

## 02 Фотофизические процессы в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина в анионных обратных мицеллах

© О.И. Волкова<sup>1</sup>, А.А. Кулешова<sup>1</sup>, Б.Н. Корватовский<sup>2</sup>, А.М. Салецкий<sup>1</sup>†

<sup>1</sup> Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,  
119991 Москва, Россия

<sup>2</sup> Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,  
119234 Москва, Россия

† e-mail:sam@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 24.06.2020 г.

В окончательной редакции 31.08.2020 г.

Принята к публикации 04.09.2020 г.

Исследованы фотофизические процессы в водно-мицеллярных растворах галогенпроизводных флуоресцеина: эозина (Э), эритрозина (ЭР) и бенгальского розового (БР), методами динамического рассеяния света, стационарной и времяразрешенной флуоресцентной спектроскопии. Установлено, что внедрение молекул красителей в обратные мицеллы АОТ вызывает увеличение их гидродинамических радиусов  $R_h$ . Изучена кинетика флуоресценции исследованных молекул красителей в обратных мицеллах. Установлено уменьшение среднего времени возбужденного состояния  $\langle \tau \rangle$  с ростом  $R_h$  для Э, ЭР и БР, которое связано с ростом подвижности молекул воды и ослаблением эффекта геометрического ограничения молекул красителей. Измерены степени анизотропии флуоресценции  $r$  молекул красителей в обратных мицеллах, показано, что в мицеллярных системах  $r$  больше, чем в водных растворах и уменьшаются с ростом  $R_h$ . Для исследованных молекул красителей в мицеллярных системах определено время вращательной корреляции  $\theta$ , которое уменьшается для всех исследованных красителей с ростом  $R_h$ , что указывает на уменьшение микровязкости ограниченной водной среды внутри мицеллы. При этом  $\theta_E > \theta_{ER} > \theta_{BR}$ , т.е. в значении времени вращательной корреляции проявляется „эффект внутреннего тяжелого атома“.

**Ключевые слова:** красители, галогенпроизводные флуоресцеина, обратные мицеллы, динамическое рассеяние света, спектры, анизотропия флуоресценции, среднее время жизни возбужденного состояния, время вращательной корреляции.

DOI: 10.21883/OS.2020.12.50319.181-20

### Введение

В последние годы спектрально-люминесцентные методы широко применяются для мониторинга состояния клеток, белков, живых тканей и других биологических объектов. Большую роль в таких исследованиях играет метод флуоресцентного зонда, в качестве которого используются молекулы красителей. Исследования взаимодействия белок-краситель позволяют определять структурные изменения в среде, окружающей белок. Большинство исследований *in vitro* посвящено изучению белков в сильно разбавленных буферных растворах, в то время как биомолекулы функционируют в замкнутом пространстве биологической клетки (в замкнутом нанокружении). Поэтому для исследований, приближенных к реальным условиям, необходимо установление влияния пространственного ограничения на спектрально-люминесцентные характеристики как белков, так и красителей-зондов. Такое пространственное ограничение возможно осуществить в четырех различных модельных структурах: нанопорах (представляют собой твердые тела), обратных мицеллах, органических растворителях и гидратных оболочках (в частности, гидратных оболочках белков).

К первому типу модельных структур относится пористое стекло, которое имеет большое отношение площади поверхности пор к их объему. Большой свободный объем в таких структурах играет существенную роль в процессах трансляционной и вращательной диффузии адсорбированных в порах молекул, поэтому пористое стекло используется для исследования поведения молекул воды [1] и сложных молекул, обладающих люминесцентной способностью [2,3]. При этом существенное влияние на фотофизические процессы в таких системах играют поверхности пор, поэтому проявляется интерес к изменению свойств поверхностей путем их покрытия различными веществами. Наиболее перспективным является использования для этих целей наноструктуры с „мягкими“ стенками, которые могут быть реализованы в микроэмульсиях.

К таким структурам относятся обратные мицеллы, представляющие собой наноразмерные частицы, состоящие из молекул поверхностно-активного вещества, которые собираются вокруг водного ядра, суспендированного в неполярном растворителе. Размер мицелл можно варьировать, изменяя соотношение воды и поверхностно-активного вещества — так, размер обратных мицелл натрий 1,4-бис (2-этилгексил) сульфосукцинат (АОТ)

определяется степенью гидратации  $w = \frac{[H_2O]}{[AOT]}$ , где  $[AOT]$  и  $[H_2O]$  — молярные концентрации каждого вида в растворе. Наноразмерное водное ядро обратных мицелл действует как „нанореактор“, внутри которого контролируемые реакции приводят к образованию широкого спектра наноструктур с относительно узким распределением по размерам [4]. Эти системы привлекли большое внимание, поскольку они охватывают впечатляюще широкий спектр практических применений, наибольший прогресс при этом был достигнут в синтезе наночастиц [5–7] и в разработке передовых средств доставки лекарств [8,9].

