

УДК 57.03

ГИБРИДНЫЕ СТРУКТУРЫ ИЗ ПОЛИКАТИОННЫХ ФТАЛОЦИАНИНОВ АЛЮМИНИЯ И КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

© 2015 Е.Г. Максимов^{1*}, Д.А. Гвоздев¹,
М.Г. Страховская^{1,2}, В.З. Пашенко¹

¹ Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119991 Москва; электронная почта: emaksimoff@yandex.ru

² Федеральный научно-клинический центр специализированных
видов медицинской помощи и медицинских технологий
ФМБА России, 115682 Москва, Ореховый бульвар, 28

Поступила в редакцию 31.07.14
После доработки 01.12.14

Полупроводниковые нанокристаллы (CdSe/ZnS-квантовые точки) использованы в качестве неорганической фокусирующей антенны, позволяющей усиливать флуоресценцию и фотосенсибилизирующую активность поликатионных фталоцианинов алюминия (ФЦ). Установлено, что благодаря электростатическим взаимодействиям квантовые точки CdSe/ZnS образуют стабильные комплексы с ФЦ в водных растворах. В гибридных комплексах обнаружен высокоэффективный безызлучательный перенос энергии от квантовых точек к ФЦ, который приводит к резкому увеличению эффективного сечения поглощения ФЦ в области абсорбционных полос CdSe/ZnS. При возбуждении комплексов в области этих полос интенсивность флуоресценции ФЦ и скорость фотосенсиблизированной ФЦ генерации синглетного кислорода многократно увеличивается (до 500 и 350% соответственно) по сравнению со свободным ФЦ той же концентрации. Обнаруженный эффект представляет интерес для моделирования первичных фотофизических стадий фотосинтеза и усиления фотосенсибилизирующей активности пигментов при фотодинамической терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: квантовые точки, фталоцианины алюминия, гибридные системы, миграция энергии, активные формы кислорода.

Активные формы кислорода (АФК) образуются в живой клетке как продукты нормального метаболизма кислорода. Некоторые формы АФК могут играть роль медиаторов внутриклеточных сигнальных путей [1]. Известно, что функции АФК включают индукцию иммунной системы и мобилизацию систем ионного транспорта. Например, продукция АФК клетками крови на месте повреждения является сигналом для активации тромбоцитов, необходимых для начала процесса заживления раны [1]. Также АФК играют важную роль в фотосинтезе. Известно, что фикобилипротеины, входящие в состав антенных комплексов цианобактерий – фикобилисом, способны в возбужденном состоянии

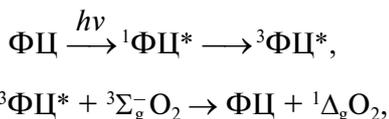
генерировать АФК [2]. В то же время показано, что фотоактивный оранжевый каротиноидный белок, являющийся эффектором нефотохимического тушения флуоресценции фикобилисом, способен эффективно инактивировать АФК [3]. Однако повышенная продукция АФК приводит к оксидативному стрессу, который в некоторых случаях может быть использован для биомедицинских целей.

Благодаря своим физическим и химическим свойствам фталоцианины широко применяются в качестве красителей [4], функциональных материалов для нелинейной оптики [5], газовых сенсоров [6], катализаторов [7, 8], материалов для разработки искусственных фотосинтетических реакционных центров [9–11]. Для спектров поглощения ФЦ характерно наличие интенсивной Q-полосы в дальней красной или инфракрасной областях с коэффициентом экстинкции более $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ и незначительным поглощением в ультрафиолетовой и видимой частях спектра. ФЦ обладают высокой фотостабиль-

Принятые сокращения: KT_x – квантовая точка, индекс X – максимум эмиссии; ФЦ^Y – фталоцианин алюминия, индекс Y – степень включения заместителей; ДФИБФ – 1,3-дифенилизобензофуран; АФК – активные формы кислорода.

* Адресат для корреспонденции.

ностью, что при наличии соответствующих квантовых выходов флуоресценции создает перспективы использования этого класса соединений во флуоресцентной диагностике [12]. Многие ФЦ обладают высокими квантовыми выходами перехода в возбужденное триплетное состояние и генерации АФК, что определяет их фототоксические свойства [12–14]. ФЦ относятся к фотосенсибилизаторам, вступающим в фотодинамические реакции второго рода:



${}^1\text{ФЦ}^*$ и ${}^3\text{ФЦ}^*$ соответствуют ФЦ в синглетном и триплетном возбужденном состоянии.

Перенос энергии от ФЦ на триплетный кислород (${}^3\Sigma_g^- \text{O}_2$), присутствующий в реакционном объеме, приводит к возникновению высокоактивных молекул синглетного кислорода (${}^1\Delta_g \text{O}_2$), которые способны окислять белки, липиды и другие биомолекулы, тем самым нарушая структурно-функциональное состояние органоидов и целых клеток [14].

Одним из активно развивающихся направлений использования фототоксических свойств фталоцианинов и их комплексов с металлами является фотодинамическая терапия рака [12–14]. Интерес к фотодинамическим свойствам металлофталоцианинов обусловлен также возможностью их использования в антимикробной терапии с целью инактивации антибиотикоустойчивых патогенных штаммов и дезинфекции вод [15–18].

С целью повышения эффективности фотосенсибилизации разрабатываются новые подходы к фотодинамической терапии, начиная от модификации химической структуры ФЦ, его заряда, спектральных характеристик и заканчивая синтезом многомодульных транспортирующих систем для направленной доставки ФС к клеткам-мишеням.

Природа центрального атома металла оказывает существенное влияние на фотофизические свойства ФЦ [12]. Такие важные для фотосенсибилизирующих свойств параметры, как выход триплетных состояний, их время жизни, квантовый выход генерации синглетного кислорода, улучшаются у металлофталоцианинов, содержащих диамагнетики Zn^{2+} или Al^{3+} . Наличие и природа боковых заместителей в молекулах ФЦ определяет их растворимость, склонность к агрегации и, как следствие, фотодинамические свойства. В водных средах гидрофобные ФЦ образуют димеры и другие агрегаты, которые не

обладают фотохимической активностью. В таких агрегатах происходит быстрая безызлучательная релаксация возбужденных состояний, что приводит к уменьшению количества ${}^3\text{ФЦ}^*$ и величины квантового выхода генерации АФК. Введение заряженных заместителей на периферии кольца снижает вероятность агрегации ФЦ [18].

