

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА**

---

**ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

*На правах рукописи*

**Дробышевская Оксана Игоревна**

**ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ  
ХАРАКТЕРИСТИК ФЛУОРОНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ  
В АНИОННЫХ ОБРАТНЫХ МИЦЕЛЛАХ**

Специальность: 1.3.6 — оптика

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Научные руководители:  
доктор физико-математических наук, профессор  
Салецкий Александр Михайлович;  
кандидат физико-математических наук  
Кулешова Анна Александровна

**Москва – 2022**

## Содержание

|  |     |
|--|-----|
| Введение.....  | 3   |
| ГЛАВА 1. Фотофизические характеристики флуороновых красителей в растворах и мицеллярных структурах (обзор литературы)..... | 12  |
| §1.1 Флуороновые красители: применение, спектрально - люминесцентные характеристики.....                                   | 12  |
| §1.2. Обратные мицеллы–нанореакторы для синтеза наночастиц и для доставки лекарств.....                                    | 19  |
| §1.3. Фотофизические процессы в водно-мицеллярных растворах красителей.....  | 25  |
| §1.4 Ассоциация молекул красителей. Димеризация молекул флуороновых красителей.....  | 33  |
| ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования.....  | 41  |
| ГЛАВА 3. Исследование фотофизических процессов в водно-мицеллярных растворах флуоресцеиновых красителей.....               | 48  |
| §3.1. Результаты исследования динамического рассеяния света мицеллярных структур.....                                      | 48  |
| §3.2. Фотофизические процессы в водно-мицеллярных растворах молекул флуоресцеина.....                                      | 53  |
| §3.3. Спектральные характеристики галогенпроизводных флуоресцеина в водно-мицеллярных растворах.....                       | 65  |
| §3.4. Фотофизические процессы в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина в анионных обратных мицеллах.....                | 77  |
| §3.5. Процессы димеризации молекул флуороновых красителей в мицеллярных структурах.....                                    | 84  |
| Основные результаты и выводы.....  | 102 |
| Публикации автора по теме диссертации.....   | 105 |
| Список литературы.....   | 107 |
| Приложения.....  | 125 |

## **Введение**

Диссертационная работа посвящена исследованию фотофизических процессов в водно-мицеллярных растворах АОТ (натриевая соль бис (2-этилгексил) сульфосукцинат натрия–гептан) анионных флуороновых красителей (флуоресцеин и его галогенпроизводные: эозин, эритрозин и бенгальский розовый) в условиях пространственного ограничения.

### **Общая характеристика работы**

#### **Актуальность работы и степень её проработки**

Спектрально-люминесцентные методы широко применяются для мониторинга состояния клеток, белков, живых тканей и других биологических структур. Большую роль в таких исследованиях играет метод флуоресцентного зонда, в качестве которого используются молекулы красителей. Перспективными для этих целей являются флуороновые красители (флуоресцеин и его галогенпроизводные). Эти красители, будучи анионными при физиологических значениях pH (7,4), широко применяются в медицине, как в качестве контрастных веществ, так и в фотодинамической терапии [1]. Несмотря на то, что эти красители имеют спектральные характеристики, не совпадающие с областью терапевтического окна, они применяются для диагностики и лечения раковых опухолей на поверхности кожи, используются в клеточной биологии. Имея высокие квантовые выходы в триплетные состояния, эти красители становятся потенциальными сенсбилизаторами для нового направления фотодинамической терапии - антимикробной фотодинамической терапии [2]. Флуороновые красители уникальны в плане реализации последовательного замещения атомов водорода атомами галогенов. Такое галоген-замещение в структуре красителя флуоресцеина приводит к изменению электроотрицательности флуорофора за счет перераспределения частичных зарядов между атомами флуоресцентного зонда, что влияет на видоизменение электронной и пространственной

структур, отображается на спектроскопических характеристиках, на гидрофильно-гидрофобных свойствах полученного ряда флуорофоров [3]. Кроме того, красители гомологичной серии производных флуоресцеина широко используются в качестве наномаркеров для исследования биологических объектов, в частности белков, методами рамановской [4] и флуоресцентной спектроскопии [5], спектроскопии триплетного зонда [6].

Исследования взаимодействия белок-краситель позволяют определять структурные изменения белка в окружающей среде. Большинство исследований *in vitro* посвящено изучению белков в сильно разбавленных буферных растворах [7], 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, обратных мицеллах, органических растворителях и гидратных оболочках.

К наиболее перспективным для этих целей относятся обратные мицеллы, которые представляют собой наноразмерные частицы, состоящие из молекул поверхностно-активного вещества, которые собираются вокруг водного ядра, суспендированного в неполярном растворителе. Размер мицелл можно менять, изменяя соотношение воды и поверхностно-активного вещества. Эти системы привлекли большое внимание, поскольку они охватывают впечатляюще широкий спектр практических применений, наибольший прогресс при этом был достигнут в синтезе наночастиц [8] и в разработке передовых средств доставки лекарств [9].

В связи с вышеизложенным становится актуальным исследование спектрально-флуоресцентных характеристик флуороновых красителей в простых моделях клеток, которыми являются обратные мицеллы.

## Цель и задачи диссертационной работы

**Целью работы** является установление закономерностей фотофизических процессов в системах молекула флуоронового красителя-обратная мицелла, выявление особенностей образования ассоциатов молекул красителей в условиях пространственного внутримицеллярного ограничения, установление роли галогензамещения и структуры мицелл в формировании флуоресцентных характеристик молекул красителей.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

- измерить размеры обратных мицелл при внедрении в них молекул флуороновых красителей при различных степенях гидратации;
- исследовать спектрально-люминесцентные характеристики и определить времена вращательной корреляции молекул флуоресцеина в обратных мицеллах различного размера;
- изучить влияние галогензамещения в молекулах флуоресцеина и структуры обратных мицелл на изменение их дипольных моментов в возбужденных состояниях, на изменение среднего времени жизни и степени анизотропии флуоресценции;
- установление влияния тяжелого атома на время вращательной корреляции молекул красителей флуоресцеинового ряда для различных размеров и структур обратной мицеллы;
- определить эффективность процессов димеризации молекул флуоресцеиновых красителей в мицеллах АОТ, установить структуры димеров, влияние на процессы димеризации внутреннего тяжелого атома, величины заряда ионов красителей, влияние на эти процессы размеров и структуры обратных мицелл;
- установить термодинамические характеристики димеризации молекул флуороновых красителей в обратных мицеллах разного размера.

## **Объект и предмет исследования**

**Объектами исследования** являются флуороновые красители, выбор которых связан с последовательным замещением атомов водорода атомами галогенов (Br –у эозина, I –у эритрозина, I и Cl–у бенгальского розового), внедренные в обратные мицеллы АОТ при варьировании их степени гидратации и других параметров рассматриваемой системы.

**Предметом исследования** являются спектрально-люминесцентные характеристики флуороновых красителей в водно-мицеллярных растворах, влияние пространственного ограничения на эти характеристики и комплексообразование молекул красителей.

## **Методология исследования**

В работе используется методология физической оптики и молекулярной спектроскопии. При выполнении диссертационной работы использованы современные оптические методы исследования сложных молекулярных и биологических систем, включая абсорбционную и флуоресцентную спектроскопию, кинетическую пикосекундную спектроскопию, корреляционную спектроскопию рассеянного света.

## **Научная новизна**

- Впервые зафиксировано увеличение размеров обратных мицелл при внедрении в них молекул флуороновых красителей, обусловленное изменением электростатического взаимодействия между молекулами анионных красителей и гидратированными группами поверхностно активных веществ (ПАВ). Влияние «внутреннего» тяжелого атома на размер обратных мицелл связано с перераспределением зарядов между атомами в молекулах, приводящее к изменению этих взаимодействий.
- Впервые обнаружено изменение спектрально–флуоресцентных характеристик молекул флуороновых красителей в обратных мицеллах при увеличении их гидродинамических радиусов. В реорганизованных

мицеллах увеличивается отношение дипольных моментов возбужденного и основного состояний молекул внедренных красителей.

- Впервые показано, что эффект «внутреннего» тяжелого атома в галогенпроизводных флуоресцеина, внедренных в обратные мицеллы, сказывается на времени вращательной корреляции молекул, которое уменьшается для всех исследованных красителей с ростом гидродинамических радиусов мицелл и связано с уменьшением микровязкости водного пула мицеллы.
- Впервые установлено, что эффективность димеризации молекул флуороновых красителей в мицеллах АОТ увеличивается с ростом размера мицелл и зависит от массы «внутреннего» тяжелого атома и величины заряда ионов красителей. Показано, что реакции димеризации в исследованных системах зависят от энтальпии с энтальпийно-энтропийной компенсацией в димерных реакциях.

### **Практическая значимость**

Полученные данные об эффективности связывания флуоресцентного красителя с обратными мицеллами позволяют создать простые модели клеток, которыми являются обратные мицеллы, оценить факторы, влияющие на неё, и в соответствии с полученной информацией модифицировать данный процесс.

Сведения об особенностях процессов димеризации молекул красителей, о влиянии локализации молекул в обратных мицеллах на эффективность димеризации и структуру димеров наномаркеров семейства флуоресцеина (флуоресцеина, эритрозина, эозина и бенгальского розового) представляют интерес не только для применения перечисленных красителей в качестве флуоресцентных зондов, но и содержат информацию о процессе комплексообразования молекул в ограниченных условиях, что значимо для фундаментальной фотохимии.

### Положения, выносимые на защиту

- Увеличение размеров обратных мицелл при внедрении в них молекул флуороновых красителей обусловлено изменением электростатического взаимодействия между молекулами анионных красителей и гидратированными группами ПАВ. Влияние «внутреннего» тяжелого атома на размер обратных мицелл связано с перераспределением зарядов между атомами в молекулах.
- Увеличение размеров и структурная реорганизация обратных мицелл при внедрении в них флуоресцеина инициирует рост доли анионной формы красителя и возрастание дипольного момента молекул в возбужденном состоянии, что сопровождается изменением его спектрально-люминесцентных свойств.
- Уменьшение времени вращательной корреляции молекул флуоресцеина с ростом гидродинамического радиуса обратных мицелл  $R_h$ , указывает на увеличение микровязкости окружения красителя и объясняется локализацией молекул в области поверхностной воды мицеллы.
- С ростом размера обратных мицелл АОТ увеличивается подвижность молекул воды, ослабевают стерические ограничения молекул красителей, что сопровождается сокращением среднего времени возбужденных состояний и степени анизотропии флуоресценции галогенпроизводных флуоресцеина.
- Эффект «внутреннего» тяжелого атома в галогенпроизводных флуоресцеина, внедренных в обратные мицеллы сказывается на величине времени вращательной корреляции молекул, которое уменьшается для всех исследованных красителей с ростом  $R_h$ , что указывает на уменьшение микровязкости ограниченной водной среды внутри мицеллы.
- Эффективность димеризации молекул флуороновых красителей в мицеллах АОТ от их размеров обусловлена величиной массы



внутреннего тяжелого атома (эффект «внутреннего» тяжелого атома) и величиной заряда ионов красителей (увеличение доли анионных форм молекул красителей). При этом структура димеров красителей практически не отличается.

- В водно-мицеллярных растворах красителей при всех значениях гидродинамического радиуса термодинамические параметры димеризации  $\Delta H > 0$  и  $\Delta S > 0$ . Реакции димеризации в мицеллах протекают с энтальпийно-энтропийной компенсацией. Чем выше молекулярный вес галогена в молекуле красителя, тем эффективней увеличение  $\Delta H$  способствует димерной стабильности.

### **Достоверность и обоснованность результатов**

В экспериментальном исследовании использованы современные оптические приборы, откалиброванные согласно методикам изготовителя и протестированные на эталонных образцах. Для всех полученных величин произведена оценка погрешности. Эксперименты многократно выполнялись лично автором, результаты экспериментов повторялись. Результаты работы были подвергнуты обсуждению на международных конференциях и семинарах лаборатории.

### **Апробация работы**

Результаты работы представлены на следующих конференциях: VI Международная конференция по фотонике и информационной оптике (МИФИ), Москва, Россия (1-3 февраля, 2017); XXIV и XXV международные конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов», Москва, Россия (20 апреля, 2017; 10 апреля, 2018); “Week of Doctoral Students 2018”(WDS 2018), Прага, Чешская Республика (5-7 июня, 2018); “Week of Doctoral Students 2019”(WDS 2019), Прага, Чешская Республика (4-6 июня, 2019); XXIX международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов», Москва, Россия (12 апреля, 2022).

## **Публикации**

Основные результаты диссертации изложены в 11 печатных работах, в том числе в 6 статьях в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих Положению о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова, и в 5 публикациях в сборниках тезисов конференций. Список работ автора приведён в конце диссертационной работы перед списком литературы.

## **Личный вклад автора**

Все изложенные в диссертационной работе оригинальные результаты получены автором лично либо при его определяющем участии. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

## **Структура, объём и краткое содержание работы**

Диссертация состоит из введения, трех глав и основных результатов и выводов. Каждая глава включает в себя краткое введение в рамках поставленной задачи, оригинальную часть и выводы. Работа содержит 129 страниц, включает 45 рисунков, 1 таблицу, 153 библиографических ссылки и 4 приложения.

Во введении обоснована актуальность исследуемой проблемы, приведен краткий обзор литературы, сформулированы цели работы и описано ее краткое содержание по главам.

В первой главе рассматриваются фотофизические характеристики флуороновых красителей с подробным описанием поведения в различных буферных растворах, свойств маркеров и их структур; приведен обзор литературы. Рассмотрены теоретические аспекты процессов ассоциации молекул флуоресцентных зондов. Во второй главе приводится описание создания исследуемых водно-мицеллярных растворов красителей и использованных методов исследования. В третьей главе представлены результаты исследований спектральных, поляризационных и временных

характеристик флуоресценции флуороновых (флуоресцеин, эозин, эритрозин, бенгальский розовый) красителей в обратных мицеллах.

Параграф 3.1 посвящен результатам исследования динамического рассеяния света водно-мицеллярными растворами красителей. Параграф 3.2 посвящен изучению спектрально-флуоресцентных характеристик водно-мицеллярных растворов молекул флуоресцеина. В §3.2 проводится анализ спектров поглощения и люминесценции исследуемой системы и рассматривается влияние размеров обратных мицелл на долю анионных форм флуоресцеина. Параграф 3.3 посвящен исследованию спектральных характеристик поглощения и флуоресценции молекул галогенпроизводных флуоресцеина в анионных обратных мицеллах при варьировании значений гидродинамического радиуса. Наблюдается сдвиг спектра поглощения в коротковолновую область и увеличение оптической плотности при росте значений гидродинамического радиуса ПАВ. В параграфе 3.4 приводится описание фотофизических процессов в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина в мицеллярных растворах. В параграф 3.5 рассматриваются процессы ассоциации молекул флуороновых красителей в обратных мицеллах и проведён анализ термодинамических характеристик изучаемой системы.

В заключении сформулированы основные результаты и выводы настоящей диссертационной работы.

## **ГЛАВА 1. Фотофизические характеристики флуороновых красителей в растворах и мицеллярных структурах (обзор литературы)**

*В данной главе были использованы материалы, опубликованные в статье [A5].*

### **§1.1 Флуороновые красители: применение, спектрально - люминесцентные характеристики.**

Флуороновые красители входят в класс ксантеновых красителей, получивших свое название от основного структурного элемента – ксантенового трицикла. Родоначальником красителей флуоронового ряда является флуоресцеин.

С научно-практической точки зрения флуороновые красители являются интереснейшим объектом исследования. Повышенный практический интерес к изучению фотофизических процессов и фотохимических реакций с участием красителей обусловлен их использованием в разработках новых носителей для оптической записи информации на основе фотохромии [10], в качестве активных сред для перестраиваемых лазеров [11] и в биомедицине [12].

Оптические свойства флуороновых красителей как абсорбционные, так и флуоресцентные существенно зависят от ионного состояния. Обзор исследований ионных равновесий флуоресцеина и его производных дан в [13]. Показано [13,14], что анионные формы флуоресцеина в растворе диссоциированы по карбоксильной группе, в то время как анионы галогензамещенных красителей по атому О- трицикла. Дианионы галогензамещенных флуоресцеина имеют значительно меньшие квантовые выходы и время жизни флуоресценции [14]. Это явление объясняется развитием интеркомбинационной конверсии за счет усиления спин-орбитального взаимодействия в молекулах, содержащих тяжелые атомы.

В [15] были исследованы 20 производных флуоресцеина, получены спектральные характеристики и определены значения среднего времени жизни возбужденного состояния молекул.

Изучению влияния эффекта внутреннего тяжелого атома на квантовый выход флуоресценции, определению времени жизни флуоресценции и квантового выхода галогенпроизводных флуоресцеина посвящена работа [16]. Установлено, что одним только эффектом тяжелого атома нельзя объяснить экспериментальные результаты. Было показано, что полученные экспериментальные результаты могут быть объяснены внутримолекулярным процессом фотоиндуцированного переноса электрона, при котором бензол действует как донор электронов, в то время как ксантоновая часть является акцептором.

Результаты исследования спектров поглощения и люминесценции красителей флуоресцеина (Fl), дибромфлуоресцеина ( $\text{Br}_2\text{-Fl}$ ), эозина ( $\text{Br}_4\text{-Fl}$ ), эритрозина ( $\text{I}_4\text{-Fl}$ ) и бенгальского розового ( $\text{I}_4\text{Cl}_4\text{-Fl}$ ) в метаноле представлены в [17]. Были выявлены конформационные изменения в структуре молекул флуоронов в ряду от флуоресцеина до бенгальского розового, связанные с перераспределением зарядов, которые вызывают изменения длин связей и углов между ними. В ряду  $\text{Fl-I}_4\text{Cl}_4\text{-Fl}$  было обнаружено красное смещение спектров и уменьшение стоксова сдвига.

В статье [18] представлены результаты исследования механизма абсорбции флуоресцеина, эозина Y, эритрозина B. Выявлен разброс абсорбционных свойств красителей, который связан с различными ионными формами, а также с их полярностью и гидрофобностью. Обнаружено, что на форму спектров поглощения красителей влияет pH.

В работе [19] исследован ряд флуороновых красителей (флуоресцеин, эозин Y, эритрозин B) в водном растворе. Был установлен характер изменения спектров поглощения флуоронового красителя при изменении значений pH. В основном растворителе у флуоресцеина димеры образуются с максимумом на длине волны 490 нм. Относительная доля дианионов уменьшается с уменьшением pH и одновременным увеличением доли других частиц – анионов (с двумя максимумами поглощения вблизи 474 и 453 нм). Димерные

формы эозина Y и эритрозина B также имеют интенсивные полосы поглощения с максимумами при длинах волн 517 нм для эозина Y и 526 нм для эритрозина B. Изменения спектров поглощения эозина и эритрозина при снижении pH во многом схожи: амплитуда спектра уменьшается при уменьшении pH, наблюдается его батохромный сдвиг.

Рассматриваемые красители проявляют способность к агрегации, эффективность которой растет с увеличением молекулярной массы галогена, вызывающего изменение пространственной, зарядовой структур молекул и оказывающего влияние на эффективность ионного состояния, на эффект внутреннего тяжелого атома, на молекулярное взаимодействие с молекулами растворителя, на концентрационные зависимости агрегации[20].

Молекулы красителей флуоресцеинового ряда широко применяются в медицине, как в качестве контрастных веществ, так и в фотодинамической терапии, в частности для лечения меланомы, агрессивного рака кожи с плохой выживаемостью у пациентов. В [21] для более эффективного лечения ковалентно присоединили бенгальскую розу (РБ) к амфипатическому пептиду (AMP) C(KLAKLAK)<sub>2</sub> и определили эффективность полученного конъюгата RB-C(KLAKLAK)<sub>2</sub> в качестве сенсibilизатора фотодинамической терапии (ФДТ). Эти красители, имея высокие квантовые выходы, становятся потенциальными фотосенсibilизаторами для нового направления фотодинамической терапии - антимикробной фотодинамической терапии [22-24]. Антимикробная фотодинамическая терапия ( $\alpha$ -ФДТ) является многообещающим противoinфекционным методом для генерации синглетного кислорода (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) для лечения стоматологических заболеваний. В [23] был создан новый фотосенсibilизатор на основе AgNCs и молекул розового бенгальского (РБ) с двойным антибактериальным действием: фотовозбужденные AgNC/RB могли генерировать как <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, так и ионы Ag<sup>+</sup>, проявляющие синергетический бактерицидный эффект. Как показано в [25]

микрочастицы бенгальского розового и  $\alpha$ -циклодекстрина (RB@ $\alpha$ -CD) высокоэффективны в фотодинамической терапии против *Streptococcus mutans*.

В последнее время широкое применение в медицинской практике получил митоксантрон (MTX), который является одним из антрациклиновых онкогенных средств, проявляющих высокую противораковую активность при лечении некоторых онкологических заболеваний, таких как лейкемия, рак предстательной железы, лимфома и рак молочной железы. Из-за терапевтической важности MTX необходимо точно определять его концентрацию в биожидкостях. Для решения этой задачи в [26] был создан ассоциативный комплекс, объединяющий химиотерапевтическое средство MTX и реагент эозина Y в слабокислом растворе, и предложен спектроскопический метод для обнаружения исследуемого препарата в жидкостях организма (кровь и моча).

Целью исследования [27] является оценка фотодинамической эффективности флуоресцеина (Ф), бенгальского розового (БР), эритрозина В (ЭР) и эозина Y (Э). БР оказался более цитотоксичным красителем против клеточной карциномы и наиболее эффективным фотосенсибилизатором. С другой стороны, было замечено, что галогеновые заместители повышают гидрофильность и фотодинамичность.

В [28] исследовались эозин Y, эритрозин В и бенгальский розовый, которые ингибируют DUSP5 (фосфатаза с двойной специфичностью, являющаяся лекарственной мишенью при лечении сосудистых заболеваний). В результате проведенных исследований были выявлены следующие относительные активности: бенгальская роза > эритрозин В > эозин Y.

Оценка влияния фотосенсибилизаторов бенгальского розового и эритрозина на штаммы энтеробактерий *Enterobacteriaceae* была проведена в [29]. Было установлено, что исследованные штаммы чувствительны к фотодинамической терапии с бенгальским розовым, но никак не реагируют на эритрозин.

В [30] исследовалось повышение антимикробной фотодинамической инактивации БР грамотрицательных бактерий добавлением нетоксичной соли йодида калия при освещении зеленым светом (540 нм).

Целью исследования работы [31] является оценка *in vivo* эффективности фотодинамической противомикробной терапии (PDAT), использующей бенгальский розовый (БР) маркер, для лечения кератита *Acanthamoeba castellanii* (АК). Показано, что RB- фотодинамическая противомикробная терапия эффективно снижает паразитарную нагрузку и клиническую тяжесть АК.

Флуороновые красители широко используются в качестве флуоресцентных зондов для исследования биологических объектов. Использование флуоресцентных зондов в исследованиях белковых макромолекул предоставляет обширную информацию о строении белковых молекул и о физико-химическом состоянии отдельных участков (сайтов) на белковых макромолекулах. Флуоресцентные молекулярные зонды являются высокочувствительными датчиками изменений, происходящих с белковыми молекулами.

Процесс связывания лигандов с сывороточным альбумином обусловлен наличием в белке так называемых связывающих центров. Для исследования I связывающего центра сывороточных альбуминов используются анионные при физиологическом рН 7,4 флуоресцентные наномаркеры семейства флуоресцеина (флуоресцеин (Ф), эозин (Э), эритрозин (Эр), бенгальский розовый (БР)), соединяющиеся непосредственно с ним.

Из спектрально-флуоресцентных характеристик зонда (флуороновых красителей) в биологической системе получают информацию о структуре, конформационных изменениях биологических объектов [32, 33].

В работах [34, 35] изучается динамика вращения белка при добавлении в раствор флуоресцентного наномаркера эозина, также детально рассматривают флуоресцентные характеристики спин-меченного маркера. Описание



спектроскопических флуоресцентных характеристик данного красителя и наномаркеров из семейства флуоресцеина (флуоресцеина и эритрозина) в белковых растворах даётся в работах [36, 37]. Данные по поляризованной флуоресценции флуоресцеина, вступающего в взаимодействие с белком, получены в статье [38]. Метод поляризованной флуоресценции также применялся в работе [39] для описания свойств одной из его производных, флуоресцеинового моноглюкуроида, соединяющегося с сывороточным альбумином человека (САЧ).

В работах [40 – 42] рассматривают свойства розового бенгальского, используемого для нахождения поврежденных клеток эпителий при заболеваниях глаза для обнаружения микротравм наружного слоя, и описывают его взаимодействие с сывороточным альбумином человека.

В работе [43] детально рассматривается связывание мембранных белков с флуоресцеином и его производными, с родамином и его производной в растворах глицерина. Учитывается изменение температуры образца в ходе эксперимента и изучалась кинетика флуоресцентного затухания.

В статьях [44, 45] изучают спектроскопические характеристики наномаркеров семейства флуоресцеина при их взаимодействии с биологическими объектами (БСА, яичный альбумин). Производные флуоресцеина и родамин В применяются для исследования поверхностных свойств микросфер, состоящих из бычьего или яичного альбумина.

Комплексообразование наномаркеров семейства флуоресцеина с БСА в водных растворах исследованы в [46]. Были определены константы комплексообразования. Построены три различные модели для интерпретации экспериментальных данных. С их помощью найдены и объяснены эффект насыщения комплексообразования БСА с наномаркерами, наличие отрицательной кооперативности в комплексообразовании и зависимость комплексообразования от взаимного сочетания величин электростатических

зарядов на белке и на наномаркерах. Рассчитан параметр сродства наномаркеров к БСА при образовании комплексов.

Флуоресцентные характеристики молекул эозина (Э) в растворах бычьего сывороточного альбумина (БСА) при различных рН растворов были изучены в [47]. Установлено, что тушение флуоресценции Э с ростом его концентрации обусловлено двумя конкурирующими процессами: связывание молекул БСА с молекулами Э и образование ассоциатов молекул красителя. Определены степень ассоциации, структура и термодинамические параметры димеров в буферных растворах и растворах БСА при различных значениях рН. Вариация рН буферных растворов Э приводит к изменению всех этих характеристик. Произведен учет влияния формирования ассоциатов Э в растворах БСА на константы динамического тушения флуоресценции Э. Показано, что учет формирования ассоциатов Э в растворах БСА приводит к уменьшению константы динамического тушения флуоресценции Э, которое пропорционально величине рН раствора.

Флуороновые красители используются в качестве флуоресцентных зондов для анализа механизмов взаимодействия и связывания белков с разными лигандами, в первую очередь с поверхностно-активными молекулами, которые вызывают денатурацию белков. Так в [48] из анализа спектров флуоресценции молекул эозина в растворе с сывороточным альбумином человека (САЧ) установлена динамика конформационных перестроек белка при его денатурации при обработке додецилсульфатом натрия (ДСН) при различных значениях рН среды. Установлено, что денатурация САЧ в присутствии ДСН происходит в два этапа: первый этап — разрыхление белковых глобул, второй этап — полное разворачивание белковых молекул. Денатурация белка в присутствии ДСН проходит обе стадии при рН раствора ниже изоэлектрической точки альбумина, а при рН раствора выше изоэлектрической точки альбумина денатурация прекращается на первой стадии.

Денатурация САЧ под действием катионного детергента цетилтриметиламмония бромида (ЦТАБ), установленная из флуоресценции молекулярного зонда эозина, является одностадийным процессом в диапазоне рН (3,5-8,0) [49]. Максимально возможное разрыхление глобул САЧ в присутствии ЦТАБ достигается при  $[\text{ЦТАБ}] = 4$  ммоль/л. Этот детергент эффективно денатурирует САЧ при значениях рН выше, чем рI белка (4,7).

В [50] исследовано взаимодействие катионного детергента ЦТАБ с сывороточным альбумином человека при различных значениях рН с использованием данных, полученных из анализа процесса флуоресценции наномаркера эозина в растворах САЧ и ЦТАБ. Методами флуоресцентного анализа регистрировались качественные перестройки глобул САЧ при денатурации под действием ЦТАБ, а методом рамановской спектроскопии - количественные изменения вторичной структуры САЧ при ЦТАБ-индуцированной денатурации. Показано, что денатурация САЧ, происходящая при взаимодействии катионного детергента ЦТАБ с САЧ, носит одностадийный характер.

## **§1.2. Обратные мицеллы–нанореакторы для синтеза наночастиц и для доставки лекарств**

Обратные мицеллы представляют собой наноразмерные частицы, состоящие из молекул поверхностно-активного вещества (ПАВ), которые собираются вокруг водного ядра, суспендированного в неполярном растворителе [51]. Обратные мицеллы могут быть приготовлены с использованием различных ПАВ, в том числе анионных, катионных, цвиттерионных, неионогенных и смешанных поверхностно-активных веществ [52]. Анионное бис-2-этилгексилсульфосукцинат натрия (АОТ), является хорошо изученным соединением для создания обратных мицелл в неполярных растворителях [53]. Размер, форма и внутренняя структура водных ядер,

агрегационное число и микровязкость являются важными параметрами для характеристики обратной мицеллы [54].

Размер мицелл зависит от степени гидратации  $w = \frac{[H_2O]}{[AOT]}$ , где  $[AOT]$  и  $[H_2O]$  - молярные концентрации воды и поверхностно-активного вещества в

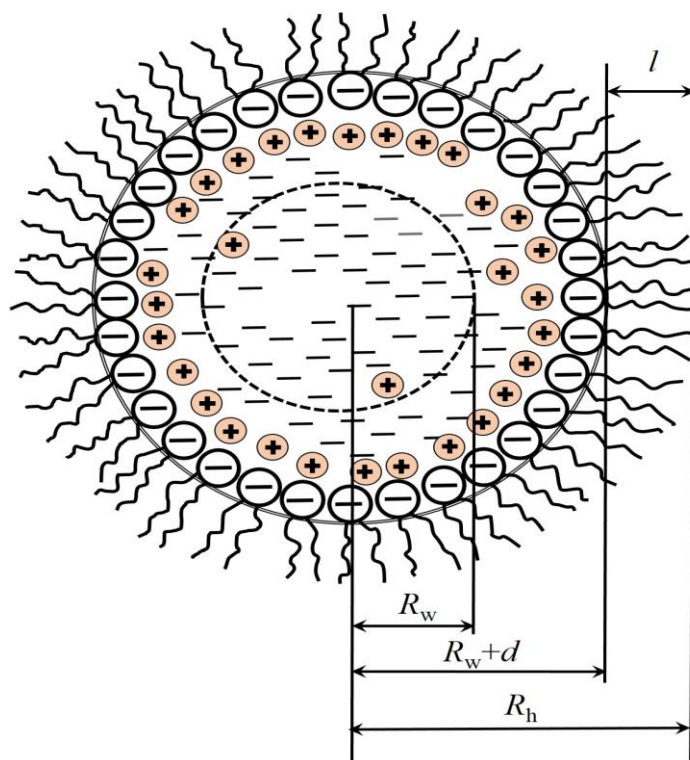


Рис. 1.1. Структура ионной обратной мицеллы.

растворе. Структура ионной обратной мицеллы представлена на рис. 1.1. Внутри мицеллы находится капля воды с радиусом  $R_w$ , которая окружена слоем поверхностной воды толщиной  $d$ . Для характеристики размера обратной мицеллы вводится радиус  $R_h = R_w + d + l$  (где  $l$  - длина углеводородного хвоста). Согласно данным ИК спектроскопии, молекулы воды внутри мицеллы находятся в трех состояниях: «свободная», «объемная» и «связанная» воды [55]. «Свободная» вода определяется как диспергированная в длинных углеводородных цепях молекул поверхностно-активного вещества. «Объемная» вода находится внутри капель обратной микроэмульсии и образует водородные связи. Вода внутри мицеллы существует в форме

«связанных» молекул, которые взаимодействуют как с противоионами  $\text{Na}^+$ , так и с полярной группой АОТ.

Наноразмерное водное ядро обратных мицелл действует как «нанореактор», внутри которого контролируемые реакции приводят к образованию широкого спектра наноструктур с относительно узким распределением по размерам [56]. Эти системы привлекли большое внимание, поскольку они охватывают впечатляюще широкий спектр практических применений, наибольший прогресс при этом был достигнут в синтезе наночастиц и в разработке передовых средств доставки лекарств.

Синтез наночастиц в обратных мицеллах стал популярной темой исследований с начала 1980-х годов, когда появились первые коллоидные растворы металлических наночастиц платины, палладия и родия [57]. После этой новаторской работы было синтезировано множество наночастиц [58].

В работе [59] с помощью Triton X-100 и *n*-гексанола были получены стабильные обратные микроэмульсии, которые использовались, как нанореакторы для получения сферических частиц 1,1-диамино-2,2-динитроэтилен (FOX-7).

В [60] с помощью АОТ в изооктане, как нано-реакторе были синтезированы и исследованы полимерные частицы *n*-фениленвинилена. С помощью УФ –видимых спектров было обнаружено, что при малом значении  $\omega_0$  полимер имеет малое число повторяющихся звеньев; с увеличением  $\omega_0$  увеличивается число этих звеньев. Длина цепи полимера контролировалась с помощью размера обратной мицеллярной капли (при  $\omega_0 = 5\text{-}20$  нм размер полимерных частиц составляет 9 – 74 нм).

В статье [61] с помощью поверхностно-активных веществ АОТ были образованы обратные мицеллярные нано-реакторы, в которых исследовались наночастицы биополимера. С помощью динамического рассеяния света были получены размеры мицелл с полимерами от 40 до 300 нм в зависимости от ПАВ.

В работе [62] были синтезированы частицы золота в обратных мицеллярных системах, которые были исследованы с помощью динамического и статического рассеяния света. Обнаружено, что частицы имеют однородную сферическую структуру с размером 2 нм.

В [63] были получены частицы Au-TiO<sub>2</sub> и Ag/Au-TiO<sub>2</sub> с помощью систем обратных мицелл вода/АОТ/циклогексан и вода/Тритон X-100/циклогексан, размер комплекса составил от 15 нм до 90 нм. Данные комплексы исследовались с помощью рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии на электронном микроскопе и с помощью порошковой рентгеновской спектроскопии.

В работах [64-67] были синтезированы в нано-реакторах поверхностно-активных веществ частицы платины, палладия, родия с помощью комплексов вода/Твин 80/Спан 20/этилолеат и сипероник 10/изооктан (средний размер частиц менее 7 нм). Наночастицы железа были синтезированы с помощью комплекса изооктан/Спан 80/Твин 60 (размер частиц составил 80-90 нм) [65], а оксида никеля с помощью комплекса Твин 90/АОТ/н-пропанол/циклогексан (средний размер частиц 14 нм). Получение наночастиц TiO<sub>2</sub> и SiO<sub>2</sub> было осуществлено с помощью комплекса Твин 20/Твин 80/Спан 20/Спан 80/декан/вода (размер частиц составил 30-120 нм) [67].

В статье [68] с помощью обратных микроэмульсий системы Спан-Твин 80/масло/ацетат цинка были синтезированы наночастицы оксида цинка, размер частиц составил 14 нм. В работе [69] были получены наночастицы оксида никеля с помощью системы, состоящей из неионного ПАВа пищевого эфира сахарозы (S-1170 /1-бутанол/тетрадекан/вода). Размеры частиц оказались моодесперсны и однородны, изменялись с увеличением концентрации реагентов (при С=0,010 М размер частиц 3-9 нм, при С=0,100 М размер частиц в диапазоне 5-12 нм).

Мицеллы в качестве средств доставки лекарств имеют множество применений в биомедицинской области благодаря их способности к

самосборке в наноструктуры ядро-оболочка в водной среде, биосовместимости, физиологической стабильности, нетоксичности, простоте синтеза. Они могут быть на липидной или полимерной основе, состоять из мономеров амфифильных или противоположно заряженных сополимерных блоков. В работе [70] представлен всесторонний обзор стратегий для продления времени циркуляции и биодоступности мицеллярных средств доставки лекарств в организме, а также функционализации достижения селективного высвобождения. В качестве трансдермального носителя для доставки гидрофильных лекарств обратные мицеллы могут эффективно контролировать высвобождение лекарств и улучшать их биодоступность, достигая, таким образом, терапевтических уровней во всем организме [71].

В обзоре [72] представлены уникальные свойства наномицелл (которые отличают их от других частиц и открывают возможности для использования в качестве агента доставки лекарств и многих других биологических применений или приложений), также обсуждается способность наномицелл инкапсулировать лекарство, рассматриваются различные методы загрузки и доставки лекарств с описанием их преимуществ и недостатков.

В [73] приведены некоторые особенности наномицелл, касающиеся их общих свойств, методов получения и их характеристики. Наномицеллы представляют интерес для доставки лекарств в глазной области из-за их исключительной биосовместимости, низкой токсичности.