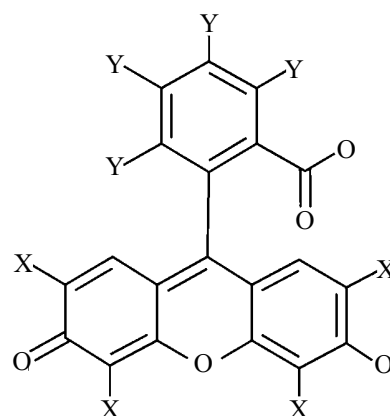
В последние несколько лет появилось большое количество работ, посвященных исследованию молекул красителей в анионных обратных мицеллах АОТ методами линейной [10–12] и нелинейной [13,14] спектроскопии. При этом исследования в системе обратная мицелла–молекула красителя обычно проводятся с использованием катионных красителей. Очень редко используются анионные красители. К небольшому числу работ, посвященных изучению систем обратная мицелла–анионный краситель, можно отнести [15–17].

В данной статье представлены результаты исследования фотофизических процессов в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина: эозина (Э), эритрозина (ЭР), бенгальского розового (БР) (анионных при физиологических значениях pH 7.4) в обратных мицеллах, проведенного методами динамического рассеяния света, стационарной и времяразрешенной флуоресценции. Выбор этих красителей обусловлен тремя причинами. Во-первых, молекулы красителей флуоресцеинового ряда широко применяются в медицине как в качестве контрастных веществ, так и в фотодинамической терапии, в частности, для лечения меланомы [18]. Имея высокие квантовые выходы генерации синглетного кислорода, эти красители становятся потенциальными фотосенсибилизаторами для нового направления фотодинамической терапии — антимикробной фотодинамической терапии [19–21]. Во-вторых, представленный ряд флуорофоровых красителей характеризуется последовательным замещением атомов водорода атомами галогенов (бром, йод и хлор), которое позволяет плавно варьировать их физико-химическими свойствами перераспределением зарядов между атомами, изменением электронных и пространственных структур и др. В-третьих, эти красители широко используются для исследования биологических объектов, в частности белков, методами спектроскопии комбинационного рассеяния света [22] и флуоресцентной спектроскопии [23,24].

## Эксперимент

### Материалы

В работе использовали sodium 1,4-bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate АОТ (Sigma Aldrich, Германия, чистота > 99%), декан (Sigma Aldrich, Германия, чистота > 99%) и анионные красители эозин (Э), эритрозин



**Рис. 1.** Химическая формула исследованных красителей: Э (X = Br, Y = H), ЭР (X = I, Y = H), БР (X = I, Y = Cl).

ин (ЭР) и бенгальский розовый (БР) (рис. 1) фирмы Sigma Aldrich без дополнительной очистки. Все растворы приготавливались из сухих реактивов АОТ, красителя и гептана. Сначала создавался 10% по массе раствор АОТ в гептане: взвешивались 1 g АОТ и 9 g гептана. Затем к 2 ml АОТ в гептане добавлялись красители, разведенные в воде в количестве  $100–500 \cdot 10^{-5}$  mol/l (число гидратации  $w$  варьировалось от 0 до 70) с концентрацией  $C = 10^{-5}$  mol/l.

### Определение размеров мицелл

Для определения размеров мицелл использовался метод динамического рассеяния света. Методика определения  $R_h$  для мицеллярных систем подробно описана в [25] и основана на определении временной корреляционной функции рассеянного света в растворах:

$$G(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t + \tau) \rangle}{\langle I^2(t) \rangle}, \quad (1)$$

где  $I(t)$  и  $I(t + \tau)$  — интенсивность рассеянного света в моменты  $t$  и  $t + \tau$  соответственно.

Для монодисперсного коллоидного раствора

$$G(\tau) = A \exp(-\Gamma\tau), \quad (2)$$

где  $A$  — постоянная прибора,  $\Gamma$  — скорость релаксации, связанная с коэффициентом диффузии  $D$  следующим соотношением:

$$\Gamma = \frac{1}{\tau_K} = Dq^2, \quad (3)$$

$q$  — вектор рассеяния, модуль которого равен

$$q = 4\pi \frac{n}{\lambda} \sin\left(\frac{\varphi}{2}\right),$$

где  $\varphi$  — угол рассеяния (в наших экспериментах  $\varphi = 90^\circ$ ),  $\lambda$  — длина волны рассеянного света,  $n$  — показатель преломления раствора. Таким образом, определив  $\Gamma$  из  $G(\tau)$ , можно определить коэффициент диффузии  $D$ .

Зная коэффициент диффузии, в рамках модели Стокса-Эйштейна-Дебая в предположении сферической формы мицелл определялся их гидродинамический радиус:

$$R_h = \frac{kT}{6\pi\eta D}, \quad (4)$$

где  $k$  — постоянная Больцмана,  $T$  — температура,  $\eta$  — вязкость растворителя.

Измерение динамического рассеяния света и анализ размеров частиц осуществлялись на приборе Photocor Compact (использовался полупроводниковый лазер с  $\lambda = 638$  nm, мощность 25 mW). Погрешность измерения гидродинамического радиуса мицелл 0.3 nm.

### Измерение спектрально-люминесцентных характеристик растворов

Регистрация спектров поглощения водно-мицеллярных растворов красителей была проведена на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 (спектральная ширина щели 0.5 nm). Регистрация спектров флуоресценции молекул красителей в мицеллярных растворах проводилась на спектрофлуориметре Perkin Elmer LS 55 (спектральное разрешение 0.1 nm, воспроизводимость длин волн 0.5 nm).

