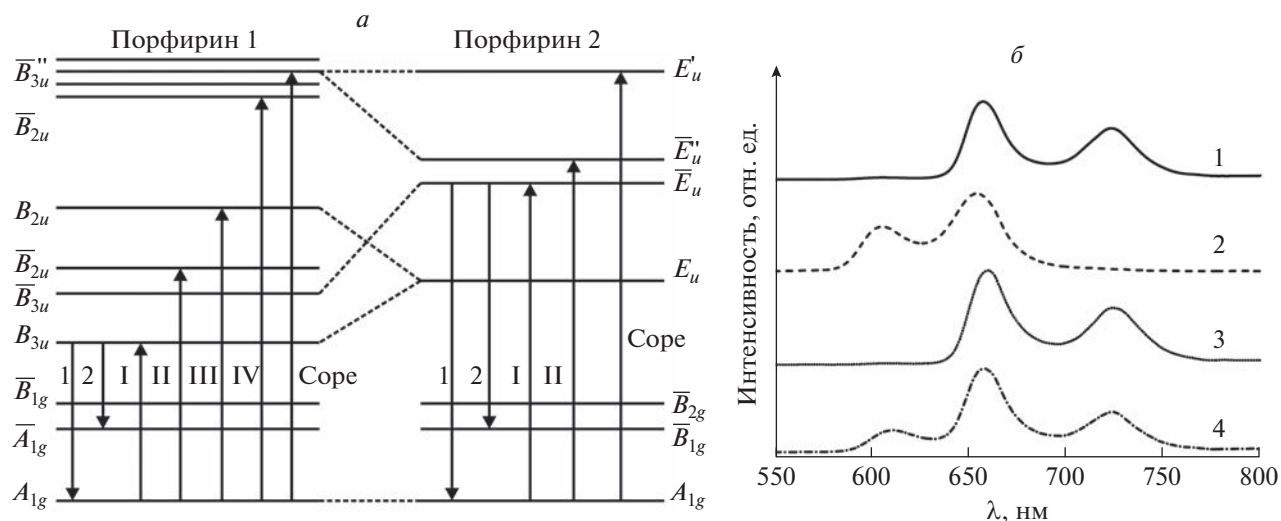
В качестве молекул флуорофоров в данной работе использовались порфирины и диады 1-4, растворенные в 1,2-дихлорэтано (рис. 1). Порфирин 1 (5,10,15,20-тетрафенилпорфирин) синтезирован по методике Адлера—Лонго, как описано ранее [9]. Порфирин 2 (5,10,15,20-тетрафенилпорфиринат цинка(II)) синтезирован из порфирина 1 в соответствии с процедурой, описанной в литературе [10]. Порфириновые диады 3 и 4 синтезированы согласно методам, описанным в диссертации [11].

Оборудование

Регистрация спектров поглощения исследуемых растворов порфиринов в 1,2-дихлорэтано осуществлялась в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см на спектрофотометре Lambda 1050 (Perkin Elmer).

Спектры флуоресценции исследуемых растворов порфиринов в 1,2-дихлорэтано регистрировались в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см в конфигурации под углом 90° на флуоресцентном спектрометре Lumina (Thermo Fisher Scientific) и модульном спектрофлуориметре Fluorolog-3 (Horiba Jobin Yvon). Все спектры регистрировались со спектральной коррекцией, возбуждение осуществлялось в полосу Core на длине волны 420 нм.

Для получения температурных зависимостей спектров флуоресценции кюветы с образцом помещались в держатель, температура которого стабилизировалась на заданном значении в диапазоне от 25 до 75°C с точностью 0.1°C . Контроль температуры кюветодержателя осуществлялся при помощи циркуляционного водного нагревателя Naake SC 100 (Thermo Fisher Scientific). При каждом значении температуры осуществлялась стабилизация системы в течение 25 мин и измерялись по 4 спектра флуоресценции с последующим усреднением.



РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование температурной зависимости спектров флуоресценции в данной работе проведено с использованием мономеров 5,10,15,20-тетрафенилпорфирина и 5,10,15,20-тетрафенилпорфирината цинка (II), а также диад на их основе. Выбор данных молекул обусловлен несколькими факторами, из которых можно выделить два основных. Во-первых, цинк-координированные порфирины по сравнению с порфиринами, содержащими в себе другие металлы, обладают химической инертностью и слабым вмешательством *d*-орбиталей цинка в фотопроцессы порфирина [12]. Во-вторых, из-за снятия вырождения при переходе от неметаллированного к металлизированному порфиру возбужденный уровень, с которого происходит излучение, оказывается выше по энергии, что приводит к смещению полос флуоресценции в коротковолновую область спектра [9].

Схемы энергетических уровней порфиринов 1 и 2 представлены на рис. 2а [13]. Здесь хорошо видно, что металлизирование приводит к вырождению энергетических уровней (уровни B_{3u} и B_{2u} вырождаются до E_u , $\bar{B}_{3u}$ и $\bar{B}_{2u}$ до $\bar{E}_u$). Результатом вырождения является уменьшение количества Q-полос поглощения до двух и увеличение энергии фотонов излучения для металлизированного порфирина по сравнению с немаллированным (рис. 2б).

Как видно из рис. 2б, полосы флуоресценции образцов 1 и 3 лежат в одной спектральной области. Таким образом, объединение порфиринов в диадy не приводит к заметному влиянию на электронно-возбужденные энергетические уровни порфирина. Спектр флуоресценции порфирина 2 сдвинут относительно спектра порфирина 1 в область малых длин волн, что согласуется с энергетическими диаграммами на рис. 2а. Спектр флуоресценции пор-

фирина 4 можно рассматривать как сумму спектров порфиринов 1 и 2, результатом сложения которых является спектр излучения с тремя разрешенными полосами флуоресценции. Предположительно, эта особенность может увеличить тепловую чувствительность и точность определения температуры флуоресцентного термометра на основе диады по сравнению с мономерами порфиринов, поскольку металлизированный и неметализированный порфирины должны иметь разную чувствительность спектров излучения к температуре.

Действительно, полосы флуоресценции в области 658 и 724 нм существенно снижаются по интенсивности при нагревании от 25 до 75°C, в то время как флуоресценция порфирина 2 очень слабо зависит от температуры (рис. 3). Таким образом, предполагалось, что отношение интенсивности коротковолновой полосы излучения порфирина 2 к интенсивности длинноволновой полосы порфирина 1 в составе диады 4 будет иметь более сильную температурную зависимость, чем отношение полос флуоресценции мономеров порфиринов. Однако, для порфирина 1 в растворе 1,2-дихлорэтана с ростом температуры начала расти еще одна полоса флуоресценции, связанная с переходом из колебательно возбужденного состояния $\bar{B}_{3u}$ в основное состояние A_{1g} . Несмотря на то, что, согласно правилу Каши, излучение должно происходить с высшего по энергии уровня, это предположение все же имеет право на существование, ведь из правила Каши давно известен широкий ряд исключений [14, 15].