Химиотерапия и генная терапия используются в клинической практике для лечения рака простаты. Однако низкая эффективность доставки лекарств и серьезные системные побочные эффекты остаются препятствием для более широкого применения многих препаратов. В [74] сообщается о недавно разработанных мицеллах PEO-PCL, которые были самосборными и модифицированными сперминовым лигандом, лигандом DCL и пептидом TAT, чтобы нести доцетаксел и антинуклеостеминовую миРНК.

Фотофизика и динамика архетипического противоракового  $\beta$ -карболинового препарата, а именно гармана (НМ), в обратных мицеллах АОТ представлены в [75]. Полученные результаты показывают заметно отличающееся фотофизическое поведение лекарственного средства, инкапсулированного в обратной мицелле, по сравнению с таковым в объемной водной среде.

Потенциал мицеллярных систем доставки лекарств в глаза был продемонстрирован в экспериментах на животных *in vivo* и клинических исследованиях [76]. Были продемонстрированы положительные результаты мицеллярного нацеливания в глаза лекарственных средств при заболеваниях как переднего, так и заднего сегмента, а также при глаукоме в исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

В [77] обобщаются различные ключевые стратегии и основные принципы устойчивой доставки лекарств с использованием мицеллярных наноносителей. Эти методы были сравнены с другими конкурирующими системами доставки, такими как полимерные микрочастицы и наночастицы. Стратегии для наномицеллярных носителей с замедленным высвобождением включают использование пролекарств, конъюгатов лекарственного полимера, новых полимеров с низкой критической концентрацией мицелл или с обратной термореактивной природой.

Иматиниб мезилат является ингибитором тирозинкиназы, который используется перорально при лечении рака кожи. Поскольку это гидрофильное лекарственное средство, то разработка носителя для включения этого лекарственного средства с подходящей эффективностью инкапсуляции является сложной задачей. Для этих целей предложены обратные мицеллы, имеющие внутреннее гидрофильное и внешнее гидрофобное ядро [78].

В работе [79] представлен анализ мониторинга эффекта добавления лекарственного средства бетаина гидрохлорида (ВН) на АОТ.



Взаимодействия, преобладающие в системе сурфактант-лекарство, обсуждаются с целью изучения их применения в системах доставки лекарств.

В [80] сообщается о значительном прогрессе применения полимерных мицелл для доставки лекарств. Прочная структура ядро-оболочка, кинетическая стабильность и присущая способность растворять гидрофобные лекарства являются основными моментами PMs. В этом обзоре представлены последние достижения и понимания новейших приложений обратных мицелл для доставки лекарств: перорально, парентерально, подкожно, интраназально и другие способы введения лекарств.

Влияние сферической и червеобразной форм ПАВ на фармакологическую эффективность обратных мицелл, нагруженных лекарственным средством, при исследованиях рака молочной железы и моделей рака поджелудочной железы обсуждается в [81]. Показано, что сферические мицеллы быстро накапливаются в опухолевой ткани, сохраняя при этом большое количество препарата; червеобразные мицеллы накапливаются медленнее и только при высвобождении значительных количеств препарата.

В статье [82] представлен обзор текущего состояния полимерных мицеллярных составов в качестве наноносителей для противоопухолевых препаратов и их эффективности в терапии рака, включая их клинический статус.

### **§1.3. Фотофизические процессы в водно-мицеллярных растворах красителей**

В последние несколько лет появилось большое количество работ, посвященных спектроскопическому исследованию молекул красителей в обратных мицеллах. В исследованиях систем молекулы красителей-обратные мицеллы основное влияние уделяется изменениям морфологии и размеров мицелл, спектрально - флуоресцентным характеристикам и фотофизическим процессам в молекулах красителей.

Так, в [83-85] были исследованы фотофизические свойства нильского голубого в прямых (додецилсульфат натрия) и обращенных мицеллах (АОТ). Изучены фотофизические свойства метилового оранжевого и кристаллического фиолетового в неионном ПАВ (тритон X-114) и в катионном ПАВ (додецилсульфат натрия), конго красного в обращенных мицеллах (гексадецил триметиламмоний бромид и цетил триметиламмоний бромид). Были определены размеры мицеллярных систем с помощью динамического рассеяния света и сняты спектры поглощения и люминесценции. Было установлено увеличение внешнего радиуса мицеллы в мицеллярных системах АОТ/октан/Родамин В с увеличением количества воды в полостях обратных мицелл [86].

В [87] были исследованы фотофизические процессы молекул красителя родамина в обратных мицеллах методами UV-VIS и флуоресцентной спектроскопии, а также с помощью динамического рассеяния света. Было показано, что с увеличением концентрации красителя родамина В взаимодействия между нано-каплями изменялись от притяжения к отталкиванию в зависимости от массовой доли капель. В работе [88] исследовалось влияние длины цепи молекулы поверхностно-активного вещества на размер обратных мицелл и расположение гидрофильного красителя родамина В в мицеллах. Влияние катионного обмена в поверхностно-активном веществе NaAOT на размер капель воды и расположение красителя родамина В (RhB) исследовано в работе [89] методами динамического рассеяния света и молекулярной спектроскопии. Спектроскопические свойства кристаллического фиолетового красителя в обратной мицеллярной среде, изменение его свойств в зависимости от содержания воды и массовой доли наноккапелек исследованы в работе [90]. Было показано, что при высокой концентрации красителя его молекулы могут находиться в межфазной области, но вблизи ядра АОТ, тогда как при его

низкой концентрации могут находиться также и в межфазной области, но далеко от ядра.

В [91] работе исследованы спектры флуоресценции системы АОТ/гептан/пропан (краситель). Определены гидродинамические радиусы при различных концентрациях АОТ и при варьировании  $\omega_0$ . Были обнаружены четыре основных микросреды для зонда: внутренний бассейн со «свободной» водой, область связанной воды, поверхность молекулы АОТ и окружающая фаза углеводородного растворителя.

В [92] исследовалось расположение аденина в системе АОТ/н-гептан и ЦТАБ/н-гептан. Установлено, что аденин в обратной мицелле АОТ образует сложные конформеры на границе АОТ/вода. Однако, в обратных мицеллах ЦТАБа аденин находится в водном пуле без образования конформеров.

В [93] изучалась система водных обратных мицелл (АОТ в н-гексане) с цианиновыми красителями ( $IR_{125}$  и  $C_{152}$  при концентрациях  $C = 10^{-5} - 10^{-6}$  моль/л). Было обнаружено, что зонд  $IR_{125}$  находится в водном бассейне обратной мицеллы АОТ, а  $C_{152}$  находится на внешней стороне межфазной области или в неполярной фазе н-гептана обратной мицеллы АОТ. Кроме того, анизотропия флуоресценции  $IR_{125}$  при меньших значениях степени гидратации ( $w = 10$ ) в первую очередь связана с переориентацией обратных мицелл, а анизотропия флуоресценции  $IR_{125}$  при больших значениях степени гидратации ( $w = 40$ ) связана с переориентацией  $IR_{125}$  в водном бассейне обратной мицеллы.

Детальное исследование процессов, происходящих при формировании мицеллярного раствора АОТ/вода/гексан с цианиновым (анионным) красителем, было проведено в [94]. Показано, что до формирования стабильной микроэмульсии происходят процессы агрегации за счет проникновения в водную макрофазу ионов натрия и дезагрегации за счет взаимодействия красителя с анионом АОТ.

В [95] исследовано внутреннее вращение фотовозбужденного гемицианинового красителя транс-4-[4-(диметиламино)стирил]-1-

метилпиридиния йодида (DASPI) в обратных мицеллах. Константы скорости закручивающего вращательного движения были получены из измеренных времен жизни флуоресценции в нанокластерах воды различного размера, приготовленных из растворов бис(2-этилгексил)сульфосукцинат натрия (АОТ)–алкан–вода путем изменения молярного соотношения вода/АОТ. Было замечено, что время жизни флуоресценции DASPI в водном пуле, образованном обратной мицеллой, заметно увеличивается по мере уменьшения размера нанокластера, что означает, что микроструктура обратной мицеллы значительно влияет на скручивающее движение в возбужденном состоянии. При этом величина скорости процесса внутреннего вращения зонда связана с характеристиками водного пула (полярность и вязкость).

Исследованию спектрально –флуоресцентных характеристик молекул красителей, внедренных в обратные мицеллы посвящена работа [96]. В ней исследовалась система 7-(N,N'-диэтиламино)кумарин-3-карбоновой кислоты и (7-DCCA) в обратных мицеллах вода/АОТ/изооктан. Изучалось спектральное поведение 7-DCCA внутри обратных мицелл с изменением длины волны возбуждения. Были установлены зависимости спектроскопических характеристик от длины волны возбуждающего света, получены значения квантового выхода флуоресценции, значения среднего времени возбужденного состояния молекул зонда, время релаксации растворителя и время вращательной релаксации 7-DCCA .

Фотофизические свойства 7-амино-4-метилкумарина (C120) были исследованы в обратных мицеллах [97] с использованием методов молекулярной УФ-видимой абсорбции, стационарной и флуоресцентной спектроскопии с временным разрешением. Было обнаружено, что внутримолекулярные изменения происходят в структуре молекулы C<sub>120</sub> благодаря специфическим взаимодействиям растворенного вещества и растворителя.

Фотофизические свойства пиронина В (PyB) и пиронина Y (PyY) в обратных мицеллах, образованных водой/бис(2-этил-1-гексил)сульфосукцинатом натрия (АОТ)/н-гептаном, исследовали в [98] с помощью УФ-видимого поглощения, стационарной и флуоресцентной спектроскопии с временным разрешением в диапазоне гидродинамических радиусов от 1,9 до 9,4 нм. Были определены важные фотофизические параметры, такие как сдвиги полос, квантовые выходы флуоресценции и время жизни флуоресценции. Установлено, что размер обратной мицеллы влияет на флуоресцентные характеристики пирониновых красителей.

Фотофизика ксантенового красителя эозина-Y (Э) в обратных мицеллах натрия 1,4-бис(2-этилгексил)сульфосукцинат (АОТ) и хлорид бензилгексадецилдиметиламмония (БГДХ) была исследована в [99]. Установлено, что в мицеллярных средах как спектры поглощения, так и спектры испускания красителя имеют красное смещение по отношению к водным растворам. На основе результатов этих исследований сделан вывод, что Э находится в мицелле на границе раздела с поверхностно-активным веществом. Особый интерес вызвало влияние организации мицелл на свойства триплетного состояния Э. Показано, что тушение триплетов Э более эффективно в мицеллах, чем в гомогенных растворителях.

В [100] была исследована ступенчатая ионизация  $H_2R \rightleftharpoons HR^- \rightleftharpoons R_2^-$  шести галогенированных флуоресцеиновых красителей в обратных мицеллах. Зарегистрирован сдвиг спектров красителей, находящихся в нейтральной (молекулярной)  $H_2R$  форме, в сторону бесцветного лактона при переходе от воды к обращенным микроэмульсиям АОТ.

Фотофизические свойства 1,2-дигидроксиантрахинона (ализарина), содержащегося в обратных мицеллах, исследованы в [101] с помощью стационарной и флуоресцентной спектроскопии с временным разрешением. Интенсивность флуоресценции ализарина при максимуме 585 нм и время жизни возбужденного состояния в мицеллах увеличились в 2,5–3,0 раза по сравнению с таковыми у объемного раствора. Авторы показали, что ализарин, заключенный в ядре малых обратных мицелл, обладает сильным взаимодействием с сульфонатной головной группой поверхностно-активного вещества.

При исследовании фотофизических свойств обращенных мицелл АОТ, содержащих родамин В, для различных значений массовой доли нанокapель воды было показано, что коэффициент диффузии нанокapели увеличивался по мере увеличения концентрации красителя [102]. Было установлено, что межкапельные взаимодействия при переходе формы мицелл от цилиндрической к сферической оставались притягивающими.

Изучению влияния катионного обмена в мицеллах АОТ с Na (NaАОТ) на размер капли воды и расположение красителя родамина В посвящена работа [103]. Показано, что при замене катиона Na на H в АОТ, содержащей краситель, размер капель воды увеличивался и взаимодействия между нанокapлями становились менее отталкивающими с увеличением их массы. Установлено, что гидрофильный краситель RhВ с низкой концентрацией может быть локализован в слое Гуи-Чепмана мицеллы НОТ на границе вода –ПАВ для NaАОТ.

В [104] были проведены эксперименты системы папаина с меткой DASIA в объемной воде и внутри водного бассейна катионных (цетилтриметиламмоний бромид, ЦТАБ) и анионных (бис(2-этилгексил) сульфосукцинат натрия, АОТ) обратных мицелл с различным содержанием воды ( $\omega_0$  от 20 до 50). В то время как изменений максимумов поглощения и испускания, а также времени жизни в возбужденном состоянии при изменении размера обратной мицеллы не наблюдается, стоксов сдвиг, время вращательной корреляции и анизотропия с изменением размера мицелл весьма значительны. Наблюдаемые изменения объяснены посредством анализа электростатических сил, действующих между папаином, имеющим положительный поверхностный заряд, и обратными мицеллами катионного ЦТАБ и анионного АОТ.

Анизотропия флуоресценции двух структурно сходных ионных зондов родамина 110 и флуоресцеина была исследована в [105] в растворах, содержащих обратные мицеллы АОТ, при варьировании молярного отношения воды к значению  $\omega_0$  поверхностно-активного вещества. Эксперименты были проведены для анализа влияний размера капель воды и электростатических взаимодействий на вращательную диффузию молекул-зондов. Среднее время переориентации уменьшается с увеличением  $\omega_0$  для обоих зондов, но это уменьшение сильнее выражено для молекул флуоресцеина, чем для молекул родамина [105]. Значительное уменьшение среднего времени переориентации флуоресцеина по сравнению с молекулами родамина является следствием отталкивающих электростатических взаимодействий между отрицательно заряженным зондом и головными анионными группами ПАВ(АОТ).

В [106] было рассмотрено влияние образования обратных мицелл с неводными полярными растворителями метанолом или ацетонитрилом на абсорбционные, эмиссионные и рамановские спектры кумарина 481 (C481) и кумарина 153. Показано, что различия в динамике возбужденных состояний

этих красителей в обратных мицеллах обусловлено эффектом вращения диэтиламиногруппы C481.

В [107] фотофизика красителя Эозина-У была изучена в обратных мицеллах натрия 1,4-бис (2-этилгексил) сульфосукцината (АОТ) и бензил гексадецил диметиламмоний хлорида (BHDC). Особое внимание было уделено влиянию организации мицелл на свойства триплетного состояния эозина. Установлено, что молекулы эозина локализованы в обратных мицеллярных системах на границе раздела вода -ПАВ, при этом время жизни возбужденного триплетного состояния эозина больше в мицелле, чем в гомогенных растворителях.

Исследование фотофизических процессов молекул красителей проводится не только с помощью линейной, но и нелинейной спектроскопии в [108, 109]. Согласно полученным в [108] результатам, нелинейно-оптические свойства Congo Red проявляются за счет увеличения растворимости красителя в водной среде обратной мицеллы, а также изменения растворимости красителя в микроэмульсии. В [109] была исследована оптическая нелинейность красителя родамина Б в обратной мицелле с помощью метода Z-сканирования. Оптические отклики родамина Б характеризовались зависимостью от интенсивности показателя преломления мицеллярной среды.

В [110] были исследованы нелинейно-оптические свойства бенгальского розового в водных растворах поверхностно-активных веществ. Результаты показывают, что на нелинейный показатель преломления  $n_2$  данного флуоресцентного красителя влияют структура мицеллы (размер капель) и массовая доля капель, при этом двухфотонное поглощение красителя в мицелле больше, чем в растворе.

В [111] измерялся коэффициент двухфотонного поглощения эозина-Б в системе АОТ / вода / гептан. Установлено изменение коэффициента двухфотонного поглощения эозина-В в мицелле в зависимости от ее размера



и концентрации красителя. При этом влияние концентрации красителя на его нелинейные оптические свойства связано с агрегацией молекул красителя.

#### **§1.4 Ассоциация молекул красителей. Димеризация молекул флуороновых красителей**

При увеличении концентрации растворенных молекул в растворе происходит уменьшение расстояния между ними, что приводит к увеличению взаимодействия между растворенными молекулами и изменению вероятностей электронных переходов в молекулах. Это обычно сопровождается изменением всех оптических характеристик растворов: уменьшается квантовый выход флуоресценции, времени жизни возбужденного состояния его молекул, происходит изменение спектров поглощения, а иногда и спектров его флуоресценции. В результате увеличения концентрации молекул растворенного вещества может наблюдаться явление ассоциации молекул флуорофора с образованием комплексов молекул в основном состоянии различной сложности и величины. Из-за этого процесса в растворе можно наблюдать не только мономерные молекулы, но и новые поглощающие или излучающие центры. Многие красители проявляют способность к ассоциации, что является одной из особенностей красителей в растворе. Обзоры ранних работ по ассоциации молекул красителей в растворах представлены в [112, 113]. Явление агрегации в растворе представляет собой часто встречающееся явление в химии красителей из-за межмолекулярного ван-дер-ваальсова притяжения сил между молекулами. Кроме ван-дер-ваальсова взаимодействия образование ассоциатов возможно из-за объединения молекул посредством водородных связей. Предположение об образовании ассоциатов за счет водородных связей подтверждается зависимостью эффективности процесса образования сложного комплекса молекул от природы используемого растворителя и самой структуры молекул

красителя, что было показано результатами изучения инфракрасных спектров поглощения растворов красителей [114, 115].

Хорошо известно, что ионные красители склонны к ассоциации в разбавленных растворах. Первой ступенью образования ассоциатов является возникновение димеров. Однако часто на этом процесс ассоциации не завершается, и при более высокой концентрации раствора происходит возникновение тримеров, тетрамеров и более сложных ассоциатов. Хотя красители очень индивидуальны как по структуре, так и по поведению, некоторые общие правила хорошо установлены в отношении агрегации в целом.

Наиболее типичны три вида изменений в электронных спектрах поглощения растворов, происходящих при ассоциации их молекул [112]:

- 1) с увеличением концентрации красителей происходит постепенное уменьшение интенсивности длинноволнового максимума поглощения с одновременным ростом коротковолнового максимума;
- 2) уменьшение поглощения без существенного изменения формы спектра и положения максимума полосы;
- 3) образование новой полосы поглощения.

Концентрационные изменения спектров поглощения обычно объясняются с привлечением теории резонансного взаимодействия (в рамках экситонной модели). Согласно экситонной модели теории, агрегация молекул красителя приводит к сильному взаимодействию диполей молекул. Электростатическое взаимодействие между диполями молекул расщепляет энергетические уровни возбужденных состояний молекул в димере, а основное состояние димера остается дважды вырожденным [116].

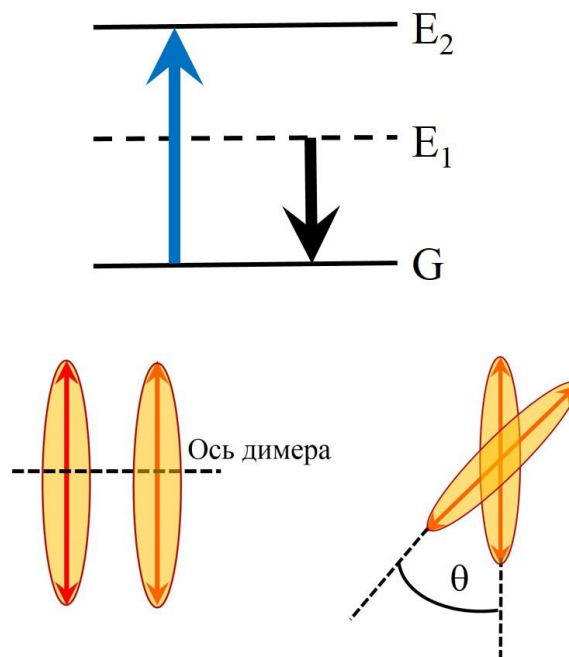


Рис. 1.2. Схематичное представление образования Н-димера молекул.

Согласно теории молекулярного экситона [116] димеры могут быть Н- или J-типа. В Н-димерах молекулы образующие димеры либо параллельны (параллельные дипольные моменты перехода). Либо это закрученный сэндвич-димер (дипольный момент одного мономера повернут на  $\theta$  по отношению к другому (рис. 1.2). Образование Н-димера сопровождается коротковолновым сдвигом спектра поглощения (см. рис. 1.2).

В J-димере молекулы мономеров находятся в одной плоскости (в форме

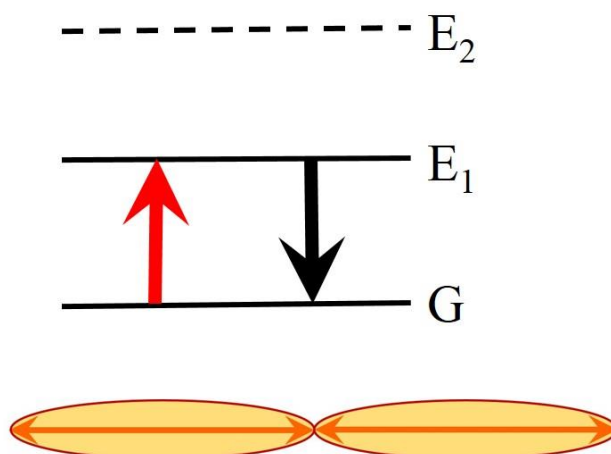


Рис. 1.3. Образование J-димера молекул.

головой к хвосту, рис. 1.3). Образование J-димера сопровождается длинноволновым сдвигом спектра поглощения (см. рис. 1.3).

Однако реальная система имеет тенденцию к образованию как H-, так и J-димеров, в результате могут образовываться лимеры, структура которых

представлена на рис. 1.4. Образование таких димеров приводит к

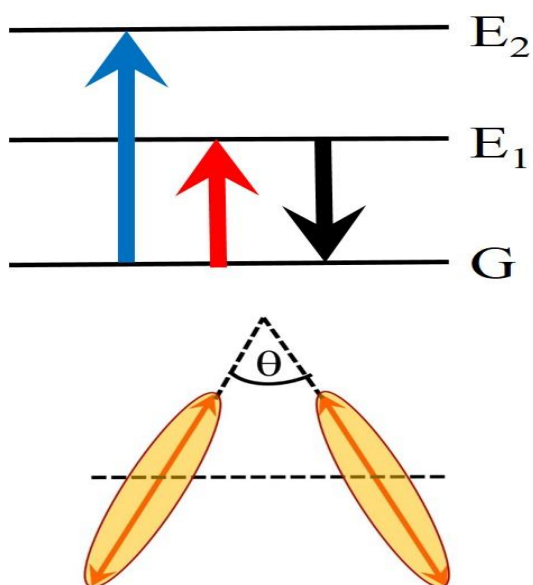


Рис. 1.4. Расщепление спектра поглощения при образовании димера молекул.

расщеплению полосы поглощения (рис. 1.4).

Следует отметить, что долгое время ассоциация исследовалась только в водных растворах [117, 118] и для родаминовых красителей [119, 120]. Специфическое влияние воды объяснялось большой величиной её диэлектрической постоянной  $\epsilon = 81$ , способствующей уменьшению кулоновских сил отталкивания молекул красителей при ассоциации. Вместе с тем, этот процесс может развиваться и в органических растворителях. В полярных средах молекулы красителей чаще всего существуют в мономерной форме, в неполярных растворителях они практически не растворяются. Использование смесей полярных и неполярных растворителей во многих случаях позволяет широко варьировать степень ассоциации молекул красителей [121].

Позже процессы ассоциации исследовались и для других красителей. В статьях [122-124] рассматривались спектры поглощения флуоресцентных красителей (метиленовый синий, стирил-цианиновый и его производные, и производные скварилиевого маркера), на основе которых проводился анализ

их мономерных структур и ассоциатов. В работах установлено влияние растворителя на эффективность образование ассоциатов, на геометрию димеров.

Процессы ассоциации происходят и в растворах флуороновых красителей. Так константа образования и спектр поглощения димера и тримера флуоресцеин-дианиона в водных растворах получены в [125]. Геометрические структуры обоих агрегатов были определены с помощью экситонной теории. Также установлена природа ассоциативных сил. Из спектральных данных поглощения, излучения и возбуждения в [126] установлено образование агрегатов Н-типа бенгальского розового в воде и полярных протонных растворителях.

В работе [127] проведены исследования молекулярных спектров этилового эфира бенгальского розового в этанольных растворах в присутствии катионов щелочных металлов. Установлено, что ассоциация молекул красителей происходит в два этапа:

(а) образование нейтрального комплекса между анионом красителя и катионом щелочного металла;

(б) взаимодействие между нейтральным комплексом и вторым анионом красителя с образованием димера.

Механизм первой реакции чисто электростатический, тогда как стадия димеризации определяется в основном гидрофобностью аниона красителя.

В [128] исследовано влияние растворителей, галогензаместителей и поверхностно-активных веществ на агрегацию ксантеновых красителей (флуоресцеина и эозина Y). Установлено, что полярные протонные растворители способствуют агрегации обоих красителей, тогда как полярные апротонные растворители препятствуют процессу агрегации. Показано, что неполярные растворители могут разрушать агрегаты, образовавшиеся ранее в водной среде.

Слабую флуоресценцию димеров эозина Y (EY) в водных растворах наблюдали в [129, 130]. Квантовый выход флуоресценции димера EY был оценен в 0,005.

Особый интерес представляет термодинамика димеризации молекул красителей. Первой работой, посвященной этой тематике, является [131], в которой определяются изменения свободной энергии, энтальпии и энтропии, вызванные димеризацией и тримеризацией флуоресцеина и его галогенпроизводных эозина и эритрозина.

Изучению термодинамики димеризации молекул красителей посвящены работы [132-135]. Так в [133] с использованием хемометрического подхода проведено спектрофотометрическое изучение термодинамики димеризации красителя нейтрального красного в водной и мицеллярной средах. Впервые определена константа димеризации, получены спектры мономеров и димеров нейтрального красного в мицеллярной среде при различных pH.

Термодинамические и кинетические характеристики мономерно-димерных равновесий красителей и родственных им веществ в водной среде были определены в [133].

В [134] сообщается о исследовании процессов димеризации метиленового синего при различной ионной силе. Термодинамические параметры энтальпия и энтропия димеризации рассчитывались по зависимости димерной постоянной от температуры (уравнение Вант-Гоффа).

Результаты исследования равновесия мономер -димер и термодинамика ионных красителей спектрофотометрическим хемометрическим методам представлены в [135]. Используя соотношение Вант-Гоффа, описывающее зависимость константы равновесия от температуры были определены энтальпия и энтропия равновесия димеризации. Угол между мономерными молекулами в димере определялся с помощью экситонной теории.

Процессы ассоциации молекул наблюдаются и в обратных мицеллярных структурах. В [136] исследованы свойства акридинового оранжевого (АОБ) в

обратных мицеллах н-гептан/АОТ/вода. Для сравнения также проводились исследования в гомогенных средах (вода и н-гептан). Показано, что процесс димеризации благоприятен при малом содержании воды.

Фотофизические свойства трикарбоцианинового красителя IR144 были изучены в воде и в водном ядре обратных мицелл АОТ [137]. Обнаружено, что IR144 образуют димерные агрегаты в воде даже при очень низкой концентрации. Для лучшего понимания поведения агрегации IR144 в воде была измерена кинетика восстановления основного состояния и кинетика переориентации IR144 в воде и в водном ядре обратных мицелл.

Молекулярные взаимодействия пяти тиазиновых красителей с возрастающим алкильным замещением изучены в водных и микроэмульсионных средах при 303К [138]. Проанализировано влияние гидрофобного и стерического факторов молекул исследуемых образцов красителей, установлено, что эти факторы алкилированных органических красителей и физико-химические характеристики мицеллярной воды влияют на агрегативные равновесия, экситонные параметры мономера и димера, а также на геометрическое расположение ассоциатов. Показано, что изменение геометрической структуры ассоциатов внутри обратных мицелл проявляется в экситонном расщеплении их спектров.

В недавней работе [139] положительно заряженный краситель родамин Б (РБ) и отрицательно заряженная бенгальская роза (БР) были включены в обратную мицеллу. Установлено, что увеличение размера обратной мицеллы наблюдается при образовании ассоциатов положительно заряженных красителей на границе масло–вода. Однако меньшее увеличение размеров обратной мицелле наблюдалось в присутствии агрегатов отрицательно заряженных красителей (БР). Тот факт, что агрегаты РБ были более эффективны в увеличении размера обратных мицелл предполагает, что электростатическое взаимодействие играет главную роль в модификации таких систем.



## ГЛАВА 2. Объекты и методы исследования

В данной главе были использованы материалы, опубликованные в статьях [A2], [A4], [A5].

### Материалы

В данной работе в качестве ПАВ использовалась натриевая соль бис ((2-этилгексил) сульфосукцинат натрия) (AOT) (Sigma Aldrich, Германия, чистота > 99%). Химическая формула  $C_{20}H_{37}NaO_7S$ , структурная формула представлена на рис. 2.1. Молярная масса  $M=444,55$  г/моль. Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ):  $C=0,5-2,5 \cdot 10^{-3}$  моль/л при  $T=25^{\circ}C$  [140]. Размер молекулы (расстояние между самыми удаленными атомами в молекуле)  $r=1,1$  нм [141].

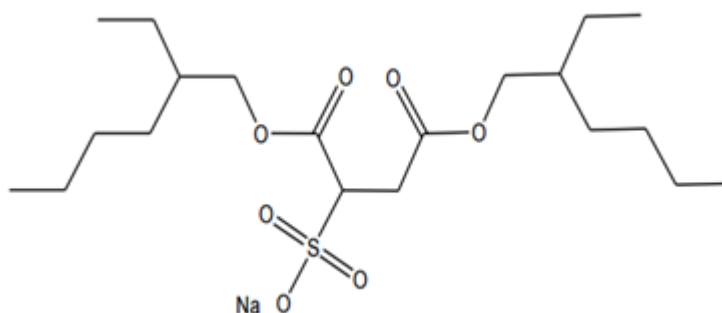


Рис. 2.1. Структурная формула молекулы AOT.

В качестве неполярного растворителя (углеводород) для создания обратных мицеллярных систем в работе использовался гептан (Sigma Aldrich, Германия, чистота > 99%). Молярная масса  $M=100,21$  г/моль. Химическая формула:  $C_7H_{16}$ . Структурная формула представлена на рис. 2.2.

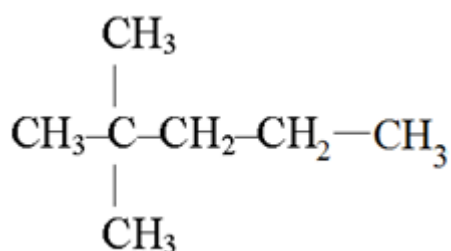


Рис. 2.2. Структурная формула гептана.

В работе исследовались следующие флуороновые красители: флуоресцеин (Ф), эозин (Э), эритрозин (ЭР) и бенгальский розовый (БР) (фирмы Sigma – Aldrich).

**Флуоресцеин** – анионный краситель, растворимый в воде, кристаллический порошок оранжево-красного цвета. Химическая формула:  $C_{20}H_{10}O_5$ . Структурная формула флуоресцеина представлена на рис. 2.3. Молярная масса:  $M=332,306$ г/моль. Размер молекулы  $r=1$ нм.

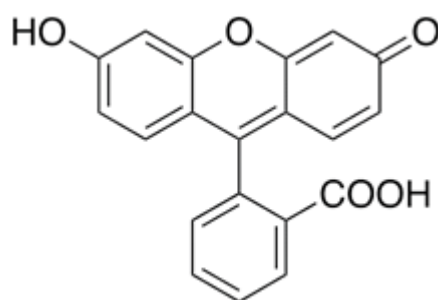


Рис.2.3. Структурная формула Флуоресцеина.

**Эозин** – анионный краситель, растворимый в воде, интенсивно-розового цвета. Химическая формула  $C_{20}H_6Br_4K_2O_5$ . Структурная формула представлена на рис. 2.4. Молярная масса  $M=470$ г/моль. Размер молекулы  $r=1,2$ нм.

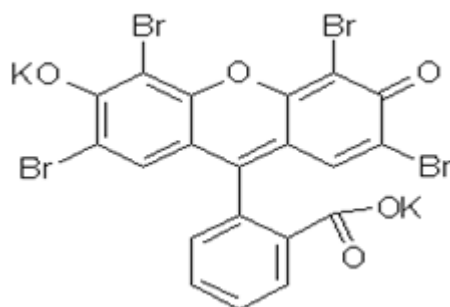


Рис. 2.4. Структурная формула Эозина К.

**Эритрозин** – анионный краситель, растворимый в воде, интенсивно оранжевого цвета. Химическая формула  $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ . Структурная формула представлена на рис. 2.5. Молярная масса  $M = 879,86\text{г/моль}$ . Размер молекулы  $r = 1\text{нм}$ .

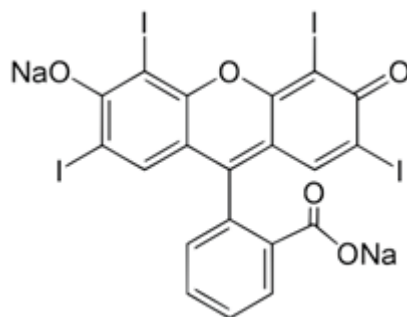


Рис. 2.5. Структурная формула Эритрозина.

**Бенгальский розовый** – анионный краситель, растворимый в воде, порошок темно-красного цвета. Химическая формула  $C_{20}H_2Cl_4I_4O_5$ . Структурная формула представлена на рис. 2.6. Молярная масса  $M = 1017,65\text{г/моль}$ . Размер молекулы  $r = 1\text{нм}$ .

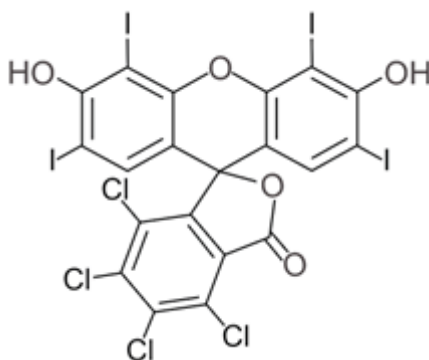


Рис. 2.6. Структурная формула Бенгальского розового.

Все растворы приготавливались из сухих реактивов АОТ, флуоресцентных красителей и гептана. Сначала создавался 10% по массе раствор АОТ в гептане: взвешивались 1г АОТ и 9г гептана. Затем в 2 мл АОТ в гептане добавлялись красители, разведенные в воде в количестве 100–500 мкл (число гидратации  $w$  варьировалось от 0 до 70). Растворы исследовались

при концентрациях всех красителей  $C=10^{-5}$  моль/л,  $C=10^{-3}$  моль/л,  $C=2\cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C=3\cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C=5\cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C=10^{-2}$  моль/л,  $C=3\cdot 10^{-2}$  моль/л. Для концентрации  $C=10^{-5}$  моль/л все измерения были проведены при температуре 295 К. Для высоких концентраций измерения были проведены, как при 295 К, так при варьировании температуры от 295 К до 323 К. Для приготовления растворов использовались электронные весы с точностью до 0,001г и дозаторы фирмы ВЮНИТ. Точность дозирования жидкостей дозаторами Biohit (1%).

Серия растворов АОТ/гептан/водный раствор красителя обрабатывалась в ультразвуковой ванне с мощностью ультразвука 50 Вт в течение 5 минут и отстаивалась при комнатной температуре более суток.

*Определение размеров мицелл.*

Для определения размеров мицелл использовался метод динамического рассеяния света. Методика определения  $R_h$  подробно описана в [142] и основана на определении временной корреляционной функции рассеянного света в мицеллярных растворах

$$G(\tau) = \frac{\langle I(t) \cdot I(t+\tau) \rangle}{\langle I^2(t) \rangle}, \quad (2.1)$$

где  $I(t)$  и  $I(t+\tau)$  – интенсивность рассеянного света при временах  $t$  и  $t+\tau$ , соответственно.

Для монодисперсного коллоидного раствора

$$G(\tau) = A \exp(-\Gamma\tau), \quad (2.2)$$

где  $A$  – постоянная прибора,  $\Gamma$  – скорость релаксации, связанная с временем корреляции  $\tau_c$  и коэффициентом диффузии  $D$  следующим соотношением

$$\Gamma = \frac{1}{\tau_c} = Dq^2, \quad (2.3)$$

$q$  – модуль вектора рассеяния, равный  $q = 4\pi \frac{n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right)$ , где  $\theta$  – угол рассеяния

(в наших экспериментах  $\theta=90^\circ$ ),  $\lambda$  – длина волны рассеянного света,  $n$  – показатель преломления раствора.

Таким образом, определив  $\tau_k$  ( $\tau_k$  равно времени, в течении которого корреляционная функция  $G(\tau)$  уменьшается в  $e$  раз) можно определить коэффициент диффузии  $D$ .