### Степень анизотропии флуоресценции

Степень анизотропии флуоресценции  $r$  определялась по формуле

$$r = \frac{I_{VV} - kI_{VH}}{I_{VV} + 2kI_{VH}}, \quad (5)$$

где  $I_{VV}$  — интенсивность флуоресценции при вертикальной ориентации поляризаторов возбуждения и излучения;  $I_{VH}$  — интенсивность флуоресценции, полученная при вертикальной ориентации поляризатора возбуждения и горизонтальной ориентации поляризатора излучения;  $k = \frac{I_{HV}}{I_{HH}}$ ;  $I_{HH}$  — интенсивность флуоресценции при горизонтальной ориентации поляризаторов возбуждения и излучения;  $I_{HV}$  — интенсивность флуоресценции, полученная при горизонтальной ориентации поляризатора возбуждения и вертикальной ориентации поляризатора излучения.

### Исследование времязрешенной флуоресценции

Измерение времени жизни флуоресценции красителей проводилось с использованием прибора Simple Tau 140, работающего в режиме счета фотонов (Becker & Hickl, Германия). Флуоресценцию красителей возбуждали лазером BDS-SM510 (длина волны 510 nm, длительность импульса 40 ps). Флуоресценция регистрировалась 16-канальным фотоприемником K5900 (Hamamatsu, Япония), перед которым находился решетчатый полихроматор (600 lines/mm). Ширина спектра на выходе полихроматора составляла 200 nm, что соответствовало

12.5 nm на канал. Время интегрирования составляло 30 s. Кинетические кривые флуоресценции были обработаны с использованием программы SPImage (Becker & Hickl, Германия). Погрешность определения времени жизни возбужденного состояния молекул красителей 0.05 ns.

Кривая затухания флуоресценции аппроксимировалась несколькими экспонентами:

$$F(t) = \sum_{i=1}^N A_i e^{-\frac{t}{\tau_i}}, \quad (6)$$

где  $N$  — число экспонент,  $t$  — время,  $\tau_i$  — время жизни флуоресценции,  $A_i$  — амплитуда.

Все измерения были проведены при температуре 295 K.

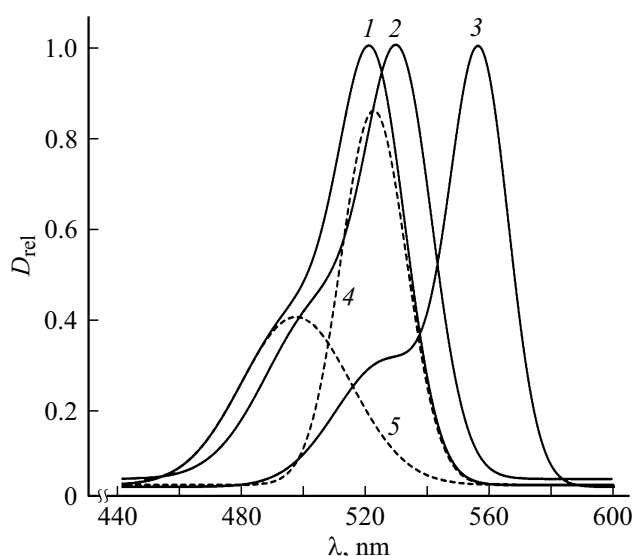
### Результаты и их обсуждения

Методом динамического рассеяния света были определены гидродинамические радиусы исследованных мицелл. В табл. 1 представлены  $R_h$  для четырех значений степени гидратации  $w$ , определенные с помощью соотношения (4) для мицелл с внедренными молекулами красителей и без них. Из табл. 1 видно, что гидродинамический радиус мицелл с внедренными молекулами красителя больше, чем для водных мицелл для всех исследованных значений  $w$ . В табл. 1 также представлены значения  $\Delta R_h = R_h^{\text{Dye}} - R_h$  (здесь  $R_h^{\text{Dye}}$  — гидродинамический радиус мицелл, содержащих молекулы красителей,  $R_h$  — гидродинамический радиус мицелл, не содержащих молекулы красителей) для исследованных значений  $w$ . Видно, что для всех трех красителей наблюдается увеличение разности  $\Delta R_h$ . Для БР  $\Delta R_h$  увеличивается незначительно и практически не зависит от  $w$ ,  $\Delta R_h$  для Э и ЭР изменяется значительно. Наибольшее изменение  $\Delta R_h$  наблюдается для ЭР, меньшее — для Э, но при этом наблюдается увеличение  $\Delta R_h$  с ростом  $w$ . Это изменение  $\Delta R_h$  связано с тем, что при увеличении гидродинамического радиуса мицеллы происходит изменение свойств структурированной воды, сопровождающееся изменением электростатического взаимодействия между анионами красителей и гидратированными группами поверхностно-активных веществ (ПАВ). В дальнейшем для описания люминесцентных характеристик красителей в водно-мицеллярных растворах использовались значения  $R_h$  для мицелл с внедренными молекулами красителей.