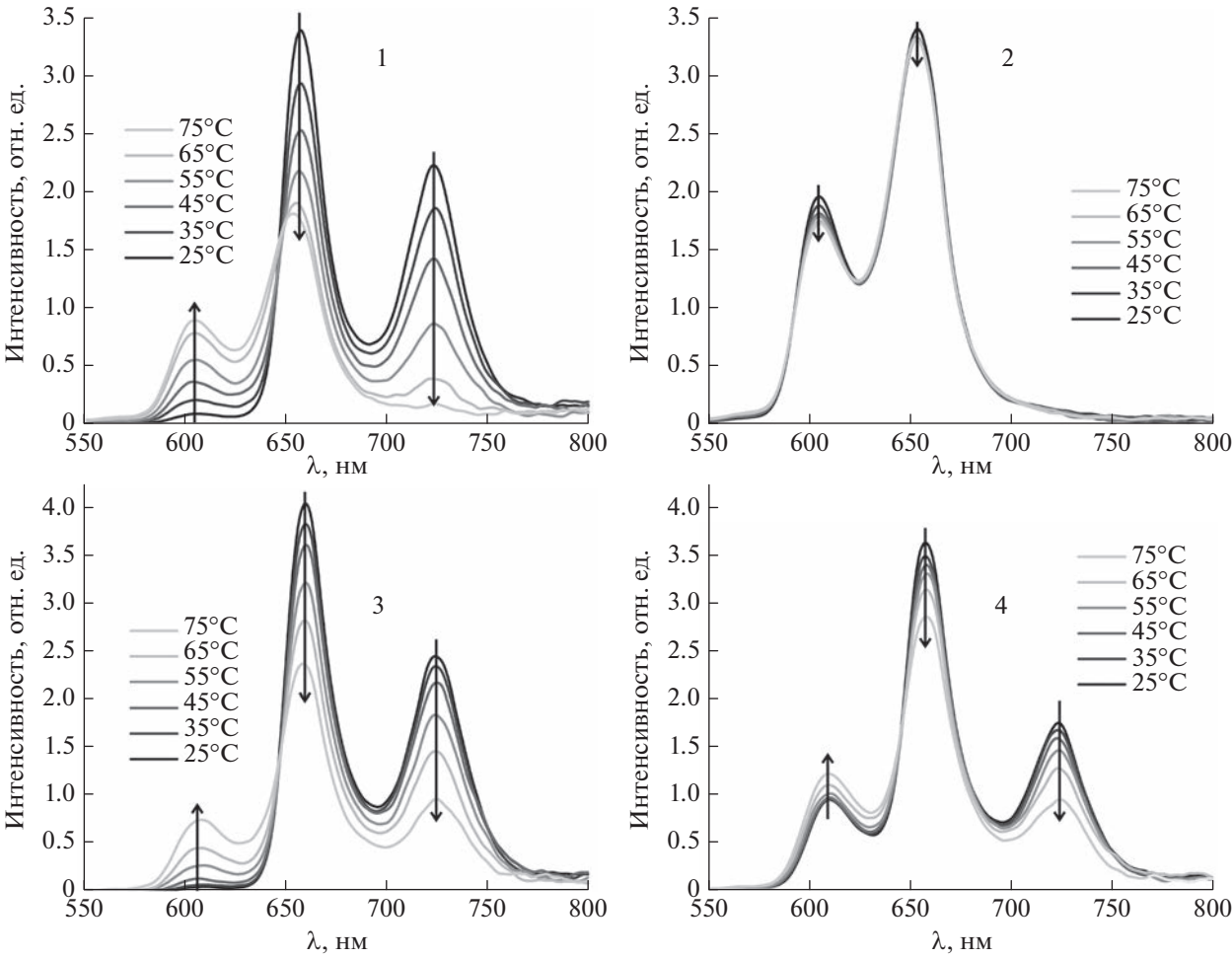


Рис. 3. Спектры флуоресценции порфиринов 1–4 при возбуждении в полосу Соре при различных температурах.

от температуры, используя растущую по интенсивности полосу в области 606 нм и одну из затухающих полос в области 658 и 724 нм, т.е. по аналогичной схеме, что и для диады 4, в состав которых входят металлизированный и неметаллизированный порфирины.

Соотношение полос флуоресценции всех изученных порфиринов зависит от температуры, что

теоретически позволяет применять все соединения для создания на их основе флуоресцентных ратиометрических термометров. Преимущество систем 1, 3 и 4 состоит в том, что при определении температуры среды можно опираться сразу на две кривые, что повышает точность измерения.