Структуры со свойствами одновременно фотосенсибилизатора и флуорофора представляют большой интерес для фотодинамической терапии новообразований с предварительным проведением неинвазивной флуоресцентной диагностики. Увеличение эффективного сечения поглощения молекул ФЦ, позволяющее достичь высоких коэффициентов усиления флуоресценции наряду с повышением эффективности генерации АФК при тех же значениях плотностей потока фотонов, является перспективным способом оптимизации свойств ФЦ. Для решения данной задачи многообещающим направлением может оказаться создание гибридных структур, состоящих из ФЦ и дополнительного светосборщика (антенны). В качестве таких дополнительных антенн могут выступать полупроводниковые нанокристаллы – квантовые точки, которые характеризуются широким спектром поглощения, а положение максимума флуоресценции зависит от размера ядра, который определяется условиями синтеза наночастиц [19–21]. Квантовые точки обладают высокими квантовыми выходами флуоресценции (до 70%), что позволяет рассматривать их в качестве перспективных флуоресцентных зондов, поскольку возбуждение может осуществляться как различными лазерами (266, 405, 514, 532 нм и т.д.), так и некогерентными источниками. Дополнительное покрытие CdSe/ZnS ядра квантовой точки органической полимерной оболочкой обеспечивает водорастворимость, а наличие функциональных групп ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ и др.) позволяет создавать гибридные мезоскопические структуры. Также следует отметить, что возбуждение флуоресценции квантовых точек возможно с помощью двухфотонного поглощения длинноволнового излучения 740–1400 нм, характеризующегося наибольшей проникающей способностью по сравнению с ультрафиолетовым и видимым излучением [22–25]. Наши собственные результаты и исследования, выполненные нами с участием других научных лабораторий, показали, что КТ могут быть использованы в качестве дополнительных светосборщиков для нативных пигмент-белковых комплексов, а также порфириновых молекул, обеспечивая высокую (до 90%) эффективность миграции энергии [26–31].

Возможность переноса энергии от КТ к ФЦ была показана в ряде работ [32–41]. Спектральные характеристики полученных гибридных структур сильно зависят от заряда металлофталоцианинов. Спектры поглощения полианионных фталоцианинов в комплексе с КТ практически соответствуют сумме спектров поглощения индивидуальных соединений, однако взаимодействие КТ с поликатионными фталоцианинами приводит к значительному искажению спектра последних [38]. Известно, что число заряженных заместителей в структуре фталоцианинов влияет на их способность к агрегации и, таким образом, определяет фотофизические и фотохимические свойства этих соединений [18].

В данной работе нами изучены возможности гибридных структур из CdSe/ZnS квантовых точек и поликатионных фталоцианинов алюминия в растворах. Показано, что в водных растворах за счет электростатических взаимодействий КТ и ФЦ происходит самосборка гибридных комплексов. Установлено, что в таких структурах происходит высокоэффективный перенос энергии от КТ к фталоцианинам, обеспечивающий увеличение эффективного сечения поглощения ФЦ в ультрафиолетовой и видимой частях спектра. Показано, что использование КТ в качестве дополнительной антенны для ФЦ позволяет значительно, до 500%, увеличить интенсивность флуоресценции ФЦ и до 350% увеличить скорость фотосенсибилизированной генерации синглетного кислорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали три типа поликатионных фталоцианинов алюминия (рис. 1): тетраakis(пиридиниометил)фталоцианин алюминия (далее ФЦ⁴), смесь тетра- и пентаkis(холинил)фталоцианинов алюминия (ФЦ^{4,5}) и гексаkis(холинил)фталоцианин алюминия (ФЦ⁶),

Таблица 1. Оптические свойства замещенных фталоцианинов алюминия

Тип ФЦ	Коэффициент экстинкции, л · моль ⁻¹ · см ⁻¹	Максимум поглощения, нм	Максимум эмиссии, нм
ФЦ ⁴	150 000	715	722
ФЦ ^{4,5}	150 000	680	693
ФЦ ⁶	185 000	680	692

синтезированные в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»». Коэффициенты молярной экстинкции, максимумы поглощения и флуоресценции этих соединений представлены в табл. 1. Следует отметить, что суммарный заряд молекулы ФЦ увеличивается с ростом числа заместителей в ряду ФЦ⁴–ФЦ^{4,5}–ФЦ⁶.

Поскольку в работе Идову и Ньюконг [38] было установлено, что КТ могут формировать с ФЦ цинка комплексы на основе электростатических взаимодействий, в данной работе в качестве доноров энергии были выбраны отрицательно заряженные за счет карбоксильных групп квантовые точки с ядром из CdSe/ZnS производства ООО НТИЦ «Нанотех-Дубна» (Россия). Характеристики КТ указаны в табл. 1. Диаметры ядер КТ, коэффициенты молярной экстинкции и концентрации были вычислены на основе эмпирических формул, приведенных в работах Ю с соавт. [42] и Иазиньяк с соавт. [43].

Положение пиков флуоресценции квантовых точек (табл. 2) обеспечивает хорошее перекрывание спектров флуоресценции КТ и поглощения ФЦ (величины ферстеровских радиусов для комплексов КТ–ФЦ приведены в табл. 3), а также удобное в большинстве случаев измерение флуоресценции как донора, так и акцептора в их максимумах, т.к. практически отсутствует

Таблица 2. Оптические и структурные свойства полупроводниковых нанокристаллов

Тип КТ	Максимум эмиссии, нм	Квантовый выход флуоресценции, %	Диаметр ядра, нм	Коэффициент экстинкции, л · моль ⁻¹ · см ⁻¹	Концентрация, 10 ⁻⁷ М
КТ ₅₈₀	587	60	3,0	105 900	15,3
КТ ₆₀₀	613	6	3,3	141 400	3,38
КТ ₆₂₀	622	62	4,1	240 150	3,55
КТ ₆₄₀	641	18	5,4	501 450	1,18

Таблица 3. Величины ферстеровских радиусов (R_0), расстояния между донором и акцептором (R) и соответствующие максимальные значения эффективности миграции энергии (E) для исследуемых пар КТ–ФЦ