Были зарегистрированы спектры поглощения и флуоресценции красителей в мицеллярных растворах при различных значениях их гидродинамического радиуса  $R_h$ . В качестве примера на рис. 2 представлены спектры поглощения, а на рис. 3 — спектры флуоресценции исследованных красителей в водно-мицеллярных растворах для гидродинамического радиуса  $R_h = 4$  nm. Из рис. 2 и 3 видно, что длины волн максимумов поглощения и флуоресценции для исследованных красителей отличаются. Так, максимумы поглощения наблюдаются

**Таблица 1.** Значения гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  и  $\Delta R_h$  для исследованных систем (значения  $\Delta R_h$  указаны в скобках)

$w$	$R_h, \text{ nm}$			
	Вода	Э	ЭР	БР
18.6	3.3	4(0.7)	4.8(1.5)	4.6(1.3)
37	6.8	7.4(0.6)	10.5(3.7)	7.9 (1.1)
55	11	14.8(3.8)	15.8(4.8)	12.5(1.5)
70	15	18.6 (3.6)	20(5)	17(2)



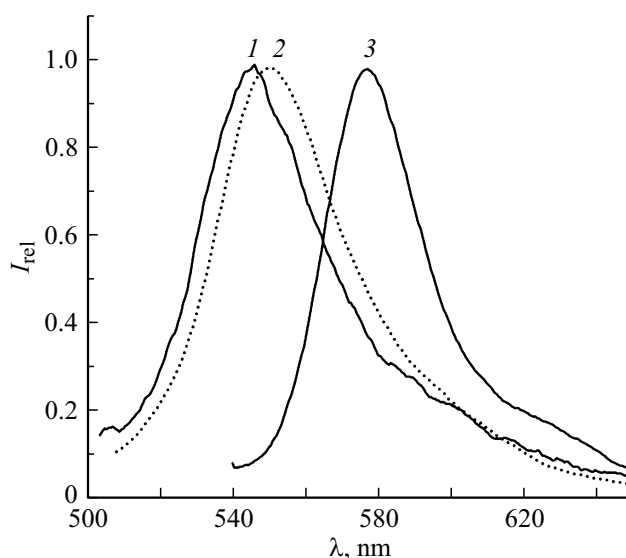
**Рис. 2.** Нормированные спектры поглощения Э (1), ЭР (2) и БР (3) в водно-мицеллярных растворах с  $R_h = 4 \text{ nm}$ . Кривые 4, 5 — гауссовы компоненты спектра поглощения эозина. Концентрация красителя равна  $10^{-5} \text{ mol/l}$ .

при 520 (Э), 531 (ЭР), 556 nm (БР) (рис. 2). Спектры флуоресценции этих красителей имеют максимумы при 546 (Э), 550 (ЭР), 578 nm (БР) (рис. 3).

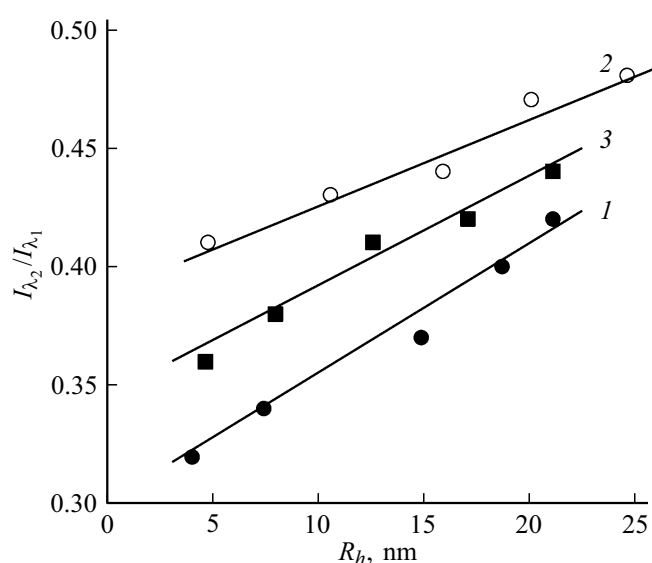
Спектры поглощения красителей имеют две полосы: длинноволновую (с длиной максимума  $\lambda_1$ ) и коротковолновую (с длиной волны максимума  $\lambda_2$ ). Полоса с  $\lambda_1$  относится к дианионной форме красителей, а  $\lambda_2$  — к их анионной форме [26]. Спектры поглощения были разделены на две гауссовы полосы. На рис. 2 в качестве примера представлены две выделенные компоненты для Э: полоса поглощения дианионной формы (кривая 4) и полоса поглощения анионной формы (кривая 5).

Эти полосы были выделены для всех красителей и всех значений  $R_h$ , а затем определены их интенсивности. На рис. 4 представлены зависимости отношения  $\frac{I_{\lambda_2}}{I_{\lambda_1}}$  ( $I_{\lambda_1}$  — интенсивность дианионной полосы,  $I_{\lambda_2}$  — интенсивность анионной полосы) от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для всех красителей. Из рис. 4 видно, что с ростом  $R_h$  наблюдается увеличение отношения  $\frac{I_{\lambda_2}}{I_{\lambda_1}}$ . Результаты исследования спектральных характеристик

красителей, представленные на рис. 4, указывают на то, что с ростом  $R_h$  увеличивается вклад анионной формы красителя в формирование спектров поглощения. В связи с тем, что интенсивность поглощения пропорциональна концентрации молекул, представленные на рис. 4 данные указывают на то, что с ростом  $R_h$  происходит изменение соотношения концентраций дианионной и анионной форм красителей. Это должно сказаться на флуоресцентных характеристиках исследованных растворов — в частности, на среднем времени флуоресценции и степени анизотропии свечения.



