

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 577.3

ФОТОВЫЦВЕТАНИЕ МОЛЕКУЛ ФТАЛОЦИАНИНОВ
В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСА С КОЛЛОИДНЫМИ КВАНТОВЫМИ ТОЧКАМИ

Д.А. Гвоздев*, Е.Г. Максимов, В.З. Пашенко

*Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 24***email: danil131054@mail.ru*

В настоящее время флуоресцентные наночастицы рассматриваются как перспективные усилители фотодинамической активности традиционных фотосенсибилизаторов в процедурах фотодинамической терапии рака и инактивации патогенных микроорганизмов. С одной стороны, такие наночастицы выступают в качестве наноплатформы селективной доставки молекул красителя к клеткам-мишеням, с другой – как светособирающие антенны, способствующие увеличению поглощательной способности красителя. В работе изучено влияние полупроводниковых CdSe/ZnS квантовых точек, покрытых полимерной оболочкой, на фотостабильность поликаationных фталоцианинов цинка и алюминия. Показано, что в комплексе с квантовой точкой скорость фотовыцветания фталоцианинов значительно возрастает как при прямом возбуждении фталоцианина красным светом, так и при опосредованной квантовой точкой накачке синим светом. Данный эффект может объясняться тем, что внутри полимерной оболочки квантовой точки фталоцианин становится основной мишенью для активных форм кислорода. Скорость выцветания химической ловушки активных форм кислорода 4-нитрозо-N,N-диметиланилина в растворе фталоцианина увеличивается в присутствии квантовой точки при освещении раствора красным светом. Мы считаем, что химическая ловушка концентрируется в полимерной оболочке квантовой точки, что приводит к увеличению вероятности ее повреждения активными формами кислорода, генерируемыми фталоцианином. Поскольку диффузия активных форм кислорода из полимерной оболочки наночастицы в окружающий раствор затруднена, применение квантовых точек в качестве усилителя фотодинамического действия фталоцианинов может быть эффективным только при отсутствии значительных стерических препятствий для диффузии активных форм кислорода к молекулам – мишеням фотодинамической инактивации.

Ключевые слова: фотовыцветание, фталоцианин, квантовая точка, химическая ловушка, активные формы кислорода, имидазол

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

АФК – активные формы кислорода
ИА – имидазол
КТ – квантовая точка
НДМА – 4-нитрозо-N,N-диметиланилин
ФДИ – фотодинамическая инактивация
ФДТ – фотодинамическая терапия
ФС – фотосенсибилизатор
Фц – фталоцианин
FRET – Forster Resonance Energy Transfer

Фталоцианины являются одними из наиболее распространенных фотосенсибилизаторов (ФС), применяющихся в процедурах фотодинамической терапии раковых заболеваний (ФДТ) [1] и фотодинамической инактивации (ФДИ) патогенных микроорганизмов [2]. Данные соединения обладают интенсивной полосой поглощения в красной области спектра (рис. 1) и при оптимальных условиях освещения генерируют активные формы кислорода (АФК) с высоким выходом. По своим фотофизическим характеристикам фталоцианины относят к фотосенсибилизаторам «второго поколения».

Развитие концепции высокоэффективных ФС для задач ФДТ и ФДИ предусматривает синтез

препаратов «третьего поколения», главным преимуществом которых перед ФС предыдущего поколения станет селективность действия препарата и его направленная доставка к клеткам-мишеням [3]. Осуществлять такую доставку предлагается с помощью наноплатформ, которые а) концентрируют молекулы действующего вещества (ФС) и б) обладают повышенным сродством к мишени воздействия (наноплатформа как вектор) [4].

В качестве таких платформ могут выступать плюроники, липосомы и частицы иных типов, модифицированные антителами, олигопептидами и другими векторными молекулами. Наиболее перспективными наноплатформами являются флуоресцентные наночастицы, которые, помимо основных свойств, необходимых для направленной доставки ФС, обладают дополнительной функциональностью. Так, наличие флуоресценции у наночастиц позволяет осуществлять диагностику во время процедур ФДТ (гераностика). Кроме того, флуоресцентные наночастицы могут использоваться как донорные светособирающие антенны для молекул ФС за счет переноса энергии по индуктивно-резонансному механизму [5].