Параметр	Тип ФЦ	КТ ₅₈₀	КТ ₆₀₀	КТ ₆₂₀	КТ ₆₄₀
$R_0, \text{Å}$	ФЦ ⁴	51,1	40,5	60,3	52,85
	ФЦ ^{4,5}	50,1	38,45	59,3	51,5
	ФЦ ⁶	56,4	42,9	66	57,2
$R, \text{Å}$	ФЦ ⁴	24,1	30,5	45,9	40,6
	ФЦ ^{4,5}	32,6	17,9	40,2	33,3
	ФЦ ⁶	34,6	19,2	43,8	33,4
$E, \%$	ФЦ ⁴	98,9 ± 0,4	84,6 ± 0,5	83,7 ± 2,7	82,9 ± 2,4
	ФЦ ^{4,5}	93,0 ± 3,0	99,0 ± 0,1	91,1 ± 2,5	93,2 ± 3,0
	ФЦ ⁶	94,9 ± 1,0	99,2 ± 0,5	92,1 ± 1,1	96,2 ± 0,3

перекрывание соответствующих спектров флуоресценции. В случае пар ФЦ с КТ₆₂₀ и КТ₆₄₀ перекрывание спектров флуоресценции КТ и ФЦ учитывали путем сравнения со спектрами индивидуальных растворов КТ и ФЦ. В экспериментах по изучению миграции энергии использовали дистиллированную воду, при исследовании генерации синглетного кислорода растворителем являлся 95%-ный этиловый спирт.

Спектры поглощения регистрировали с помощью ССД спектрометра USB2000 с дейтерий-вольфрамовой лампой DT-MINI-2-GS («Ocean Optics», США). Для регистрации стационарных спектров флуоресценции использовали ССД спектрометр USB4000 («Ocean Optics», США). Измерения проводили в стандартных 10-мм кварцевых кюветах при постоянном перемешивании исследуемых растворов магнитной мешалкой. Для исследования кинетики фотоиндуци-

рованных изменений флуоресценции и оптической плотности использовали программное обеспечение Spectrasuite («Ocean Optics», США) и функцию StripChart, позволяющую регистрировать показания детекторов с разрешением до 3 мс.

Мгновенные спектры флуоресценции с пикосекундным временным разрешением получали с помощью измерительного комплекса на основе системы однофотонного счета SimpleTau 140 («Becker & Hickl», Германия) [44, 45]. Для возбуждения флуоресценции использовали светодиодный лазер LDH-405 («InTop», Россия): длина волны 405 нм, длительность импульса 25 пс, частота следования импульсов 10 МГц, энергия одиночного импульса 13 пДж. Перед образцом энергию лазерного импульса ослабляли с помощью нейтральных светофильтров. Сигнал флуоресценции по световоду (90° к входу лазерного луча в кювету) поступал на полихроматор

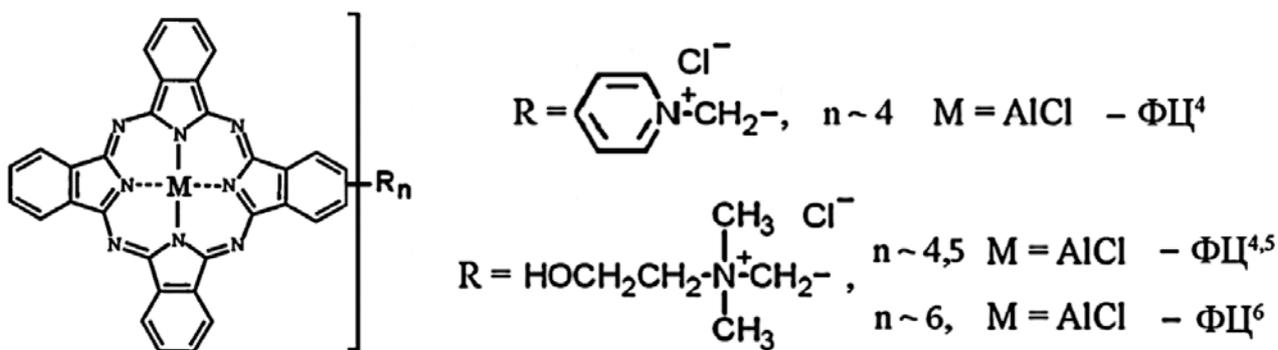


Рис. 1. Структуры и обозначения фталоцианинов. n – Средняя степень включения заместителей R

(MS 125, «Becker & Hickl», Германия), далее флуоресценцию регистрировали с помощью 16-канального детектора (PML-16-1-C, «Becker & Hickl», Германия), работающего в режиме счета фотонов. Флуоресценцию регистрировали в диапазоне 530–730 нм при использовании дифракционной решетки с разрешением 12,5 нм на канал и в диапазоне 620–720 нм с решеткой 6,25 нм на канал для образцов с перекрывающимися спектрами флуоресценции. Кинетические кривые затухания флуоресценции аппроксимировали суммой двух экспонент. Таким образом, определяли параметры τ_1 и τ_2 – времена жизни 1 и 2-й компонент, a_1 и a_2 – нормированные вклады 1 и 2-й компонент ($a_1 + a_2 = 1$) соответственно. Среднее время жизни флуоресценции рассчитывали по формуле:

$$\tau = a_1\tau_1 + a_2\tau_2.$$

Выход синглетного кислорода определяли с помощью спектрофотометрического метода, основанного на изменениях поглощения спиртового раствора 1,3-дифенилизобензофурана – ДФИБФ («Sigma Aldrich», Германия). Данное вещество характеризуется максимумом поглощения при 412 нм. В ходе необратимого окисления ДФИБФ синглетным кислородом образуется перекись, и оптическая плотность ДФИБФ уменьшается. Методика не позволяет использовать в качестве актиночного свет с длиной волны менее 420 нм, т.к. в таком случае спектр поглощения ДФИБФ претерпевает существенные изменения [46]. Поэтому для исследования фотосенсибилизированной генерации АФК использовали синий диод с максимумом излучения при 460 нм (вместо лазера 405 нм), не вызывающий значительных изменений поглощения ДФИБФ за времена эксперимента, тем не менее величину уменьшения оптической плотности ДФИБФ в контроле при длине волны 412 нм учитывали при обработке результатов.

Все вычисления проводили с помощью пакетов программ OriginPro 9.1 («OriginLab Corporation», США), «PhotochemCAD» (США) и SPCImage («Becker & Hickl», Германия). Каждый эксперимент был повторен не менее 3 раз.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для теоретической оценки эффективности возможных энергетических взаимодействий в гибридных структурах из КТ и ФЦ по стационарным спектрам (рис. 2) флуоресценции КТ (донор энергии) и ФЦ (акцептор энергии) были рассчитаны соответствующие интегралы пере-

крывания (данные не представлены), а также радиусы Ферстера – R_0 , характеризующие расстояние между донором и акцептором энергии, на котором эффективность миграции энергии равна 50% [44]. Значения Ферстеровских радиусов представлены в табл. 3. Расчеты показывают, что наиболее эффективное перекрытие спектров флуоресценции донора и поглощения акцептора энергии наблюдается в парах ФЦ с КТ₆₂₀.