**Рис. 3.** Нормированные спектры флуоресценции Э (1), ЭР (2) и БР (3) в водно-мицеллярных растворах с  $R_h = 4 \text{ nm}$ . Концентрация красителя равна  $10^{-5} \text{ mol/l}$ .



**Рис. 4.** Зависимости отношения интенсивностей поглощения анионной и дианионной полос  $\frac{I_{\lambda_2}}{I_{\lambda_1}}$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э (1), ЭР (2) и БР (3).

**Таблица 2.** Параметры  $A_1$ ,  $\tau_1$ ,  $A_2$  и  $\tau_2$  для различных красителей и значений  $R_h$

Краситель	$R_h$ , nm	$A_1$ , %	$\tau_1$ , ns	$A_2$ , %	$\tau_2$ , ns
Э	3.7	95.0	1.92	5.0	3.84
	7.3	99.0	1.84	1.0	3.62
	12.0	95.0	1.6	5.0	1.72
	17.5	97.0	1.39	3.0	5.25
	Водный раствор				1.21
ЭР	4.8	98.0	0.38	2.0	1.21
	10.5	95.0	0.33	5.0	1.24
	15.8	96.0	0.3	4.0	1.63
	20.0	99.0	0.32	1.0	3.82
	Водный раствор				2.13
БР	4.6	94.0	0.45	6.0	3.48
	7.9	96.0	0.51	4.0	3.9
	12.5	96.0	0.47	4.0	3.22
	17.0	91.0	0.24	9.0	2.94
	Водный раствор				2.94

Ниже приведены результаты измерения времени затухания флуоресценции исследованных систем. Удовлетворительное совпадение с экспериментальными кривыми дает аппроксимация затухания флуоресценции красителей в мицеллярных растворах двумя экспонентами:

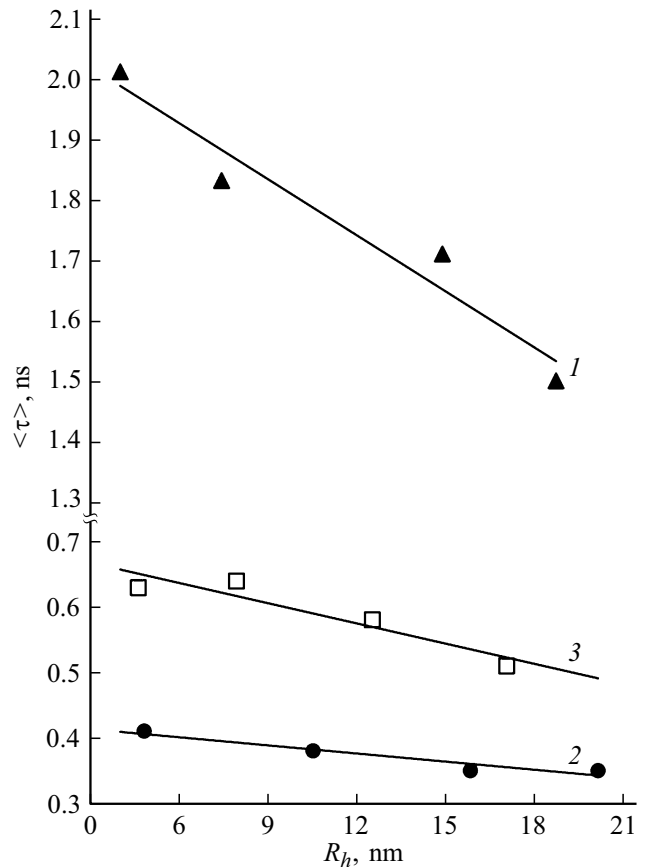
$$F(t) = A_1 e^{-t/\tau_1} + A_2 e^{-t/\tau_2}. \quad (7)$$

Здесь  $A_i$  — амплитуды экспонент,  $\tau_i$  — время затухания экспонент,  $t$  — время после возбуждения флуоресценции. В табл. 2 представлены значения  $A_1$ ,  $\tau_1$ ,  $A_2$  и  $\tau_2$  для растворов красителей в мицеллах для различных значений  $R_h$ . В этой же таблице представлены значения времен жизни возбужденного состояния молекул красителей в водных растворах. Для водных растворов красителей наблюдается моноэкспоненциальное затухание свечения, в то время как для мицеллярных растворов затухание свечения описывается двумя экспонентами. Наличие двухэкспоненциальных зависимостей затухания свечения указывает на то, что внутри обратной мицеллы молекулы красителей находятся в различном окружении.

