прессни. Указанный факт связан с тем, что для одномерного уравнения Шрёдингера критической нелинейностью, приводящей к решениям типа «коллапс», является нелинейность пятого порядка [2].

В работе [3] было получено стационарное решение уравнения (1):

$$A(t) = \frac{2\Gamma}{\sqrt{\alpha + 2R^{1/2}(\Gamma) \operatorname{ch}(2\Gamma t)}},$$
(2)

тде $R = a^2/4 + (4/3) \beta \Gamma^2$, Γ — формфактор (постоянная распространения). Величину критического значения плотности энергии $E_{\rm cr}$, необходимой для реализации временного коллапса, получим, интегрируя (2) по времени. Из анализа устойчивости решения (2) следует независимость $E_{\rm cr}$ от величины нелинейности третьего порядка: в этом случае все определяется нелинейностью потого порядка [3]. Следовательно, положив при интегрировании (2) $\alpha = 0$, получим значение для $E_{\rm cr} = (\pi/2) (3/\beta)^{1/2}$, которое в размерных единицах выразится как

$$E_{\rm cr} = (\pi/2) [3n_0 | d^2k/d\omega^2 | / (kn_4)]^{1/2}.$$

Используя приосевое приближение, получим аналогичную оценку для фокусного расстояния: $z_{toc} = (2\beta)^{-1/2}$.

Экспериментальная реализация этого эффекта возможна в смеси вещества с рядом примесей, меняя концентрацию которых, можно изменять соотношение между величинами n_2 , n_4 , n_0 и (1/k) $(d^2k/d\omega^2)$.

Авторы выражают благодарность В. Т. Платоненко за полезные обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Ахманов С. А., Выслоух В. А., Чиркин А. С. Оптика фемтосекундных лазерных импульсов. М., 1988. [2] Захаров В. Е., Сынах В. С.//ЖЭТФ. 1975. 68. С. 940. [3] Азимов Б. С., Сагатов М. М., Сухоруков А. П.//Квант. электроника. 1991. 18, № 1. С. 104.

> Поступила в редакцию 18.06.90

(3)

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1991. Т. 32, № 2

УДК 535.372

¥

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ГЕМАТОПОРФИРИНА В СУСПЕНЗИИ ЛИПОСОМ: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ, ИОННОЙ СИЛЫ И ВРЕМЕНИ ИНКУБАЦИИ

К. Г. Катышева, Е. Б. Черняева, А. Ф. Миронов, В. Д. Румянцева

(кафедра общей физики и волновых процессов)

Флуоресцентная спектроскопия с численным разложением спектральных кривых методом Аленцева применена для изучения взаимодействия гематопорфирина с липидным бислоем липосом. Изучено влияние температуры, нонной силы раствора и времени инкубации.

Гематопорфирин (ГП) и его производные используются в клинической практике ряда стран для фотодинамической терапии элокачественных новообразований [1, 2]. По имеющимся в литературе данным участками локализации красителя в нормальных и опухолевых клетках являются плазматические мембраны и мембраны внутриклеточных органеля [2, 3]. В связи с этим представляет интерес исследование механизмов взаимодействия красителя-фотосенсибилизатора (ФС) с мембранными структурами, в частности с липидным бислоем, а также влияние внешних физических и химических факторов на это взаимодействие. В данной работе приведены результаты исследования взаимодействия ГП с липидным бислоем методами флуоресцентной спектроскопии с привлечением численного разложения наблюдаемых сложных спектральных кривых методом Аленцева [4]. Рассматривалось влияние температуры, ионной силы и времени инкубации в растворе ГП.

Использовался гематопорфирин-IX фирмы Serva. Для приготовления штокового раствора (10⁻² М) ГП растворялся в 1%-ном растворе NaOH и доводился до зна-

97

чения рН 7,2—7,4 с помощью 1%-го раствора HCl. В экспериментах использовался раствор ГП в трис-буфере концентрации 10⁻⁵ М. Суспензия однослойных липосом нз природного фосфатидилхолина (ФХ) концентрацией 30 мг/мл в трис-буфере с рН 7,4 предоставлялась МИТХТ им. М. В. Ломоносова. В экспериментах суспензия липосом. разводилась в 400 раз. Спектры флуоресценции ГП в суспензии липосом регистрировались на спектрофотофлуориметре *Hitachi* (модель MPF-4). Использовалась кварцевая кювета с сечением 1 см². Объем раствора для одного измерения — 6 мл. Время инкубации липосом в растворе ГП составляло 40 мин или 5 ч в зависимости от целей эксперимента. Температура раствора изменялась от 0°С до 50°С (с шагом 10° С). Время адаптации образца при каждом значении температуры составляло-30 мнн. Изучено также влияние состава раствора на примере варьирования содер-жания NaCl от 0 до 2,7% (t=22° C). Все измерения интенсивности / проводились при двух длинах воли возбуждения флуоресценции: 400 и 420 нм, что давало зозможность возбуждать преимущественно флуоресценцию либо водной, либо связанной с липидом фракции порфирина соответственно [4]. Для количественного определения относительных вкладов флуоресценции ГП в водной и липидной фазах использовалось разложение спектральных кривых методом Аленцева [4, 5], позволяющим не делать исходных предположений о форме, количестве и положении имеющихся в изуспектра линий. На рис. 1 приведен пример разложения короткочаемой области волновой (580-650 нм) области спектра флуоресценции ГП (λ_{ex} = 400 нм) в суспензии липосом при температуре 0° С и времени инкубации 5 ч.