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

$$R_h = \frac{kT}{6\pi\eta D}, \quad (2.4)$$

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

Измерение динамического рассеяния света и анализ размеров частиц осуществлялся на приборе Photocor Compact (использовался полупроводниковый лазер с  $\lambda = 638$  нм, мощность 25 мВт). Корреляционный спектрометр управляется программным обеспечением Photocor Software, с его помощью можно наблюдать за ходом измерений и менять режимы его работы. Измеренные корреляционные функции рассеянного света обрабатывалась с помощью программного обеспечения DynaLS. Измерения проводились при различных температурах. Погрешность измерения гидродинамического радиуса мицелл  $\pm 0,3$  нм.

#### *Измерение спектров поглощения*

Измерение спектров поглощения водно-мицеллярных растворов красителей было проведено на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 (спектральная ширина щели 0,5 нм). Температурные измерения спектров поглощения растворов проводилось с помощью специально изготовленной приставки-термостата. Точность поддержания температуры была  $\pm 0,3$  К.

#### *Измерения флуоресцентных характеристик.*

Исследование спектрально-люминесцентных характеристик молекул красителей в мицеллярных растворах проводилось на спектрофлуориметре Perkin Elmer LS 55. Ширины щелей монохроматоров возбуждения и излучения

во всех измерениях были равны 3 нм. Температура при всех измерениях была 295 К. Флуоресценция красителей исследовалась в следующих условиях

- a) *Флуоресцеин*: возбуждение длиной волны  $\lambda_{\text{возб}} = 420$  нм, флуоресценция регистрировалась в области 450 – 700 нм.
- b) *Эозин*: возбуждение длиной волны  $\lambda_{\text{возб}} = 430$  нм, флуоресценция регистрировалась в области 530 – 700 нм.
- c) *Эритрозин*: возбуждение длиной волны  $\lambda_{\text{возб}} = 490$  нм, флуоресценция регистрировалась в области 540 – 700 нм.
- d) *Бенгальский Розовый*: возбуждение длиной волны  $\lambda_{\text{возб}} = 520$  нм, флуоресценция регистрировалась в области 550 – 700 нм.

*Степень анизотропии флуоресценции*  $r$  определялась по формуле

$$r = \frac{I_{\text{VV}} - kI_{\text{VH}}}{I_{\text{VV}} + 2kI_{\text{VH}}} \quad (2.5)$$

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

*Измерение время-разрешенной флуоресценции.*

Измерение времени жизни флуоресценции красителей проводилось с использованием прибора Simple Tau 140, работающего в режиме счета фотонов (Becker & Nickl, Германия). Флуоресценцию красителей возбуждали полупроводниковым лазером BDS-SM510 (длина волны 510 нм, длительность импульса 40 пс). Флуоресценция регистрировалась 16-канальным фотоприемником K5900 (Hamamatsu, Япония), перед которым находился

решетчатый полихроматор (600 штрихов / мм). Ширина спектра на выходе полихроматора составляла 200 нм, что соответствовало 12,5 нм на канал. Время интегрирования составляло 30с. Кинетические кривые флуоресценции были обработаны с использованием программы SPImage (Becker & Hickl, Германия). Погрешности определения времени жизни возбужденного состояния молекул красителей  $\pm 0,05$  нс.

Определение кинетики затухания анизотропии дает прямую информацию о диффузном движении люминесцирующих молекул. *Кривая затухания флуоресценции* аппроксимировалась несколькими экспонентами

$$F(t) = \sum_{i=1}^N A_i e^{\left(-\frac{t}{\tau_i}\right)} \quad (2.6)$$

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

## ГЛАВА 3. Исследование фотофизических процессов в водно-мицеллярных растворах флуоресцеиновых красителей

В данной главе были использованы материалы, опубликованные в статьях [A1-A4], [A6].

### §3.1. Результаты исследования динамического рассеяния света мицеллярных структур

В данном параграфе представлены результаты измерения размеров обратных мицелл (гидродинамических радиусов  $R_h$ ) и их изменение при внедрении молекул красителей при их различных концентрациях и температурах. Эти характеристики обратных мицелл были измерены с помощью динамического рассеяния света. На рис.3.1 представлены

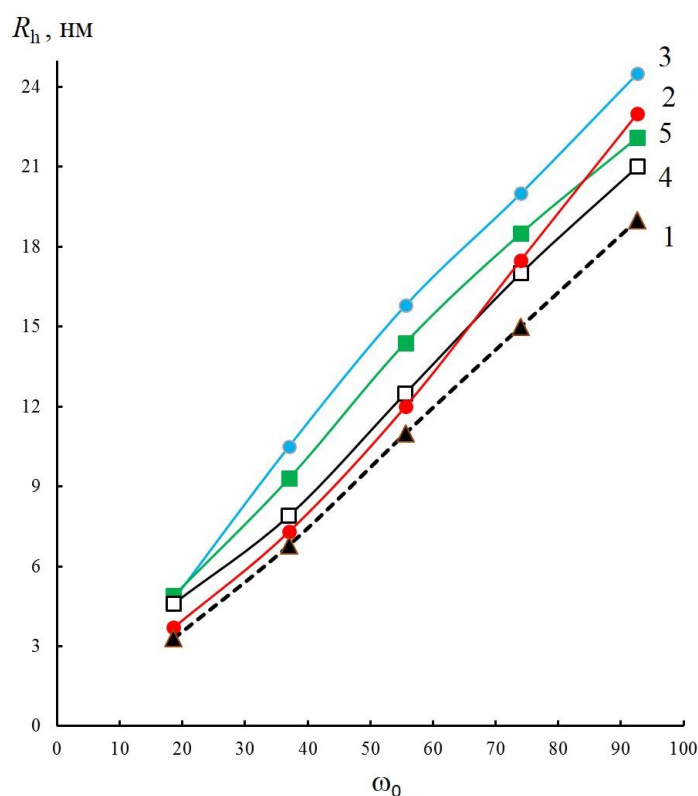


Рис. 3.1. Зависимости гидродинамического радиуса  $R_h$  от  $\omega_0$  для мицелл без молекул красителей (1) и содержащих молекулы Э(2), ЭР(3), БР(4) и Ф(5).

Концентрация красителей  $C = 10^{-5}$  моль/л.



зависимости гидродинамического радиуса  $R_h$  мицеллы от степени гидратации  $\omega_0$ , определенные с помощью соотношения (4) (кривая 1). Видно, что зависимость  $R_h(\omega_0)$  является практически линейной.

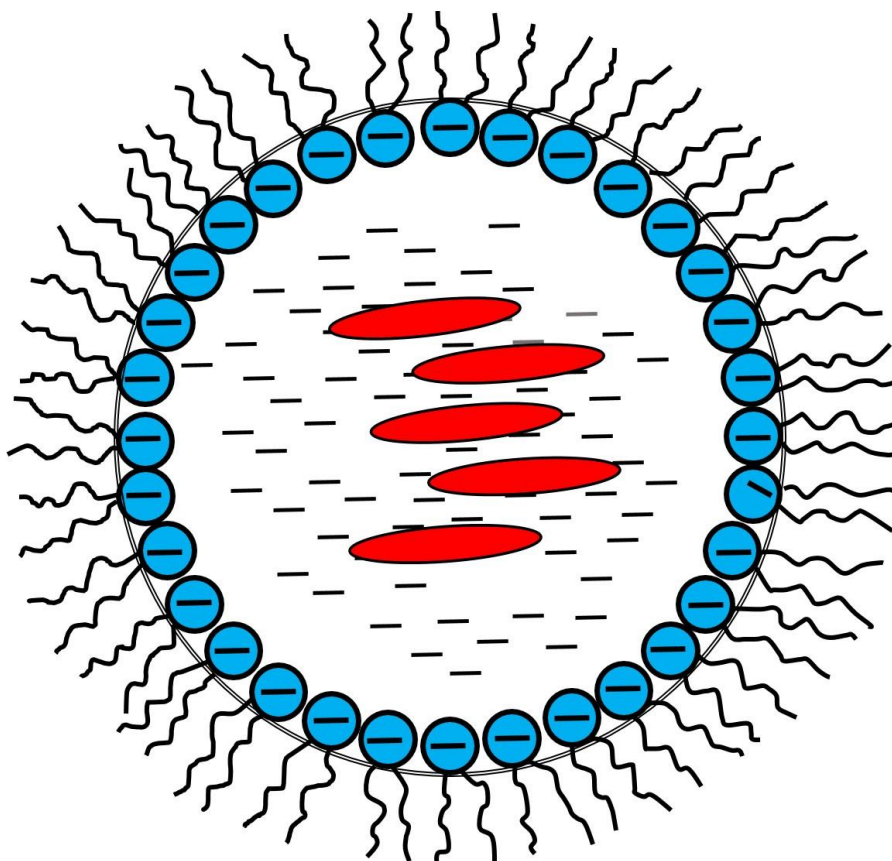


Рис. 3.2. Схематическое представление изменения мицеллы за счет электростатического взаимодействия молекул ПАВ и красителей.

На этом же рисунке представлены зависимости  $R_h$  от  $\omega_0$  для мицелл, содержащих молекулы красителей: Э (кривая 2), ЭР (кривая 3), БР (кривая 4) и Ф (кривая 5). Из Рис. 3.1 видно, что гидродинамический радиус мицелл с молекулами красителями больше, чем для водных мицелл для всех значений  $\omega_0$ . При этом рост радиуса мицелл для различных молекул красителей различен. Такое изменение размеров обратных мицелл при внедрении в них молекул красителей объясняется электростатическим взаимодействием молекул ПАВ и красителя. Действительно, исследуемые красители содержат

ароматический ксантеновый скелет, что делает их растворимыми в воде. Так как молекулы этих красителей являются анионными, то они за счет сильного отталкивания от молекул ПАВ, локализуются внутри ядра мицелл, при этом отрицательные головки молекул ПАВ также отталкиваются от анионных молекул красителей, вызывая увеличение гидродинамического радиуса мицелл (рис. 3.2).

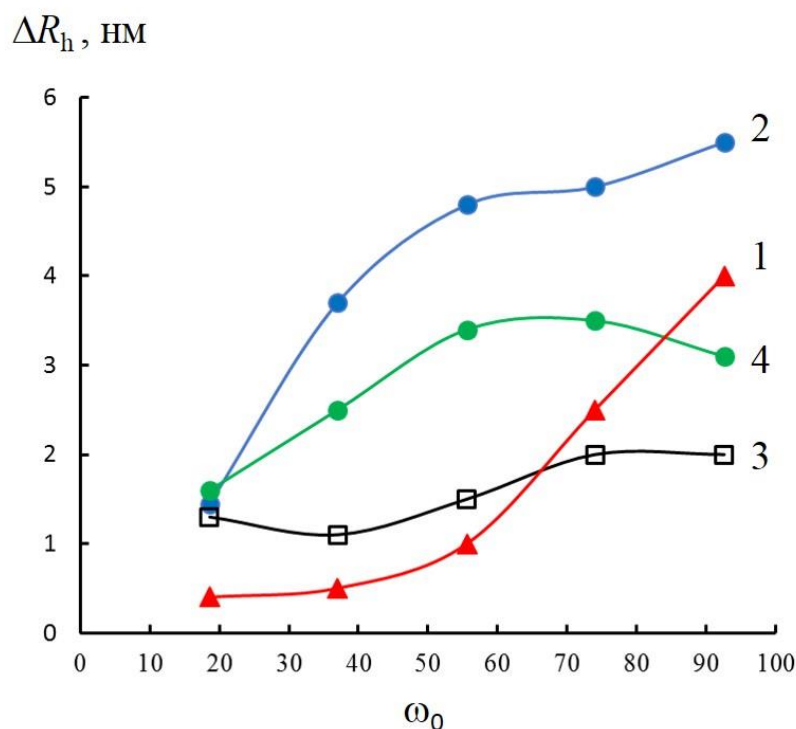


Рис. 3.3. Зависимости  $\Delta R_h$  от  $\omega_0$  для мицелл, содержащих молекулы Э(1), ЭР(2), БР(3) и Ф(4). Концентрация красителей  $C = 10^{-5}$  моль/л.

Из рис. 3.3 видно, что для всех исследованных красителей наблюдается немонотонная зависимость увеличения гидродинамического радиуса  $\Delta R_h$  от  $\omega_0$ . При этом при  $\omega_0 < 55$  для всех четырех красителей наблюдается увеличение разности  $\Delta R_h$  гидродинамических радиусов мицелл с молекулами красителей и без молекул красителей. При этом, если для Э (кривая 1) и БР (кривая 3)  $\Delta R_h$  увеличивается при малых  $\omega_0$  незначительно, то для Ф (кривая 4) и ЭР (кривая 2) это увеличение значительно – 3,5 и 5 нм, соответственно. При больших  $\omega_0 > 55$  для БР (кривая 3), Ф (кривая 4) и ЭР (кривая 2)  $\Delta R_h$  с

ростом  $\omega_0$  практически не изменяются. Для Э (кривая 1) в этой области  $\omega_0$  наблюдается рост  $\Delta R_h$  достигая при  $\omega_0 \approx 90$  величины 4 нм.

В связи с тем, что представленные флуороновые красители характеризуются последовательным замещением атомов водорода атомами галогенов (бром, йод и хлор), в молекулах красителей происходит перераспределение зарядов между атомами, изменение электронных и пространственных структур [3]. В результате происходит изменение электростатического взаимодействия между анионами красителей и гидратированными группами ПАВ, вызывающее изменение

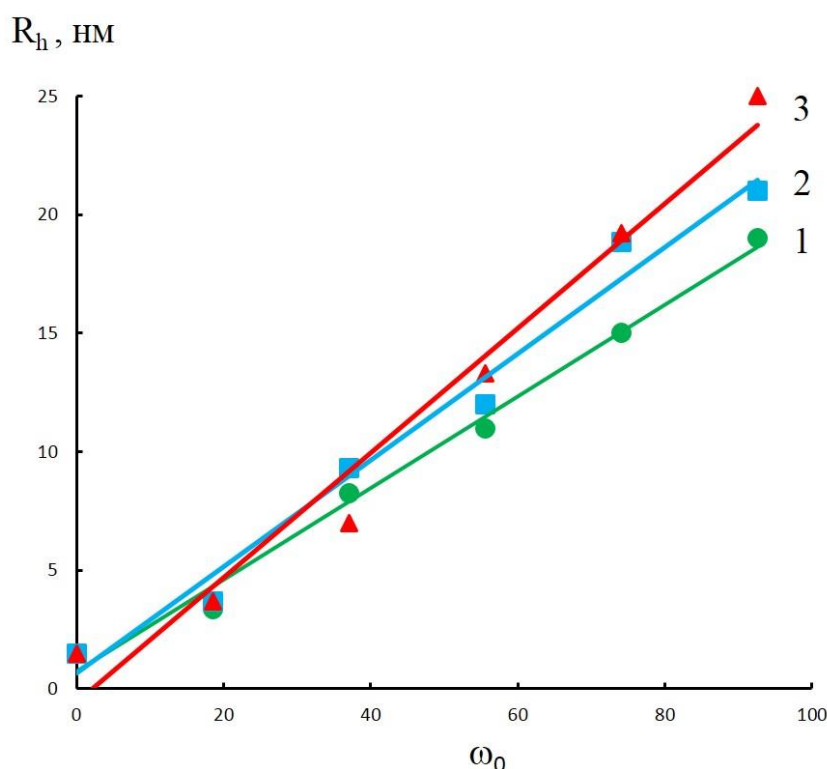


Рис. 3.4. Зависимости  $R_h$  от  $\omega_0$  водно-мицеллярных растворов Э для концентраций красителя:  $5 \cdot 10^{-3}$  (1),  $10^{-2}$  (2) и  $3 \cdot 10^{-2}$  моль/л (3).

гидродинамических радиусов мицелл.

На рис 3.4 в качестве примера приведена зависимость гидродинамического радиуса  $R_h$  от  $\omega_0$  для мицелл в растворах с различными

значениями концентраций молекул красителя эозина (5; 10; 30 ммоль/л). С повышением степени гидратации различие в значениях гидродинамического радиуса становится более выраженным, большая концентрация молекул красителя при больших значениях  $\omega_0 (> 60)$  ведет к более высокой величине  $R_h$ .

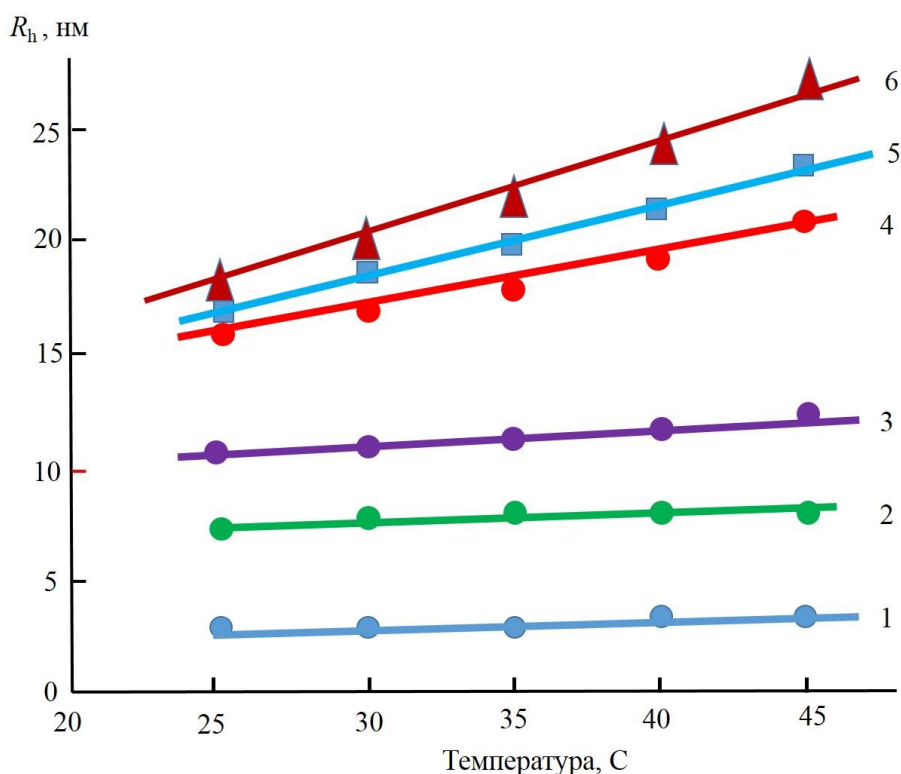


Рис. 3.5. Зависимости  $R_h$  от температуры водно-мицеллярных растворов Э для  $\omega_0 = 18,6$  (1),  $\omega_0 = 37$  (2),  $\omega_0 = 55$  (3) и  $\omega_0 = 70$  (4-6) и концентраций  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л (1-4),  $10^{-2}$  моль/л (5) и  $3 \cdot 10^{-2}$  моль/л (6).

При увеличении температуры растворов при значениях  $\omega_0 < 55$  изменение  $R_h$  практически не наблюдается (рис. 3.5, кривые 1–3). При  $\omega_0 > 55$   $R_h$  изменяется линейно с ростом температуры (рис. 3.5, кривые 4–6) с  $\frac{dR_h}{dT} = 1 \text{ нм/К}$  для

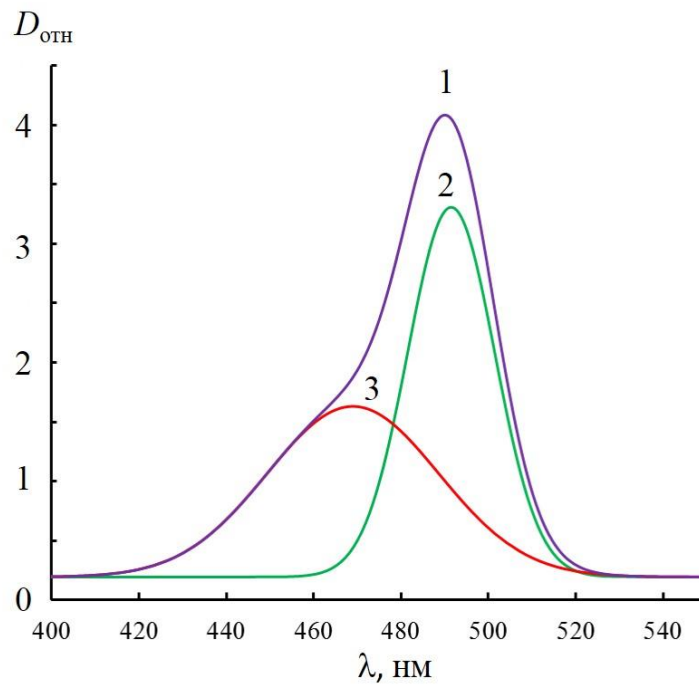
концентрации красителя  $C = 5 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $\frac{dR_h}{dT} = 1,2 \text{ нм/К}$  для  $C = 10^{-2}$  моль/л и

$\frac{dR_h}{dT} = 2,2 \text{ нм/К}$  для  $C = 3 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

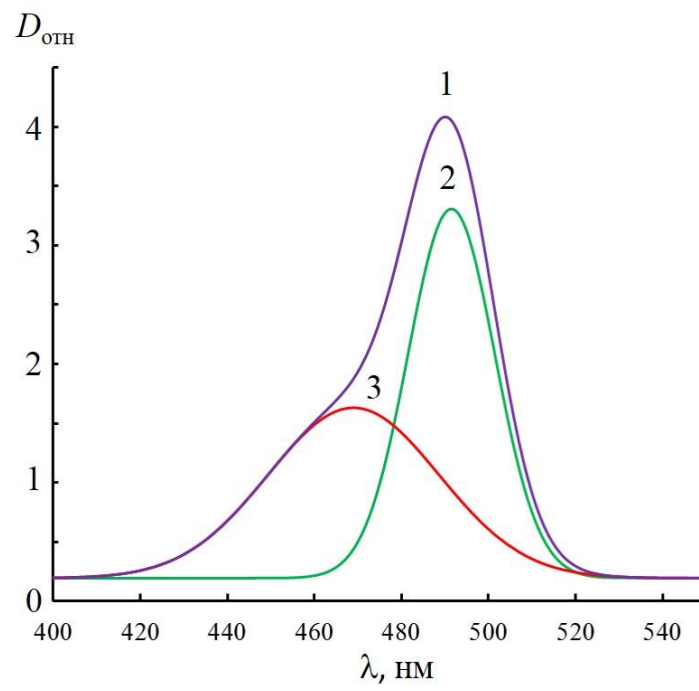
Таким образом, внедрение молекул красителя в обратные мицеллы вызывает увеличение их гидродинамических радиусов  $\Delta R_h$  для всей исследованной области степени гидратации  $\omega_0$ . В дальнейшем, для описания люминесцентных характеристик красителей в водных мицеллярных растворах использовались значения  $R_h$  для мицелл с внедренными молекулами красителей.

### **§3.2. Фотофизические процессы в водно-мицеллярных растворах молекул флуоресцеина**

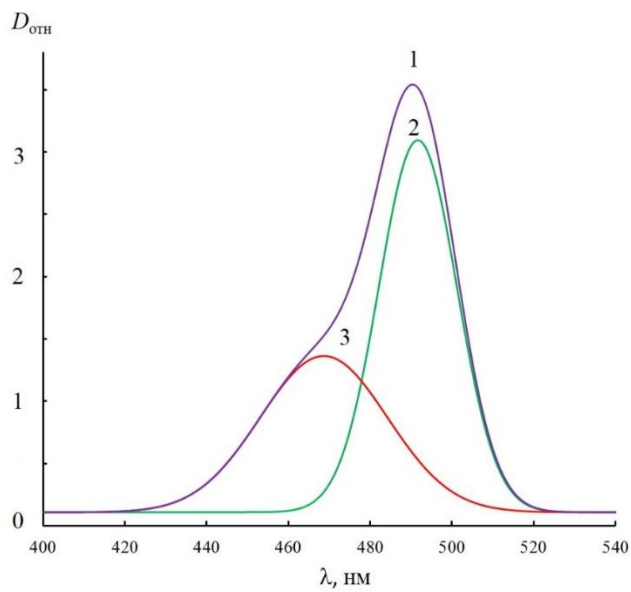
В данном параграфе представлены результаты исследования влияние наноразмерных обратных мицелл на фотофизические свойства молекул флуоресцеина (Ф). Были измерены спектры поглощения и флуоресценции красителей в мицеллярных растворах для различных значений их гидродинамического радиуса  $R_h$ . На рис. 3.6 спектры поглощения Ф в воде (а) и мицеллярных растворах с гидродинамическими радиусами  $R_h=4,9$  нм (б),  $R_h=9,3$  нм (в) и  $R_h=14,4$  нм (г). Из рис. 3.6 видно, что спектры поглощения Ф (кривые 1) имеют две полосы с длинами волн  $\lambda_1 \sim 495$  нм и  $\lambda_2 \sim 472$  нм. Полоса с  $\lambda_1$  относится к дианионной форме Ф, а  $\lambda_2$  – к анионной форме красителя [143]. На этом же рисунке представлено разделение спектров на две гауссовские компоненты: полоса поглощения дианионной формы Ф (кривая 2) и полоса поглощения анионной формы Ф (кривая 3) [143].



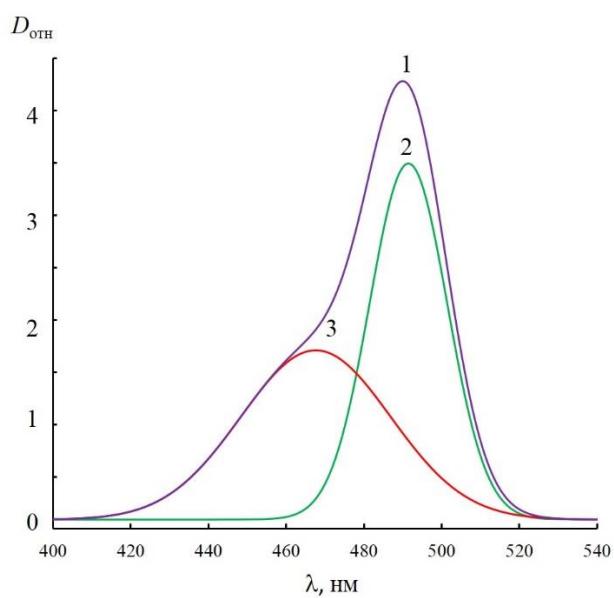
a)



b)



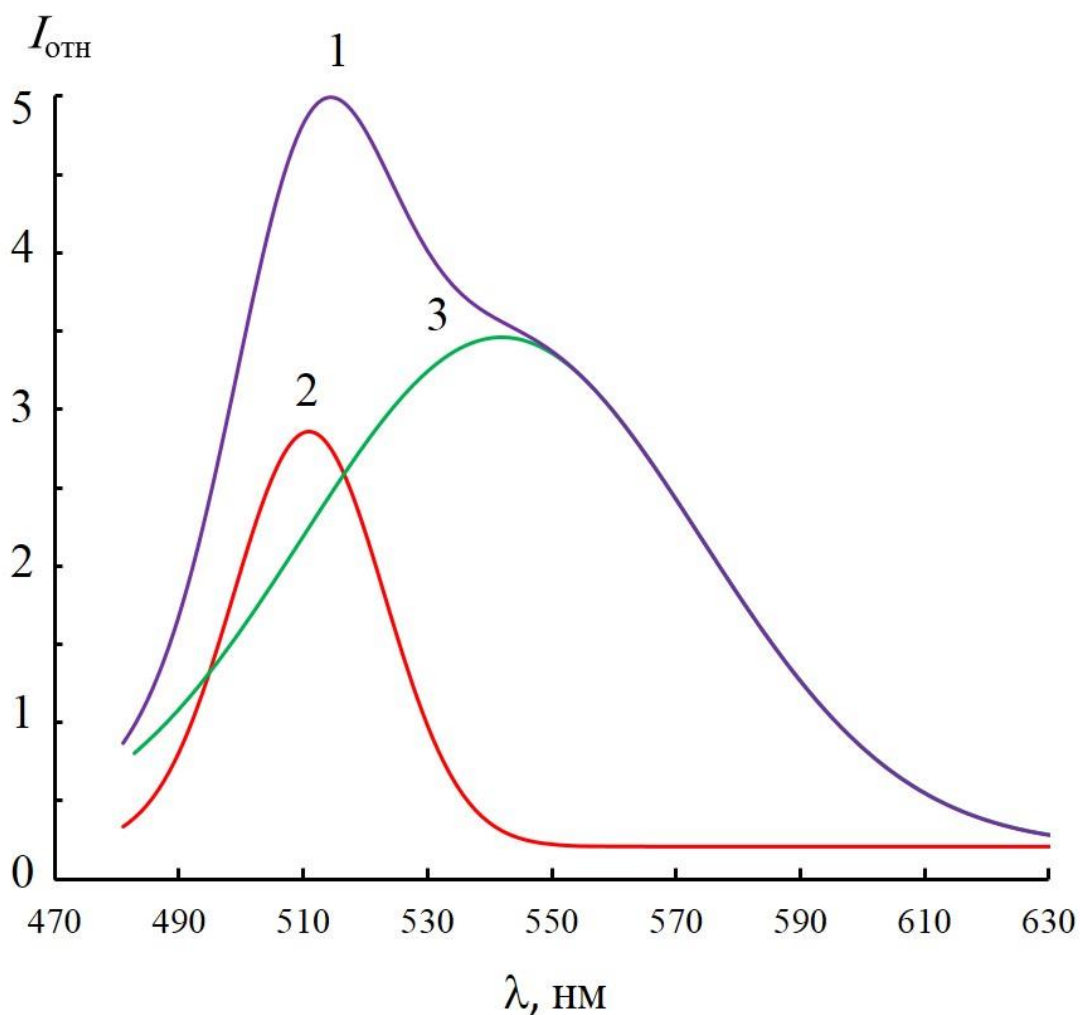
б)



в)

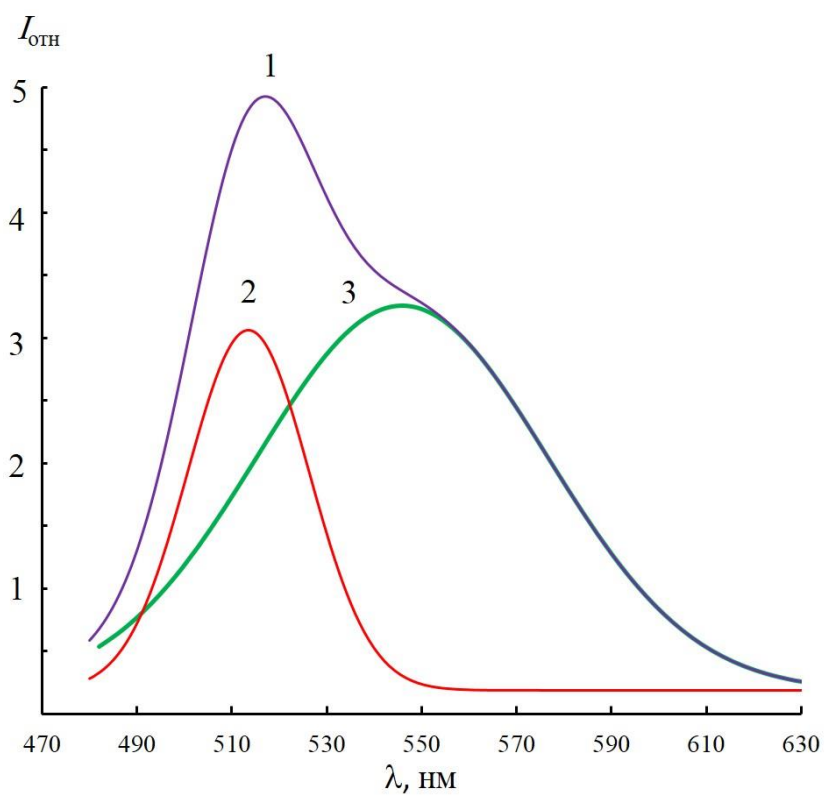
Рис. 3.6. Спектры поглощения как для водного раствора  $\Phi$  (а), так и для водно-мицеллярных растворов  $\Phi$  с гидродинамическими радиусами: 4,9(б), 9,3(в) и 14,4 нм (г), 1-исходные спектры. 2,3 – выделенные компоненты. Концентрация красителя  $10^{-5}$  моль/л.

На рис. 3.7 (кривые 1) представлены спектры флуоресценции  $\Phi$  как водного раствора (а), так и мицеллярных растворов с гидродинамическими радиусами  $R_h=4,9$  нм (б),  $R_h=9,3$  нм (в) и  $R_h=14,4$  нм (г) при возбуждении 440 нм. При использовании этой длины волны возбуждаются молекулы  $\Phi$ , находящиеся в анионной, а также катионной и нейтральной формах. На этих же рисунках представлено разделение спектров на две компоненты (кривые 2,3). Кривая 2 относится к флуоресценции дианионной формы  $\Phi$ , кривая 3 к флуоресценции анионной формы  $\Phi$ .

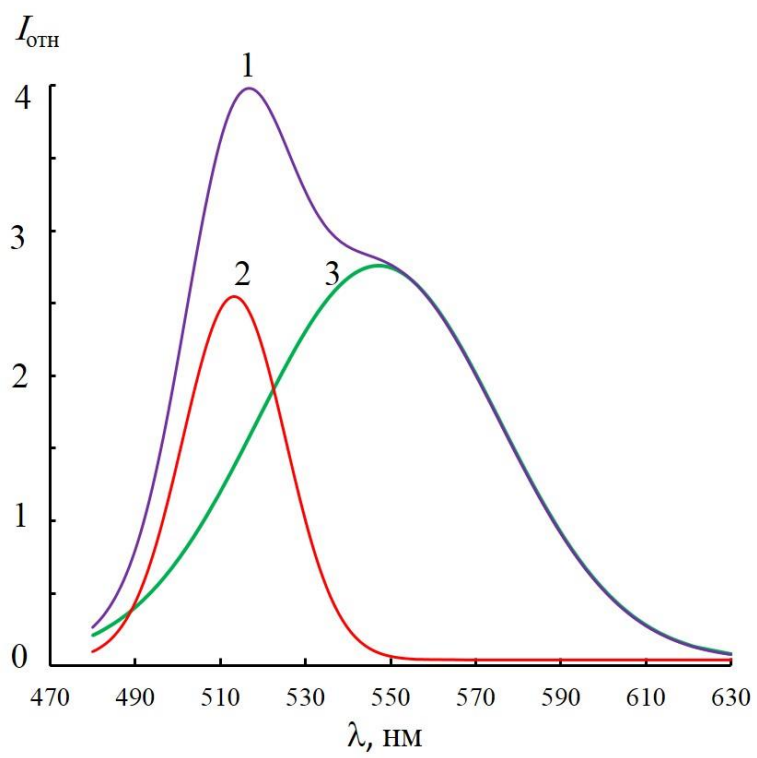


a)

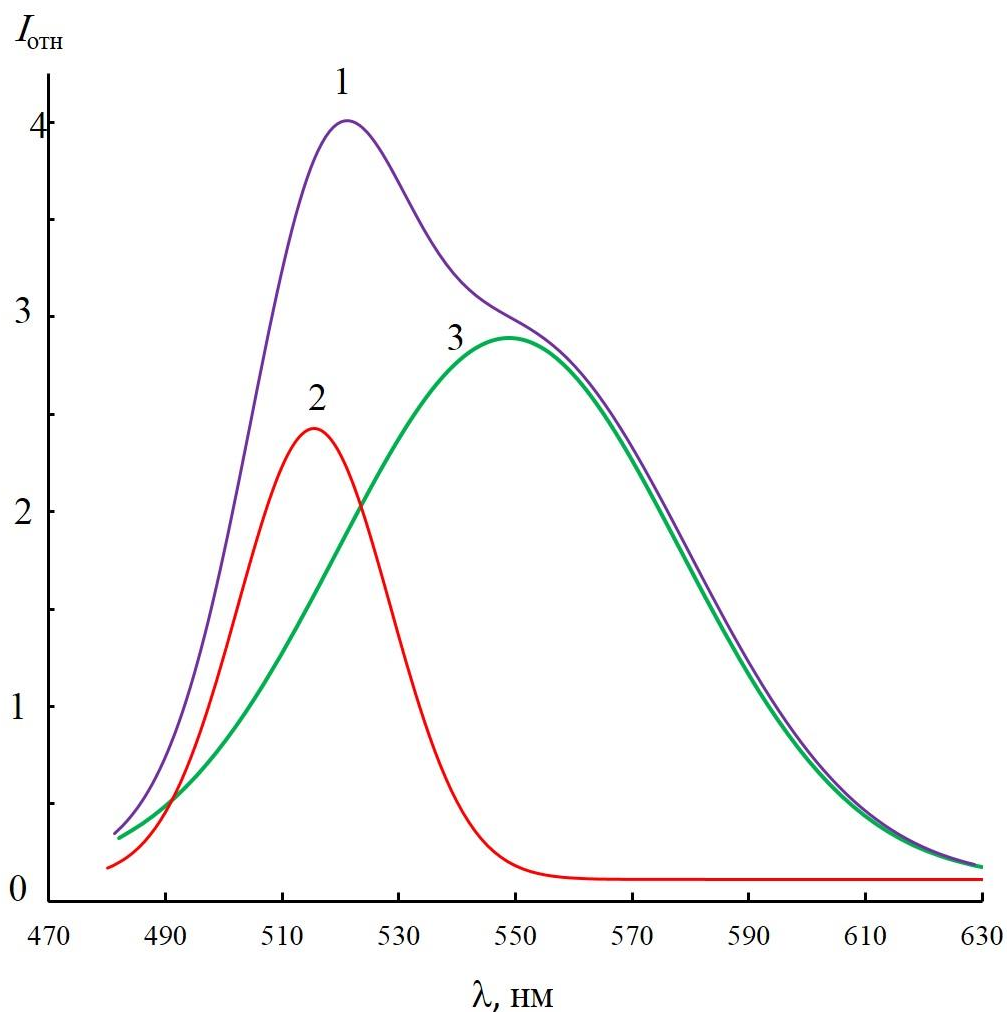




б)



в)



з)

Рис. 3.7. Спектры флуоресценции водного раствора  $\Phi(a)$  и водно-мицеллярных растворов  $\Phi$  с гидродинамическими радиусами: 4,9(б), 9,3(в) и 14,4 нм (г). 1-исходные спектры, 2, 3– выделенные компоненты. Концентрация красителя  $10^{-5}$  моль/л. Длина волны возбуждения флуоресценции 440 нм.