Для определения эффективности миграции энергии от КТ к ФЦ была проведена серия экспериментов, в которых оценивали спектральные характеристики растворов КТ с фиксированной концентрацией, к которым постепенно добавляли возрастающие концентрации ФЦ. Анализ полученных стационарных и мгновенных спектров флуоресценции показал, что в данных двухкомпонентных системах наблюдаются классические изменения, характерные для донорно-акцепторных взаимодействий – снижение интенсивности собственной флуоресценции донора энергии КТ (рис. 3) и увеличение интенсивности флуоресценции акцептора – ФЦ. Эффективность миграции энергии рассчитывали по формуле:

$$E = 1 - \tau_{AD}/\tau_D,$$

где τ_{AD} – соответствующее время жизни КТ в присутствии ФЦ, τ_D – среднее время жизни флуоресценции донора энергии (КТ). Практически во всех комбинациях КТ и ФЦ значения эффективности миграции энергии превышали 80% (табл. 3). Из рис. 3 видно, что с ростом числа заряженных заместителей в структуре молекулы ФЦ эффективность взаимодействия ФЦ с КТ увеличивается. Иначе говоря, для эквивалентного тушения флуоресценции КТ₆₂₀ требуется меньшее количество молекул ФЦ⁶, чем ФЦ⁴, отличающихся только количеством заряженных групп (рис. 1), что, вероятно, говорит об электростатической природе взаимодействий между отрицательно заряженными группами оболочки КТ и положительно заряженными заместителями ФЦ в водном растворе. Следует отметить, что во всех изученных комбинациях КТ и ФЦ снижение интенсивности КТ обусловлено сокращением времени жизни флуоресценции, т.е. динамическим тушением за счет переноса энергии от КТ к ФЦ, при этом вклад статического тушения не превышал 10%.

Эффективность миграции может быть выражена через отношение расстояния между донором и акцептором энергии R и радиусом Ферстера [47]:

$$E = 1/(1 + (R/R_0)^6).$$

Следовательно, по экспериментально определенным значениям эффективности миграции энергии можно рассчитать расстояния R между КТ и ФЦ в комплексах (табл. 3). Оказывается, что во всех изученных гибридных системах эффективность миграции энергии превышает 80%, а значение величины R значительно меньше ферстеровских радиусов R_0 для данных пар, что также свидетельствует об эффективном взаимодействии между донорами (КТ) и акцепторами (ФЦ) энергии.

Другим подтверждением высокоэффективного переноса энергии от КТ к ФЦ является увеличение интенсивности флуоресценции последних в гибридных системах по сравнению с эквимолярным раствором ФЦ. Количественная оценка усиления флуоресценции ФЦ может

быть выполнена с помощью формулы для определения коэффициента усиления флуоресценции акцептора:

$$A = (F_{da}/F_a) - 1,$$

где F_{da} — интенсивность флуоресценции акцептора энергии в присутствии донора, F_a — интенсивность (относительный квантовый выход) флуоресценции акцептора энергии [47]. Установлено, что наибольшие значения коэффициентов усиления наблюдаются при соотношениях концентраций ($[ФЦ]/[КТ]$) ≤ 1 . Вероятно, избыток ФЦ может приводить к образованию димеров ФЦ, связанных с одной КТ, а такие структуры характеризуются низкими значениями квантовых выходов флуоресценции [18]. Мак-