Для оценки эффективности использования исследуемых систем в качестве люминесцентных термометров построены температурные ратиометрические зависимости I_1/I_2 (рис. 4). Данные кривые использовались для определения относительной тепловой чувствительности S_r и температурного разрешения ΔT [16].

$$S_r = \left| \frac{1}{I_1/I_2} \frac{\partial(I_1/I_2)}{\partial T} \right| \cdot 100\%, \quad (1)$$

$$\Delta T = \frac{1}{S_r} \frac{\partial(I_1/I_2)}{I_1/I_2}. \quad (2)$$

Рассчитанные данные относительной тепловой чувствительности представлены в табл. 1. Видно, что лучшая относительная тепловая чувствительность в 11.7% на °C достигается для отно-

Таблица 1. Относительная тепловая чувствительность порфиринов 1–4

$S_r, \% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$	25	35	45	55	65	75
1 (724 нм/606 нм)	9.3	9.2	9.1	8.7	8.0	6.7
1 (658 нм/606 нм)	8.8	7.9	6.4	4.3	2.3	1.1
1 (658 нм/724 нм)	0.8	1.5	2.6	4.1	5.5	6.6
2 (658 нм/606 нм)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
3 (724 нм/606 нм)	5.7	5.8	6.1	6.7	7.9	11.7
3 (658 нм/606 нм)	5.5	5.5	5.7	5.9	6.4	7.4
3 (658 нм/724 нм)	0.1	0.2	0.4	0.9	1.8	3.2
4 (724 нм/606 нм)	0.4	0.6	1.0	1.6	2.7	5.7
4 (658 нм/606 нм)	0.3	0.4	0.6	0.9	1.5	2.4
4 (658 нм/724 нм)	0.1	0.1	0.3	0.7	1.4	2.7