Были определены интенсивности выделенных полос в спектрах поглощения и флуоресценции, а затем вычислено отношение  $\frac{I_3}{I_2}$ . На рис. 3.8

представлены зависимости отношения  $\frac{I_3}{I_2}$  полученные как из спектров поглощения (кривая 1) так и из спектров флуоресценции (кривая 2) от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ . Из рис. 3.8 видно, что с ростом  $R_h$  наблюдается увеличение отношения  $\frac{I_3}{I_2}$  полос, полученных как из спектров

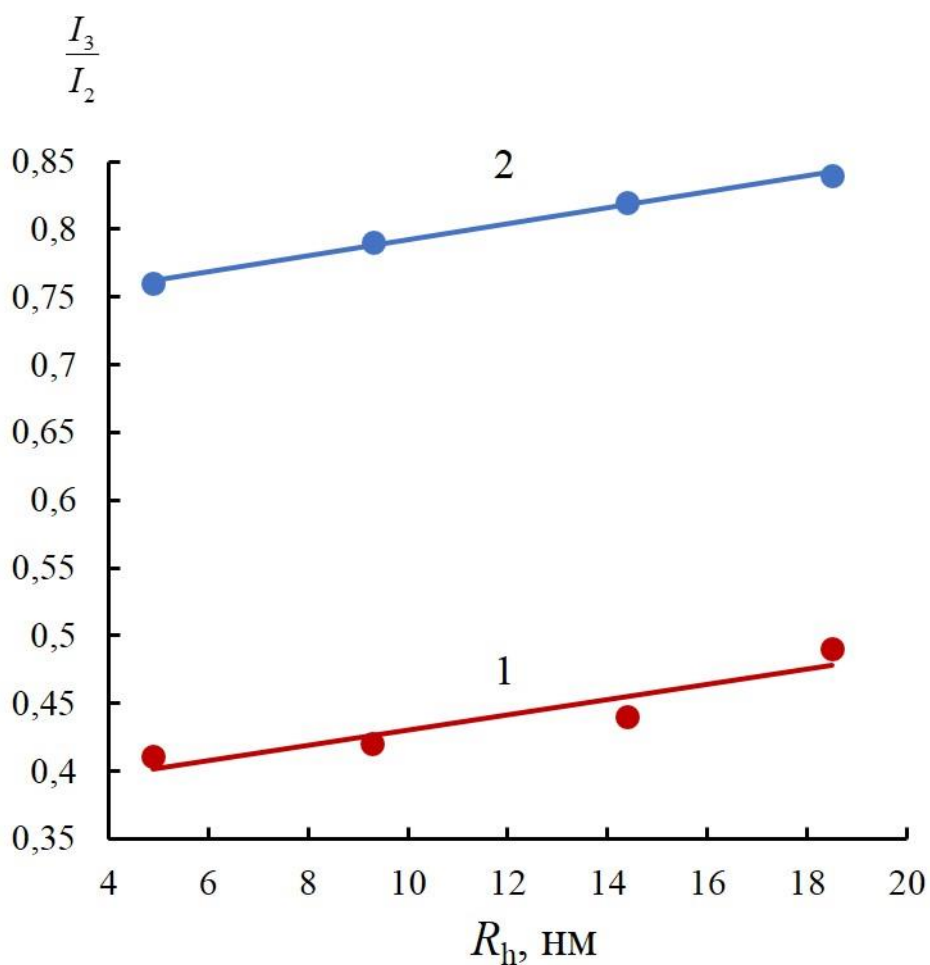


Рис. 3.8. Зависимости отношения интенсивностей  $\frac{I_3}{I_2}$  (1, 2), определенные из спектров поглощения (1) и флуоресценции (2)  $\Phi$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ . Концентрация красителя  $10^{-5}$  моль/л.

поглощения, так и спектров флуоресценции, при этом наклон зависимостей  $\frac{I_3}{I_2}(R_h)$  для спектров поглощения и флуоресценции практически одинаков.

Результаты исследования спектральных характеристик  $\Phi$ , представленные на рис. 3.8, указывают на то, что с ростом  $R_h$  увеличивается доля анионной формы красителя в формировании спектров поглощения и

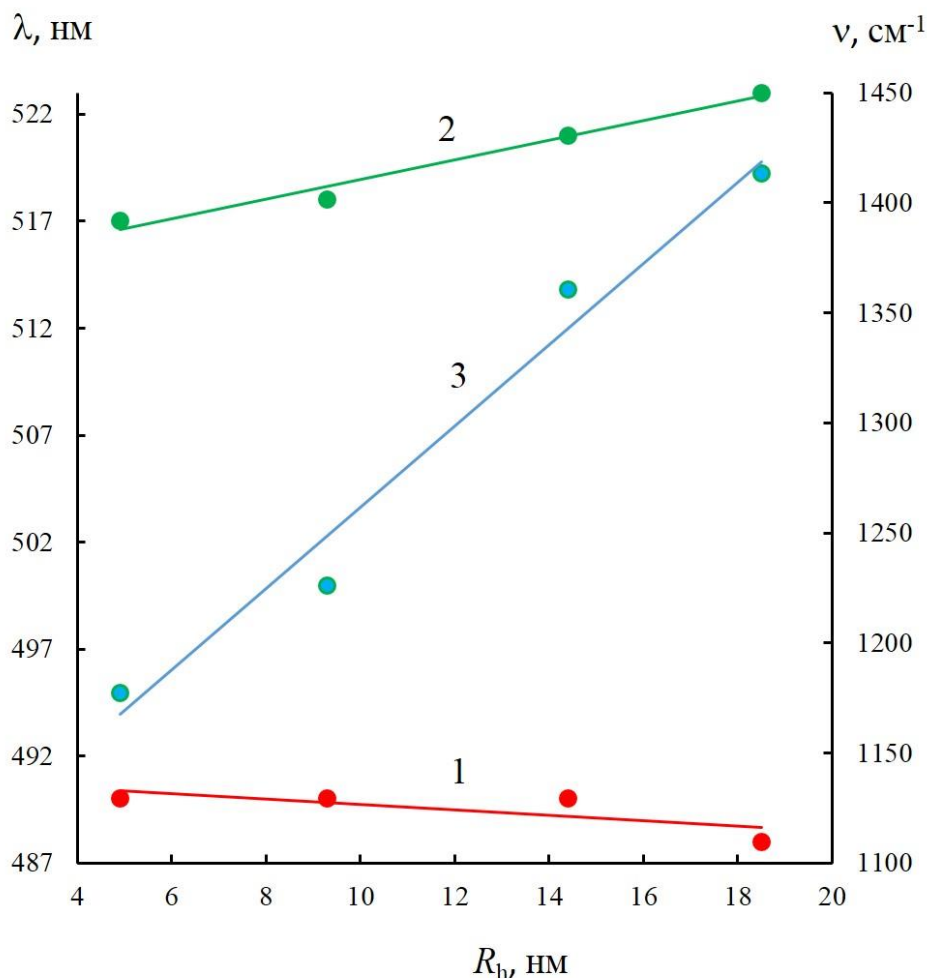


Рис.3.9. Зависимости длины волны максимумов спектров поглощения (1) и флуоресценции (2) и стоксового сдвига  $\Delta\nu$  (3) флуоресцеина в водно-мицеллярных растворах от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ . Концентрация красителя  $10^{-5}$  моль/л.

флуоресценции.

Как показали результаты измерения спектральных характеристик  $\Phi$  в мицеллярных растворах наблюдаются сдвиги спектров как поглощения, так и спектров флуоресценции при изменении гидродинамического радиуса  $R_h$  (рис. 3.9). При этом положение максимума спектра поглощения  $\Phi$  с ростом  $R_h$

сдвигается в коротковолновую область (рис.3.9, кривая 1), в то время как максимум спектра флуоресценции сдвигается в длинноволновую область (рис.3.9, кривая 2). Для анализа этих сдвигов были вычислены стоксовы сдвиги  $\Delta\nu = \nu_a - \nu_f$  ( $\nu_a, \nu_f$  - частоты максимумов спектров поглощения и флуоресценции, соответственно) для различных значений  $R_h$ . На рис. 3.9 (кривая 3) представлена зависимость  $\Delta\nu$  от  $R_h$  для растворов Ф. Из рис. 3.9 видно, что с ростом  $R_h$  увеличивается стоксовый сдвиг спектров Ф.

Изменение величин стоксового сдвига спектров указывает на изменение дипольного момента молекулы при возбуждении.

Для получения информации о изменении дипольного момента Ф в возбужденном состоянии определим отношение  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$ , где  $\mu_e$  и  $\mu_g$  дипольные моменты молекул красителей в возбужденном и основном состоянии, соответственно по формуле [144 - 146]

$$\frac{\mu_e}{\mu_g} = \frac{m_1 + m_2}{m_1 - m_2}, \quad (3.1)$$

где  $m_1 = \frac{\nu_a - \nu_f}{f(\epsilon, n)}$ ;  $m_2 = \frac{\nu_a + \nu_f}{f(\epsilon, n) + 2g(n)}$ ;  $f(\epsilon, n) = \frac{2n^2 + 1}{n^2 + 1} \left( \frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2} - \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) -$

функция полярности растворителя;  $g(n) = \frac{3}{2} \cdot \frac{n^4 - 1}{(n^2 + 2)^2}$ ;  $\epsilon$  - диэлектрическая

проницаемость растворителя;  $n$  - показатель преломления растворителя ( $\lambda = 550$  нм).

Из экспериментальных значений  $\nu_a$  и  $\nu_f$  определяем  $m_1$  и  $m_2$ , а затем и  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$ . На рис 3.10 представлена зависимость  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  от  $R_h$  мицелл для Ф. Из рис. 3.10

видно, что с увеличением  $R_h$  наблюдается рост отношения  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$ .

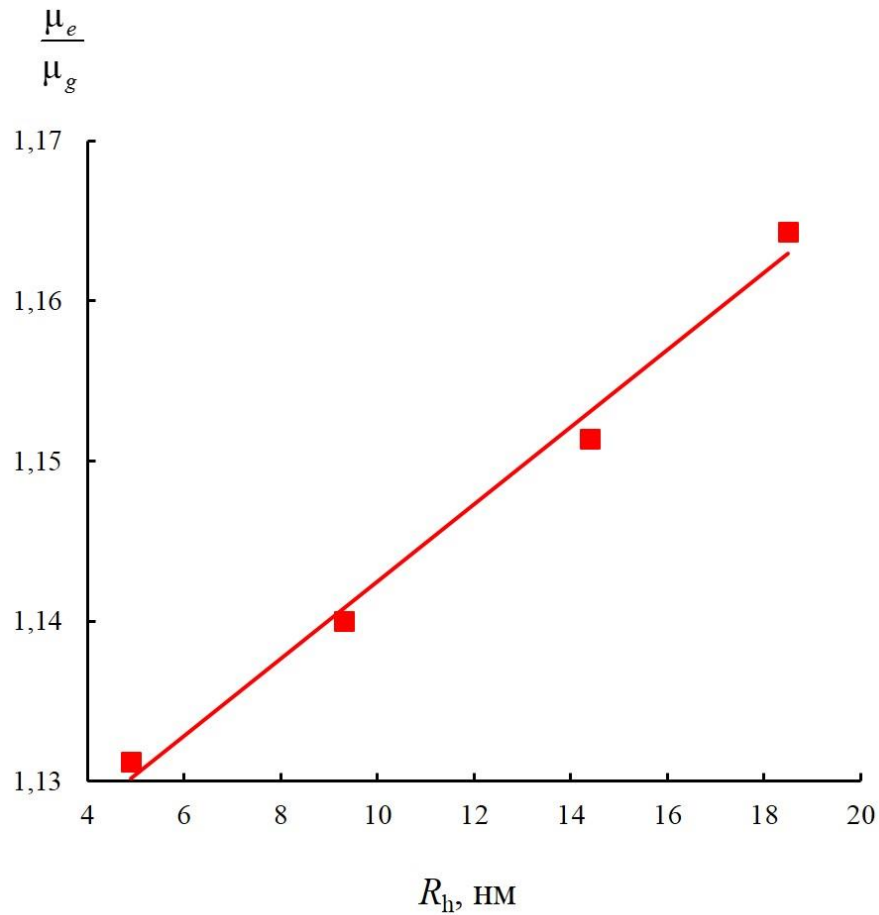


Рис. 3.10. Зависимость отношения дипольных моментов  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  молекул  $\Phi$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ .

Изменение размеров обратных мицелл влияет и на среднее время жизни флуоресценции  $\tau$  внедренных молекул  $\Phi$ . На рис. 3.11 (кривая 1) представлена зависимость  $\tau$  от  $R_h$ . Из рис. 3.11 видно, что с ростом  $R_h$  среднее время возбужденного состояния  $\Phi$  увеличивается.

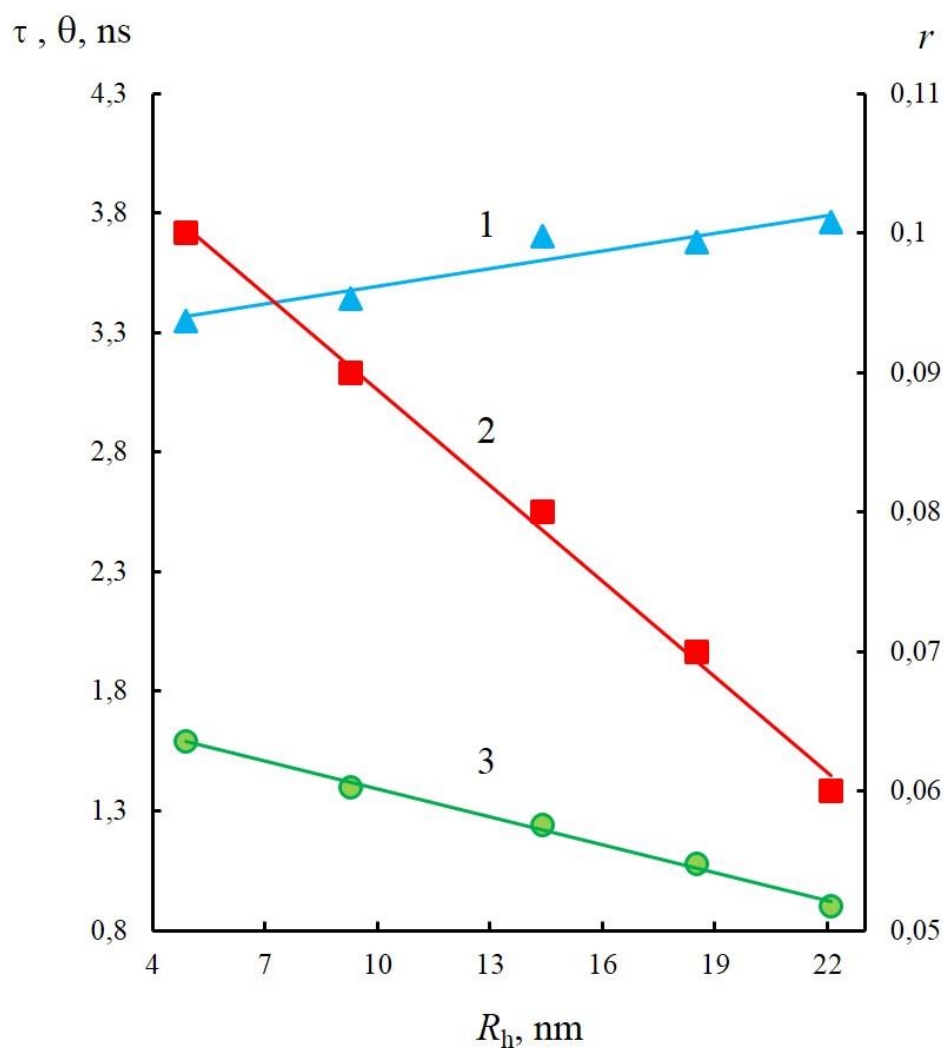


Рис. 3.11. Зависимости  $\tau$  (1)  $r$  (2) и  $\theta$ (3) от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ .

Увеличение размера обратных мицелл приводит к уменьшению эффекта геометрического ограничения молекул  $\Phi$ , что должно сказываться на значениях степени анизотропии флуоресценции. Были определены значения анизотропии флуоресценции  $r$  для молекул  $\Phi$  в обратных мицеллах с различными значениями их гидродинамических радиусов  $R_h$ . На рис. 3.11 (кривая 2) представлена зависимость  $r(R_h)$ . Видно, что анизотропия свечения уменьшается с ростом  $R_h$ . Но при всех исследованных значениях  $R_h$  степень анизотропии свечения в водно-мицеллярных растворах  $\Phi$  выше значений, полученных в водных растворах (значения степени анизотропии

флуоресценции  $\Phi$  в воде равна 0,09). Это указывает на то, что движение молекул исследованных красителей имеет больше ограничений в обратной мицелле, чем в чистой воде. Кроме того, растущее значение анизотропии излучения при малых значениях  $R_h$  показывает, что микросреда внутри водного ядра обратной мицеллы сильно отличается от объемной воды, в первую очередь вязкостью.

Для установления расположения молекул  $\Phi$  внутри мицелл, оценим вращательную диффузию молекул красителя в зависимости от  $R_h$ . Для определения параметров вращательной диффузии люминесцирующих молекул воспользуемся модифицированной формулой Перрена [147]:

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{r_0} \left( 1 + \frac{\tau}{\theta} \right), \quad (3.2)$$

где  $\theta = \frac{\eta V}{kT}$  – время вращательной корреляции,  $T$  – абсолютная температура,  $\eta$  – вязкость раствора,  $V$  – объем флуорофора,  $k$  – постоянная Больцмана,  $\tau$  – среднее время жизни возбужденных молекул,  $r_0$  – предельная анизотропия излучения, которая была определена путем измерения анизотропии излучения водных растворах  $\Phi$  с добавлением сахарозы ( $r_0$  равна 0,31).

Используя экспериментальные значения  $r$ ,  $r_0$  и  $\tau$  для каждого из растворов, с помощью (3.2) было вычислено время вращательной корреляции  $\theta$ . На рис. 3.11 (кривая 3) представлена зависимость времени вращательной корреляции  $\theta$  от  $R_h$ . 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.

Таким образом, из анализа спектров поглощения и флуоресценции молекул флуоресцеина в обратных мицеллах, установлено, что с ростом  $R_h$  увеличивается доля анионной формы красителя в формировании этих спектров. При этом увеличение размеров мицелл сопровождается ростом



отношения дипольных моментов  $\Phi$  в возбужденном и основном состояниях  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$ , обусловленное структурной реорганизацией мицелл. Установлено, что время вращательной корреляции  $\theta$  уменьшается с ростом  $R_h$ , что указывает на увеличение микровязкости окружения молекул  $\Phi$  и объясняется их локализацией в области поверхностной воды.

### §3.3. Спектральные характеристики галогенпроизводных флуоресцеина в водно-мицеллярных растворах

Были измерены спектры поглощения и флуоресценции красителей в мицеллярных растворах для различных значений их гидродинамического радиуса  $R_h$ . На рис. 3.12 представлены спектры поглощения исследованных

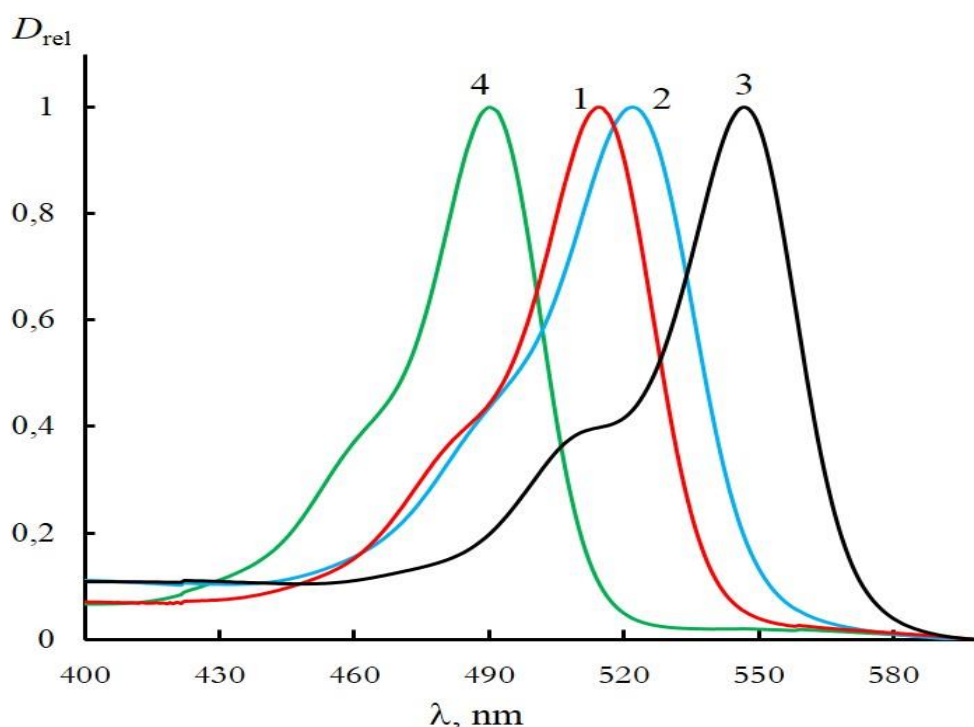


Рис. 3.12. Нормированные спектры поглощения в водных растворах Э(1), ЭР(2), БР(3) и Ф (4). Концентрация красителей равна  $10^{-5}$  моль/л.

красителей в водных растворах, а на рис. 3.13 спектры флуоресценции этих красителей в водных растворах. Из рис.3.12 и 3.13 видно, что длины волн

максимумов поглощения и флуоресценции для исследованных красителей отличаются. Так максимумы поглощения соответствуют для Э – 530, ЭР – 523, БР – 547 и Ф – 490 нм (рис. 3.12). Спектры флуоресценции этих красителей имеют максимумы при Э – 549, ЭР – 536, БР – 572 и Ф – 513 нм (рис. 3.13).

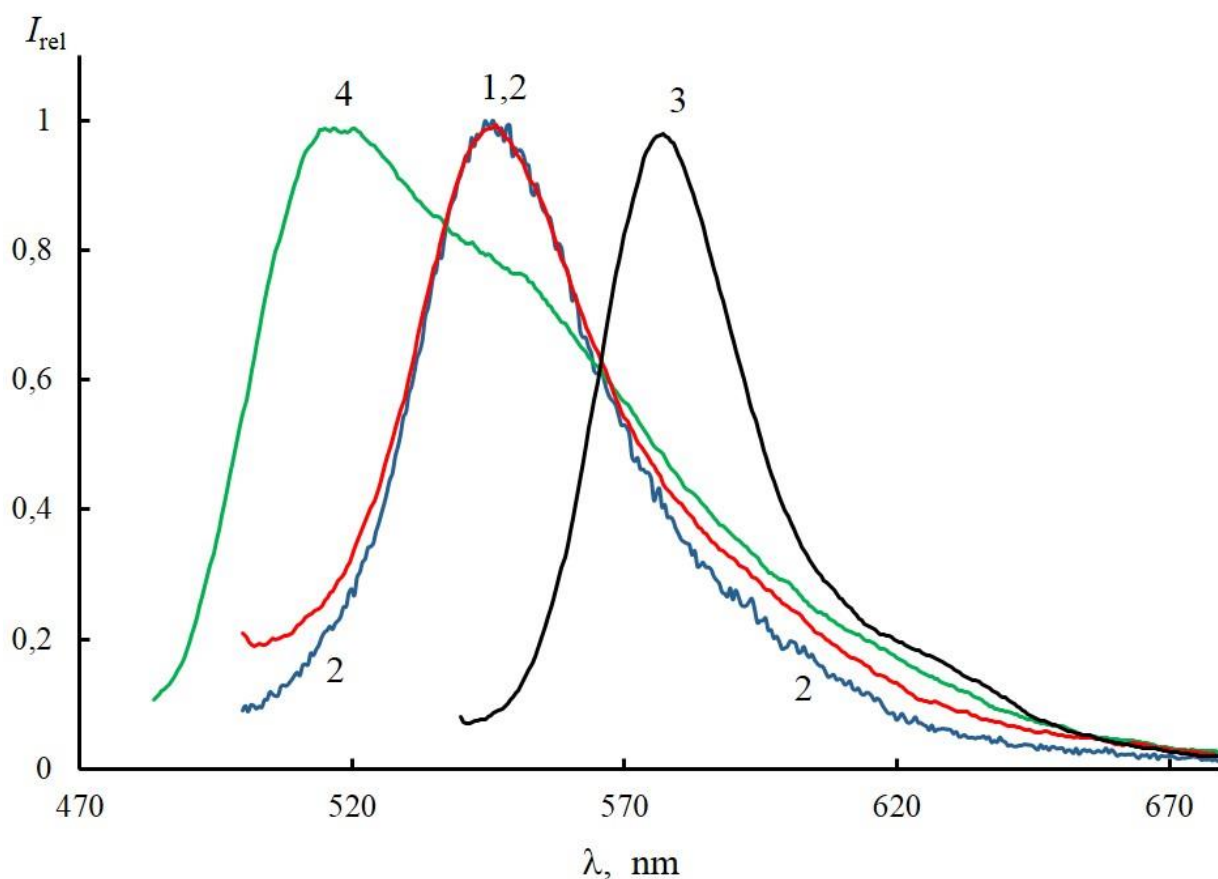


Рис. 3.13. Нормированные спектры и флуоресценции в водных растворах Э(1), ЭР (2), БР(3) и Ф (4). Концентрация красителей равна  $10^{-5}$  моль/л.

Были измерены спектры поглощения и флуоресценции молекул Э, ЭР и БР в водно - мицеллярных растворах. На рис. 3.14–3.16 представлены спектры поглощения красителей для различных значений  $R_h$ . Из рисунков видно, что наблюдается сдвиг спектра поглощения в коротковолновую область и увеличение оптической плотности  $D$  с ростом  $R_h$ .

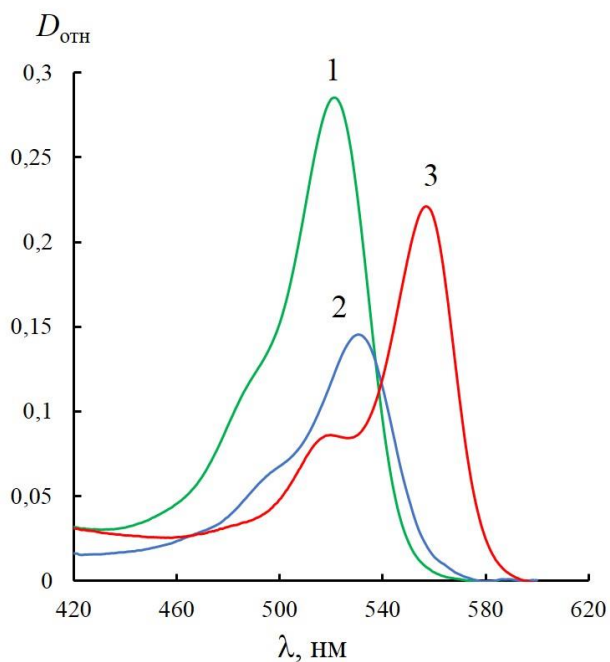


Рис. 3.14. Спектры поглощения Э(1), ЭР(2) и БР(3) в водно -мицеллярных растворах с  $R_h=4$  нм (1),  $R_h=4,8$  нм (2) и  $R_h=4,6$  нм (3).

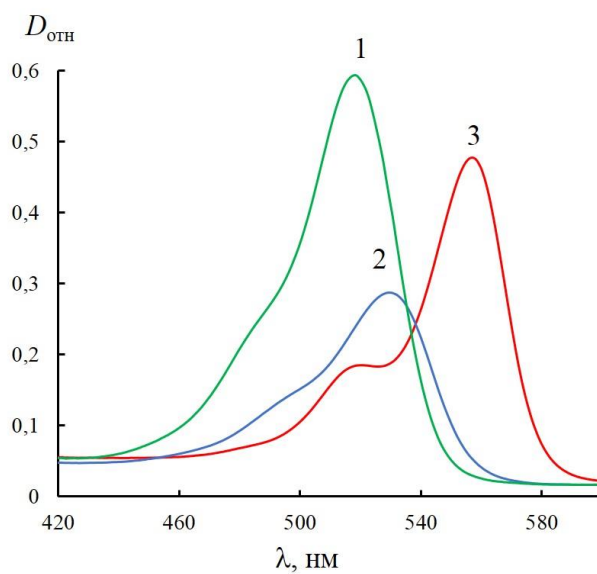


Рис. 3.15. Спектры поглощения Э(1), ЭР(2) и БР(3) в водно -мицеллярных растворах с  $R_h= 7,4$  нм (1),  $R_h= 10,5$  нм (2) и  $R_h= 7,9$  нм (3).

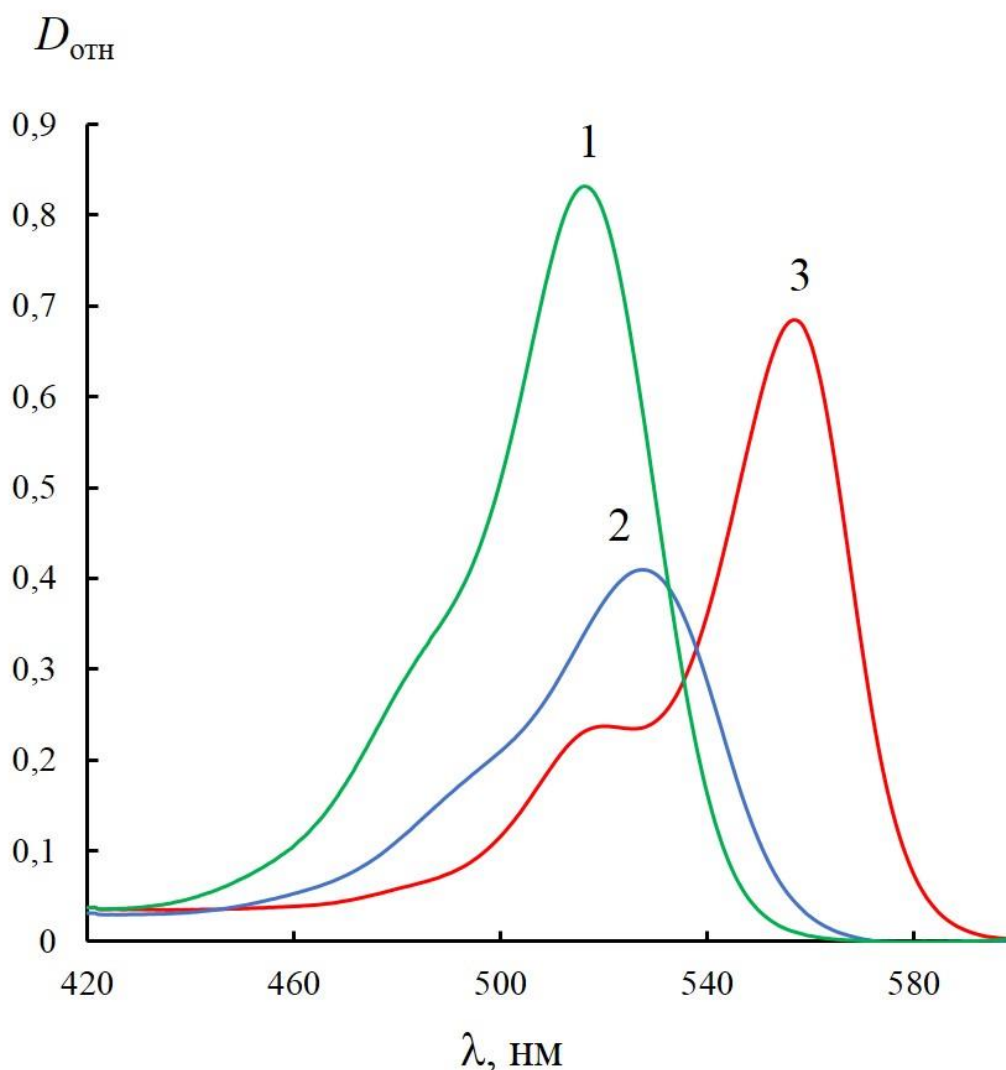


Рис. 3.16. Спектры поглощения Э(1), ЭР(2) и БР(3) в водно -мицеллярных растворах с  $R_h= 14,8$  нм (1),  $R_h= 15,8$  нм (2) и  $R_h= 12,8$  нм (3).

На рис. 3.17 представлены зависимости положения максимумов спектров поглощения для исследованных красителей в водно-мицеллярных растворах. Из рис. 3.17 видно, что с ростом  $R_h$  наблюдается коротковолновый сдвиг спектров поглощения для Э (кривая 1) и ЭР (кривая 2). При этом сдвиг спектров поглощения для Э и ЭР при изменении  $R_h$  в интервале 4 – 20 нм одинаков ( $\sim 6$  нм). Для БР (рис. 3.17, кривая 3) сдвига спектра поглощения в исследованной области  $R_h$  не наблюдается.

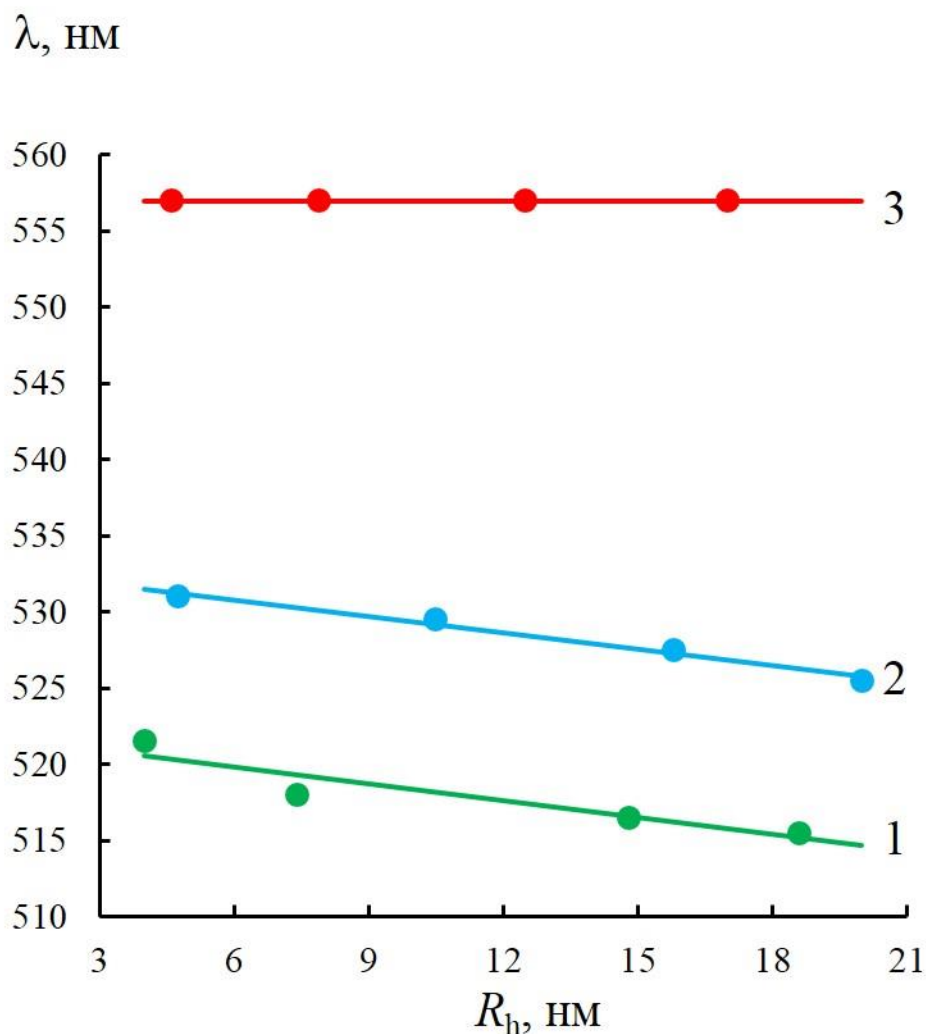


Рис. 3.17. Зависимости положения максимумов спектров поглощения в мицеллярных растворах для Э(1), ЭР(2) и БР(3). Концентрация молекул красителей  $C=10^{-5}$  моль/л

При увеличении размеров мицелл наблюдается увеличение оптической плотности всех исследованных молекул красителей (рис. 3.18, кривые 1-3). При этом для Э и ЭР это увеличение более значительно по сравнению с БР. Наблюдаемое смещение спектров поглощения может быть обусловлено двумя причинами: изменение полярности среды и процессами ассоциации молекул. Мы исследуем растворы малой концентрации, поэтому влияние процессов

ассоциации (при образовании более сложных чем димеров комплексов) на спектры поглощения молекул можно не учитывать.