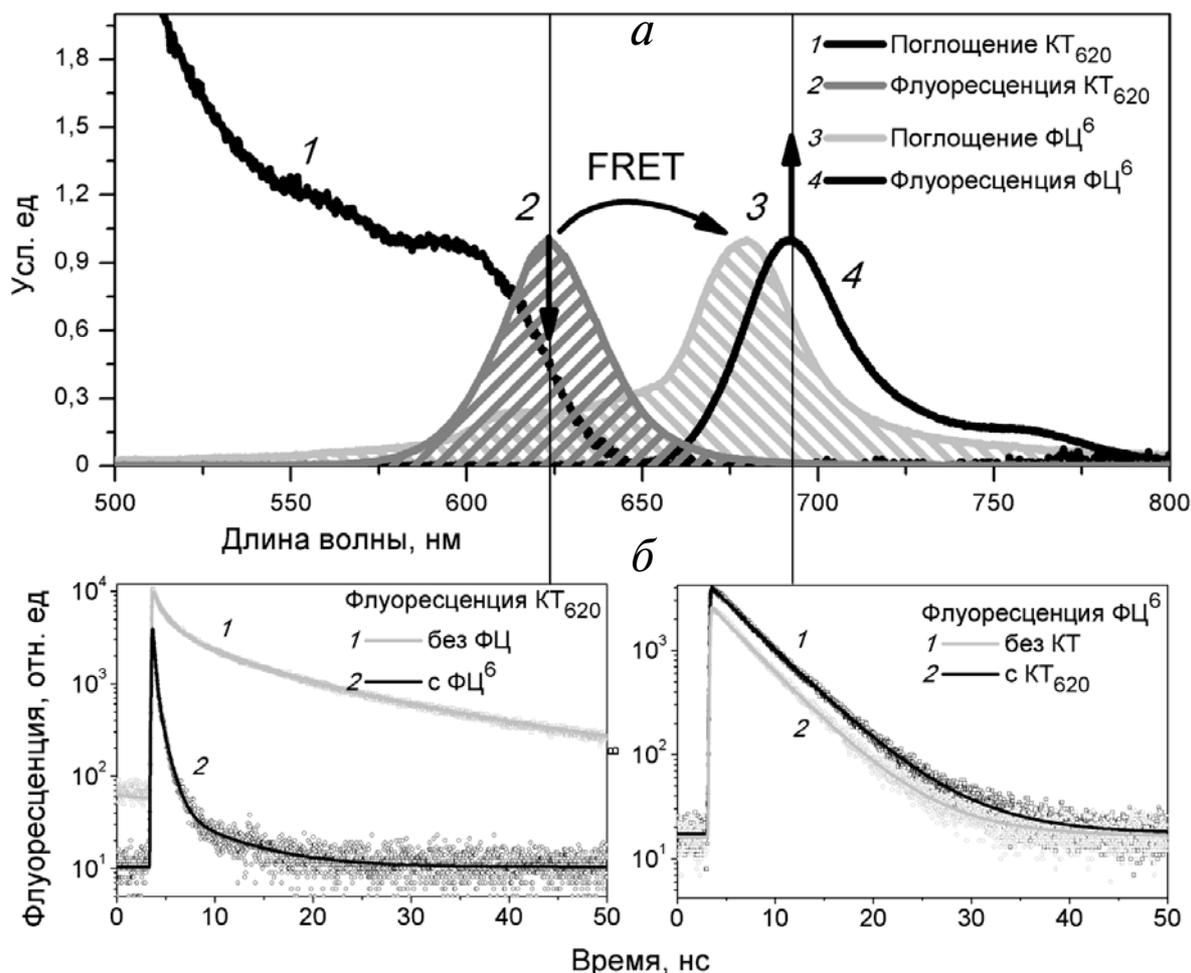


Рис. 2. *a* — Нормированные спектры оптического поглощения и флуоресценции квантовых точек (1, 2) и фталоцианинов алюминия (3, 4) при комнатной температуре. Спектры нормированы на соответствующие значения интенсивностей максимумов поглощения/флуоресценции. Стрелка (FRET) указывает на перенос энергии электронного возбуждения от КТ к ФЦ. Вертикальные стрелки указывают на изменения флуоресценции при образовании гибридных структур; *b* — кинетики затухания флуоресценции свободных КТ и ФЦ и их изменения при образовании гибридных структур

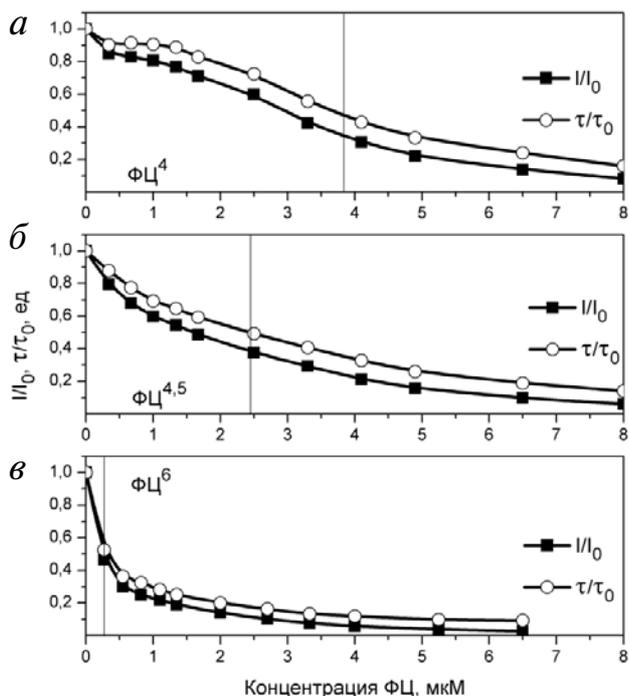


Рис. 3. Изменения интенсивности I и времени жизни τ флуоресценции KT_{620} в зависимости от концентрации фталоцианинов PhC^4 (а), $PhC^{4.5}$ (б) и PhC^6 (в). Значения интенсивности I и времени жизни τ флуоресценции KT_{620} нормированы на соответствующие значения I и τ раствора KT без PhC . Вертикальные линии указывают значения концентраций PhC , при которых $\tau/\tau_0 = 0,5$

симальные значения коэффициентов усиления флуоресценции A наблюдали в парах PhC с KT_{600} , KT_{620} и KT_{640} . Следует отметить, что в гибридных структурах из PhC^6 и KT_{600} , KT_{620} и KT_{640} наблюдается корреляция между величинами коэффициентов усиления флуоресценции A и значениями ферстеровских радиусов R_0 (табл. 3) и интегралов перекрытия спектров флуоресценции доноров энергии (KT) и акцепторов (PhC). Таким образом, перенос энергии от KT к PhC приводит к значительному (до 400%) увеличению количества PhC в возбужденном состоянии при одинаковых значениях плотностей потоков фотонов возбуждающего света.

Поскольку PhC в возбужденном состоянии способны генерировать АФК, разумно предположить, что увеличение количества возбужденных состояний PhC за счет переноса энергии от KT может привести к увеличению скорости генерации АФК. Для проверки этой гипотезы мы регистрировали фотоиндуцированные изменения поглощения спиртового раствора 1,3-дифенилизобензофурана — ДФИБФ [46] в присутствии KT , PhC и их гибридных структур. В каче-

стве источника актиночного света был выбран синий диод с максимумом излучения при 460 нм. Поглощение PhC при 460 нм крайне мало, поэтому наблюдаемые в эксперименте изменения оптической плотности ДФИБФ (рис. 4) свидетельствуют о низкой скорости генерации АФК (по сравнению с таковой при облучении 630 нм, данные не представлены). В то же время значительные коэффициенты молярной экстинкции KT при 460 нм превышают $500\,000$ л/моль · см, однако и в этом случае снижение оптической плотности ДФИБФ при облучении спиртового раствора KT не происходит. Напротив, в экспериментах мы наблюдали незначительный рост оптической плотности при 412 нм, природа которого требует отдельного экспериментального исследования. Итак, индивидуальные растворы KT и PhC не способны к эффективной генерации АФК при использовании света 460 нм. Однако при облучении этим же источником света раствора, содержащего гибридные структуры $KT-PhC$, мы наблюдали постепенное снижение оптической плотности ДФИБФ (рис. 4), что, вероятно, можно объяснить генерацией АФК.

Аппроксимация полученных зависимостей оптической плотности ДФИБФ от длительности облучения растворов KT , PhC и их гибридных структур с помощью экспоненциальных зависимостей позволило определить соответствующие временные константы и рассчитать константы скорости генерации АФК (рис. 5). Для гибридных структур из PhC^6 с различными KT наблю-

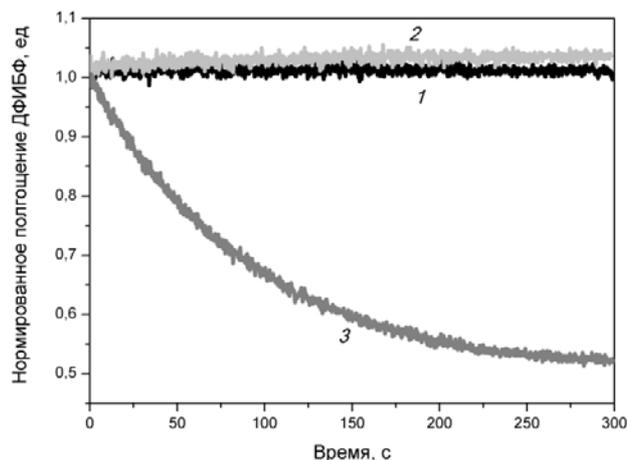


Рис. 4. Характерные изменения поглощения ДФИБФ (в максимуме 412 нм) в растворах, содержащих только PhC^6 (1), KT_{620} (2), а также комплексы $KT_{620}-PhC^6$ (3), под действием синего света (460 нм, 287 мкМ квантов · м⁻² · с⁻¹). Поглощение нормировано на оптическую плотность раствора ДФИБФ перед облучением