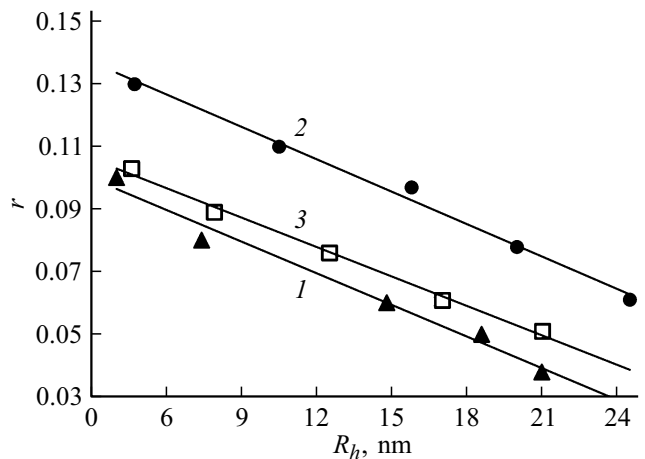
Для анализа влияния степени гидратации на кинетические характеристики флуоресценции молекул красителей удобно использовать среднее время жизни флуоресценции:

$$\langle \tau \rangle = \frac{A_1 \tau_1 + A_2 \tau_2}{A_1 + A_2}.$$

На рис. 5 представлены зависимости  $\langle \tau \rangle$  от  $R_h$  для исследованных систем. В ряду красителей Э-ЭР-БР происходит увеличение энергии спин-орбитального взаимодействия за счет эффекта внутреннего тяжелого атома. Замещающие тяжелые атомы усиливают спин-орбитальное взаимодействие в молекулах красителей, что приводит к уменьшению  $\langle \tau \rangle$ . При этом с ростом  $R_h$  время  $\langle \tau \rangle$  уменьшается (рис. 5). Эти результаты



**Рис. 5.** Зависимости среднего времени жизни флуоресценции  $\langle \tau \rangle$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для Э (1), ЭР (2) и БР (3).



**Рис. 6.** Зависимости степени анизотропии флуоресценции  $r$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э (1), ЭР (2) и БР (3).

указывают на то, что с ростом  $R_h$  ограничение движения, испытываемое флуорофором при связывании с обратными мицеллами, уменьшается.

Таким образом, увеличение размера обратных мицелл приводит к ослаблению эффекта геометрического ограничения молекул исследованных красителей, что

должно сказываться на значениях степени анизотропии флуоресценции. Были определены значения степени анизотропии флуоресценции  $r$  для молекул красителей в обратных мицеллах с различными  $R_h$ . Степень анизотропии флуоресценции флуорофора зависит от вязкости окружения, а также от времени жизни возбужденного состояния молекул красителей. На рис. 6 представлены зависимости  $r(R_h)$  для исследованных красителей. Из рис. 6 видно, что для красителей с коротким временем жизни возбужденного состояния (ЭР и БР)  $r$  выше, чем для Э. При этом для всех исследованных мицеллярных систем с различными  $R_h$  степень анизотропии выше значений, полученных в водных растворах. Значения степени анизотропии флуоресценции в воде следующие:  $r_{\text{Э}} = 0.04$ ,  $r_{\text{ЭР}} = 0.04$ ,  $r_{\text{БР}} = 0.05$ . Это указывает на то, что движение молекул исследованных красителей имеет в обратной мицелле больше ограничений, чем в чистой воде. Кроме того, большее значение  $r$  для малых  $R_h$  показывает, что микросреда внутри водного пула обратной мицеллы сильно отличается от объемной воды. При этом высокая вязкость наблюдается благодаря молекулам воды, которые прочно связаны с сульфонатной головной группой АОТ. Уменьшение степени анизотропии излучения с увеличением  $R_h$  (рис. 6) указывает на то, что молекулы красителей имеют больше свободного движения, которое достигается изменением расположения молекул красителей внутри мицеллы — они удаляются от головной группы сурфактанта к связанной воде в обратной мицелле.

Для установления расположения молекул красителей внутри мицелл оценим вращательную диффузию молекул красителя в зависимости от  $R_h$ . Определим параметры вращательной диффузии люминесцирующих молекул с помощью формулы Перрена [27]:

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{r_0} \left( 1 + \frac{\langle \tau \rangle}{\theta} \right), \quad (8)$$

где  $\theta = \frac{\eta V}{kT}$  — время вращательной релаксации,  $T$  — абсолютная температура,  $\eta$  — вязкость раствора,  $V$  — объем молекул флуорофора,  $k$  — постоянная Больцмана,  $\langle \tau \rangle$  — среднее время жизни возбужденных молекул,  $r_0$  — предельная анизотропия излучения. Уравнение (8) содержит линейную зависимость  $\frac{1}{r}$  от  $\frac{\langle \tau \rangle}{\theta}$ , поэтому изменяя вязкость раствора и измеряя степень анизотропии, можно получить значение  $r_0$ . Для определения  $r_0$  мы провели измерения  $r$  при различных значениях вязкости водных растворов, которая изменялась путем добавления сахарозы в растворы. Для каждого из растворов методом наименьших квадратов были построены зависимости  $\frac{1}{r} \left( \frac{\langle \tau \rangle}{\theta} \right)$  и получены значения  $r_0$ . Были получены следующие значения  $r_0$ : Э — 0.34, ЭР — 0.27, БР — 0.32.