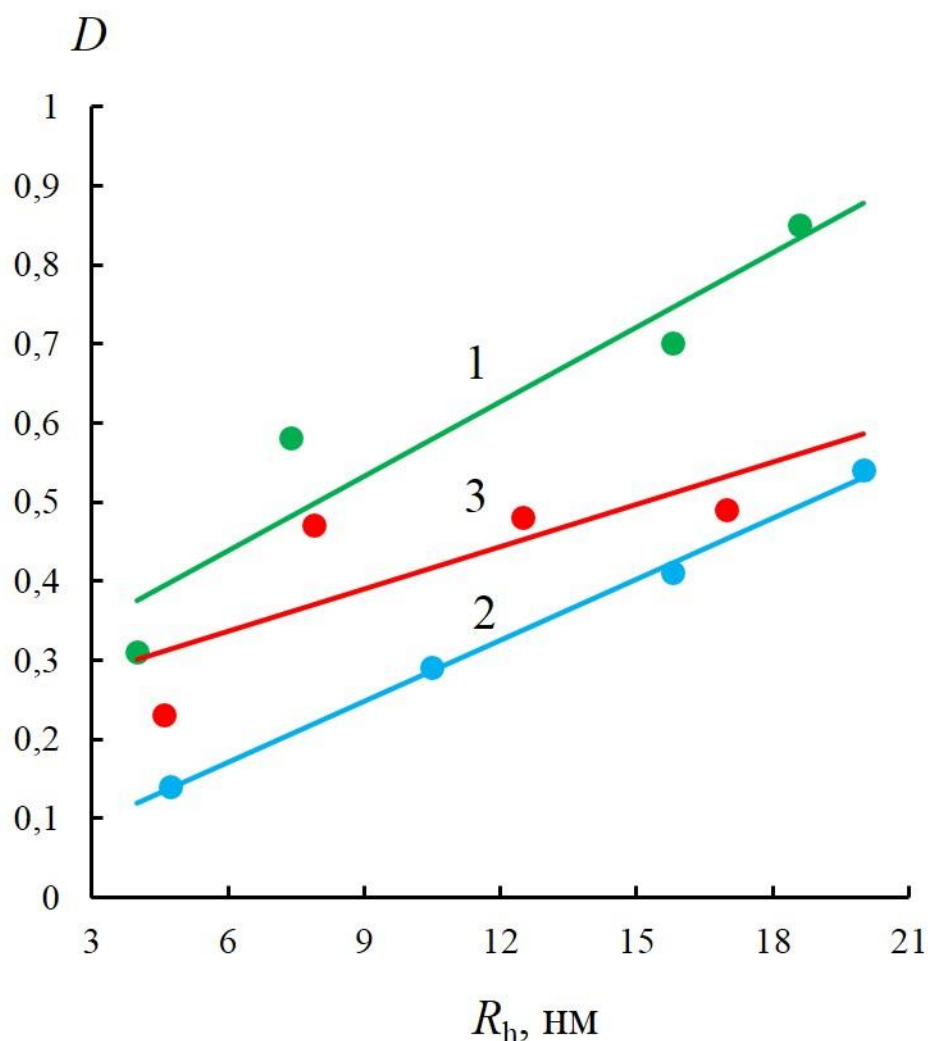


Рис. 3.18. Зависимости оптической плотности  $D$  в максимуме поглощения от  $R_h$  для Э(1), ЭР(2) и БР(3).

Наблюдаемое поведение спектров поглощения (коотковолновый сдвиг спектра) анионных красителей обусловлен увеличением полярности среды, связанных с локализацией молекул красителей на границе мицелл в связи с тем, что имеет место градиент полярности от центра водного ядра мицеллы к его границе. Молекулы красителей семейства флуоресцеина могут существовать в различных формах, основные являются анионные и дианионные, имеющие различные спектры поглощения, соответственно

коротковолновый и длинноволновый. В связи с тем, что дианионная форма красителей Э, ЭР и БР имеют большее поглощение, поэтому в эксперименте наблюдается увеличение поглощения с ростом  $R_h$ , обусловленное переходом в структуре молекул от анионной к дианионной формы.

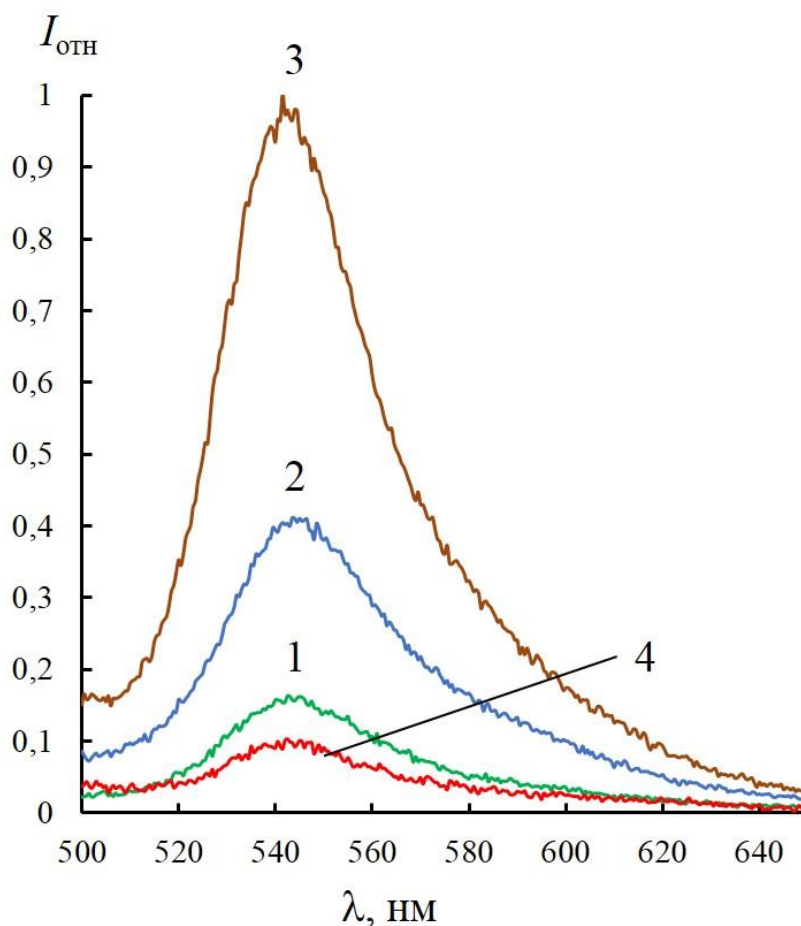


Рис. 3.19. Спектры флуоресценции Э в водно-мицеллярных растворах для различных  $R_h=4$  нм (1),  $R_h=7,4$  нм (2),  $R_h=14,8$  нм (3) и  $R_h=18,6$  нм (4).

Перестройка структуры молекул при изменении их микроокружения должно приводит к изменению их дипольных моментов. Что должно сказываться в изменение спектральных характеристик растворов красителей и в первую очередь в стоксовых сдвигах  $\Delta\nu$ . Для определения  $\Delta\nu$  были

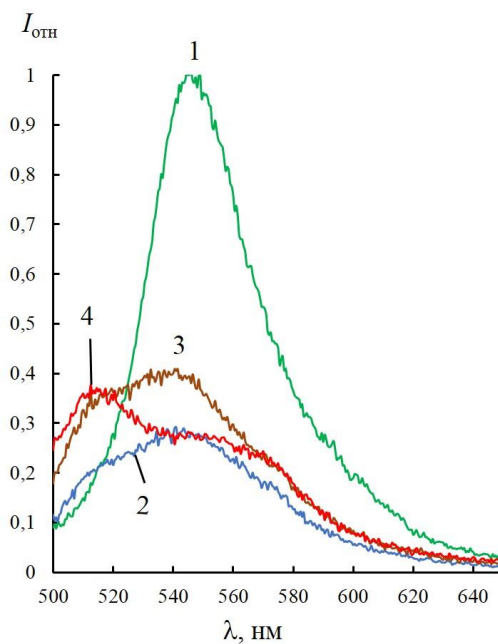


Рис. 3.20. Спектры флуоресценции ЭР в водно-мицеллярных растворах для различных  $R_h=4,8$  нм (1),  $R_h=10,5$  нм (2),  $R_h=15,8$  нм (3) и  $R_h=20$  нм (4).

измерены спектры флуоресценции исследованных красителей в мицеллярных системах с различным  $R_h$  и определены положения их максимумов.

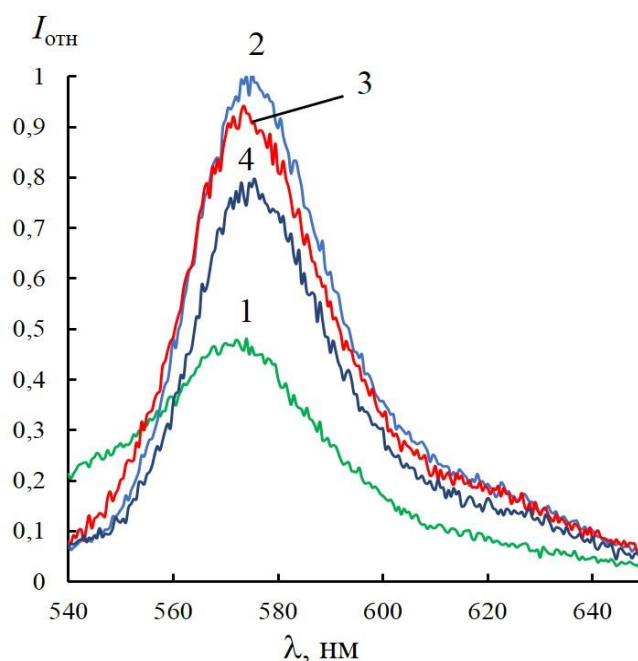


Рис. 3.21. Спектры флуоресценции БР в водно-мицеллярных растворах для различных  $R_h=4,6$  нм (1),  $R_h=7,9$  нм (2),  $R_h=12,5$  нм (3) и  $R_h=17$  нм (4).



На рис. 3.19 –3.21 представлены спектры флуоресценции исследованных красителей, а на рис. 3.22 представлены зависимости максимумов спектров флуоресценции красителей от  $R_h$ . Из рис.3.22 видно, что в мицеллярных растворах наблюдаются сдвиги спектров флуоресценции исследованных красителей в зависимости от гидродинамического радиуса  $R_h$ . Эти сдвиги различны для спектров поглощения и спектров флуоресценции и отличаются для различных молекул красителей. Так при увеличении  $R_h$  для Э сдвиг спектра поглощения равен 6 нм (рис. 3.17, кривая 1), при этом положение максимума спектра флуоресценции изменяется на 4 нм (рис. 3.22, кривая 1). Для БР, наоборот, сдвиг максимума спектра поглощения не наблюдается (рис. 3.17, кривая 3), в то время как максимум спектра флуоресценции сдвигается в длинноволновую область на 5 нм (рис. 3.22, кривая 3). Наибольшие для

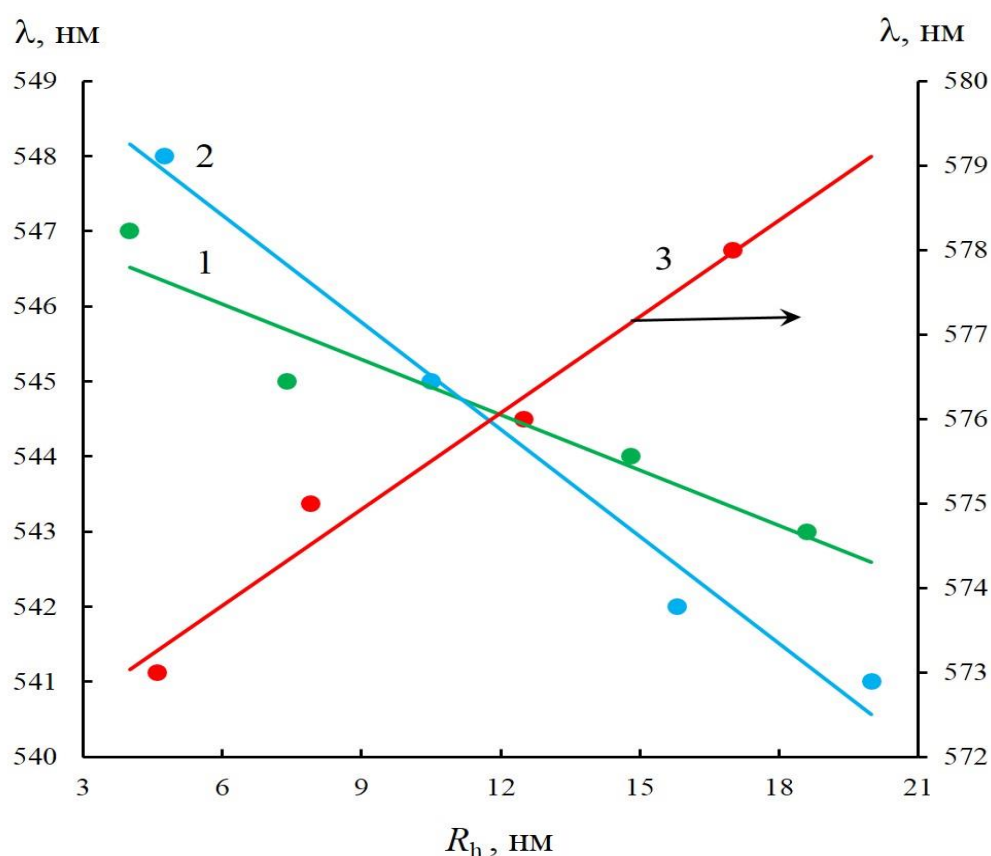


Рис. 3.22. Зависимости максимумов спектров флуоресценции Э(1), ЭР(2) и БР(3) от  $R_h$ .

исследованного ряда красителей сдвиги спектров поглощения и флуоресценции наблюдаются для ЭР: спектр поглощения сдвигается на 6 нм (рис. 3.17, кривая 2), а спектр флуоресценции на 7 нм (рис.3.22, кривая 2).

На основе измеренных спектров поглощения и флуоресценции молекул красителей в мицеллах были вычислены стоксовы сдвиги  $\Delta\nu$  для всех молекул красителей и различных значений  $R_h$ . На рис. 3.23 представлены зависимости  $\Delta\nu$  от  $R_h$  для исследованных красителей.

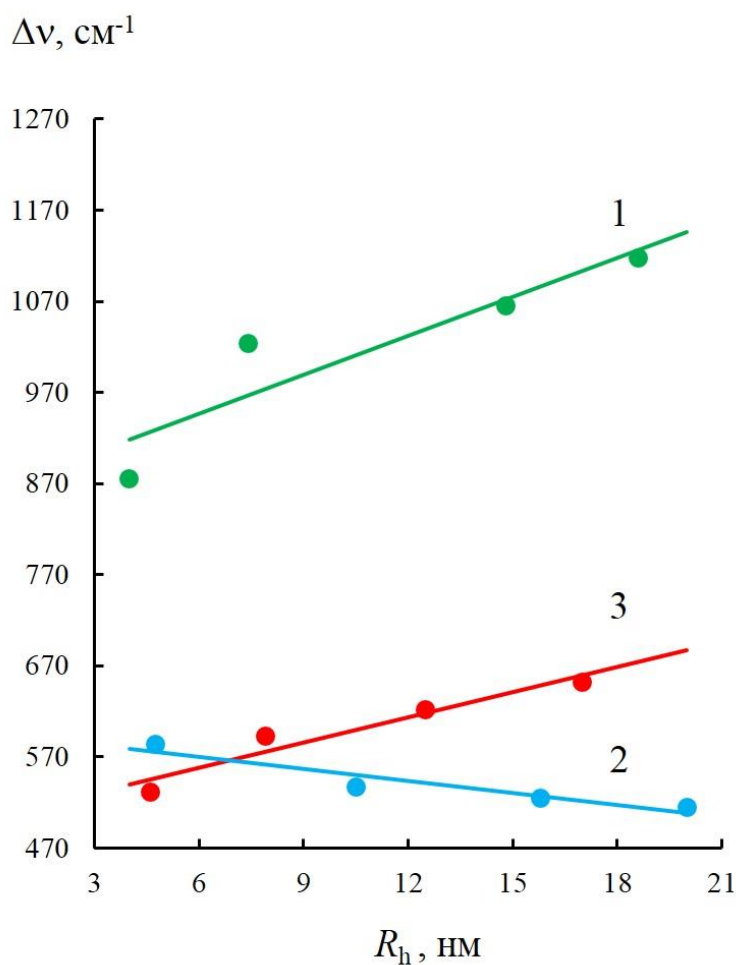


Рис.3.23. Зависимости стоксовых сдвигов  $\Delta\nu$  спектров флуоресценции Э(1), ЭР(2) и БР(3) от  $R_h$ .

Величины стоксовых сдвигов спектров отличаются для исследованных молекул красителей. Минимальные значения  $\Delta\nu$  (при  $R_h \sim 4$  нм) наблюдаются для БР  $\sim 540$   $\text{см}^{-1}$  и ЭР  $\sim 580$   $\text{см}^{-1}$ , наибольшее значение  $\Delta\nu$  имеет Э –  $\Delta\nu \sim 900$   $\text{см}^{-1}$ . С ростом  $R_h$  для Э и ЭР наблюдается увеличение  $\Delta\nu$ . При этом для Э изменения стоксового сдвига  $d(\Delta\nu) = \Delta\nu_{\omega_0=90} - \Delta\nu_{\omega_0=20} \sim 240$   $\text{см}^{-1}$ , в то время как для ЭР увеличение  $d(\Delta\nu) \approx 120$   $\text{см}^{-1}$ . Для БР наблюдается незначительное уменьшение стоксового сдвига спектров  $d(\Delta\nu) \approx -70$   $\text{см}^{-1}$ .

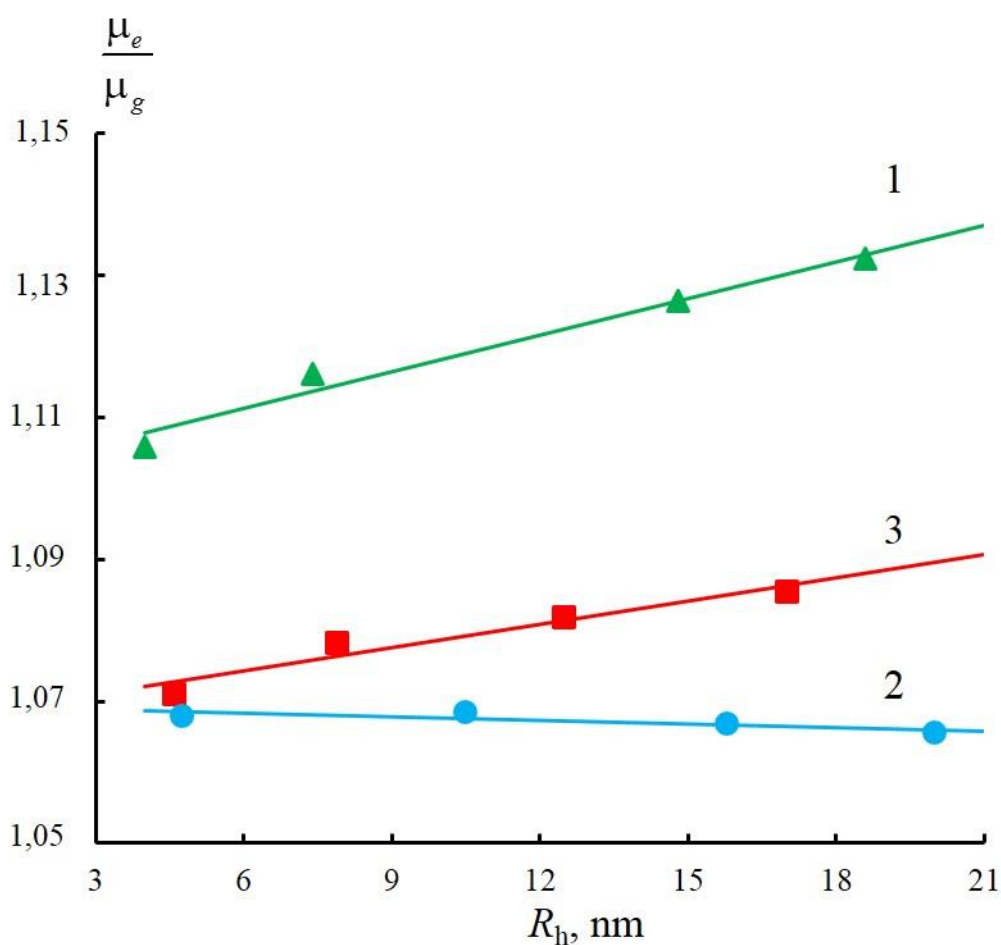


Рис. 3.24. Зависимости отношения  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  от  $R_h$  для Э (1), ЭР (2) и БР (3).

Изменение величин стоксового сдвига спектров указывает на то, что дипольный момент молекул красителей в возбужденном состоянии может отличаться от дипольного момента в основном состоянии. Поэтому при

исследовании поведения молекул красителей в мицелле важным является определение изменения дипольного момента молекулы при возбуждении. Для получения информации изменения дипольного момента в возбужденном состоянии определим отношение  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  по формуле (3.1).

На рис.3.24 представлены зависимости  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  от  $R_h$  мицелл для исследованных красителей. Из рис. 3.24 видно, что с увеличением  $R_h$  наблюдается рост отношения  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  для Э (кривая 1) и БР (кривая 3). Для ЭР (кривая 2) происходит незначительное уменьшение  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  с ростом  $R_h$ . Такое изменение отношения  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  с увеличением размера мицелл, связано в первую очередь с изменением локализации молекул красителей в объеме обратной мицеллы.

Таким образом, установлено изменение спектральных характеристик молекул красителей: сдвиг спектров поглощения и флуоресценции, увеличение стоксового сдвига спектров при увеличении  $R_h$ . Величины стоксовых сдвигов спектров отличаются для исследованных молекул красителей. Минимальные значения  $\Delta\nu$  наблюдаются для БР  $\sim 540 \text{ см}^{-1}$  и ЭР  $\sim 580 \text{ см}^{-1}$ , наибольшее значение  $\Delta\nu$  имеет Э  $\Delta\nu \sim 900 \text{ см}^{-1}$ . С ростом  $R_h$  для Э и БР наблюдается увеличение  $\Delta\nu$ , а для ЭР наблюдается незначительное уменьшение стоксового сдвига спектров на  $\sim 70 \text{ см}^{-1}$ . Изменение величин стоксового сдвига связано с отличием отношения зависимости  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$  для различных значений  $R_h$  мицелл для исследованных красителей. Показано, что с ростом  $R_h$  наблюдается увеличение отношения дипольных моментов

возбужденного и основного состояния  $\frac{\mu_e}{\mu_g}$ , обусловленное структурной реорганизации мицелл.

### §3.4. Фотофизические процессы в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина в анионных обратных мицеллах

Были выделены анионные и дианионные полосы поглощения для всех красителей для всех значений  $R_h$ , а затем определены значения их

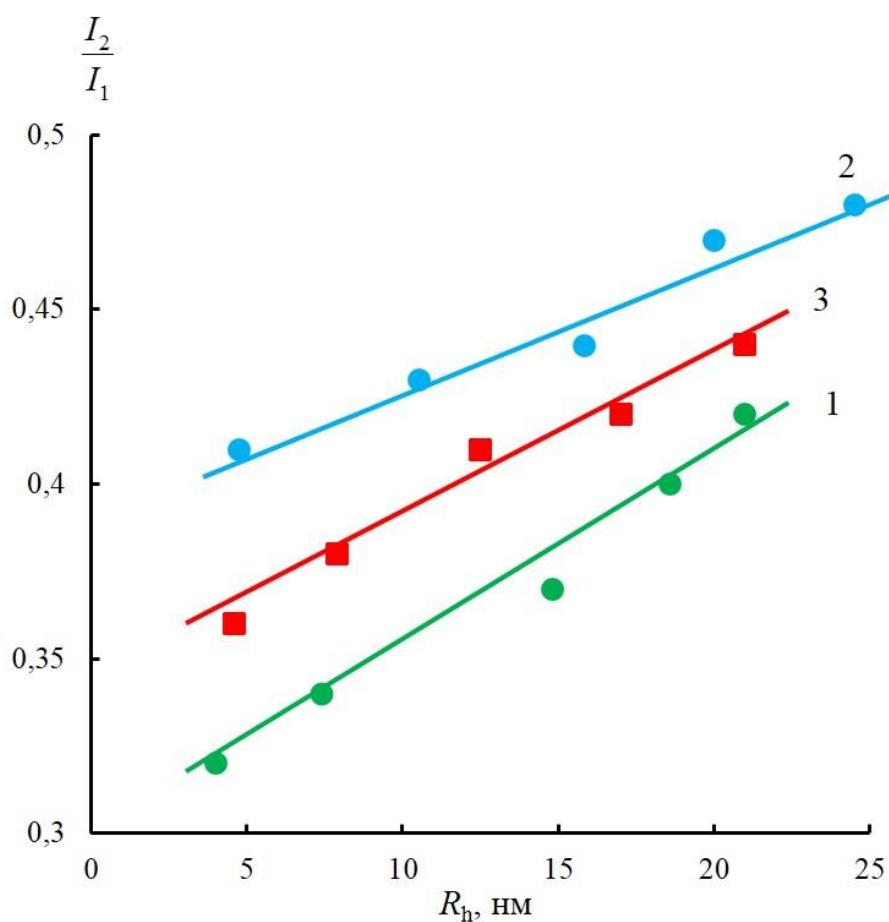


Рис. 3.25. Зависимости отношения интенсивностей поглощения анионной и дианионной полос  $\frac{I_2}{I_1}$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э(1), ЭР(2) и БР(3).

интенсивностей. На рис. 3.25 представлены зависимости отношения  $\frac{I_2}{I_1}$  (где

$I_1$  - интенсивность дианионной полосы, а  $I_2$  - анионной) от

гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для всех красителей. Из рис. 3.25 видно, что с ростом  $R_h$  наблюдается увеличение отношения  $\frac{I_2}{I_1}$  полос, т.е. с ростом  $R_h$  увеличивается вклад анионной формы красителя в формировании спектров поглощения. В связи с тем, что интенсивность поглощения пропорциональна концентрации молекул, представленные на рис. 3.25 данные указывают на то, что с ростом  $R_h$  происходит изменение соотношения концентраций дианионной и анионной формы красителей, что должно сказаться на флуоресцентных характеристиках исследованных растворов. В частности, на времени затухания флуоресценции и на степени анизотропии свечения.

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

$$F(t) = A_1 e^{(-t/\tau_1)} + A_2 e^{(-t/\tau_2)}, \quad (3.3)$$

Здесь  $A_i$  – амплитуды экспонент,  $\tau_i$  – время затухания экспонент,  $t$  – время после возбуждения флуоресценции.

В табл. 3.1 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 двух экспоненциальных зависимостей затухания свечения указывает на то, что внутри обратной мицеллы молекулы красителей находятся в различном окружении.

**Таблица 3.1**

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

| Краситель | $R_h$ , нм     | $A_1$ , % | $\tau_1$ , нс | $A_2$ , % | $\tau_2$ , нс |
|-----------|----------------|-----------|---------------|-----------|---------------|
| 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 |           |               |           |               |
| 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 |           |               |           |               |
| 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 |           |               |           |               |

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. 3.26 представлены зависимости  $\langle \tau \rangle$  от  $R_h$  для исследованных систем. В ряду

красителей Э-ЭР-БР происходит увеличение энергии спин-орбитального взаимодействия между спиновыми и орбитальными моментами электронов и ядер в молекуле 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 (см. рис. 3.26). Эти результаты указывают на то, что с ростом  $R_h$  ограничение движения, испытываемое флуорофором при связывании с обращенными мицеллами, уменьшается.

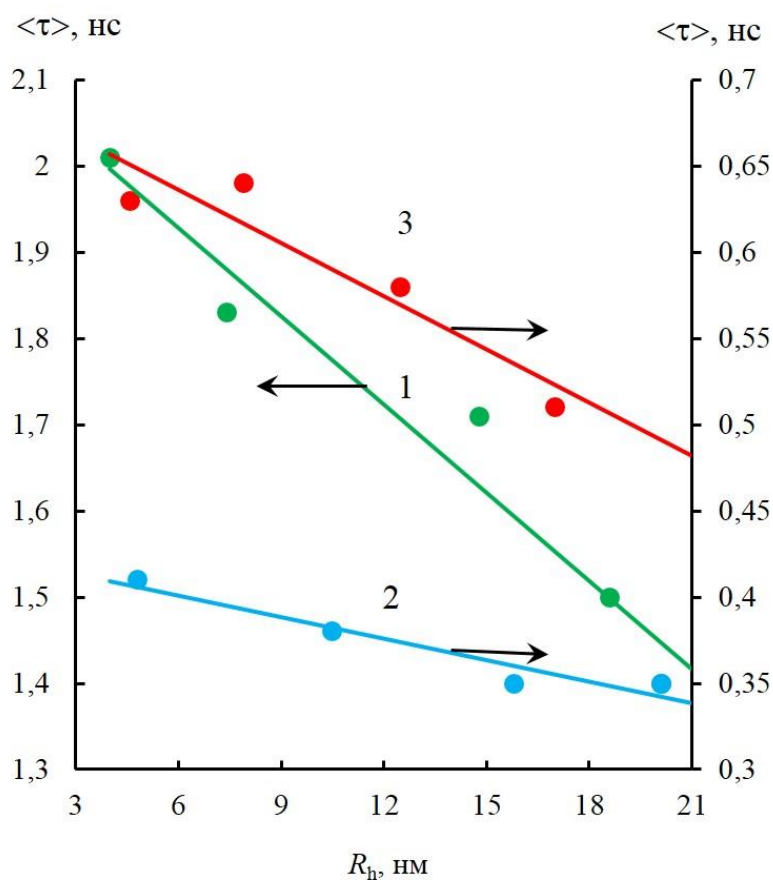


Рис. 3.26. Зависимости среднего времени жизни флуоресценции  $\langle \tau \rangle$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для Э(1) (основная шкала) и ЭР(2), БР(3) (дополнительная шкала).



Таким образом, увеличение размера обратных мицелл приводит к уменьшению эффекта геометрического ограничения молекул исследованных красителей, что должно сказываться на значениях степени анизотропии флуоресценции. Были определены значения степени анизотропии

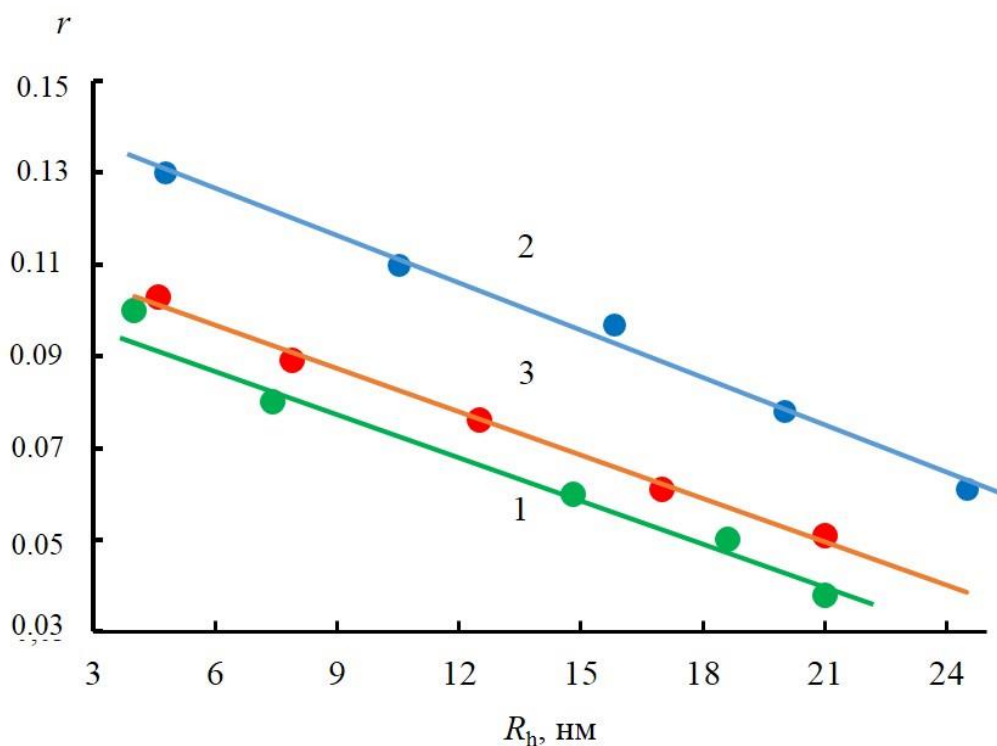


Рис. 3.27. Зависимости степени анизотропии флуоресценции  $r$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э(1), ЭР(2) и БР (3).

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. 3.27 представлены зависимости  $r(R_h)$  для исследованных красителей. Из рис. 3.27 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 равны  $r_{\text{Э}} = 0,04$ ,  $r_{\text{ЭР}}=0,04$ ,  $r_{\text{БР}} =$

0,05). Это указывает на то, что движение молекул исследованных красителей имеет больше ограничений в обратной мицелле, 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. 3.27) 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  $R_h$ . Параметры вращательной диффузии люминесцирующих молекул с помощью формулы (3.2)

Для определения  $r_0$  мы провели измерения  $r$  при различных значениях вязкости водных растворов, которая изменялась путем добавления в растворы различных концентраций сахарозы. Для каждого из растворов методом наименьших квадратов были построены зависимости  $\frac{1}{r} \left( \frac{T}{\eta} \right)$  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 (3.2) были вычислены времена вращательной релаксации  $\theta$ . На рис. 3.28 представлены зависимости времени вращательной релаксации  $\theta$  от  $R_h$  для Э (кривая 1), ЭР (кривая 2) и БР (кривая 3).