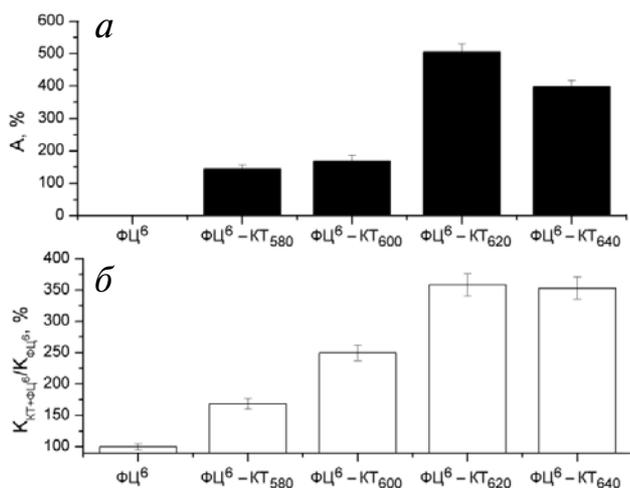


Рис. 5. *a* – Коэффициент усиления флуоресценции A $\Phi\text{Ц}$ за счет переноса энергии от КТ; *б* – отношение констант скорости снижения оптической плотности ДФИБФ в растворах, содержащих комплексы КТ– $\Phi\text{Ц}$, к соответствующим константам для индивидуального раствора $\Phi\text{Ц}$. Облучение образцов проводили синим светодиодом (285 мкМ квантов $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, максимум излучения 460 нм)

дается корреляция между увеличением скорости генерации АФК и ростом коэффициентов молярной экстинкции КТ в ряду КТ_{580} – КТ_{640} . Увеличение скорости генерации АФК в некоторых гибридных структурах может достигать 350%, следует отметить, что такие эффекты характерны для структур с высокими значениями коэффициентов усиления флуоресценции $\Phi\text{Ц}$ (акцептор энергии) (рис. 5).

В данной работе показано, что квантовые точки способны образовывать с фталоцианинами алюминия гибридные структуры, вероятно, стабилизирующиеся за счет электростатических взаимодействий между функциональными группами оболочки КТ и заряженными группами заместителей в структуре $\Phi\text{Ц}$. Образование гибридных структур сопровождается снижением квантового выхода флуоресценции КТ, обусловленным высокоэффективным безызлучательным переносом энергии от КТ к $\Phi\text{Ц}$. Расчеты, выполненные в рамках теории Ферстера, показывают, что расстояния между КТ и $\Phi\text{Ц}$ в гибридных структурах не превышают 20–40 Å, однако установление истинной структуры комплекса требует дополнительных экспериментальных и теоретических исследований. Безызлуча-

тельный перенос энергии, поглощенной КТ, на $\Phi\text{Ц}$ приводит к увеличению концентрации $\Phi\text{Ц}$ в возбужденном состоянии, т.е. эффективного сечения поглощения $\Phi\text{Ц}$ в составе гибридной структуры. Поскольку $\Phi\text{Ц}$ в возбужденном состоянии способны вступать в реакцию с кислородом среды и вызывать образование АФК, увеличение концентрации возбужденных $\Phi\text{Ц}$ за счет переноса энергии от КТ приводит к многократному (до 350%) увеличению скорости образования АФК. Обнаруженные в экспериментах закономерности позволяют предположить, что скорость генерации АФК в гибридных структурах определяется тремя факторами: 1) коэффициентом молярной экстинкции КТ (сечение поглощения КТ при данной длине волны); 2) эффективностью переноса энергии от КТ к $\Phi\text{Ц}$ (или долей КТ, связанных с $\Phi\text{Ц}$) и 3) скоростью миграции энергии от КТ (т.е. количеством актов переноса энергии в единицу времени). Таким образом, КТ выступают в роли дополнительного антенного комплекса для $\Phi\text{Ц}$, позволяющего значительно улучшить светосбор, особенно в тех областях спектра, где поглощение $\Phi\text{Ц}$ мало.