Используя измеренные значения  $r, r_0$  и  $\langle \tau \rangle$ , для каждого из растворов с помощью формулы (8) было вычислено время вращательной релаксации  $\theta$ . На рис. 7

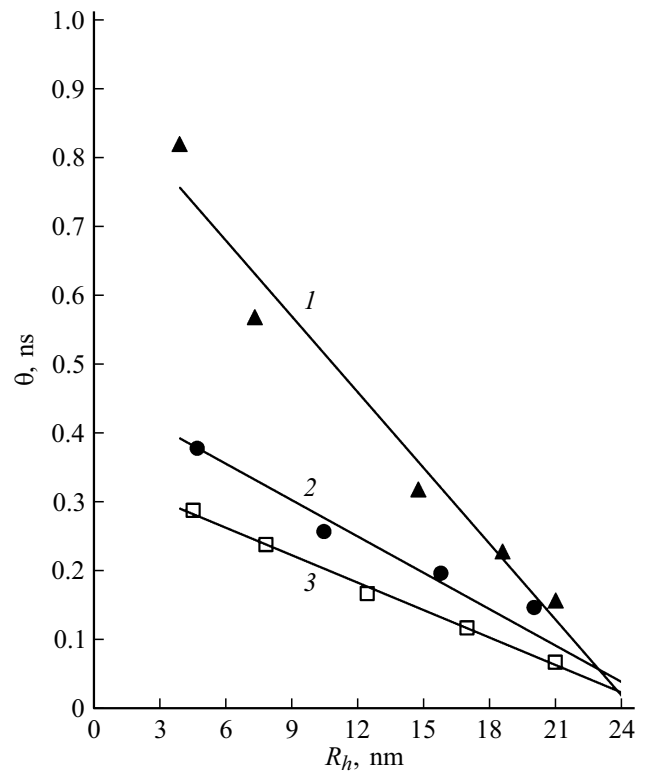


Рис. 7. Зависимости времени вращательной релаксации от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э (1), ЭР (2) и БР (3).

представлены зависимости времени вращательной релаксации  $\theta$  от  $R_h$  для Э (кривая 1), ЭР (кривая 2), БР (кривая 3). Из рис. 7 видно, что  $\theta_{\text{Э}} > \theta_{\text{ЭР}} > \theta_{\text{БР}}$ , т.е. на значении времени вращательной корреляции сказывается „эффект тяжелого атома“. С ростом  $R_h$  происходит уменьшение  $\theta$  для всех трех исследованных красителей. При этом „скорость“ уменьшения  $\theta$  от увеличения размера (радиуса) мицеллы  $d\theta = \frac{d\theta}{dR_h}$  имеет следующие значения:  $(d\theta)_{\text{Э}} = 0.039$ ,  $(d\theta)_{\text{ЭР}} = 0.015$  и  $(d\theta)_{\text{БР}} = 0.013$ . В связи с тем, что  $\theta$  пропорционально вязкости  $\eta$ , наблюдаемое в эксперименте уменьшение  $\theta$  с ростом гидродинамического радиуса мицеллы связано с уменьшением микровязкости ограниченной водной среды внутри мицеллы. Это подтверждает, что молекулы красителей удаляются от гидратированных полярных групп ПАВ в мицелле.

## Заключение

Исследованы молекулы галогенпроизводных флуоресцеина в обратных мицеллах АОТ методом динамического рассеяния света, стационарной и времязрешенной флуоресцентной спектроскопии. Установлено, что внедрение молекул красителей в обратные мицеллы вызывает увеличение их гидродинамических радиусов  $R_h$ .

Обнаружено уменьшение среднего времени жизни  $\langle \tau \rangle$  возбужденных состояний молекул исследованных

красителей с ростом  $R_h$ , что объясняется ростом подвижности молекул воды и ослаблением эффекта их геометрического ограничения в обратных мицеллах.

Анизотропия флуоресценции молекул красителей уменьшается с ростом  $R_h$ , при этом для всех  $R_h$  степень анизотропии выше значений, полученных в водных растворах.

По анизотропии флуоресценции молекул красителей определено время вращательной релаксации  $\theta$ . Установлено, что  $\theta_E > \theta_{ER} > \theta_{BR}$ , т.е. на значении времени вращательной релаксации сказывается „эффект тяжелого атома“. С ростом  $R_h$  происходит уменьшение  $\theta$  для всех трех исследованных красителей, что связано с увеличением микровязкости ограниченной водной среды внутри мицеллы.