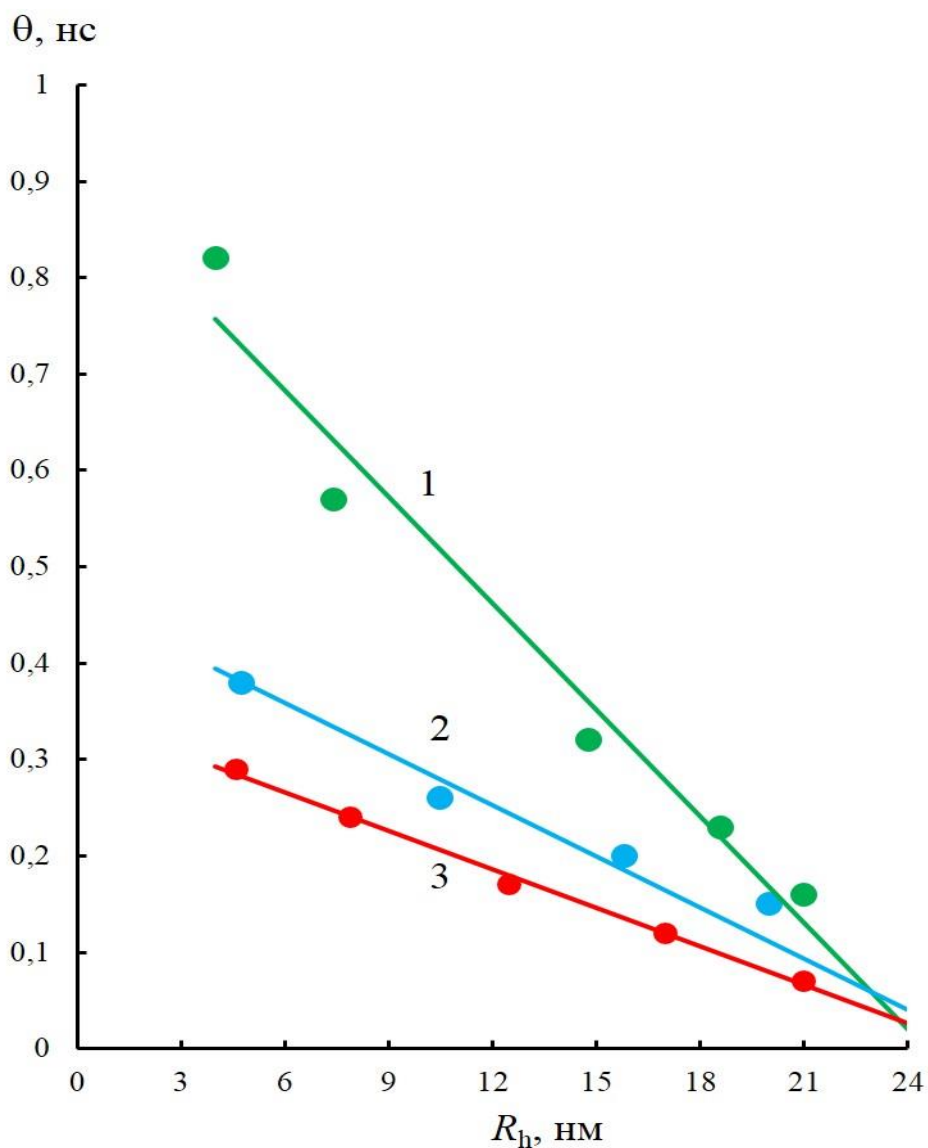


Рис. 3.28. Зависимости времени вращательной релаксации  $\theta$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Э(1), ЭР (2) и БР (3).

Из рис. 3.28 видно, что  $\theta_E > \theta_{ER} > \theta_{BR}$ , т.е. в величине времени вращательной корреляции сказывается «эффект тяжелого атома». С ростом  $R_h$  происходит уменьшение  $\theta$  для всех трех исследованных красителей. При этом

«скорость» уменьшения времени  $\theta$  от увеличения размера (радиуса) мицеллы  $\delta\theta = \frac{d\theta}{dR_h}$  имеет следующие значения:  $(\delta\theta)_{\text{Э}} = 0,039$ ,  $(\delta\theta)_{\text{ЭР}} = 0,015$  и  $(\delta\theta)_{\text{БР}} = 0,013$ . 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.

Таким образом, установлено уменьшение среднего времени  $\langle\tau\rangle$  возбужденных состояний молекул исследованных красителей с ростом  $R_h$ , что объясняется ростом подвижности молекул воды и уменьшением эффекта их геометрического ограничения в обратных мицеллах.

Установлено, время вращательной релаксации  $\theta_{\text{E}} > \theta_{\text{ER}} > \theta_{\text{BR}}$ , т.е. на величину 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.

### **§3.5. Процессы димеризации молекул флуороновых красителей в мицеллярных структурах**

Исследование процессов димеризации молекул красителя, влияния локализации молекул в обратных мицеллах на эффективность димеризации и структуру димеров представляет интерес не только для применения флуоресцентных зондов, но и важны для фундаментальной фотохимии.

В данной параграфе представлены результаты исследования эффективности димеризации молекул, структуры димеров и термодинамических характеристик комплексообразования флуоресцеина (Ф) и его галогенпроизводных: эозина (Э), эритрозина (ЭР), бенгальского розового

(БР) (анионных при физиологических значениях рН (7,4)) в обратных мицеллах.

Были измерены спектры поглощения красителей при больших концентрациях в мицеллярных растворах для различных значений их гидродинамического радиуса  $R_h$ . В качестве примера, на рис. 3.29 представлены спектры поглощения Э для трех значений  $R_h$ .

Из рис. 3.29 видно, что в случае водного раствора Э помещенного в

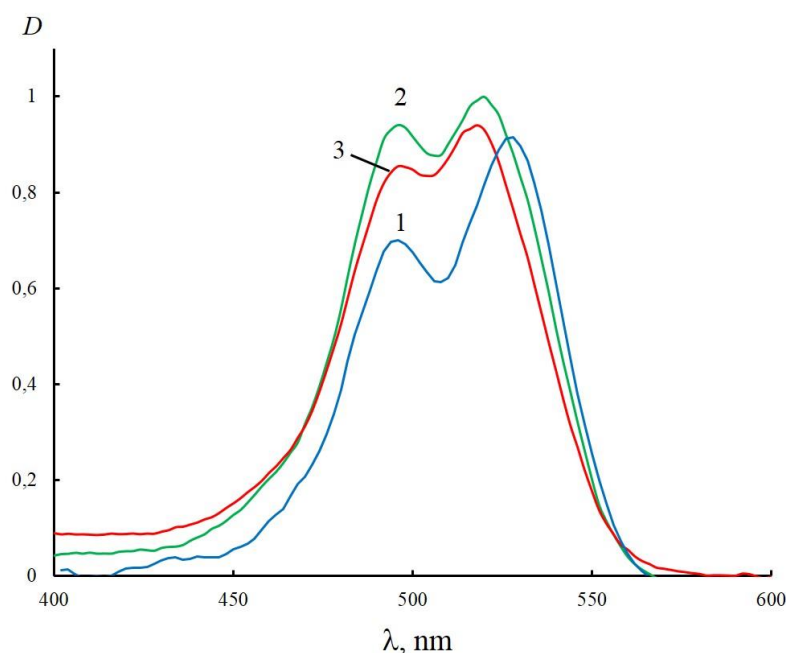


Рис. 3.29. Спектры поглощения Э ( $C = 10^{-2}$  моль/л) в обратных мицеллах с гидродинамическим радиусом: 5 (1), 12 (2) и 18(3) нм.

мицеллы увеличивается интенсивность полосы поглощения с максимумом 490 нм, соответствующая димерам красителя [148]. Причем это изменение интенсивности полосы поглощения димеров красителей отличается для различных  $R_h$ . Аналогичные изменения наблюдались для других красителей.

Определим эффективности процессов ассоциации (димеризации) молекул красителей в мицеллах с различным  $R_h$ . Для этого рассмотрим деформации спектров поглощения исследуемых растворов красителей. Если

раствор содержит смесь мономеров и димеров красителя, то его показатель поглощения  $\alpha$  на некоторой длине волны  $\lambda$  может быть записан в виде

$$\alpha(\lambda) = \alpha_M(\lambda) + \alpha_D(\lambda)(1 - X) = (\alpha_M(\lambda) - \alpha_D(\lambda))X + \alpha_D(\lambda), \quad (3.4)$$

где,  $\alpha_M(\lambda)$  и  $\alpha_D(\lambda)$  – показатели поглощения мономеров и димеров исследуемого раствора на длине волны  $\lambda$  соответственно,  $X$  – доля молекул красителя, находящихся в растворе в мономерном состоянии;  $(1-X)$  – доля его димерных молекул или степень димеризации раствора. Описанные концентрационные деформации спектров поглощения позволяют определить величину степени ассоциации  $(1-X)$  исследуемых растворов. Для этого воспользуемся значением константы равновесия

$$K_D = \frac{1 - X}{2CX^2}, \quad (3.5)$$

где  $C$  – общая концентрация раствора. Решая совместно уравнения (3.4) и (3.5), получаем

$$\frac{(\alpha(\lambda) - \alpha_D(\lambda))^2}{(\alpha_M(\lambda) - \alpha(\lambda))} = \frac{K_D(\alpha_M(\lambda) - \alpha_D(\lambda))}{C} \quad (3.6)$$

которое содержит два неизвестных:  $\alpha_A$ ,  $K_D$ . Для их определения мы использовали два спектра поглощения из семейства исследуемых растворов красителей с концентрациями  $C_1$  и  $C_2$ . Для этих спектров поглощения будут справедливы два уравнения типа:

$$\frac{(\alpha_n(\lambda) - \alpha_D(\lambda))^2}{(\alpha_M(\lambda) - \alpha_n(\lambda))} = \frac{K_D(\alpha_M(\lambda) - \alpha_D(\lambda))}{C_n}, \quad (3.7)$$

где  $n = 1, 2$ . Используя экспериментальные значения  $\alpha_{1,2}(\lambda)$ ,  $C_{1,2}$  и  $\alpha_M(\lambda)$  (в качестве спектра поглощения спектра поглощения мономерных молекул  $\alpha_M(\lambda)$  использовался спектр поглощения разбавленных растворов красителей и решая систему уравнений (3.7) были получены спектры поглощения димеров  $\alpha_D(\lambda)$ . Доля мономеров  $X$  была определена с использованием значений  $\alpha_M$ ,  $\alpha_D$

и  $\alpha$  на длине волны, соответствующей максимуму поглощения мономеров  $\lambda_M$  для различных концентраций красителей и значений  $R_h$  по формуле

$$X = \frac{\alpha - \alpha_D}{\alpha_M - \alpha_D}. \quad (3.8)$$

А затем была определена величина степени ассоциации раствора  $(1 - X)$  [149].

На рис. 3.30 представлены зависимости  $(1-X)$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для исследованных растворов красителей.

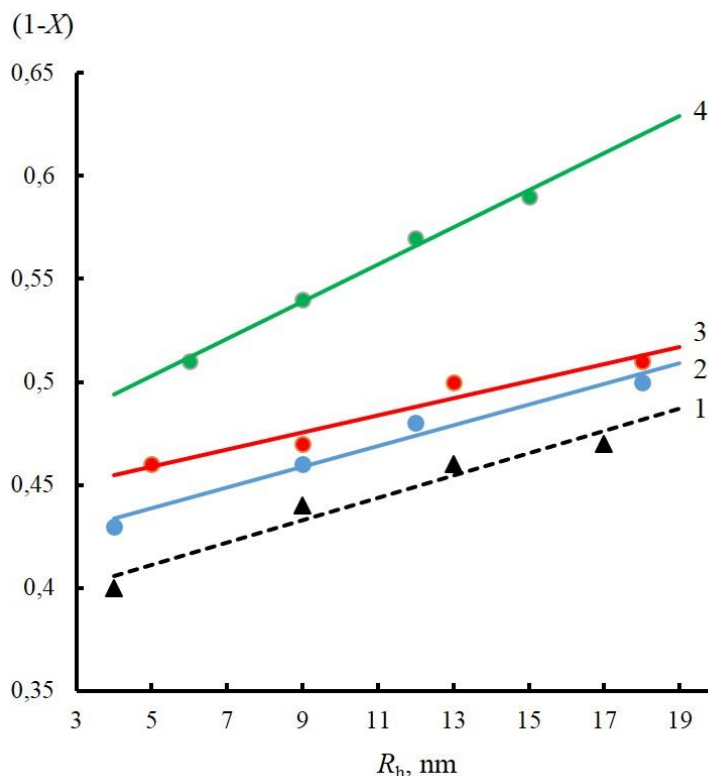


Рис. 3.30 Зависимости степени димеризации  $(1-X)$  от гидродинамического радиуса  $R_h$  для Ф(1), Э(2), ЭР(3) и БР (4). Концентрации красителей  $10^{-3}$  моль/л

Из рис. 3.30 видно, что  $(1-X)$  для всех значений  $R_h$  увеличивается в ряду Ф-Э-ЭР-БР. Такое поведение связано с изменением вероятностей фотофизических процессов, обусловленных спин-орбитальным взаимодействием в многоатомных молекулах. Известно [150, 151], что внутренние тяжелые атомы могут увеличивать спин-орбитальное взаимодействие между синглетным и триплетным состояниями. Вероятность таких процессов, сопряженных с влиянием спин-орбитальных

взаимодействий, пропорциональна значению сумм квадратов констант спин-орбитальной связи атомов в молекуле [151, 152]:

$$\sum \xi^2 = \sum_{i=1}^N \xi_i^2$$

где  $\xi_i$  – константа спин-орбитальной связи атома в молекуле.

Проведем оценку вероятностей влияния внутренних тяжелых атомов исследованных красителей на процессы их димеризации, для этого определим  $\sum \xi^2$  для каждой молекулы. Значения  $\xi_i$  были взяты из [152]. Получены значения  $\sum \xi^2$  для Ф– $1.66 \cdot 10^5 \text{ см}^{-2}$ , для Э – $2.43 \cdot 10^7 \text{ см}^{-2}$ , для ЭР– $1.02 \cdot 10^8 \text{ см}^{-2}$ , для БР– $1.04 \cdot 10^8 \text{ см}^{-2}$ .

Таким образом, рост спин-орбитального взаимодействия в молекулах исследованных красителей, вызванный тяжелым атомом, сопровождается увеличением степени димеризации  $(1-X)$  молекул в обратных мицеллах. Тенденция к димеризации молекул флуороновых красителей с увеличением галогенозамещения была отмечена в [81].

Кроме того, в ряду Э – ЭР – БР наблюдается увеличение электроотрицательности радикалов боковых групп молекул. С ростом  $R_h$ , как уже отмечалось выше, увеличивается доля анионных форм молекул красителей [153], что вызывает изменение электростатического взаимодействия между анионами красителей и гидратированными группами ПАВ. Такое изменение взаимодействия вызывает отличие степени димеризации молекул красителей для различных  $R_h$ . Как видно из рис. 3.30, наблюдается линейная зависимость  $(1-X)$  от  $R_h$ . На величину наклона этой зависимости влияет как величина массы внутреннего тяжелого атома, так и



величина заряда ионов красителей. Кроме того, увеличение доли димеров молекул приводит к увеличению размера мицелл (см. параграф 3.1).

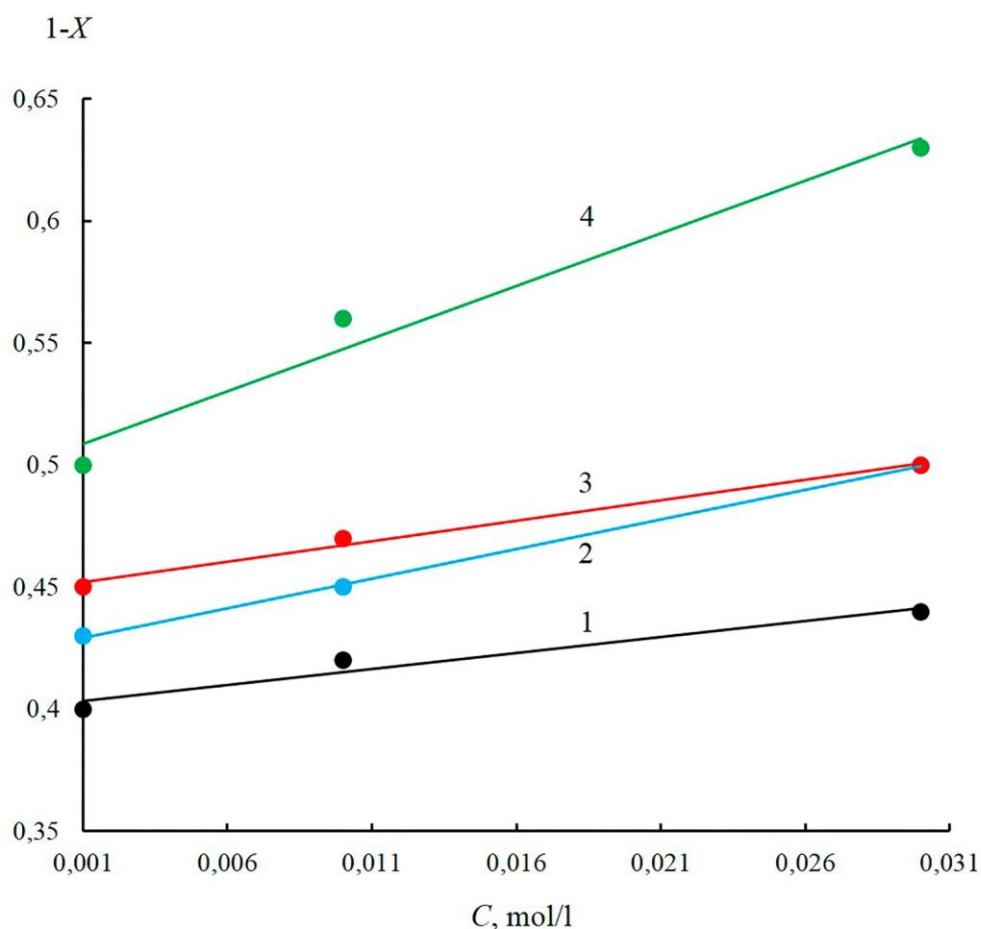


Рис. 3.31. Зависимости степени димеризации ( $1-X$ ) красителей Ф(1), Э(2), ЭР(3), БР(4) от их концентрации для  $R_h=6$  нм.

Зависимости степени димеризации ( $1-X$ ) от концентрации для различных красителей в мицеллярных системах значительно отличаются. На рисунках 3.31 и 3.32 представлены зависимости ( $1-X$ ) от концентрации исследованных красителей для двух значений гидродинамического радиуса на рис. 3.31 ( $R_h=6$  нм), рис. 3.32 ( $R_h=19$  нм). Из рис. 3.31, 3.32 видно, что в исследованной области концентраций  $10^{-3} - 3 \cdot 10^{-2}$  моль/л наименьшим значением ( $1-X$ ) обладает Ф (кривая 1), а наибольшим – БР (кривая 4). При этом рост степени димеризации ( $1-X$ ) с увеличением концентрации  $C$  различных красителей отличается. Так

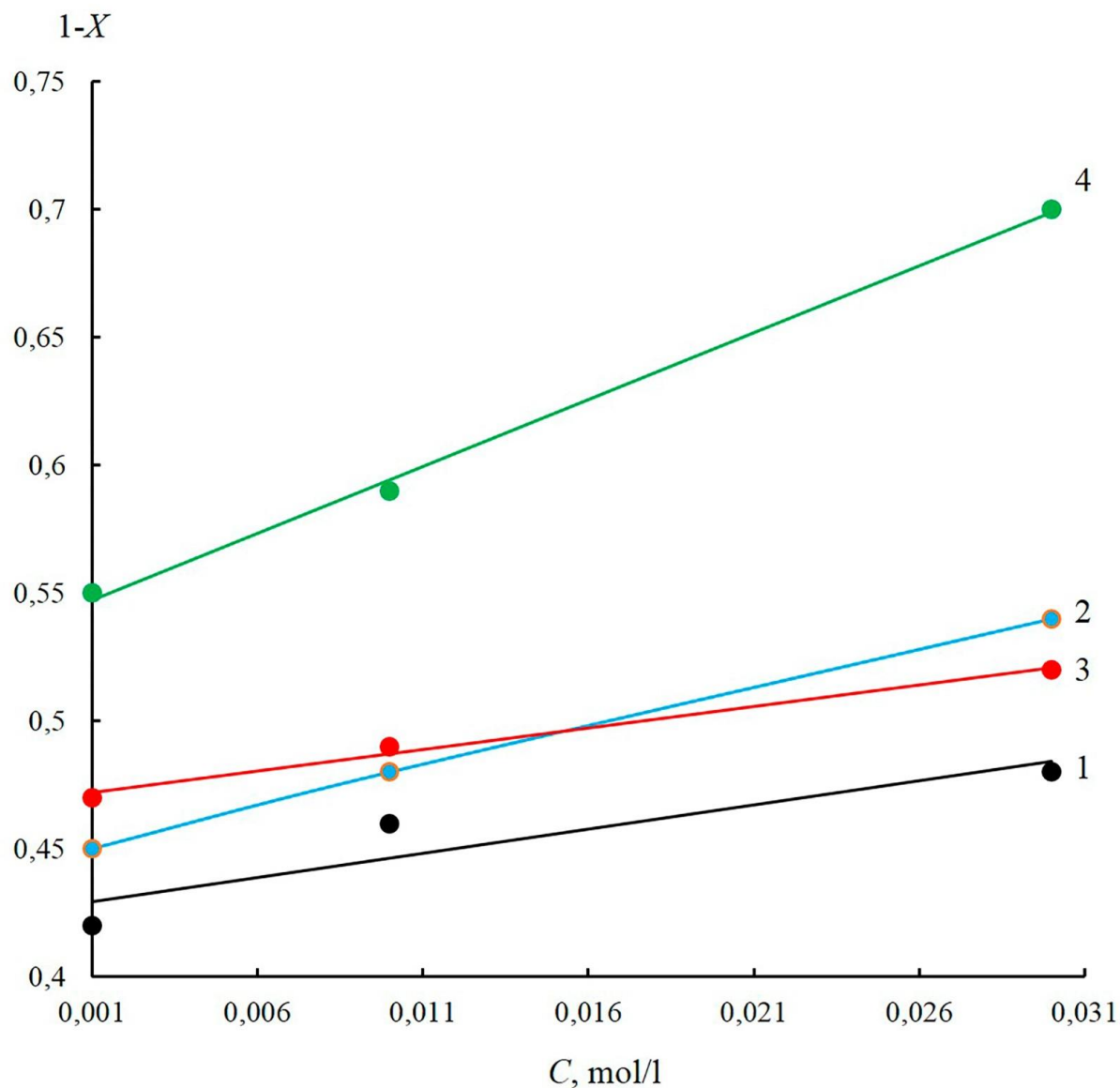


Рис. 3.32. Зависимости степени димеризации (1-X) красителей Ф(1), Э(2), ЭР(3), БР(4) от их концентрации для  $R_h=19$  нм .

для  $R_h=6$  нм изменение (1-X) с увеличением  $C$   $-\frac{d(1-X)}{dC}$  равно для Ф-0,04,

Э-0,06, ЭР-0,05, БР-0,13 (рисунок 3.31). При больших  $R_h$  для всех красителей

наблюдается увеличение  $\frac{d(1-X)}{dC}$ . Так для  $R_h=19$  нм  $\frac{d(1-X)}{dC}$  равно для

Ф-0,06, Э-0,09, ЭР-0,06, БР-0,15 (рис. 3.32).

Таким образом, основное влияние на концентрационную зависимость степени димеризации молекул красителей оказывает эффект внутреннего тяжелого атома.

Используя экспериментальные данные и решая систему уравнений (3.7) и были получены спектры поглощения димеров для всех исследованных растворов. На рис. 3.33 в качестве примера представлены нормированные спектры поглощения димеров исследованных молекул красителей для мицелл с  $R_h = 12$  нм. Видно, что спектры димеров красителей сильно отличаются, что указывает на их различную структуру.

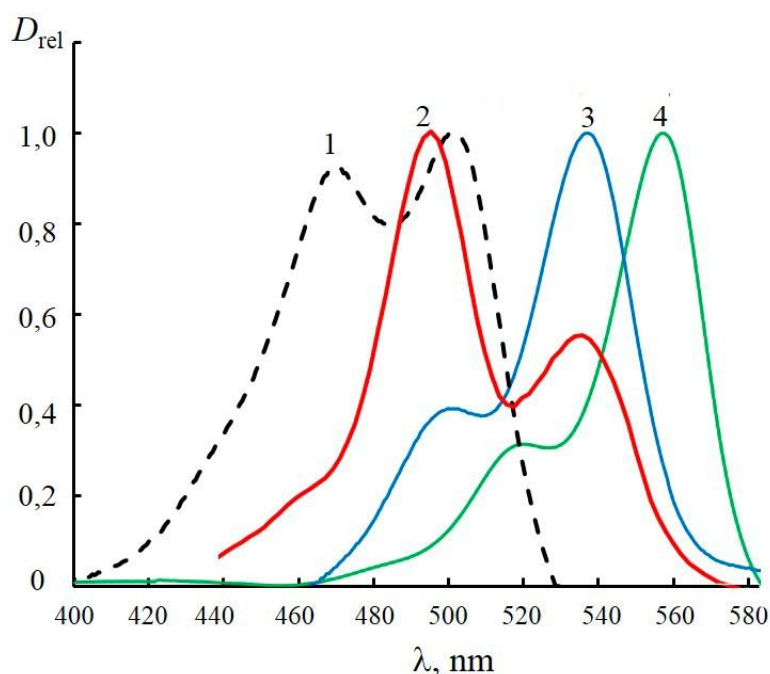


Рис. 3.33. Спектры поглощения димеров красителей: Ф(1), Э(2), ЭР(3) и БР(4) ( $C = 10^{-2}$  моль/л).  $R_h = 12$  нм.

Для анализа структуры димеров красителей воспользуемся экситонной моделью, согласно которой возбужденные состояния молекул димера будут расщепляться на два уровня с энергией ниже и выше энергии возбужденного состояния индивидуальных молекул. В рамках этой модели угол между молекулами в димере определялся по формуле [154]

$$\alpha = \arctan \sqrt{\frac{\nu_S f_L}{\nu_L f_S}}, \quad (3.9)$$

где  $\nu_S, \nu_L$  – частоты максимумов спектров коротковолновой и длинноволновой полосы димера;  $f_S, f_L$  – силы осцилляторов, соответствующих переходов.

Силы осцилляторов определяются по формуле

$$f = 4,32 \times 10^{-9} \int \varepsilon(\nu) d\nu, \quad (3.10)$$

где  $\varepsilon_i(\nu)$  – коэффициент экстинкции ( $i=S, L$ ).

Для определения  $\nu_S, \nu_L$  и  $f_S, f_L$  было проведено разделение спектров димеров молекул красителей на гауссовские компонента в исследованных

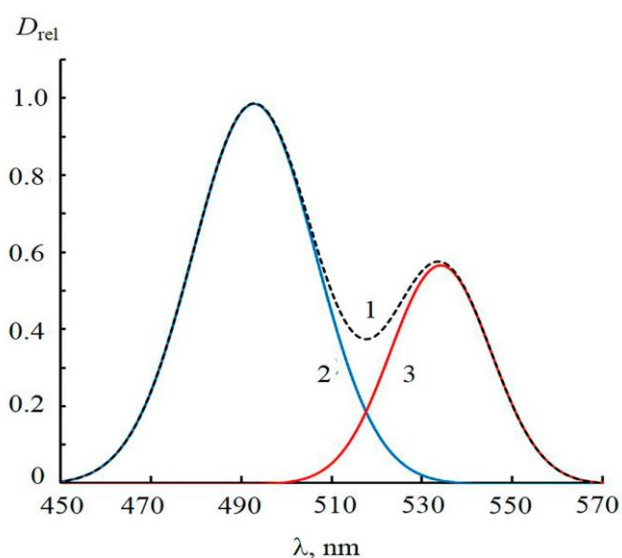


Рис. 3.34. Нормированный спектр поглощения димеров Э (1) ( $C=5 \cdot 10^{-3}$  моль/л) в мицеллярных растворах с гидродинамическим радиусом мицелл  $R_h=15$  нм и разделение его на гауссовские компоненты (2, 3).

системах. На рис. 3.34, в качестве примера, представлен спектр димера Э в мицеллярных растворах с  $R_h=15$  нм и разделение его на коротковолновую (кривая 2) и длинноволновую (кривая 3) полосы поглощения.

Используя полученные спектры поглощения димеров были определены значения  $\nu_S, \nu_L, f_S, f_L$  и затем по формуле (3.9) вычислены углы  $\alpha$  между

молекулами в димере. На рис. 3.35 представлена зависимость  $\alpha(R_h)$  для

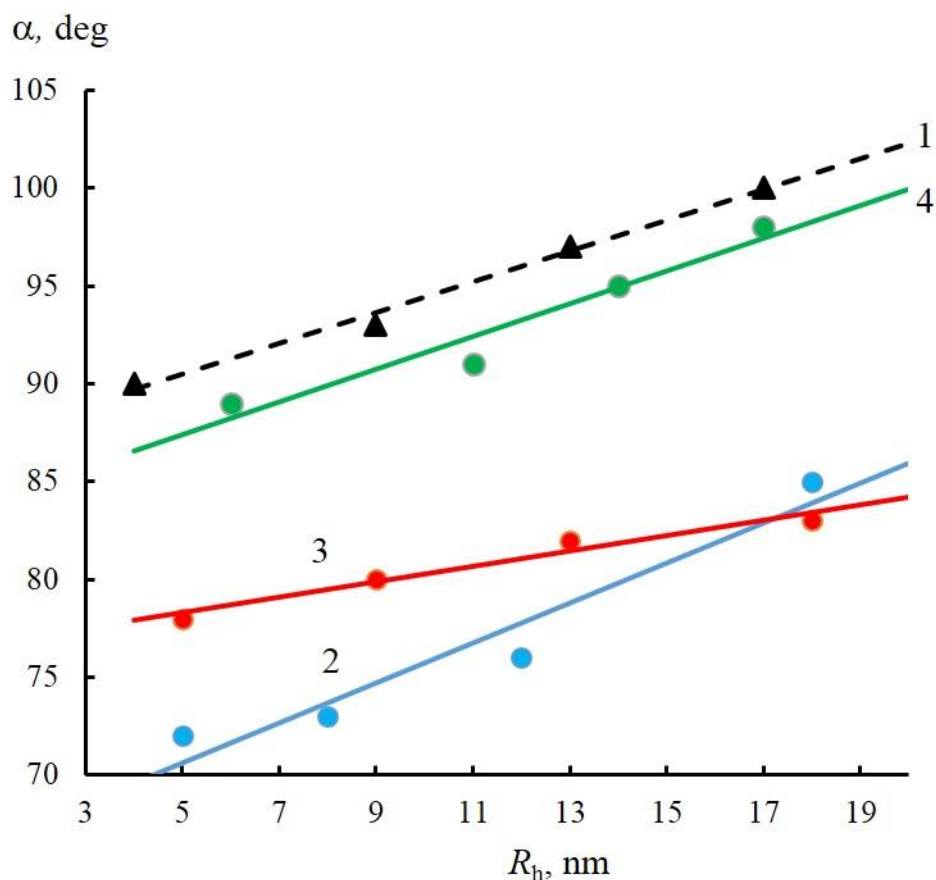


Рис. 3.35. Зависимости угла между мономерными молекулами в димере  $\alpha$  от гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$  для: Ф(1), Э(2), ЭР(3) и БР(4). Концентрация красителей  $10^{-3}$  моль/л.

исследованных систем. Из рис. 3.35 видно, что угол  $\alpha$  наибольший для Ф и БР (кривые 1,4), а наименьший для Э и ЭР (кривые 2,3). Для всех исследованных систем наблюдается линейная зависимость  $\alpha(R_h)$ . При этом для Ф, Э и БР градиенты роста  $\alpha(R_h)$  практически не отличаются и имеют наибольшие значения для исследованных систем, для ЭР рост  $\alpha$  от  $R_h$  намного меньше (кривая 3).

Для установления природы связи между мономерами в димере, были определены термодинамические параметры димеризации. Свободные энергии

формирования димеров (потенциалы Гиббса) в растворах определялись из соотношения:

$$\Delta G = -TR \ln K_D, \quad (3.11)$$

где  $\Delta G$  – потенциал Гиббса;  $R$  – универсальная газовая постоянная;  $K_D$  – константа равновесия.

С помощью (3.5) были определены значения  $K_D$  для исследованных систем, а затем по формуле (3.11) были вычислены значения  $\Delta G$ . На рис. 3.36 показаны зависимости  $\Delta G(R_h)$  для исследованных красителей.

Из рис. 3.36 видно, что наименьшее значение наблюдается для Ф (кривая 1). Галогенозамещение в молекулах ФЛ вызывает увеличение  $\Delta G$  (рис. 3.36, кривые 2 - 4). При этом если для Ф  $\Delta G$  меняется в диапазоне от -0,85 кДж/моль до -10 кДж/моль, то для Э от -4,4 кДж/моль до -12,5 кДж/моль; для ЭР от -4 кДж/моль до -8,5 кДж/моль и для БР от -4,3 кДж/моль до -9 кДж/моль. Наибольшее значение  $\Delta G$  наблюдается для Э (рис. 3.36, кривая 2). Увеличение размеров (гидродинамического радиуса  $R_h$ ) мицелл вызывает рост  $\Delta G$  с линейной зависимостью  $\Delta G(R_h) = aR_h + A$ . Коэффициенты наклона  $a$  этих прямых равны - (0,71 ± 0,05) для Ф, - (0,61 ± 0,05) для Э, - (0,43 ± 0,05) для ЭР и - (0,37 ± 0,05) для БР, соответственно.

Энтальпия  $\Delta H$  формирования димеров красителей была определена с помощью уравнения Вант Хоффа:

$$\ln K_D = - \frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}, \quad (3.12)$$

где  $T$  – температура,  $R$  – газовая постоянная, равная 8,314 Дж/кмоль.

$\Delta H$  определялась методом наименьших квадратов из линейного уравнения (3.12). Для этого были измерены спектры поглощения растворов красителей, а затем определены значения  $K_D$  для разных  $T$ . На рис. 3.37, в качестве примера, представлены спектры поглощения Э в мицеллярном

растворе с  $R_h = 15$  нм для четырех температур, на этом же рисунке

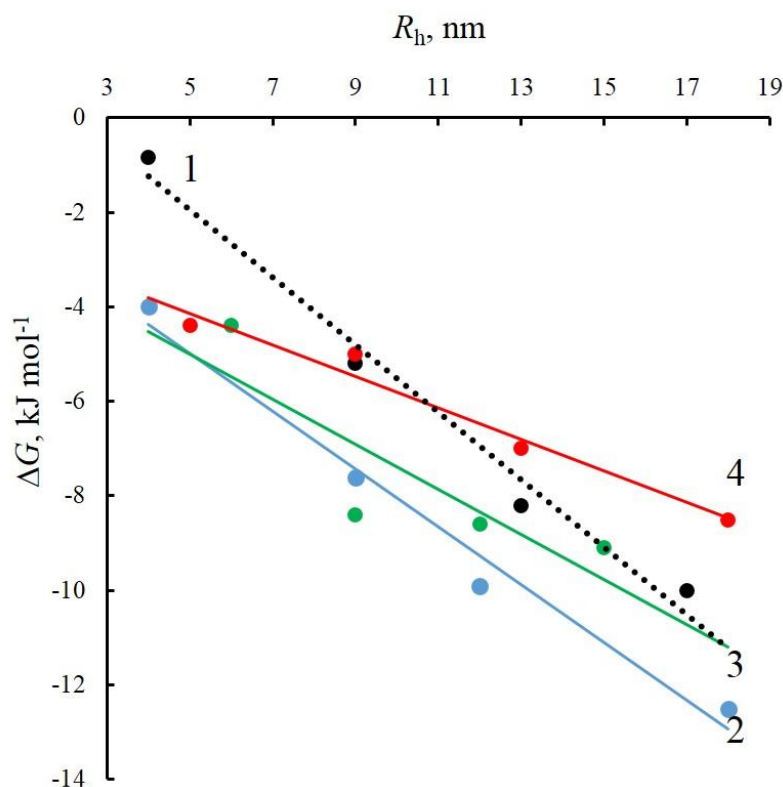


Рис. 3.36. Зависимости изменения свободной энергии  $\Delta G$  в димере от гидродинамического радиуса мицелл для Ф(1), Э(2), ЭР(3) и БР (4).

представлены зависимости доли мономеров  $X$  от температуры  $T$  (кривая 5). Видно, что с ростом температуры доля мономерных молекул в растворе увеличивается. Для установления влияния температуры на размер мицелл, был измерен их гидродинамический радиус для различных температур. На рис. 3.37 (кривая б) представлена зависимость  $R_h(T)$  с внедренными молекулами Э. Из рис. 3.37 видно, что  $R_h$  практически не зависит от  $T$ . Поэтому, в дальнейшем будем считать, что гидродинамический радиус мицелл в исследованном диапазоне температур не изменяется. На этом же рисунке представлена зависимость угла между молекулами в димере  $\alpha$  от температуры  $T$  (кривая 7). Как видно из рис. 3.37 с ростом температуры наблюдается увеличение  $\alpha$ , т. е. разрушение димеров сопровождается увеличением угла между его молекулами.