Рис. І. Результат разложения корот-(580-650 нм) области коволновой флуоресценции ГП спектра (λ_{ex} ≔ =400 нм) в суспензии ФХ липосом. Сплошная линия — экспериментальные данные. Точки, полученные попарным сложением ординат, определяемых в результате разложения кривых, помечены квадратиками (10-5 М ГП; pH 7,2, t=0°С; время инкубации 5 ч)



Рис. 2

Рис. 3

Рис. 2. Зависимость отношения логарифма амплитуд компонент опектра флуоресценции ГП ($\lambda_{ex} = 40$) нм) в липидной и водной фазах (530 и 613 нм соответственно) от 1/Т (10^{-5} М ГП; рН 7,2). Время инкубации в растворе ГП равно 40 мин (кружки и прямая 1) и 5 ч (квадраты и прямая 2)

Рис. 3. Зависимость отношения амплитудных компонент спектра флуоресценции ГП (λ_{ex} = 400 нм) в липидной и водной фазах (600 и 613 нм соответственно) от процентного содержания NaCl (10⁻⁵ М ГП; рН 7,2, t=22 °C). Время инкубации равно 40 мин (треугольники) и 5 ч (кружки)

Разложение спектров флуоресценции ГП в суспензии липосом показало, что существуют две спектральные компоненты флуоресценции ГП в области 580÷650 нм. с максимумами на 613±1 нм и с шириной полосы 21 нм (что соответствует положению максимума флуоресценции ГП в водном растворе [6]) и на 630±1 нм с шириной полосы 20 нм (что характерно для флуоресценции ГП в липидной фазе [6]). Причем форма всех полос для всех измерений оставалась неизменной. На рис. 2 представлены зависимости логарифма отношения амылитуд компонент спектра флуоресценции красителя на 630 и 613 нм от температуры для двух значений времени инкубации (40 мин и 5 ч). Экспериментальные зависимости аппроксимировались методом наименьших квадратов. По мере увеличения температуры наблюдается увеличение интенсивности водной и уменьшение липидной компонент флуоресценции ГП. Кривая, соответствующая 40-минутной инкубации, имеет больший наклон, чем 5-часовая. На рис. 3 представлены две зависимости (для значений времени инкубации 40 мин и 5 ч) отношения амплитуд компонент флуоресценции ГП в липидной и водной фазе (630 и 613 нм соответственно) от содержания NaCl. Как видно из рис. 3, по мере увеличения концентрации NaCl, т. е. содержания однозарядных катионов Na⁺, до 0,9% в растворе ГП в присутствии липосом наблюдается заметное уменьшение водной полосы и увеличение липидной полосы флуоресценции для обоих времен инкубации. Дальнейшее увеличение концентрации NaCl до 2,7% не приводит к заметным изменениям в интенсивности полос. Причем отношение интенсивностей при 40-минутной инкубации несколько выше, чем при 5-часовой.

Как было уже указано выше, флуоресценция ГП с максимумом на 613 нм характерна для мономеров ГП в водном окружении, а с максимумом на 630 нм в липидном окружении. В первом приближении можно предположить, что отношение концентрации ГП в водной и липидных фазах линейно связано с отношением амплитуд полос флуоресценции на 613 и 630 нм [4]. В этом случае по наклону прямых, аппроксимирующих методом наименьших квадратов экспериментальные зависимости, приведенные на рис. 2, можно оценить энергию активации ГП при связывании с липидным бислоем ΔG по формуле

tg $\varphi = \Delta G/R$,

где R — газовая постоянная, ф — угол наклона прямой. Для двух значений времени инкубации имеем

 $\Delta G_1 = 12 \pm 0.4$ кДж/моль (40 мин),

 $\Delta G_2 = 10 \pm 0.4$ кДж/моль (5 ч).

Наблюдаемый нами рост содержания ГП в липидной фазе при увеличении ионной силы раствора (см. рис. 3) связан, по-видимому, с увеличением содержания нейтральной формы молекул ГП в водном растворе за счет однозарядных катионов Na⁺, проникновение которой в липидный бислой облегчено по сравнению с аннонами ГП.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Камалов В. Ф., Степанова Н. В., Черняева Е. Б., Чикишев А. Ю.// //Квант. электроника. 1985. 12, № 10. С. 1997. [2] Dougherty T. J.//Photochem. Photobiol. 1987. 45. Р. 879. [3] Кеззеl D./Photochem. Photobiol. 1986. 44. Р. 489. [4] Степавова Н. В., Черняева Е. Б.//Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1989. 30, № 6. С. 23. [5] Фок М. В.//Тр. ФИАН. 1972. 59. С. 3. [6] Соhen S., Margalit R.//Biochim. et Biophys. Acta. 1983. 736, N 2. Р. 163.

Поступила в редакцию 19.07.91