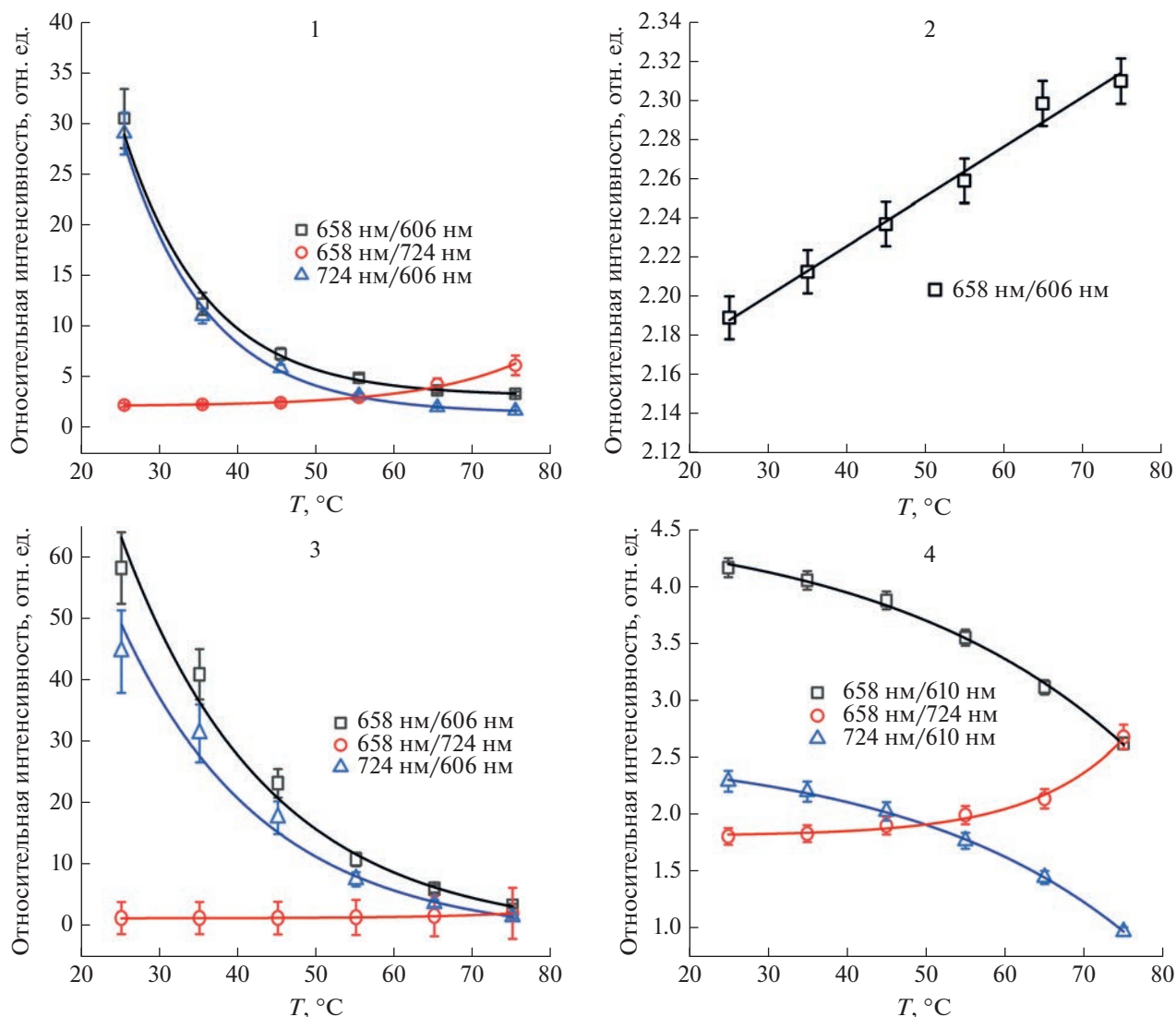


Рис. 4. Ратиометрические температурные зависимости порфиринов 1–4.

сительной интенсивности полос 724 и 606 нм диады 3. Однако полоса 606 нм наблюдается для порфирина в растворе 1,2-дихлорэтана и в литературе

Таблица 2. Температурное разрешение порфиринов 1–4

$\Delta T, ^\circ\text{C}$	25	35	45	55	65	75
1 (724 нм/606 нм)	0.4	0.9	0.7	0.8	0.9	0.4
1 (658 нм/606 нм)	0.6	1.2	0.5	1.4	1.0	1.0
1 (658 нм/724 нм)	4.4	0.4	2.0	0.1	1.6	0.5
2 (658 нм/606 нм)	0.5	0.2	0.7	2.0	4.2	1.8
3 (724 нм/606 нм)	1.6	2.3	2.5	0.9	0.8	0.2
3 (658 нм/606 нм)	1.4	2.2	2.0	1.2	0.6	0.4
3 (658 нм/724 нм)	12	0.6	4.7	0.05	0.6	0.1
4 (724 нм/606 нм)	1.4	1.1	0.5	0.4	0.04	0.01
4 (658 нм/606 нм)	2.5	0.7	1.9	0.2	0.8	0.2
4 (658 нм/724 нм)	8.9	4.3	4.2	2.0	1.2	0.2

не известно о наличии данной полосы в других растворителях.

В случае отсутствия данной полосы у порфиринов 1 и 3 в других растворителях, лучшие показатели относительной тепловой чувствительности демонстрирует порфирин 1 в растворе 1,2-дихлорэтана для относительной интенсивности полос 658 и 724 нм. При этом порфирин 1 уступает порфириновым диадам по точности определения температуры (табл. 2). Так, например, диаду 4 можно использовать для термометрии с разрешением вплоть до 0.01°C .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены относительная тепловая чувствительность и температурное разрешение 5,10,15,20-тетрафенилпорфирина и 5,10,15,20-тетрафенил-

порфирина цинка(II) в растворе 1,2-дихлорэтана, а также диад на их основе. Показано, все рассмотренные молекулы могут быть использованы для ратиометрических температурных измерений, но с разной эффективностью. Так, 5,10,15,20-тетрафенилпорфирин может обеспечить высокие показатели относительной тепловой чувствительности вплоть до 9.3% на °C и погрешность измерения температуры менее одного градуса на всем измеряемом диапазоне температур в растворе 1,2-дихлорэтана. При этом начиная с 60°C TPP уступает по этим показателям диаде TPP-TPP. Наличие у порфирина TPP и диады TPP-TPP в области 606 нм, обеспечивающей такие результаты, зависит от растворителя. Так как невозможно использование 1,2-дихлорэтана в качестве растворителя для работы с живыми организмами, то необходимо дальнейшее исследование на возможность применения данных порфиринов для внутречелюстной термометрии.