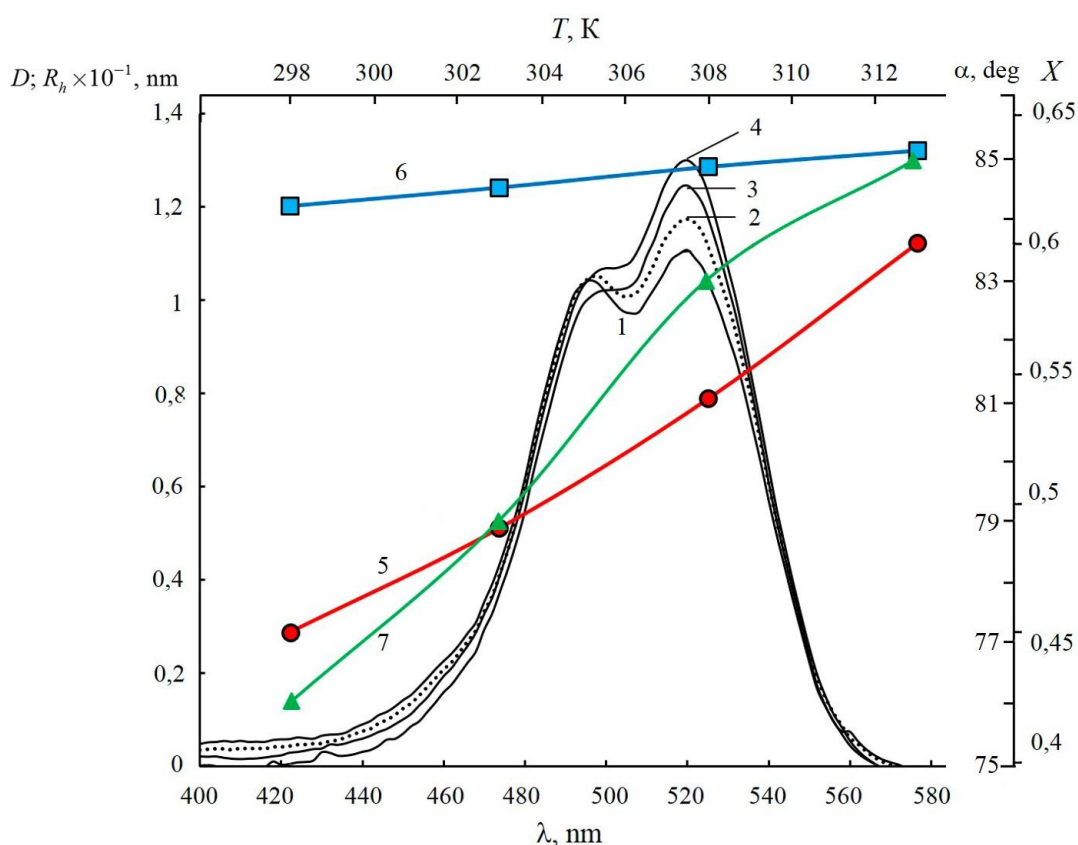


Рис.3.37. Спектры поглощения (1 - 4) Э в мицеллярных растворах с  $R_h=15$  нм для температур: 298 (1), 303(2), 308(3) и 313 (4) К; Зависимости доли мономеров  $X$  (5), гидродинамического радиуса мицеллы  $R_h$ (6) и угла  $\alpha$  (7) от температуры. Концентрация Э равна  $3 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

Зависимости  $\Delta H$  от  $R_h$  для исследованных систем представлены на рис. 3.38. Наибольшее значение  $\Delta H$  наблюдается для димеризации молекул Ф (рис. 3.38, кривая 1), наименьшее для молекул ЭР (рис. 3.38, кривая 3). При этом  $\Delta H$  для Ф меняется в диапазоне от -35 кДж/моль до -64 кДж/моль; для Э от -28 кДж/моль до -44 кДж/моль; для ЭР от -24 кДж/моль до -34 кДж/моль и для БР от -29 кДж/моль до -46 кДж/моль. Увеличение размеров (гидродинамического радиуса  $R_h$ ) мицелл вызывает рост  $\Delta H$  с линейной зависимостью  $\Delta H = bR_h + B$ . Коэффициенты наклона  $b$  этих прямых равны:



- $(2,24 \pm 0,05)$  для  $\Phi$ , для  $\text{Э}$  -  $(1,22 \pm 0,05)$ ,  $\text{Эр}$  -  $(1,02 \pm 0,05)$  и
- $(1,87 \pm 0,05)$  для БР, соответственно.

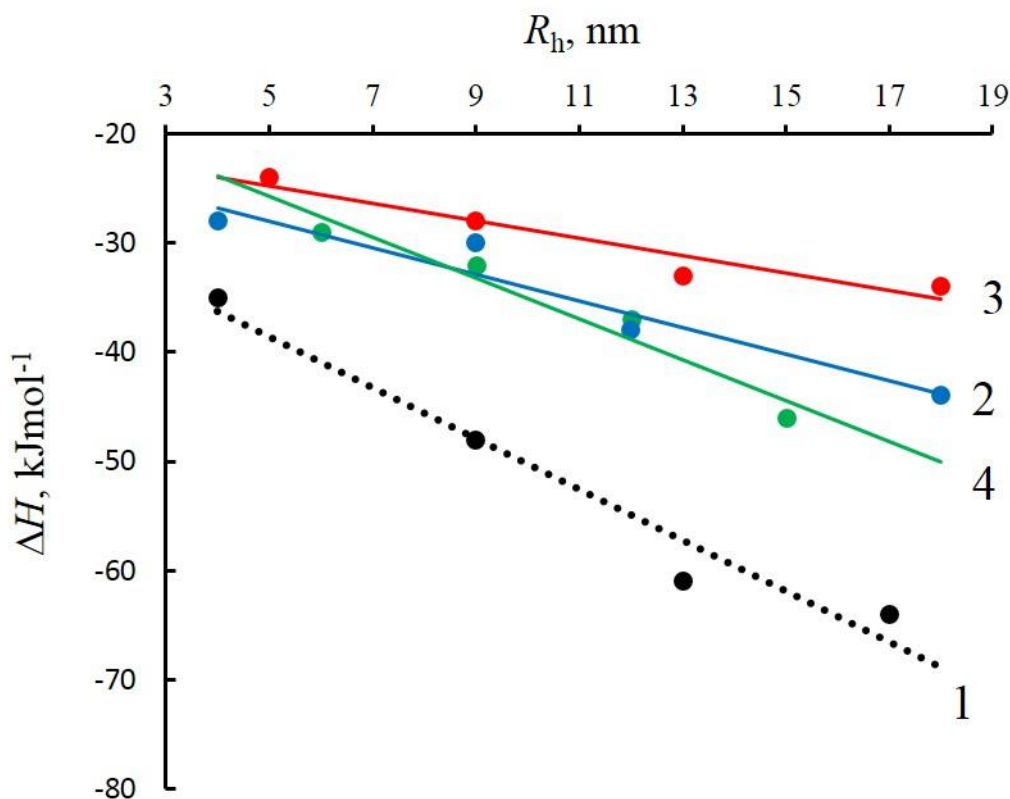


Рис. 3.38. Зависимости изменений энтальпии  $\Delta H$  при димеризации молекул от гидродинамического радиуса мицелл для  $\Phi$ (1),  $\text{Э}$ (2),  $\text{Эр}$ (3) и БР (4).

Энтропия  $\Delta S$  определялась по формуле

$$\Delta S = \frac{(\Delta H - \Delta G)}{T}$$

На рис. 3.39 представлены зависимости  $\Delta S(R_h)$ . Наибольшее значение  $\Delta S$  наблюдается для димеризации молекул  $\Phi$  (рис.3.39, кривая 1), наименьшее для молекул  $\text{Эр}$  (рис. 3.39, кривая 3). При этом  $\Delta S$  для  $\Phi$  меняется в диапазоне от -113 Дж/моль до -180 Дж/моль; для  $\text{Э}$  от -80 Дж/моль до -105 Дж/моль; для  $\text{Эр}$  от -65 Дж/моль до -85 Дж/моль и для БР от -82 Дж/моль до -112 Дж/моль. Увеличение размеров (гидродинамического радиуса  $R_h$ ) мицелл вызывает рост

$\Delta S$  с линейной зависимостью  $\Delta S = dR_h + D$ . Коэффициенты наклона  $d$  этих прямых равны -  $(5,42 \pm 0,05)$  для Ф, для -  $(1,80 \pm 0,05)$  Э, -  $(1,60 \pm 0,05)$  для ЭР и -  $(4,40 \pm 0,05)$  для БР.

Известно, что экспериментальные данные при  $\Delta H > 0$  и  $\Delta S > 0$  указывают

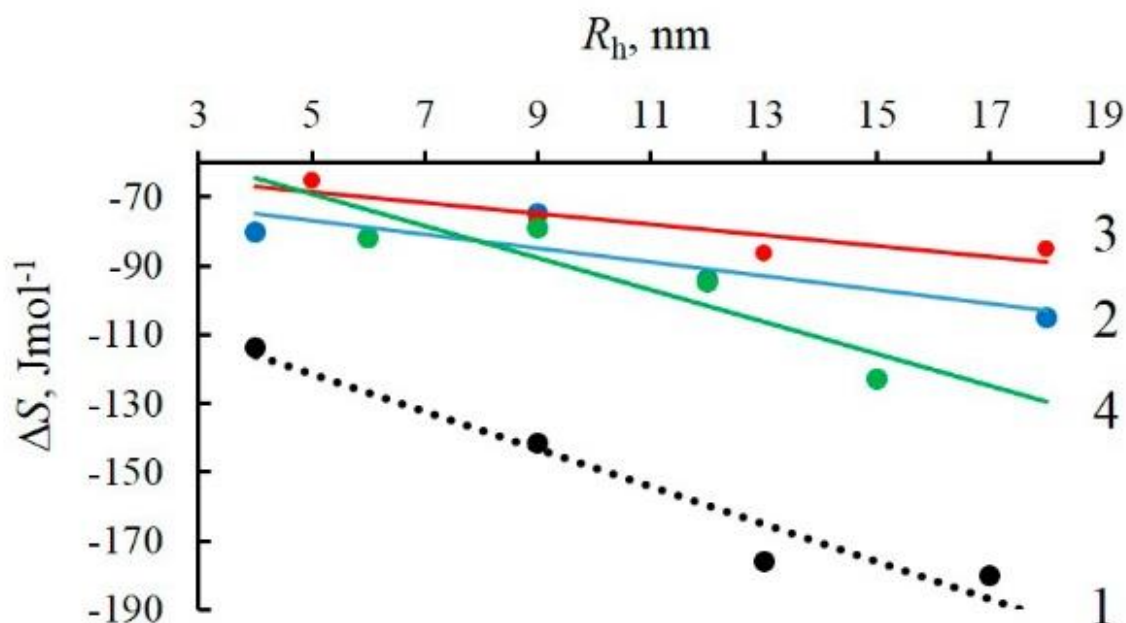


Рис. 3.39. Зависимости изменений энтропии при димеризации молекул от гидродинамического радиуса мицелл для Ф(1), Э(2), ЭР(3) и БР (4).

на энтропийные реакции димеризации молекул красителей, с другой стороны, данные в области  $\Delta H < 0$  и  $\Delta S < 0$  означают энтальпийные реакции димеризации молекул. Поэтому в мицеллярных растворах исследованных красителей при всех значениях  $R_h$  происходят энтальпийные реакции димеризации молекул.

Зависимости  $T\Delta S$  от  $\Delta H$  для димеризации флуороновых красителей (увеличение  $\Delta H$  соответствует уменьшению  $R_h$ ) для исследованных мицеллярных растворов показаны на рис. 3.40. Видно, что для всех исследованных красителей наблюдается линейная зависимость  $T\Delta S(\Delta H)$ , которая указывает на существование энтальпийно-энтропийной компенсации в димерных реакциях. Линейная корреляция, наблюдаемая между значениями  $T\Delta S$  и  $\Delta H$ , может быть выражена как  $T\Delta S = T\Delta S_0 + \beta\Delta H$  с  $\beta_1 = 0,7$  ( $R^2 = 0,999$ ) для

$\Phi$ ,  $\beta_2=0,534$  ( $R^2 = 0,966$ ) для Э,  $\beta_3=0,68$  ( $R^2 = 0,977$ ) для ЭР и  $\beta_4=0,762$  ( $R^2=0,9775$ ) для БР.

Константу пропорциональности  $\beta$  можно рассматривать как количественную меру компенсации энтальпии-энтропии. Тогда для  $\Phi$  только около 30% увеличения  $\Delta H$  способствовало димерной стабильности, в то время как для Э это ~36%, для ЭР ~ 32%, а для БР ~ 24%. Видно, что чем выше

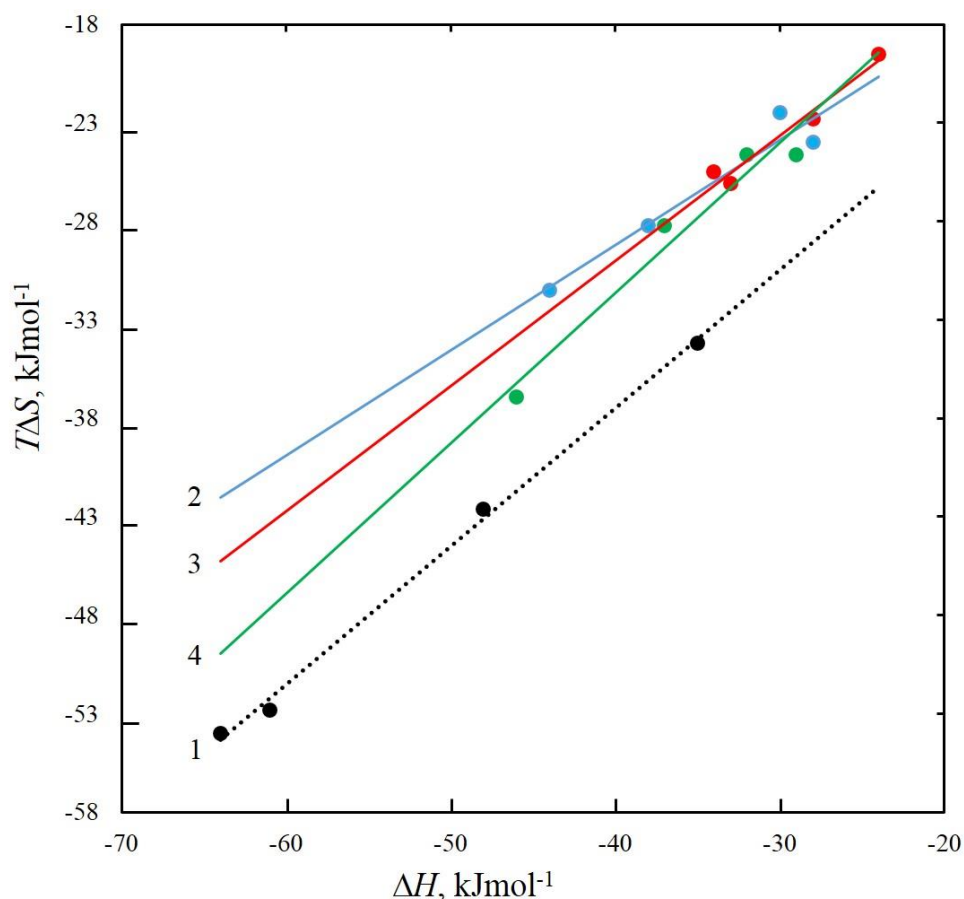


Рис. 3.40. Зависимости  $T\Delta S$  от  $\Delta H$  для  $\Phi$  (1), Э (2), ЭР (3) и БР (4).

молекулярный вес галогена в молекуле красителя, тем эффективней увеличение  $\Delta H$  способствует димерной стабильности.

Для  $\Phi$  и его галогенопроизводных значения  $\Delta H$ , так и  $\Delta S$  имеют тенденцию к увеличению от области, управляемой энтальпией, к области, управляемой энтропией, по мере увеличения массы галогена. При увеличении  $R_h$  мицелл наблюдается такая же тенденция. Это типичное поведение гидрофобного взаимодействия и может быть интерпретировано вкладом

дегидратации гидрофобно-гидратированных молекул воды ядра мицеллы в димеризацию.

Таким образом, изменение структуры обратных мицелл приводит к изменению эффективности процессов димеризации молекул красителей. Установлена линейная зависимость степени димеризации молекул красителей от  $R_h$ . На величины наклонов этих зависимостей влияет как величина массы внутреннего тяжелого атома, так и величина заряда ионов красителей. При этом, для галогенпроизводных флуоресцеина наблюдается эффект «внутреннего тяжелого атома» -  $(1-X)$  растет в ряду Э – ЭР – БР (бром-йод-хлор). При этом эффект тяжелого атома сказывается на процессе димеризации красителей, для всех исследованных  $R_h$ .

Кроме того, в ряду Э – ЭР – БР увеличивается доля анионных форм молекул красителей, что вызывает изменение электростатического взаимодействия между анионами красителей и гидратированными группами поверхностно-активного вещества. Такое изменение взаимодействия вызывает отличие степени димеризации молекул красителей для различных  $R_h$ .

Из экспериментальных данных были получены спектры поглощения димеров для всех исследованных растворов красителей, которые сильно отличаются для различных  $R_h$ , что указывает на их различную структуру. Используя измеренные экспериментально спектры поглощения исследованных растворов красителей в рамках экситонной теории были определены углы  $\alpha$  между молекулами в димере. Установлено, что для всех исследованных систем наблюдается линейная зависимость  $\alpha(R_h)$ . При этом для Ф, Э и БР градиенты роста  $\alpha(R_h)$  практически не отличаются и имеют наибольшее значение для исследованных водно-мицеллярных растворов красителей, для ЭР рост  $\alpha$  от  $R_h$  намного меньше.

Из экспериментально измеренных зависимостей константы димеризации от температуры были установлены ее термодинамические параметры.

Наименьшее значение свободной энергии  $\Delta G$  формирования димеров (потенциал Гиббса) в мицеллярных растворах наблюдается для Ф. Галогенозамещение в молекулах Ф вызывает увеличение  $\Delta G$ . При этом наибольшее значение наблюдается для Э. Увеличение размеров (гидродинамического радиуса  $R_h$ ) мицелл вызывает линейный рост  $\Delta G$  с коэффициентами наклона уменьшающимися в ряду Э – ЭР – БР (бром-йод-хлор).

Для всех исследованных водно-мицеллярных растворов флуороновых красителей  $\Delta H < 0$ . Наибольшее значение  $\Delta H$  наблюдается для димеризации молекул Ф, наименьшее для молекул ЭР. Увеличение размеров (гидродинамического радиуса  $R_h$ ) мицелл вызывает линейный рост  $\Delta H$  с наибольшим коэффициентом наклона для Ф, и наименьшим для ЭР.

Для всех исследованных водно-мицеллярных растворов флуороновых красителей  $\Delta S < 0$ . Наибольшее значение  $\Delta S$  наблюдается для димеризации молекул, наименьшее для молекул ЭР. Увеличение гидродинамического радиуса  $R_h$  мицелл вызывает линейный рост  $\Delta S$  для всех красителей.

В мицеллярных растворах исследованных красителей при всех значениях  $R_h$   $\Delta H < 0$  и  $\Delta S < 0$ , что означает, что реакции димеризации в исследованных системах управляются энтальпией. Видно, что реакции димеризации этих красителей являются экзотермическими и характеризуются относительно большими отрицательными значениями  $\Delta H$ . Полученная линейная зависимость между  $T\Delta S$  и  $\Delta H$  указывает на существование энтальпийно-энтропийной компенсации в димерных реакциях. Линейная корреляция, наблюдаемая между значениями  $T\Delta S$  и  $\Delta H$  позволила установить, что чем выше молекулярный вес галогена в молекуле красителя, тем эффективней увеличение  $\Delta H$  способствует димерной стабильности.

## Основные результаты и выводы

1. Исследовано динамическое рассеяние света водно - мицеллярными растворами красителей флуоресцеинового ряда. Установлено, что внедрение молекул красителя в обратные мицеллы вызывает увеличение их гидродинамических радиусов  $R_h$  с линейной зависимостью роста  $\Delta R_h$  от степени гидратации  $\omega_0$ .
2. Показано, что увеличение размеров обратных мицелл при внедрении в них молекул флуороновых красителей обусловлено изменением электростатического взаимодействия между молекулами анионных красителей и гидратированными группами ПАВ. При этом влияние внутреннего «тяжелого атома» на размер обратных мицелл связано с перераспределением зарядов между атомами в молекулах, приводящим к изменению этих взаимодействий.
3. Измерены спектры поглощения и флуоресценции, определено среднее время жизни возбужденного состояния  $\tau$  и степень анизотропии  $r$  для молекул флуоресцеина при различных значениях гидродинамического радиуса мицелл  $R_h$ . Установлено, что с ростом  $R_h$  доля анионной формы красителя в формировании спектров поглощения и флуоресценции увеличивается, при этом наблюдается рост дипольного момента молекул флуоресцеина в возбужденном состоянии.
4. Экспериментально установлено, что время вращательной корреляции  $\theta$  молекул флуоресцеина уменьшается с ростом  $R_h$ , указывающее на уменьшение вязкости среды, что объясняется локализацией молекул красителя в области поверхностной воды мицеллы.
5. Измерены спектрально – флуоресцентные характеристики молекул галогенпроизводных флуоресцеина в мицеллах для различных  $R_h$ . Установлено изменение этих характеристик: батохромный сдвиг спектров поглощения и флуоресценции, возрастание стоксового сдвига спектров при

увеличении  $R_h$ . Показано, что с ростом  $R_h$  наблюдается увеличение отношения дипольных моментов возбужденного и основного состояния.

6. Изучена кинетика и степень анизотропии флуоресценции исследованных молекул красителей в обратных мицеллах. Установлено уменьшение среднего времени возбужденного состояния  $\langle \tau \rangle$  и степени анизотропии флуоресценции  $r$  с ростом  $R_h$  для Э, ЭР и БР, которое связано с ростом подвижности молекул воды и уменьшением эффекта геометрического ограничения молекул красителей.
7. Для галогенпроизводных молекул флуоресцеина в мицеллярных системах определено время вращательной корреляции  $\theta$ , которое уменьшается для всех исследованных красителей с ростом  $R_h$ , что указывает на уменьшение вязкости ограниченной водной среды внутри мицеллы. При этом  $\theta_E > \theta_{ER} > \theta_{BR}$ , т.е. во времени вращательной корреляции сказывается «эффект внутреннего тяжелого атома».

8. Исследованы процессы димеризации и ее термодинамические параметры флуороновых красителей в обратных мицеллах АОТ с различным гидродинамическим радиусом  $R_h$ . Измерены спектры поглощения димеров красителей и определены константы димеризации. Установлено, что увеличение интеркомбинационной конверсии из-за эффекта тяжелого атома приводит к увеличению степени димеризации для всех исследованных значений  $R_h$ .

9. Установлено, что структура димеров исследованных красителей не одинакова для различных  $R_h$  – отличаются углы  $\alpha$  между молекулами красителей в димере. Наблюдается линейная зависимость  $\alpha$  от  $R_h$ .

10. Из экспериментально измеренных зависимостей константы димеризации от температуры были установлены ее термодинамические параметры (потенциал Гиббса  $\Delta G$ , энтальпия  $\Delta H$  и энтропия  $\Delta S$ ) в мицеллярных растворах исследованных красителей для всех значениях  $R_h$   $\Delta H < 0$  и  $\Delta S < 0$ , указывающее на то, что реакции димеризации в

исследованных системах управляется энтальпией. Установлено существование энтальпийно-энтропийной компенсации в димерных реакциях молекул исследованных красителей, при этом чем выше молекулярный вес галогена в молекуле красителя, тем эффективней увеличение  $\Delta H$  способствует димерной стабильности.



## Публикации автора по теме диссертации

*Публикации в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих Положению о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова:*

- A1. **Волкова (Дробышевская) О.И.**, Баранов А.Н, Салецкий А.М. *Процессы ассоциации молекул эозина в обратных мицеллах* // Журнал прикладной спектроскопии, 2018, Т. 85, № 3, с. 373-376. **IF = 0,662 (РИНЦ)**
- A2. **Волкова (Дробышевская) О.И.**, Кулешова А.А, Корватовский Б.Н., Салецкий А.М. *Фотофизические процессы в молекулах галогенпроизводных флуоресцеина в анионных обратных мицеллах* // Оптика и спектроскопия, 2020, Т. 128, № 12, с. 1842-1848. **IF = 0,919 (РИНЦ)**
- A3. **Волкова (Дробышевская) О.И.**, Кулешова А.А, Салецкий А.М. *Спектрально-люминесцентные характеристики маркеров семейства флуоресцеина в обратных мицеллах разного размера* // Журнал прикладной спектроскопии, 2020, Т. 87, № 5, с. 802-807. **IF = 0,662 (РИНЦ)**
- A4. **Волкова (Дробышевская) О.И.**, Кулешова А.А, Салецкий А.М. *Влияние наноразмерных обратных мицелл на фотофизические свойства молекул флуоресцеина* // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика, астрономия, 2020, № 12, с. 75-80. **IF = 0,306 (РИНЦ)**
- A5. Gorodnichev E.S., Kuleshova A.A., **Volkova (Drobyshevskaya) O.I.**, Saletsky A.M. *The binding of bovine serum albumin with dye molecules at different pH values. Fluorescence lifetime studies* // Laser Physics, 2021, Vol. 31, No. 6, P. 065601. **IF = 1,38 (WoS)**
- A6. **Volkova (Drobyshevskaya) O.I.**, Kuleshova A.A., Saletsky A.M. *Spectroscopy study of dimerization of fluorone dyes in AOT reverse micelles* // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, Vol. 268, P. 120640. **IF = 4,098 (WoS)**

*Публикации в сборниках и тезисы докладов:*

- A7. **Volkova (Drobyshevskaya) O.I., Baranov A.N., Kuleshova A.A.** Spectral Investigations of the Dye's Molecules Behavior in the Reverse Micelles Solutions // Faculty of mathematics and physics Charles University Czech Republic, 2019, Vol. 19, P. 45-48.
- A8. **Волкова (Дробышевская) О.И.** Изменение степени ассоциации красителей в обратных мицеллах АОТ в гептане // Сборник: VI Международная конференция по фотонике и информационной оптике (МИФИ), Москва, Россия – 2017 – С. 420-421.
- A9. **Волкова (Дробышевская) О.И.** Исследование фотофизических процессов люминофор-обратная мицелла // Сборник: XXIV международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2017». Секция «Физика». Москва, Россия – 2017 – С. 425.
- A10. **Волкова (Дробышевская) О.И.** Исследование фотофизических процессов флуоресцентных наномаркеров в обратных мицеллярных системах // Сборник: XXV международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2018». Секция «Физика». Москва, Россия – 2018 – С. 534-535.
- A11. **Волкова (Дробышевская) О.И.** Процессы ассоциации наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах обратных мицелл // Сборник: XXIX международные конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2022». Секция «Физика». Москва, Россия – 2022.

## Список литературы

1. 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. Rose Bengal–Amphiphilic Peptide Conjugate for Enhanced Photodynamic Therapy of Malignant Melanoma // *J. Med. Chem.*, 2020, 63, 1328–1336.
2. Shitomi K., Miyaji H., Miyata S., Sugaya T., Ushijima N., Akasaka T., Kawasaki H. // Photodynamic inactivation of oral bacteria with silver nanoclusters/rose bengal nanocomposite Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2020, 30, p.101647.
3. Слюсарева Е.А. Фотоника флуороновых красителей в гомогенных и гетерогенных биомолекулярных средах. // Диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук, Красноярск, 2014, 230 с.
4. Vlasova I. M., Saletsky A. M. Raman spectroscopy in investigations of secondary structure of human serum albumin at binding of nanomarkers of fluorescein family// *Laser Physics*. 2010, 20 (9), 1844-1848.
5. Власова И.М., Власов А.А., Кулешова А.А., Гордеева Ю.А., Салецкий А.М. Константы комплексообразования наномаркеров семейства флуоресцеина с бычьим сывороточным альбумином в водных растворах // *Журнал физической химии*, 2020,94, № 1, 114-120.
6. Мельников А.Г., Салецкий А.М., Кочубей В.И., Правдин А.Б., Курчатov И.С., Мельников Г.В. Триплет-триплетный перенос энергии между люминесцентными зондами, связанными с альбуминами // *Оптика и спектроскопия.*, 2010, Т. 109, № 2, 1272-1277.
7. Кулешова А. А. Флуоресцентные характеристики наномаркеров семейства флуоресцеина в растворах сывороточных альбуминов. // Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук. Москва, 2016, 121 с.
8. Lone H., Radwan N. R. E., Aslam J., Akhter A. Concept of Reverse Micelle Method For the Synthesis of Nano-Structured Materials // *Current Nanoscience*, 2019,15 , N2, 129 – 136.

9. Singh P., Verma N. A. Review on Impact of Nanomicelle for Ocular Drug Delivery System//Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2018, 9(4),1397-1404.
10. Nagarkar A.A., Root S.E., Fink M.J., Ten A.S., Cafferty B.J., Richardson D.S., Mrksich M. and Whitesides G.M. Storing and Reading Information in Mixtures of Fluorescent Molecules //ACS Cent. Sci. 2021, V.7, N10, 1728–1735
11. Левшин Л.В., Салецкий А.М. Лазеры на основе сложных органических соединений, М. Изд-во МГУ, 1992, 330с.
12. Zvezdelina Yaneva, Donika Ivanova, Nevena Nikolova and Monika Toneva Organic dyes in contemporary medicinal chemistry and biomedicine. I. From the chromophore to the bioimaging/bioassay agent // Biotechnology & Biotechnological Equipment 2022, VOL. 36, NO. 1, 1–14
13. Пчедлов-Петросян Н.О. Флуоресцеиновые красители в растворах-хорошо изученные системы?// Вестник Харьковского национального университета, 2004, № 626, Химия- вып 11, №34, 221-313.
14. Fleming G.R., Knidht A.W.E., Morris J.M. et al. Picosecond fluorescence studies of xanthene dye//Jornal of the American Chemical Solyety, 1976, v.99, 4306-4311.
15. Zhang Xian-Fu, Zhang Jianlong, Liu Limin. Fluorescence Properties of Twenty Fluorescein Derivatives: Lifetime, Quantum Yield, Absorption and Emission Spectra //J. Fluoresc. , 2014, V.24, 819–826.
16. Zhang Xian-Fu, Zhang Iris, Liu Lihong Photophysics of Halogenated Fluoresceins: Involvement of Both Intramolecular Electron Transfer and Heavy Atom Effect in the Deactivation of Excited States// Photochemistry and Photobiology, 2010, V.86, 492–498
17. Слюсарева Е.А., Томилини Ф.Н., Сизых Ф.Г., Танкевич Е.Ю., Кузубов А.А., Овчинников С.Г. Влияние галогензамещения на структуру и

электронные спектры флуороновых красителей// Оптика и спектроскопия, 2012, Т:112, №5, 729-737

18. Slyusareva E., Gerasimova M., Plotnikov A., Sizykha A. Spectral study of fluorone dyes adsorption on chitosan-based polyelectrolyte complexes // Journal of Colloid and Interface Science, V. 417, 80-87

19. Слюсарева Е.А., Герасимова М.А. Зависимость от pH абсорбционных и флуоресцентных свойств водных растворов флуороновых красителей// Известия высших учебных заведений. Физика, 2013, т.56, N12, 48-54.

20. Valdes-Aguilera O., Neckevs D.C/ Aggregation phenomena in xanthene dyes // Accounts of Chemical Research, 1989, V.22, №5, 171-177, 90  
Joshi N.B., Pant D.D. Effect of aggregation of radiative ( $T_1 \rightarrow S_0$ ) and nonradiative ( $T_1 \rightsquigarrow S_0$ ) and ( $S_1 \rightsquigarrow T_1$ ) transitions in xanthene dyes// Journal of Luminescence, 1976, V.14, 1-8

21. Dhillon S. K., Porter S. L, Rizk N., Sheng Y., McKaig T., Burnett K., White B., Nesbitt H., Matin R. N, McHale A. P., Callan B., Callan J. F. Rose Bengal–Amphiphilic Peptide Conjugate for Enhanced Photodynamic Therapy of Malignant Melanoma //J. Med. Chem. 2020, v.63, 1328–1336

22. 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 Jean-Marie, Amescua G./Rose Bengal Photodynamic Antimicrobial Therapy for Patients With Progressive Infectious Keratitis: A Pilot Clinical Study//American Journal of Ophthalmology, 2019, V. 208, 387-396

23. Shitomi K., Miyaji H., Miyata S., Sugaya T., Ushijima N., Akasaka T., Kawasaki H. Photodynamic inactivation of oral bacteria with silver nanoclusters/rose bengal nanocomposite // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2020, V. 30, p.101647

24. Летута С.Н., Пашкевич С.Н., Ишемгулов А.Т., Никиян А.Н. Фототерминическая инактивация микроорганизмов при релаксации

высоковозбужденных состояний сенсibilизаторов // Биофизика, 2020, том 65, № 4, с. 705–712.

25. Alexandrino F.J.R., Bezerra E.M., Da Costa R.F., Cavalcante, L.R.L. Sales F.A.M., Francisco T.S., Rodrigues L.K.A., D.H. de Brito Almeida, Ricardo N.M.P.S., Costa S.N., de Lima-Neto P., Barroso-Neto I.L., Caetano E.W.S., Freire V.N. Rose Bengal incorporated to  $\alpha$ -cyclodextrin microparticles for photodynamic therapy against the cariogenic microorganism *Streptococcus mutans* // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2019, V.25, 111–118

26. Hamad A. A., Ali R., Derayea S. M. A simple single jar “on–off fluorescence” designed system for the determination of mitoxantrone using an eosin Y dye in raw powder, vial, and human biofluids // RSC Adv., 2022, V.12, 7413–7421

27. Buck S. T. G., Bettanin F., Orestes E., Homem-de-Mello P., Imasato H., Viana R. B., Perussi J. R., Albérico B. F. da Silva. Photodynamic Efficiency of Xanthene Dyes and Their Phototoxicity against a Carcinoma Cell Line: A Computational and Experimental Study // Journal of Chemistry, 2017, Article ID 7365263, 9 p.

28. Bongard R. D., Lepley M., Gastonguay A., Syrlybaeva R. R., Talipov M. R., Lipinski R. A. J., Leigh N. R., Brahmabhatt J., Kutty R., Rathore R., Ramchandran R., Sem D. S., Discovery and characterization of halogenated xanthene inhibitors of DUSP5 as potential photodynamic therapeutics // Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry, 2019, V.375, 114–131

29. Rossoni R. D., Junqueira J. C., Santos E.L.S., Costa A. C. B., Jorge A. O. C. Comparison of the efficacy of Rose Bengal and erythrosine in photodynamic therapy against Enterobacteriaceae // Lasers Med Sci, 2010, V. 25, 581–586

30. Wen X., Zhang X., Szewczyk G., El-Hussein A., Huang Y.-Y., Sarna T., Hamblin M. R. Potassium Iodide Potentiates Antimicrobial Photodynamic Inactivation Mediated by Rose Bengal in *In Vitro* and *In Vivo* Studies // Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2017 V. 61 Issue 7, 00467-17

31. Atalay H. T., Uysal B. S., Sarzhanov F., Usluca S., Yeşilirmak N., Özmen M. C., Erganiş S., Tefon A. B., Dogruman F., Bilgihan K. Rose Bengal-Mediated Photodynamic Antimicrobial Treatment of *Acanthamoeba* Keratitis //Current Eye Research, 2020, v. 45(10), 1205-1210
32. Vlasova I.M., Bukharova E.M., Kuleshova A.A., Saletsky A.M. Spectroscopic investigations of interaction of fluorescent nanomarkers of fluorescein family with human serum albumin at different values of pH// Current Applied Physics. – 2011. –Т. 11. – №. 5. – С. 1126-1132.
33. Vlasova I.M., Saletsky A.M. Spectroscopic investigation of binding of three fluorescent nanomarkers to biomolecules of HAS// Current Applied Physics. – 2009. –Т. 9. –С. 1027-1031.
34. Charles E. Cobb, Eric J. Hustedt, Joseph M. Beechem, Albert H. Beth. Protein rotational dynamics investigated with a dual EPR/optical molecular probe. Spin-labeled eosin// Biophysical Journal. – 1993. –Т. 64.–С. 605-613.
35. Beth A.H., Cobb C.E., Beechem J.M. Synthesis and characterization of a combined fluorescence, phosphorescence and electron paramagnetic resonance probe// Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, Time-Resolved Laser Spectroscopy. – 1992. –С. 504-512.
36. Vlasova I. M., Saletsky A. M. Investigation of different values of pH on mechanisms of binding of human serum albumin with markers of fluorescein family// Journal of Molecular Structure. – 2009. –Т. 936. –С. 220-227.
37. Бухарова Е.М., Власова И.М., Салецкий А.М. Структура молекулярных ассоциатов флуоресцентных зондов в растворах сывороточного альбумина человека// Журнал Прикладной спектроскопии. – 2008. –С.782-788.
38. Penniston J. Fluorescence polarization measurement of binding of fluorescein to albumin // Experimental Eye Research.–1982. –Т. 34. –С. 435-443.
39. Nagataki S., Matsunaga I. Binding of fluorescein monoglucuronide to human serum albumin// Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 1985. – Т. 26(8). –С. 1175-1178.