Известно, что $\Phi\text{Ц}$ благодаря своей способности генерировать АФК широко применяются для фотодинамической терапии рака и других заболеваний. Обсуждаются также перспективы их использования для противомикробной терапии с целью инактивации антибиотикоустойчивых патогенных микроорганизмов. В этих приложениях генерация АФК является ключевым аспектом, поэтому увеличение скорости генерации АФК представляется актуальной задачей. Вероятно, полупроводниковые нанокристаллы могут быть использованы как доноры энергии для расширения спектров действия $\Phi\text{Ц}$ и усиления генерации АФК. Это позволило бы, например, использовать меньшие концентрации $\Phi\text{Ц}$ в гибридных структурах для достижения аналогичного фотодинамического эффекта, получаемого от индивидуальных $\Phi\text{Ц}$, а также расширило ряд доступных источников действующего света для фотодинамической терапии. Однако необходимо учитывать, что КТ могут обладать цитотоксическим эффектом [48–51], что накладывает ряд ограничений на возможность применения гибридных систем для фотодинамической терапии. Также требует изучения вопрос стабильности гибридных структур, полученных путем самосборки.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01536а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Halliwell, B. (2005) *Free radicals and other reactive species in disease*, eLS, John Wiley & Sons, Ltd., Singapore.
- He, J.A., Hu, Y.Z., and Jiang, L.J. (1997) Photodynamic action of phycobiliproteins: in situ generation of reactive oxygen species, *Biochim. Biophys. Acta*, **1320**, 165–174.
- Sedoud, A., Lopez-Igual, R., ur Rehman, A., Wilson, A., Perreau, F., Boulay, C., and Kirilovsky, D. (2014) The cyanobacterial photoactive orange carotenoid protein is an excellent singlet oxygen quencher, *Plant Cell*, **26**, 1781–1791.
- Moser, F.H., and Thomas, A.L. (1983) *The phthalocyanines*, CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Torre, G., Vázquez, P., Agullo-Lopez, F., and Torres, T. (2004) Role of structural factors in the nonlinear optical properties of phthalocyanines and related compounds, *Chem. Rev.*, **104**, 3723–3750.
- Dogo, S., Germain, J.P., Maleysson, C., and Pauly, A. (1992) Interaction of NO₂ with copper phthalocyanine thin films II: Application to gas sensing, *Thin Solid Films*, **219**, 251.
- Kaliya, O.L., Lukyanets, E.A., and Vorozhtsov, G.N. (1999) Catalysis and photocatalysis by phthalocyanines for technology, ecology and medicine, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **3**, 592.
- Wohrle, D., Suvorova, O., Gerdes, R., Bartels, O., Lapok, L., Baziakina, N., Makarov, S., and Slodek, A. (2004) Efficient oxidations and photooxidations with molecular oxygen using metal phthalocyanines as catalysts and photocatalysts, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **8**, 1020.
- Carraro, M., Sartorel, A., Toma, F., Puntoriero, F., Scandola, F., Campagna, S., Prato, M., and Bonchio, M. (2011) Artificial photosynthesis challenges: water oxidation at nanostructured interfaces, *Top. Curr. Chem.*, **303**, 121–150.
- Walter, M.G., Rudine, A.B., and Wamser, C.C. (2010) Porphyrins and phthalocyanines in solar photovoltaic cells, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **14**, 759–792.
- McConnell, I., Li, G., and Brudvig, G.W. (2010) Energy conversion in natural and artificial photosynthesis, *Chem. Biol.*, **17**, 434–447.
- Sekkat, N., van den Bergh, H., Nyokong, T., and Lange, N. (2011) Like a bolt from the blue: phthalocyanines in biomedical optics, *Molecules*, **17**, 98–144.
- Cook, M.J., Chambrier, I., Cracknell, S.J., Mayes, D.A., and Russell, D.A. (1995) Octa-alkyl zinc phthalocyanines: potential photosensitizers for use in the photodynamic therapy of cancer, *Photochem. Photobiol.*, **62**, 542–545.
- Ochsner, M. (1997) Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours, *J. Photochem. Photobiol. B*, **39**, 1–18.
- Hamblin, M., and Hasan, T. (2004) Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious diseases, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **3**, 436–450.
- Страховская М.Г., Антоненко Ю.Н., Пашковская А.А., Котова Е.А., Киреев В., Жуховицкий В.Г., Кузнецова Н.А., Южакова О.А., Негримовский В.М., Рубин А.Б. (2009) Электростатическое связывание замещенных металлофталоцианинов с клетками энтеробактерий: роль в фотодинамической инактивации, *Биохимия*, **74**, 1603–1614.
- Kuznetsova, N.A., Yuzhakova, O.A., Strakhovskaya, M.G., Shumarina, A.O., Kozlov, A.S., Krasnovsky, A.A., and Kaliya, O.L. (2011) New heterogeneous photosensitizers with phthalocyanine molecules covalently linked to aminopropyl silica gel, *J. Porphyrins and Phthalocyanines*, **15**, 718–726.
- Makarov, D.A., Kuznetsova, N.A., Yuzhakova, O.A., Savvina, L.P., Kaliya, O.L., Lukyanets, E.A., Negrimovskii, V.M., and Strakhovskaya, M.G. (2009) Effects of the degree of substitution on the physicochemical properties and photodynamic activity of zinc and aluminum phthalocyanine polycations, *Rus. J. Phys. Chem. A*, **83**, 1044–1050.
- Sukhanova, A., Baranov, A.V., Klinov, D., Oleinikov, V., Berwick, K., Cohen, J.H.M., Pluot, M., and Nabiev, I. (2006) Self-assembly of charged microclusters of CdSe/ZnS core/shell nanodots and nanorods into hierarchically ordered colloidal arrays, *Nanotechnology*, **17**, 4223–4228.
- Bawendi, M.G., Carroll, P.J., Wilson, W.L., and Brus, L.E. (1992) Luminescence properties of CdSe quantum crystallites: resonance between interior and surface localized states, *J. Chem. Phys.*, **96**, 946.
- Bergmann, L., Schafer, C., and Niedrig, H. (2004) *Lehrbuch der Experimentalphysik: Optik*, Band 3, 9 Auflage, Walter de Gruyter, Berlin.
- Leatherdale, C.A., Woo, W.-K., Mikulec, F.V., and Bawendi, M.G. (2002) On the absorption cross section of CdSe nanocrystal quantum dots, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 7619–7622.
- Sukhanova, A., Artemyev, M., Sharapov, O., Baranov, A., Jardillier, J.C., and Nabiev, I. (2001) European, Eurasian and USA patents EP1366347, US2004105973, WO02073155.
- Oleinikov, V.A., Sukhanova, A.V., and Nabiev, I.R. (2007) Fluorescent semiconductor crystals in biology and medicine, *Ros. Nanotekhnol.*, **2**, 160–173.
- Medintz, I.L., and Mattoussi, H. (2009) Quantum dot-based resonance energy transfer and its growing application in biology, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 17–45.
- Nabiev, I., Rakovich, A., Sukhanova, A., Lukashev, E., Zagidullin, V., Paschenko, V., Rakovich, Y.P., Donegan, J.F., Rubin, A.B., and Govorov, A.O. (2010) Fluorescent quantum dots as artificial antennas for enhanced light harvesting and energy transfer to photosynthetic reaction centers, *Angewandte Chemie*, **49**, 7217–7221.
- Maksimov, E.G., Gostev, T.S., Kuzminov, F.I., Sluchanko, N.N., Stadnichuk, I.N., Paschenko, V.Z., and Rubin, A.B. (2010) Hybrid systems of quantum dots mixed with the photosensitive protein phycoerythrin, *Ros. Nanotekhnol.*, **5**, 531–537.
- Schmitt, F.-J., Maksimov, E.G., Suedmeyer, H., Jeyasagar, V., Theiss, C., Paschenko, V.Z., Eichler, H.J., and Renger, G. (2010) Time resolved temperature switchable excitation energy transfer processes between CdSe/ZnS nanocrystals and phycobiliprotein antenna from *Acaryochloris marina*, *Photon. Nanostruct.: Fundam. Appl.*, **9**, 190–195.
- Schmitt, F.-J., Maksimov, E.G., Hatti, P., Weißenborn, J., Jeyasagar, V., Razjivin, A.P., Paschenko, V.Z., Friedrich, T., and Renger, G. (2012) Coupling of different isolated photosynthetic light harvesting complexes and CdSe/ZnS nanocrystals via Förster resonance energy transfer, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 1461–1470.
- Maksimov, E.G., Kurashov, V.N., Mamedov, M.D., and Paschenko, V.Z. (2012) Hybrid system based on quantum dots and photosystem 2 core complex, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 624–630.
- Borisovitch, I.E., Parra, G.G., Zagidullin, V.E., Lukashev, E.P., Paschenko, V.Z., Knox, P.P., and Rubin, A.B. (2013) Cooperative effects in quenching of CdSe/ZnS-PEGOH quantum dot luminescence by water soluble porphyrins, *J. Luminescence*, **134**, 83–87.
- Idowu, M., Chen, J.Y., and Nyokong, T. (2008) Photoinduced energy transfer between water-soluble CdTe quantum dots and aluminium tetrasulfonated phthalocyanine, *New J. Chem.*, **32**, 290–296.

