

МЕЖМОЛЕКУЛЯРНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БИОПОЛИМЕРА ХИТОЗАНА С КРАСИТЕЛЕМ ФЛУОРЕСЦЕИНОМ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Тераностика – это новое направление в биомедицине, заключающееся в сочетании диагностики и терапевтического воздействия. Флуоресцентные наномаркеры с каждым годом все активнее применяются в медицине для выявления изменений в клетках живого организма и его патологических состояний. Биополимер хитозан может успешно применяться в разработке транспортных систем биологически активных веществ [1]. Краситель флуоресцеин в совокупности с природным поликатионом хитозаном с постепенным изменением их спектральных, фотофизических и кислотно-основных свойств в различных средах представляет собой привлекательную модель для целей тераностики и создания систем ранней диагностики заболеваний.

Цель работы заключалась в изучении межмолекулярных взаимодействий флуоресцеина с хитозаном в водных растворах. Объектами исследования выступали флуоресцеин, относящийся к группе ксантоновых красителей, и природный полисахарид хитозан, проявляющий полиэлектролитные свойства. Для проведения исследований применялся комплекс методов: ИК-спектроскопия, люминесцентная спектроскопия, спектроскопия УФ и видимой области, динамическое светорассеяние и рН-метрия.

Были изучены фотофизические и спектральные свойства красителя. Ионное состояние данного красителя сильно зависит от рН среды. Раствор флуоресцеина обладает желто-зеленой люминесценцией, имеет эмиссию при 510 нм, что делает его хорошим средством для визуализации процессов в организме человека. В электронном спектре водных растворов флуоресцеина присутствует интенсивная полоса поглощения при длине волны 490 нм. Для изучения межмолекулярных взаимодействий флуоресцеина с хитозаном проводили спектрофотометрические исследования с применением метода изомолярных серий. С добавлением хитозана в спектре поглощения красителя появляется дополнительное плечо при 450 нм. Показано, что при взаимодействии компонентов происходит образование комплексов различного стехиометрического состава. Комплексообразование флуоресцеина с хитозаном можно описать следующей схемой на рисунке 1:

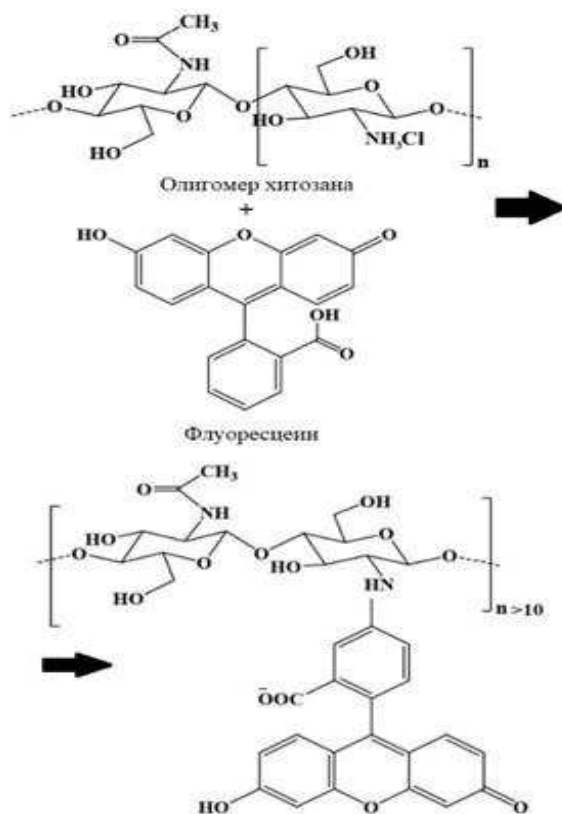


Рисунок 1 – Схема образования комплекса флуоресцеин–хитозан

На следующем этапе работы были изучено влияние хитозана на люминесцентные свойства флуоресцеина. Добавление биополимера ослабляет интенсивность флуоресценции. Эффективная константа связывания флуоресцеина с хитозаном в водной среде, найденная на основе тушения флуоресценции красителя с добавлением полимера [2], была равна 1855 M^{-1} . Степень анизотропии флуоресценции красителя рассчитывали по значениям интенсивности люминесценции при вертикальном и горизонтальном положении поляризаторов излучения в максимуме испускания. Анизотропия флуоресценции красителя увеличивается с ростом концентрации хитозана в системе, что объясняется связыванием красителя макромолекулами полисахарида.

Образование комплекса флуоресцеина с хитозаном подтвердили сравнением ИК-спектров исходных компонентов и продукта их взаимодействия. В ИК-спектре комплекса присутствуют полосы поглощения, характерные для аминогрупп хитозана. Отмечается появление максимума поглощения фенольных гидроксильных групп, которые содержатся в структуре молекулы флуоресцеина.

На основе данных метода динамического светорассеяния показано увеличение размеров частиц в смешанных растворах флуоресцеина и хитозана, а также снижение их дзета-потенциала. Дзета-потенциал комплексов уменьшается с увеличением pH раствора,

вплоть до перезарядки комплексов спустя неделю после получения. С изменением рН среды размер частиц комплекса увеличивается, что подтверждает факт различия адсорбционной емкости красителя и полимера в зависимости от значений водородного показателя [3].

Таблица – Средний размер и величина электрокинетического потенциала частиц хитозана с иммобилизованным флуоресцеином

Вид частицы	Средний размер частиц d, мкм			ξ , мВ		
	после синтеза	через 3 дня	через неделю	после синтеза	через 3 дня	через неделю
ХТЗ без красителя	0,365	0,475	0,244	24,9	8,64	30
ХТЗ с красителем в воде	0,804	0,598	0,657	25,2	15	25,3
ХТЗ с красителем в кислой среде (рН=2)	0,360	0,430	1,549	13,6	13,1	17
ХТЗ с красителем в щелочной среде (рН=7,1)	4.618	1,412	0,708	7,44	1,63	-0,12

Размер частиц можно направленно регулировать путем изменения ионной силы, рН раствора и времени взаимодействия компонентов. Как видно, максимально эффективное связывание флуоресцеина с хитозаном наблюдается при рН от 6,8 до 8, в той области, где молекулы красителя слабо отрицательно заряжены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shilova S. V., Mirgaleev G. M., Varabanov V. P. pH-responsive calcium alginate microspheres modified with chitosan for immobilization of antibiotic cefotaxime // *Polymer Science. Ser. A.* – 2022. V. 64. № 5. – P. 447-455.
2. Власова И. М., Гордеева Ю. А., Власов А. А., Салецкий А. М. Определение констант связывания наномаркеров семейства флуоресцеина с сывороточным альбумином человека // *Вестник Московского университета. Серия 3. Физика. Астрономия.* – 2012. № 2. – С. 60-64.
3. Carneiro-da-Cunha M. G., Cerqueira M. A., Souza B. W. Teixeira J. A., Vicente A. A. Influence of concentration, ionic strength and pH on zeta potential and mean hydrodynamic diameter of edible polysaccharide solutions envisaged for multilayered films production // *Carbohydrate polymers.* – 2011. T. 85. № 3. – С. 522-528.