Наличие трёх полос у диады TPP-ZnTPP обеспечивает меньшую зависимость от растворителя за счёт наложения спектров металлизированного и неметаллизированного порфиринов. Несмотря на то, что относительная тепловая чувствительность данной диады невысокая, температурное разрешение выше 55°C принимает значения от 0.5 до 0.01°C.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-22-00202) и инфраструктурной поддержке СПбГУ. Измерение оптических спектров проводилось с использованием оборудования ресурсного центра “Оптические и лазерные методы исследования вещества” Научного парка СПбГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lupton J.M.* // Appl. Phys. Lett. 2002. V. 81. No. 13. P. 2478.
2. *Wang C., Jin Y., Zhang R. et al.* // J. Alloys Compounds. 2022. V. 894. Art. No. 162494.
3. *Bigdeli A., Ghasemi F., Abbasi-Moayed S. et al.* // Analyst. Chim. Acta. 2019. V. 1079. P. 30.
4. *Шилов И.П., Румянцев В.Д., Алексеев Ю.В., Иванов А.В.* // Изв. РАН. Сер. физ. 2020. Т. 84. № 11. С. 1643.
5. *Nurhayati, Suendo V., Alni A. et al.* // J. Phys. Chem. A. 2020. V. 124. No. 13. P. 2672.
6. *Старухин А.С., Горский А.В., Добковский Я.З.* // Изв. РАН. Сер. физ. 2020. Т. 84. № 3. С. 345; *Starukhin A.S., Gorski A.V., Dobrovski Y.Z.* // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2020. V. 84. No. 3. P. 267.
7. *Zhao B., Li Y., Zhao Y. et al.* // Spectrochim. Acta A. 2022. V. 281. Art. No. 121592.
8. *Евдокимова М.Г., Конев А.С., Поволоцкая А.В. и др.* // Изв. РАН. Сер. физ. 2017. Т. 81. № 12. С. 1576; *Evdokimova M.G., Konev A.S., Kazakova A.V. et al.* // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2017. V. 81. No. 12. P. 1391.
9. *Taniguchi M., Lindsey J.S., Bocian D.F., Holten D.* // J. Photochem. Photobiol. C. 2021. V. 46. Art. No. 100401.
10. *Santos L.J., Carvalho Da-Silva D., Rebouças J.S. et al.* // Tetrahedron. 2011. V. 67. No. 1. P. 228.
11. *Лукьянов Д.А.* Синтез и исследование новых гетероциклических фотокатализаторов для превращения молекулярного кислорода в перекись водорода. Дис. ... канд. хим. наук. СПб: СПбГУ, 2019.
12. *Liao M.-S., Scheiner S.* // J. Chem. Phys. 2002. V. 117. No. 1. P. 205.
13. *Аскаров К.А., Березин Б.Д., Быстрицкая Е.В.* Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение. М.: “Наука”, 1987, 384 с.
14. *Birks J.B.* // Chem. Phys. Lett. 1972. V. 17. No. 3. P. 370.
15. *Bartocci G., Mazzucato U., Spalletti A., Elisei F.* // Spectrochim. Acta A. 1990. V. 46. No. 3. P. 413.
16. *Dramićanin M.D.* // Meth. Appl. Fluoresc. 2016. V. 4. No. 3. Art. No. 042001.

Fluorescent ratiometric thermometers based on dyads of tetraphenyl porphyrin and zinc-metallated tetraphenyl porphyrin

A. V. Povolotskiy^a, *, O. S. Smirnova^a, D. A. Soldatova^a, D. A. Lukyanov^a

^aSaint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 198504 Russia

*e-mail: alexey.povolotskiy@spbu.ru

Porphyrins and their derivatives are known for their ability to emit two fluorescence bands. We presented the results of the investigation of the intensity ratio dependence for these bands on temperature in the range of 25–75°C for non-metallated and metal-plated with zinc porphyrins, as well as porphyrin dyads in solutions of 1,2-dichloroethane. A comparative analysis of thermometric parameters of these molecules was carried out.

Keywords: porphyrin, porphyrin dyad, fluorescent thermometer, ratiometric thermometry, fluorescence, relative thermal sensitivity