33. Britton, J., Antunes, E., and Nyokong, T. (2009) Fluorescence studies of quantum dots and zinc tetraaminophthalocyanine conjugates, *Inorg. Chem. Commun.*, **12**, 828–831.
34. Britton, J., Antunes, E., and Nyokong, T. (2010) Fluorescence quenching and energy transfer in conjugates of quantum dots with zinc and indium tetraamino phthalocyanines, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **210**, 1–7.
35. Narband, N., Mubarak, M., Ready, D., Parkin, I.P., Nair, S.P., Green, M.A., Beeby, A., and Wilson, M. (2008) Quantum dots as enhancers of the efficacy of bacterial lethal photosensitization, *Nanotechnology*, **19**, 445102.
36. Samia, A.C.S., Dayal, S., and Burda, C. (2006) Quantum dot-based energy transfer: perspectives and potential for applications in photodynamic therapy, *Photochem. Photobiol.*, **82**, 617–625.
37. Suchanek, J., Lang, K., Novakova, V., Zimcik, P., Zelinger, Z., and Kubat, P. (2013) Photophysical properties of CdSe quantum dot self-assemblies with zinc phthalocyanines and azaphthalocyanines, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **12**, 743–750.
38. Idowu, M., and Nyokong, T. (2010) Spectroscopic behavior of cationic metallophthalocyanines in the presence of anionic quantum dots, *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **75**, 411–416.
39. Li, L., Zhao, J.F., Won, N., Jin, H., Kim, S., and Chen, J.Y. (2012) Quantum dot-aluminum phthalocyanine conjugates perform photodynamic reactions to kill cancer cells via fluorescence resonance energy transfer (FRET), *Nanoscale Res. Lett.*, **7**, 386.
40. Tekdas, D.A., Durmus, M., Yanik, H., and Ahsen, V. (2012) Photodynamic therapy potential of thiol-stabilized CdTe quantum dot-group 3A phthalocyanine conjugates (QD-Pc), *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **93**, 313–320.
41. Idowu, M., and Nyokong, T. (2009) Interaction of water-soluble CdTe quantum dots with octacarboxy metallo-phthalocyanines: a photophysical and photochemical study, *J. Luminescence*, **129**, 356–362.
42. Yu, W.W., Qu, L., Guo, W., and Peng, X. (2003) Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals, *Chem. Mater.*, **15**, 2854–2860.
43. Jasieniak, J., Smith, L., van Embden, J., and Mulvaney, P. (2009) Re-examination of the size-dependent absorption properties of CdSe quantum dots, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 19468–19474.
44. PML-16-C. 16 channel detector head for timecorrelated single photon counting. User handbook (2006) Becker & Hickl GmbH, Berlin; <http://www.becker-hickl.de/pdf/pml16c21.pdf>.
45. Schmitt, F.J. (2011) Picobiophotonics for the investigation of pigment–pigment and pigment–protein interactions in photosynthetic complexes (thesis), Technische Universitat Berlin.
46. Nakamura, K., Ishiyama, K., Ikai, H., Kanno, T., Sasaki, K., Niwano, Y., and Kohno, M. (2011) Reevaluation of analytical methods for photogenerated singlet oxygen, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **49**, 95.
47. Lakowicz, J.R. (ed.) (1999) *Principles of fluorescence spectroscopy*, 2nd ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 465.
48. Shiohara, A., Hoshino, A., Hanaki, K., Suzuki, K., and Yamamoto, K. (2004) On the cytotoxicity caused by quantum dots, *Microbiol. Immunol.*, **48**, 669–675.
49. Derfus, A.M., Chan, W.C.W., and Bhatia, S.N. (2004) Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots, *Nano Lett.*, **4**, 11–18.
50. Bakalova, R., Ohba, H., Zhelev, Z., Ishikawa, M., and Baba, Y. (2004) Quantum dots as photosensitizers, *Nature Biotechnol.*, **22**, 1360–1361.
51. Samia, A.C.S., Chen, and Burda, C. (2003) Semiconductor quantum dots for photodynamic therapy, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 15736–15737.

HYBRID STRUCTURES OF POLYCATIONIC ALUMINUM PHTHALOCYANINES AND QUANTUM DOTS

E. G. Maksimov^{1*}, D. A. Gvozdev¹,
M. G. Strahovskaya^{1,2}, V. Z. Paschenko¹

¹ M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology,
Moscow 119991, Russia; E-mail: emaksimoff@yandex.ru

² Russian Federal Research Center of Medical Care
and Medical Technology, Orekhovy bul. 28, Moscow 115682, Russia

Received July 31, 2014

Revision received December 1, 2014

Semiconductor nanocrystals (CdSe/ZnS quantum dots, QDs) were used as an inorganic focusing antenna that enhances fluorescence and photosensitizing activity of polycationic aluminum phthalocyanines (PCs). We found that due to electrostatic interactions, QDs form stable complexes with PCs in aqueous solutions. In such hybrid complexes, we observed highly effective nonradiative energy transfer from QD to PC, which leads to a sharp increase in the effective absorption cross section of PC in the absorption bands of CdSe/ZnS quantum dots. When hybrid complexes are excited in these bands, the intensity of PC fluorescence and the rate of photosensitized singlet oxygen generation increases significantly (up to 500 and 350%, respectively) compared to free PC at the same concentration. The observed effect is of interest for modeling of primary stages of photosynthesis and increasing photosensitizing activity of dyes for photodynamic therapy.

Key words: quantum dots, aluminum phthalocyanines, hybrid systems, energy migration, reactive oxygen species