40. Argueso P., Tisdale A., Spurr-Michaud S., Sumiyoshi M., Gipson I.K. Mucin characteristics of human corneal – limbal epithelial cells that exclude the rose bengal anionic dye // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2006. – Т.47(1). – С. 113-119.
41. Rodgers M.A.J. Picosecond fluorescence studies of rose bengal in aqueous micellar dispersions // *Chemical Physics Letters*. –1981.–Т. 78(3).–С. 509-514.
42. Alarcon E., Edwards A.M., Aspee A., Borsarelli C.D., Lissi E.A. Photophysics and photochemistry of rose Bengal bound to human serum albumin// *Photochemical&Photobiological Sciences*. – 2009. –Т.8. –С. 933-943.
43. Goswami N., Makhal A., Pal S. K. Toward an alternative intrinsic probe for spectroscopic characterization of a protein// *Journal of Physical Chemistry B*.– 2010. –Т. 114(46). –С. 15236-15243.
44. Zhu X., Sun J., Hu Y. Determination by hydroxypropyl – beta – cyclodextrin sensitized fluorescence quenching method with erythrosine sodium as a fluorescence probe// *Analytical Chemistry Acta*. – 2007. –Т. 596(2). –С. 298-302.
45. Egbaria K., Friedman M. Absorption of fluorescein dyes on albumin microspheres // *Pharmaceutical Research*. – 1992. –Т. 9(5). –С. 629-635.
46. Власова И.М., Власов А.А., Кулешова А.А., Гордеева Ю.А., Салецкий А.М. Константы комплексообразования наномаркеров семейства флуоресцеина с бычьим сывороточным альбумином в водных растворах// *Журнал физической химии*, 2020, т.94, №1, 114-120
47. Городничев Е.С., Кулешова А.А., Быков А.В., Салецкий А.М. Исследование влияния процессов ассоциации молекул эозина на взаимодействие с бычьим сывороточным альбумином при различных рН// *Журнал прикладной спектроскопии*, 2019, Т. 86, № 5, 773- 777
48. Власова И.М., Землянский А.Ю., Салецкий А.М. Спектрально-люминесцентные характеристики эозина в растворах сывороточного



альбумина человека при его денатурации под воздействием додецилсульфата натрия // Журнал прикладной спектроскопии, 2006, Т. 73, № 5, 661-665

49. Власова И.М., Салецкий А.М. Индуцированная цетилтриметиламмонийбромидом денатурация сывороточного альбумина человека по собственной флуоресценции белка и флуоресценции наномаркера эозина //Химическая физика, 2011, т. 30, № 4, с. 72-77

50. Vlasova, I.M., Vlasov, A.A., Saletsky, A.M. Interaction of ionic detergent cethyltrimethylammonium bromide with human serum albumin at various values of pH: Spectroscopic study //Journal of Molecular Structure, 2010, 984(1-3), стр. 332–338

51. Senske, M., Xu, Y., Bäumer, A., Schäfer, S., Wirtz, H., Savolainen, J., et al. Local chemistry of the surfactant's head groups determines protein stability in reverse micelles.// Physical Chemistry Chemical Physics, 2018, v.20(13), 8515–8522.

52. Lépori, C. M., Correa, N. M., Silber, J. J., & Falcone, R. D. How the cation 1-butyl-3-methylimidazolium impacts the interaction between the entrapped water and the reverse micelle interface created with an ionic liquid-like surfactant. Soft Matter, 2016, V.12(3), 830–844

53. Fuglestad, B., Gupta, K., Wand, A. J., & Sharp, K. A. (2016). Characterization of cetyl trimethylammonium bromide/hexanol reverse micelles by experimentally benchmarked molecular dynamics simulations. Langmuir, 2016, V.32(7), 1674–1684

54. Hasegawa, M., Sugimura, T., Shindo, Y., & Kitahara, A. (1996). Structure and properties of AOT reversed micelles as studied by the fluorescence probe technique. Colloids & Surfaces A Physicochemical & Engineering Aspects, 1996, V.109(8), 305–318

55. Knight A.W., Kalugin N.G, Coker E., Ilgen A.G.// Scientific Reports , 2019, 9, p. 8246

56. Alvarado Y., Muro C., Illescas J., Díaz María del Carmen, Riera F. // *Biomolecules*, 2019, V.9(5), p.164 (15p)
57. Boutonnet M, Kitzling J, Stenius P. The preparation of monodisperse colloidal metal particles from microemulsions // *Colloids Surf.*, 1982, V.5, 209-225.
58. Eastoe J., Hollamby M. J., Hudson L. Recent advances in nanoparticle synthesis with reversed micelles // *Advances in Colloid and Interface Science* 128–130 (2006) 5–15
59. Mandal A. K., Thanigaivelan U., Pandey R. K., Asthana S., Khomane R. B., Kulkarni B. D. // Preparation of Spherical Particles of 1,1-Diamino-2,2-dinitroethene (FOX-7) Using a Micellar Nanoreactor. // *American Chemical Society* 2012, 16, 1711-1716.
60. Lal M., Kumar N. D., Joshi M. P., Prasad P. N. // Polymerization in a Reverse Micelle Nanoreactor: Preparation of Processable Poly (p-phenylenevinylene) with Controlled Conjugation Length // *Chem. Mater.* 1998, 10, 1065-1068.
61. Asgaria S., Saberib A. H., McClements D. J., Lin M. // Microemulsions as nanoreactors for synthesis of biopolymer nanoparticles. // *Trends in Food Science & Technology* 86 (2019) 118–130.
62. Junbo L., Linqi S., Yingli A., Yan L., Xi C., Huijun D.. Reverse micelles of star-block copolymer as nanoreactors for preparation of gold nanoparticles. // J. Li et al. // *Polymer* 47 (2006) 8480-8487.
63. Zielinska-Jurek, A.; Kowalska, E.; Sobczak, J.W.; Lisowski, W.; Ohtani, B.; Zaleska, A. Preparation and characterization of monometallic (Au) and bimetallic (Ag/Au) modified-titania photocatalysts activated by visible light. *Appl. Catal.* // *B Environ.* 2011, 101, 504–514.
64. Sanchez-Dominguez, M.; Boutonnet, M.; Solans, C. A novel approach to metal and metal oxide nanoparticle synthesis: The oil-in-water microemulsion reaction method. // *J. Nanopart. Res.* 2009, 11, 1823–1829.

65. Zhang, Y.; Li, T.; Jin, Z.; Wang, W.; Wang, S. Synthesis of nanoiron by microemulsion with Span/Tween as mixed surfactants for reduction of nitrate in water. // *Front. Environ. Sci. Eng. China* 2007, 1, 466–470.
66. Hada, R. A Novel Synthesis Process for Making Nickel Oxide Nanoparticles. // *Int. Res. J. Pure Appl. Chem.* 2013, 3, 111–117.
67. Porras, M.; Martínez, A.; Solans, C.; González, C.; Gutiérrez, J.M. Ceramic particles obtained using W/O nano-emulsions as reaction media. // *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 2005, 270–271, 189–194.
68. Pineda-Reyes, A.M.; De La Olvera-Amador, M.L. Nanoparticles of zinc oxide obtained by water in oil microemulsion system. In *Proceedings of the 13th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control, Mexico City, Mexico, 26–30 September 2016*; pp. 5–6.
69. Khiew, P.S.; Huang, N.M.; Radiman, S.; Ahmad, M.S. Synthesis of NiS nanoparticles using a sugar-ester nonionic water-in-oil microemulsion. *Mater. Lett.* 2004, 58, 762–767.
70. Abuwatfa H.W., AlSawaftah N. M., Hussein G. A. Polymeric Micelles for Drug Delivery. Chapter 21 - Block copolymer micelles as long-circulating drug delivery vehicles, *Woodhead Publishing Series in Biomaterials*, 2022, 531-560
71. Liu Y., Zhao F., Dun J., Qi X. Cao D. Lecithin/isopropyl myristate reverse micelles as transdermal insulin carriers: Experimental evaluation and molecular dynamics simulation // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020, V.59, 101891
72. Bose A., Burman D. R., Sikdar B., Patra P. Nanomicelles: Types, properties and applications in drug delivery // *IET Nanobiotechnol*, 2021, v.15, 19–27.
73. Singh P., Verma N. A Review on impact of nanomicelle for ocular drug delivery system// *JPSR*, 2018; Vol. 9(4): 1397-1404.

74. Zhang Y., Wang Y., Meng L., Huang Q., Zhu Y., Cui W., Cheng Y., Liu R. Targeted micelles with chemotherapeutics and gene drugs to inhibit the G1/S and G2/M mitotic cycle of prostate cancer// *J Nanobiotechnol*, 2021, V.19, 17(15p.)
75. Sett R., Paul B. K., Guchhait N Prototropism and dynamics of an anticancer drug in reverse micelles: Focus on the variation of pH in reverse micelles having  $w_0 \geq 10$ //*Journal of Molecular Liquids*, 2017, V.243, , 689-698
76. Durgun M. E., Güngör S., Özsoy Y. Micelles: Promising Ocular Drug Carriers for Anterior and Posterior Segment Diseases// *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 2020 V. 36, N. 6, 323-341
77. Trivedi R, Kompella U.B. Nanomicellar formulations for sustained drug delivery: strategies and underlying principles // *Nanomedicine* (London, England), 01 Apr 2010, 5(3):485-505
78. Nithya R., Kumari Binita Development and characterization of reverse micelle based pluronic lecithin organogel containing imatinib mesylate// *Research journal of pharmacy and technology*, 2021, V.14, №3, 1209 – 1214
79. Kaur R., Kumar H., An Insight Into the Effect of Drug Betaine Hydrochloride on the Micelle Forming Tendency of Surfactant AOT// *ECS Trans.*, 2022, V.107, p.5235-5248
80. Kotta S., Aldawsari H. M., Badr-Eldin S. M., Nair A. B., YT K. Progress in Polymeric Micelles for Drug Delivery Applications// *Progress in Polymeric Micelles for Drug Delivery Applications.*//*Pharmaceutics* 2022, 14, 1636 (32 p).
81. Lim C., Ramsey J. D., Hwang D., Susana C. M. Teixeira, Poon C.-D., Strauss J. D., Rosen E. P., Sokolsky-Papkov M., Kabanov A V. Drug-Dependent Morphological Transitions in Spherical and Worm-Like Polymeric Micelles Define Stability and Pharmacological Performance of Micellar Drugs // *Small*, 2022, v.18, 2103552 (16)
82. N. Majumder, N. G Das, S. K Das. Polymeric micelles for anticancer drug delivery//*Therapeutic Delivery*, 2020, V. 11, N. 10, 613-635

83. Багдасарян В.В., Саркисян Е.М., Шагинян А.А. Динамика измерения спектров поглощения водонерастворимого красителя в водной мицеллярной среде в зависимости от структуры мицелл. // Химическая физика, 1991, том 10 № 9, 1207-1215.
84. Mitra R., Sinha S. S., KumarPal S. Interactions of Nile Blue with Micelles, Reverse Micelles and a Genomic DNA. // J. Fluoresc , 2008, 18,423–432.
85. Petcu A. R., Rogozea E. A., Lazar C. A., Olteanu N. L., Meghea A., Mihaly M. Specific interactions within micelle microenvironment in different charged dye/surfactant systems. //Arabian Journal of Chemistry, 2016, 9, 9-17.
86. Rahdar A., Almasi-Kashi M. Dynamic and spectroscopic studies of nano-micelles comprising dye in water/dioctyl sodium sulfocyanate/decane droplet microemulsion at constant water content //Journal of Molecular Structure, 2019, 1183, 351 -352.
87. Abbas Rahdar, Mohammad Almasi-Kashi. Photophysics of Rhodamine B in the nanosized water droplets: A concentration dependence study // Journal of Molecular Liquids, 2016, 220, 395-403.
88. Abbas Rahdar, Mohammad Almasi-Kashi, Mousa Aliahmad. Effect of chain length of oil on location of dye within AOT nanometer-sized droplet microemulsions at constant water content//Journal of Molecular Liquids, 2017, 233, 398-402.
89. Abbas Rahdar, Mohammad Almasi-Kashi, Asad Muhammad Khan, Mousa Aliahmad, Anayatollah Salimi, Moez Guettari, Havva Esmailzaee Ghale Kohne . Effect of ion exchange in NaAOT surfactant on droplet size and location of dye within Rhodamine B (RhB)-containing microemulsion at low dye concentration//Journal of Molecular Liquids, 2018, 252, 506-513.
90. Abbas Rahdar, Mousa Aliahmad, Adeleh Moradi Kor, Dibakar Sahoo. Probing the reverse micelle environment with a cationic dye by varying oil and water content of micelles //Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 210, 165-170.

91. Karukstis K. K., Frazier A. A., Martula D. S., Whiles J. A. Characterization of the Microenvironments in AOT Reverse Micelles Using Multidimensional Spectral Analysis. // *J. Phys. Chem.* 1996, 100, 11133-11138.
92. Luo J., Liu Y., Yang S. Different locations of adenine in AOT and CTAB reverse micelles. // *Journal of Molecular Liquids*, 2017, 232, 236–242.
93. Zhu R., Lu R., Yu A. Photophysics and locations of IR125 and C152 in AOT reverse micelles // *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, 13, 20844–20854.
94. Николенко Л. М., Иванчихина А. В. Особенности формирования j-агрегатов цианиновых красителей в растворах обратных мицелл АОТ/вода/гексан // *Химия высоких энергий*, 2010, том 44, № 6, с. 546-554.
95. Kim J., Lee M. Excited-State Photophysics and Dynamics of a Hemicyanine Dye in AOT Reverse Micelles // *J. Phys. Chem. A* 1999, 103, 3378-3382.
96. Chatterjee A., Maity B., Seth D. The photophysics of 7 - (N, N - diethylamino) coumarin3-carboxylic acid in water/AOT/isooctane reverse micelles: an excitation wavelength dependent study // *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, 15, 1894-1906.
97. Ebru Bozkurt, Yavuz Onganer. Photophysical features of coumarin 120 in reverse micelles// *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1173, 490-497.
98. Bayraktutan T., Meral K., Onganer Y. Photophysical properties of pyronin dyes in reverse micelles of AOT // *Journal of Luminescence*, 2014, 145, 925–929.
99. Arbeloa E. M., Porcal G. V., Bertolotti S. G., Previtali C. M. Effect of the interface on the photophysics of eosin-Y in reverse micelles// *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2013, 252, 31– 36.
100. Vodolazkaya N. A., Kleshchevnikova Yu. A., Mchedlov-Petrossyan N. O. Differentiating impact of the AOT-stabilized droplets of water-in-octane microemulsions as examined using halogenated fluoresceins as molecular probes // *Journal of Molecular Liquids* 2013, 187, 381–388.

101. Jang T., Lee G., Lee S., Lee J., Pang Y. Photophysical properties of 1,2-dihydroxyanthraquinone in AOT reverse micelles// *Journal of Molecular Liquids*,2019, 279, 503–509.
102. Rahdar A., M. Almasi-Kashi M., Mohamed N. Light scattering and optic studies of Rhodamine B-comprising cylindrical-like AOT reversed micelles// *Journal of Molecular Liquids*, 2016, 223, 1264–1269.
103. Rahdar A., Almasi-Kashi M. Khan A. M., Aliahmad M., Salimi A., Guettari M., Kohne H. E. G. Effect of ion exchange in NaAOT surfactant on droplet size and location of dye within Rhodamine B (RhB)-containing microemulsion at low dye concentration // *Journal of Molecular Liquids*, 2018, 252, 506–513.
104. Mohan V., Sen P. Elucidation of active site dynamics of papain and the effect of encapsulation within cationic and anionic reverse micelles// *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 200, 202–211.
105. Dutt G. B. Fluorescence Anisotropy of Ionic Probes in AOT Reverse Micelles: Influence of Water Droplet Size and Electrostatic Interactions on Probe Dynamics// *J. Phys. Chem. B* 2008, 112, 7220–7226.
106. Shabbir A., Jang T., Lee G. , Pang Y. Intramolecular charge transfer of coumarin dyes confined in methanol-in-oil reverse micelles // *Journal of Molecular Liquids* 2022, 346, 118313.
107. Ernesto M. Arbeloa, Gabriela V. Porcal, Sonia G. Bertolotti, Carlos M. Previtali Effect of the interface on the photophysics of eosin-Y in reverse micelles// *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2013, 252, 31–36.
108. Mehdi Hoseini, Ameneh Sazgarnia, Soheil Sharifi. Cell culture medium and nano-confined water on nonlinear optical properties of Congo Red // *Optical and Quantum Electronics*, 2019, 51, 144 (21 p).
109. Abbas Rahdar, Somayeh Salmani, Dibakar Sahoo. Effect of the reverse micelle and oil content in reverse micelle on nonlinear optical properties of Rhodamine B // *Journal of Molecular Structure*, 2019, 1191, 237-243.

110. Sahar Peyghami, Soheil Sharifi , Forough Rakhshanizadeh, Khalil Alizadeh Nonlinear optical properties of Rose Bengal: Effect of environment // Journal of Molecular Liquids, 2017, 246, 157–165.
111. Karimi N., Sharifi S. · Sadat S., Seyed P., Elahi M. Solvatochromic and nonlinear optical properties of Eosin B in solvents and AOT/water/Heptane //Opt Quant Electron , 2018, 50, 209 (13c)
112. В.И. Южаков. Агрегация молекул красителей и ее влияние на спектрально-люминесцентные свойства растворов //Успехи химии, 1992, 61 (6), 1114–1141
113. В.С. Burdett, Aggregation of Dyes in Studies in Physical and Theoretical Chemistry, vol. 2, Elsevier, 1983
114. Левшин Л.В., Славнова Т.Д., Митцель Ю.А. Природа межмолекулярного взаимодействия в растворах красителей и спектроскопические проявления.// Жур. прикл. спектр. 1967,т.7, с.893-898.
115. Левшин Л.В., Славнова Т.Д., Митцель Ю.А. Изучение строения ассоциатов ксантеновых и трифенилметановых красителей по их колебательным и электронным спектрам.//Жур. прикл. спектр. 1968, т.18, вып. 2. с.283-289.
116. Kasha, M. Energy Transfer Mechanisms and the Molecular Exciton Model for Molecular Aggregates. Radiat. Res. 1963, 20, 55– 70
117. Park C.H., Park H.A., Kim Y.I., Sock S. Thermodynamic Study on Molecular Associations of some organic dyestuffs in aqueous Solutions.// Thermochim. Acta. 1984. V. 80, N1, p. 131-136.
118. Arbeloa I.L., Abreola F.L., Gonzoles I.L., OjedaP.R. Aggregate Formation of Phodamine 6G in Aqueous Solutions.// J.Chem. Soc. Faraday Trans. 1982, V. 78, p.989-994.
119. Valdes-Aguilera O., Neckers D. C. Aggregation Phenomena in Xanthene Dyed// Acc. Chem. Res. 1989, 22, 171-177



120. Terdale S., Tantray A. Spectroscopic study of the dimerization of rhodamine 6G in water and different organic solvents // *Journal of Molecular Liquids* 225 (2017) 662–671
121. Левшин Л.В., Салецкий А.М., Южаков В.И. Формы агрегации молекул родаминовых красителей в смесях, полярных и неполярных растворителей // *Журнал структур, химии*. 1985, т.26, № 6, с.95-99.
122. Gerasimova M.A., Tomilin F.N., Malyar E.Ya., Varganov S.A., Fedorov D.G., Ovchinnikov S. G., Slyusareva E.A. // *Dyes and Pigments*, 2020, 173, p.107851.
123. Patil K., Pawar R., Talap P. Self-aggregation of Methylene Blue in aqueous solutions of Bu<sub>4</sub>NBr and urea // *Physical Chemistry Chemical Physics*. - 2000. – Т.2. – С. 4313 – 4317.
124. Wang B., Fan J., Sun S., Wang L., Song B., Peng X. 1-(Carbamoylmethyl)- 3H-indolium squaraine dyes: Synthesis, spectra, photostability and association with BSA // *Dyes and Pigments*. – 2010. – Т. 85. – С. 43 – 50.
125. Arbeloa I. L. Dimeric and Trimeric States of the Fluorescein Dianion. Part 1 .-Molecular Structures // *J. Chem. SOC. Faraday Trans. 2*, 1981, 77, 1725-1733
126. Xu D., Neckerst D. C. Aggregation of rose Bengal molecules in solution // *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 1987, V.40, 361 – 370
127. Valdes-Aguilera O., Neckers D. C. Aggregation of rose bengal ethyl ester induced by alkali metal cations in aqueous solution // *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 1989, V.47, 213 – 222
128. De S., Das S., Girigoswami A. Environmental effects on the aggregation of some xanthene dyes used in lasers // *Spectrochimica Acta Part A*, 2005, V.61, 1821–1833

129. Dejiang G., Yuan T., Fanghui L., Danhong J. Investigation on the pH-dependent binding of eosin Y and bovine serum albumin by spectral methods // *Journal of Luminescence*, Volume 127(2), 2007, Pages 515-522
130. Enoki M., Katoh R. Estimation of quantum yields of weak fluorescence from eosin Y dimers formed in aqueous solutions//*Photochem. Photobiol. Sci.*, 2018, V.17, 793–799
131. Arbeloa I.L. Thermodynamics of the dimerization and trimerization of halofluorescein dyes // *Thermochimica Acta*, 1983, V.60, 219-224
132. Tamiji Z., Yazdanipour A., Niazi A. Spectrophotometric and Thermodynamic Study on the Dimerization Equilibrium of Neutral Red in the Water and Micelle Environments by Chemometrics Methods// *Int. J. Exp. Spectroscopic Tech*, 2018, V.3, 015 (6p)
133. Murakami K. Thermodynamic and kinetic aspects of self-association of dyes in aqueous solution //*Dyes and Pigments*, 2002, V. 53, 31–43
134. Ghasemi J. B., Miladi M. Association Equilibrium of Methylene Blue by Spectral Titration and Chemometrics Analysis: A Thermodynamic Study //*Journal of the Chinese Chemical Society*, 2009, 56, 459-468
135. Yazdani O., Irandoust M., Ghasemi J. B., Hooshmand Sh. Thermodynamic study of the dimerization equilibrium of methylene blue, methylene green and thiazole orange at various surfactant concentrations and different ionic strengths and in mixed solvents by spectral titration and chemometric analysis// *Dyes and Pigments*, 2012, V.92, 1031-1041
136. Falcone R. D., Correa N. M., Biasutti M. A., Silber J. J.. Acid-Base and Aggregation Processes of Acridine Orange Base in n-Heptane/AOT/Water Reverse Micelles //*Langmuir* 2002, V.18, 2039-2047
137. Ruixue Z., Rong L., Anchi Yu. Aggregation Behaviors of Tricarbocyanine Dye in Water and in AOT Reverse Micelles//*Chin. J. Chem.* 2011, 29, 405—410

138. Chakraborty A., Ali M., Saha S. K. Molecular interaction of organic dyes in bulk and confined media //Spectrochimica Acta Part A, 2010, V. 75, 1577–1583
139. Das S., Mandal R. P., Mandal B., De S. Enhanced Hydrodynamic Radius of AOT/n-heptane/Water Reverse Micellar System Through Altered Electrostatic Interactions and Molecular Self-Assemblies// Journal of Fluorescence, 2021, V.31,1475–1488
140. Водолазкая. Н. А. // Специфика протекания протолитических реакций в обращенных микрокаплях на основе аэрозоля ОТ. //Вісник Харківського національного університету. 2011. № 976. Хімія. Вип. 20(43), 100-113
141. Егорова Е. М., Ревина А. А., Ростовщикова Т. Н., Киселева О. И. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах. //Вестн. моск. ун-та. сер. 2. химия. 2001. Т. 42. № 5. 332-338
142. Potapov A. V., Alekseev D.B., Alekseeva I.G., A.M. Saletsky A.M.// Laser Physics Letters, 2007, V. 4, № 1, 61-65
143. Klonis N., Sawyer W.H. Spectral properties of the prototropic forms of fluorescein in aqueous solution // Journal of Fluorescence, 1996, 6, No. 3, p.147-157
144. Lippert E.. Spektroskopische Bestimmung des Dipolmomentes aromatischer Verbindungen im ersten angeregten Singulettzustand // Z. Elektrochem., 1957, V.61, 962–975
145. Raikar U.S., Renuka C.G., Nadaf Y.F., Mulimani B.G., Karguppikar A.M., Soudagar M.K. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2006, V.65, 673–677.
146. Rahdar A., Aliahmad M., Kor A. M., Sahoo D. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2019, V.210, 165–170.

147. Левшин Л.В., Салецкий А.М., Люминесценция и ее измерения. Молекулярная люминесценция. М.: Изд-во МГУ, 1989, 272 с.
148. Мак-Глин С., Адзуми Т., Киносита М.. Молекулярная спектроскопия триплетного состояния. М: Мир, 1972, 293-304.
149. Klonis N., Sawyer W. H. // J. of Fluorescence. 1996. 6, N 3. P. 147.
150. Соловьев К.Н., Борисевич Е.А. «Внутримолекулярный эффект тяжелого атома в фотофизике органических молекул» УФН, 2005, т.175, 247–270.
151. McClure D. S.. Triplet-Singlet Transitions in Organic Molecules. Lifetime Measurements of the Triplet State /J. Chem. Phys. 1949, V.17, N10, 905-913.
152. Valdes-Aguilera O., Neckers D. C.. Aggregation Phenomena in Xanthene Dyed /Acc. Chem. Res. 1989, V.22, N5, 171-177.
153. Акимов А. И. // Фотофизические свойства растворов сложных органических соединений, 2001г.

## Приложения

### Приложение А – Технические характеристики и оптическая схема корреляционного спектрометра Photocor Compact.

|                    |   |
|--------------------|---|
| Диапазон измерения | Размер частиц: от 0.5 нм до 10 мкм <sup>1</sup> (диаметр)<br>Коэффициент диффузии: 10 <sup>-5</sup> ... 10 <sup>-10</sup> см <sup>2</sup> /с                          |
| Объем образца      | От 50 мкл до 4 мл   |
| Углы рассеяния     | 90° (для измерения концентрированных дисперсий)   |
| Анализ сигналов    | Встроенный коррелятор PhotocorFC для авто- и кросскорреляционных измерений. Линейная и логарифмическая (мульти-тау) шкала времени.<br>Минимальное время выборки 10 нс |
| Лазер              | Термостабилизированный полупроводниковый лазер: 650 нм, 5В, 0.2А  |
| Термостат          | Диапазон температур: 10°C - 90°C, погрешность 0.1°C (термоэлектрический модуль)   |

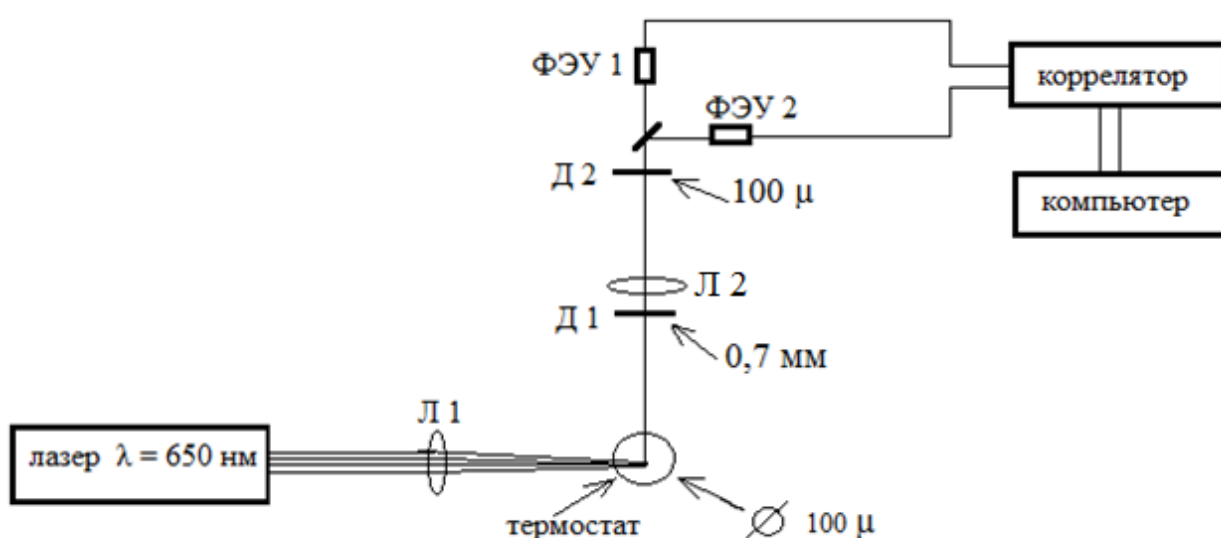


Рис. Оптическая схема спектрометра Photocor Compact.

## Приложение Б – Технические характеристики и оптическая схема спектрофлуориметра Perkin Elmer LS 55.

Технические характеристики спектрофлуориметра Perkin Elmer LS 55:

- Принцип: однолучевой люминесцентный спектрометр, работающий в режимах флуоресценции, фосфоресценции, хеми- или биолюминесценции;
- Источник: 150 Вт ксеноновая лампа, работающая в пульсирующем режиме с частотой 50 Гц Монохроматоры: типа Монка-Джиллисона;
- Область длин волн: возбуждение: 200 – 800 нм эмиссия: 200 – 900 нм;
- Спектральная ширина щели: возбуждение: 2,5 – 15 нм эмиссия: 2,5 – 20 нм;
- Точность установки длины волны  $\pm 1,0$  нм;
- Скорость сканирования 10 – 1500 нм/мин;

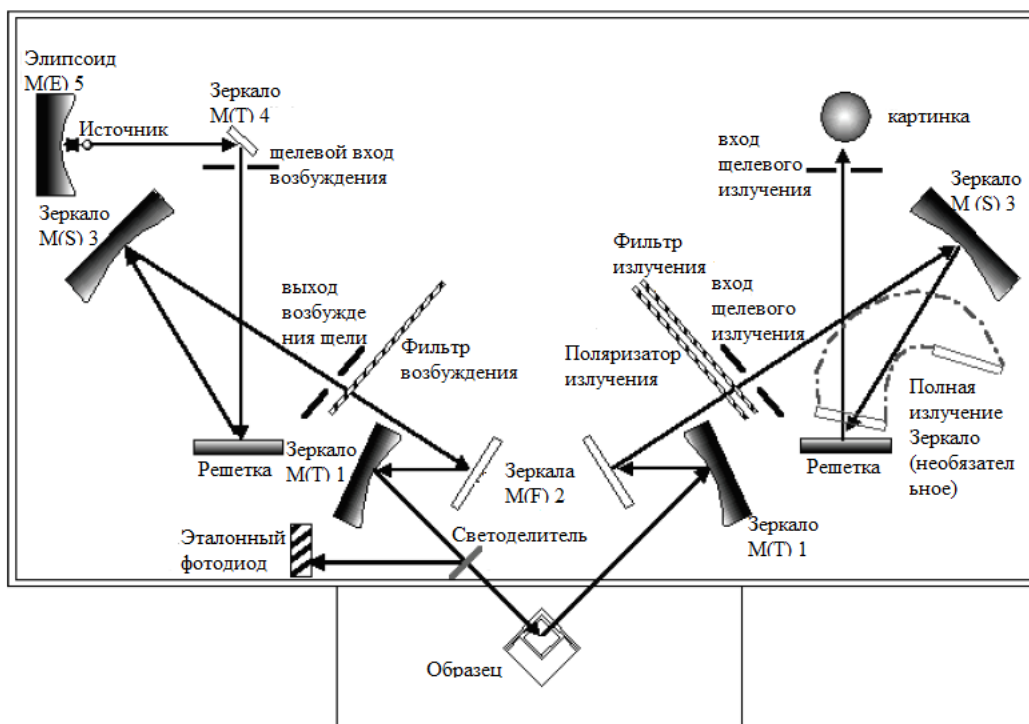
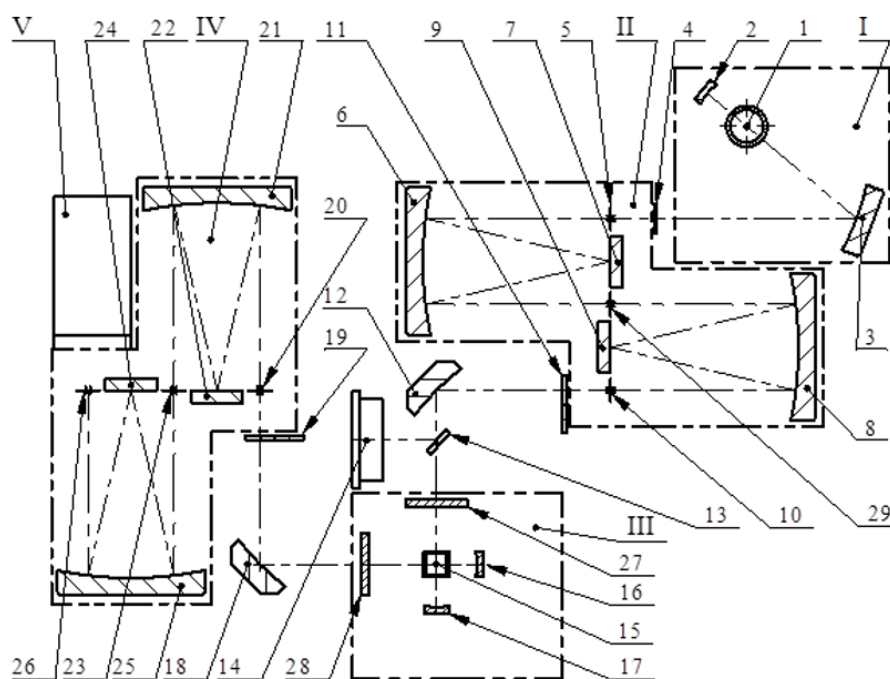


Рис. Оптическая схема спектрофлуориметра Perkin Elmer LS 55.

## Приложение В – Технические характеристики и оптическая схема спектрофлуориметра Solar CM 2203.

Технические характеристики спектрофлуориметра СОЛАР» CM2203:

- рабочая область спектра в режиме спектрофлуориметра – от 220 до 820 нм;
- тип монохроматора (возбуждения и регистрации) – двойной со сложением дисперсии;
- относительное отверстие монохроматора (возбуждения и регистрации) – 1/3,5;
- выделяемый спектральный интервал – от 1 до 15 нм;
- шаг спектрального сканирования, минимальный – 0,1 нм;



I – осветитель; II – монохроматор возбуждения Ех; III – кюветное отделение; IV – монохроматор регистрации Ем; V – фотоприемное устройство

Рис. Оптическая схема спектрофлуориметра СОЛАР CM2203.



## Приложение Г – Технические характеристики и оптическая схема спектрофотометра Perkin Elmer Lambda 35.

Технические характеристики спектрофотометра Perkin Elmer Lambda 35:

- диапазон длинны волны 190 – 1100 нм;
- воспроизводимость длины волны 0,1 нм;
- спектральная ширина щели 0,5 нм, 1 нм, 2 нм, 4 нм;
- скорость сканирования 7,5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960, 1920 и 2880 нм/мин;
- смена ламп автоматическая на волне 326 нм (выбираемая программно на всем диапазоне длин волн);
- фотометрическая точность  $\pm 0,001$  А;
- стабильность базовой линии (200 - 900нм, 240нм/мин)  $\pm 0.001$  А (щель 1 нм),  $\pm 0.0005$  А (щель 2 нм);
- источник УФ – дейтериевая лампа, Вид – галогенная лампа накаливания.

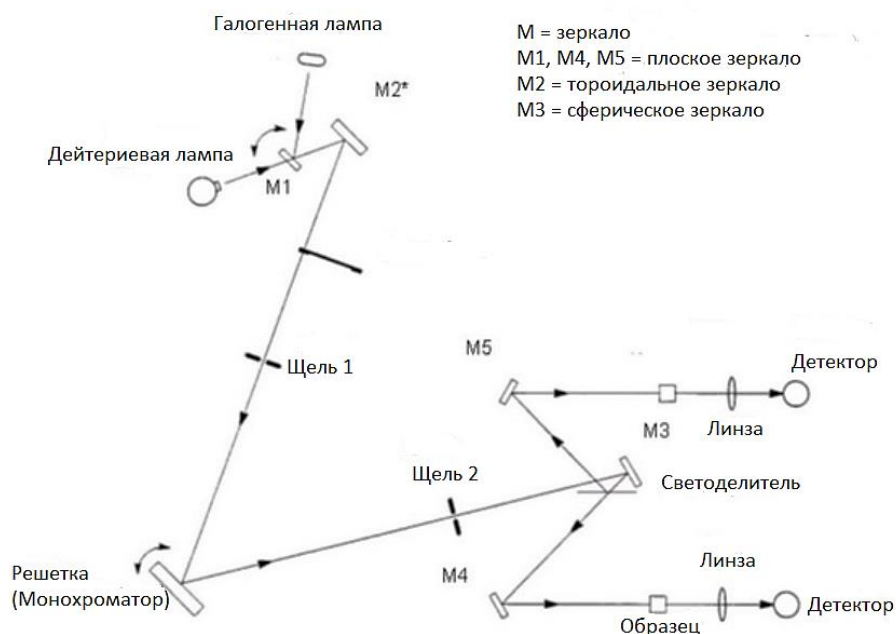


Рис. Оптическая схема спектрофотометра Perkin Elmer Lambda 35.