## Финансирование работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-32-90123.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] Быков А.В., Старокуров Ю.В., Салецкий А.М. // Опт. и спектр. 2020. Т. 128. С. 118. doi 10.21883/OS.2020.01.48847.247; Bykov A.V., Starokurov Yu.V., Saletsky A.M. // Opt. Spectrosc. 2020. V. 128. P. 114. doi 10.1134/S0030400X20010063
- [2] Afanasyev D.A., Ibrayev N.Kh., Saletsky A.M. et al. // J. Luminesc. 2013. V. 136. P. 358. doi 10.1016/j.jlumin.2012.11.013
- [3] Старокуров Ю.В., Летуа С.Н., Пашкевич С.Н., Антропова Т.В., Гордеева Ю.А., Салецкий А.М. // Опт. и спектр. 2013. Т. 114. № 1. С. 95. doi 10.7868/S003040341301025X; Starokurov Y.V., Gordeeva Y.A., Saletsky A.M., Letuta S.N., Pashkevich S.N., Antropova T.V. // Opt. Spectrosc. 2013. V. 114. N 1. P. 87. doi 10.1134/S0030400X13010256
- [4] Alvarado Y., Muro C., Illescas J., Díaz María del Carmen, Riera F. // Biomolecul. 2019. V. 9. P. 164. doi 10.3390/biom9050164
- [5] Hashimoto T., Ye Y., Ui M., Ogawa T., Matsui T., Tanaka Y. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2019. V. 514. P. 31. doi 10.1016/j.bbrc.2019.04.062
- [6] Lone I.H., Radwan N.R.E., Aslam J., Akhter A. // Current Nanosci. 2019. V. 15. P. 129. doi 10.2174/1573413714666180611075115
- [7] Orellano M.S., Porporatto C., Silber J.J., Falcone R.D., Correa N.M. // Carbohydr. Polym. 2017. V. 171. P. 85. doi 10.1016/j.carbpol.2017.04.074
- [8] Piazzini V., D'Ambrosio M., Luceri C., Cinci L., Landucci E., Bilia A.R., Bergonzi M.C. // Molecules. 2019. V. 24. P. 1688. doi 10.3390/molecules24091688
- [9] Singh P., Verma N. // Int. J. Pharm. Sci. Res. 2018. V. 9. P. 1397. doi 10.13040/IJPSR.0975-8232.9(4).1397-04
- [10] Rahdar A., Almasi-Kashi M., Khan A.M., Aliahmad M., Salimi A., Guettari M., Kohne H.E.G. // J. Molec. Liq. 2018. V. 252. P. 506. doi 10.1016/j.molliq.2018.01.004
- [11] Rahdar A., Aliahmad M., Kor A.M., Sahoo D. // Spectrochim. Acta A. 2019. V. 210. P. 165. doi 10.1016/j.saa.2018.11.015
- [12] Bozkurt E., Onganer Ya. // J. Molec. Struct. 2018. V. 1173. P. 490. doi 10.1016/j.molstruc.2018.07.019
- [13] Hoseini M., Sazgarnia A., Sharifi S. // Opt. Quant. Electron. 2019. V.51. P.144. doi 10.1007/s11082-019-1865-1
- [14] Rahdar A., Salmani S., Sahoo D. // J. Molec. Struct. 2019. V. 1191. P. 237. doi 10.1016/j.molstruc.2019.04.083
- [15] Peyghami S., Sharifi S., Rakhshanizadeh F., Alizadeh Kh. // J. Molec. Liq. 2017. V. 246. P. 157. doi 10.1016/j.molliq.2017.09.058
- [16] Karimi N., Sharifi S., Parhizgar S.S., Elahi S.M. // Opt. Quant. Electron. 2018. V. 50. P. 209. doi 10.1007/s11082-018-1478-0
- [17] Волкова О.И., Баранов А.Н., Салецкий А.М. // ЖПС. 2018. Т. 85. № 3. С. 373; Volkova O.I., Baranov A.N., Saletsky A.M. // J. Appl. Spectr. 2018. V. 85. N 3. P. 381. doi 10.1007/s10812-018-0661-1
- [18] Dhillon S.K., Porter S.L., Rizk N., Sheng Y., McKaig Th., Burnett K., White B., Nesbitt H., Matin R.N., McHale A.P., Callan B., Callan J.F. // J. Med. Chem. 2020. V. 63. P. 1328. doi 10.1021/acs.jmedchem.9b01802?ref=pdf
- [19] Naranjo A., Arboleda A., Martinez J.D., Durkee H., Aguilar C., Relhan N., Nikpoor N., Galor A., Dubovy S.R., Leblanc R., Flynn H.W., Miller D., Parel J.-M., Amescua G. // Amer. J. Ophthalmol. 2019. V. 208. P. 387. doi 10.1016/j.ajo.2019.08.027
- [20] Shitomi K., Miyaji H., Miyata S., Sugaya T., Ushijima N., Akasaka T., Kawasaki H. // Photodiag. Photodyn. Therapy. 2020. V. 30. P. 101647. doi 10.1016/j.pdpdt.2019.101647
- [21] Летуа С.Н., Пашкевич С.Н., Ишемгулов А.Т., Нукуян А.Н. // Биофизика. 2020. Т. 65. № 4. С. 705–712. doi 10.31857/S0006302920040109
- [22] Vlasova I.M., Saletsky A.M. // Las. Phys. 2010. V. 20. P. 1844. doi 10.1134/S1054660X10170160
- [23] Vlasova I.M., Saletsky A.M. // J. Molec. Struct. 2009. V. 936. P. 220. doi 10.1016/j.molstruc.2009.07.043
- [24] Городничев Е.С., Кулешова А.А., Быков А.В., Салецкий А.М. // ЖПС. 2019. Т. 86. № 5. С. 773; Gorodnichev E.S., Kuleshova A.A., Bykov A.V., Saletsky A.M. // J. Appl. Spectr. 2019. V. 86. P. 855. doi 10.1007/s10812-019-00906-1
- [25] Potapov A.V., Alekseev D.B., Alekseeva I.G., Saletsky A.M. // Las. Phys. Lett. 2007. V. 4. P. 61. doi 10.1002/lapl.200610060
- [26] Ionis N., Sawyer W.H. // J. Fluoresc. 1996. V. 6. N 3. P. 147. doi 10.1007/BF00732054
- [27] Левишин Л.В., Салецкий А.М. Люминесценция и ее измерения. Молекулярная люминесценция. М.: Изд-во МГУ, 1989. 272 с.