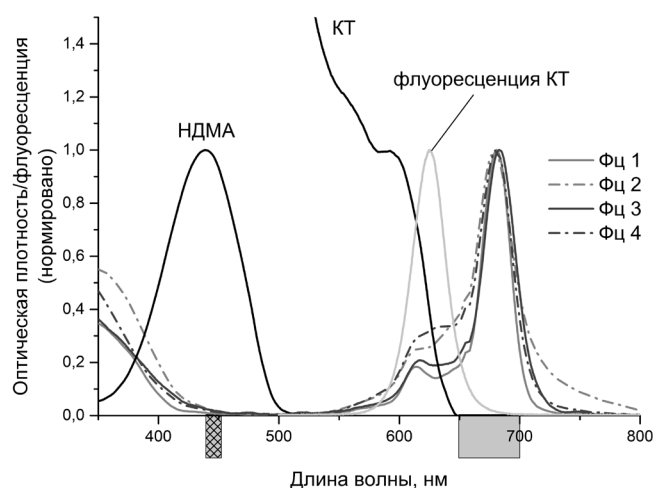


Рис. 1. Нормированные спектры поглощения использованных в работе Фц, КТ и химической ловушки НДМА. Отдельно добавлен спектр флуоресценции КТ. Отмечен диапазон длин волн селективного освещения Фц и КТ (соответственно серый прямоугольник и серый прямоугольник со штриховкой под шкалой длин волн)

Нужно отметить, что для фталоцианинов, как и для других органических красителей, свойственно явление фотовыцветания, вызванное, как правило, повреждением молекулы активными формами кислорода, образующимися при фотовозбуждении красителя. В результате фотовыцветания фотодинамическая активность ФС может снизиться из-за уменьшения концентрации действующего вещества. В связи с этим фактом немаловажное значение имеет изучение фотовыцветания ФС в составе векторных наноплатформ. В данной работе мы оценили скорость фотовыцветания поликатионных фталоцианинов (Фц) цинка и алюминия, встроенных в наноплатформу на основе полупроводниковой квантовой точки (КТ), покрытой полимерной оболочкой. Вследствие высокой цитотоксичности материалов на основе тяжелых металлов система «КТ–Фц» не пригодна для задач ФДТ и рассматривается нами исключительно как модельная. Мы показали, что скорость деградации молекул Фц, локализованных в полимерной оболочке КТ, существенно возрастает по сравнению со скоростью деградации молекул Фц в водном растворе.

Материалы и методы

Холинзамещенные Фц а) со средней степенью замещения 4–5 (1) и 6–7 (2), алюминиевые, и б) со средней степенью замещения 5 (3) и 8 (4), цинковые, были предоставлены ФГУП ГНЦ «Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей» (Россия). В качестве наноплатформы и донора энергии для увеличения эффективного сечения поглощения Фц в видимой области спектра использовали квантовые точки с ядром из CdSe/ZnS производства ООО НТИЦ «Нанотех-Дубна» (Россия). КТ имели оболочку из полимера, модифицированного карбоксильными

группами, так что между КТ и Фц в водном растворе образовывался комплекс за счет электростатических взаимодействий. Гидродинамический размер частиц определяли методом динамического светорассеяния на приборе ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания). В качестве химической ловушки АФК использовали двухкомпонентную систему «имидазол – 4-нитрозо-N,N-диметиланилин» (ИА–НДМА) [6].

Спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра MayaPro (Ocean Optics, США) и стабилизированного источника белого света с вольфрамовой лампой SLS201L (Thorlabs, США). Для регистрации стационарных спектров флуоресценции использовали CCD-спектрометр FLAME (Ocean Optics, США). В качестве растворителя использовали 10 мМ натрий-фосфатный буфер (Sigma, Германия). Спектрофотометрические измерения проводили в кварцевой кювете объемом 100 мкл.

Кинетики затухания флуоресценции КТ и Фц с пикосекундным временным разрешением регистрировали с помощью измерительного комплекса на основе системы однофотонного счета SimpleTau-140 (Becker & Hickl, Германия). Для возбуждения флуоресценции КТ использовали светодиодный лазер PLS-445/660 (InTop, Россия): длительность импульса 25 пс, частота следования импульсов 25 МГц, длина волны возбуждения флуоресценции 445 нм. Сигнал флуоресценции поступал на полихроматор MS 125 (Becker & Hickl, Германия). Далее флуоресценцию регистрировали в режиме счета фотонов с помощью 16-канального детектора PML-16-1-C (Becker & Hickl, Германия) в диапазоне 600–700 нм при использовании дифракционной решетки с разрешением 6,25 нм/канал.

Селективное освещение Фц производили в красной области спектра с использованием белого светодиода MCWHLP1 (Thorlabs, США), излучение которого ограничивали светофильтрами в диапазоне 650–700 нм и фокусировали с помощью полусферической собирающей линзы в объеме кюветы. Мощность источника составила 50 мВт/см².

Для исследования динамики изменений оптической плотности или флуоресценции растворов Фц, КТ и НДМА использовали программное обеспечение Spectrasuite (Ocean Optics, США). Эксперимент проводили в термостатируемой ячейке Qpod 2e (Quantum Northwest, США) при температуре 25°C. Все вычисления проводили с помощью пакета программ OriginPro 9.1 (OriginLab Corporation, США).

Результаты и обсуждение

Все использованные в работе Фц способны к образованию комплекса с КТ в буферном растворе. Об образовании комплекса судили по туше-

нию флуоресценции КТ в присутствии Фц. Для объяснения механизма тушения флуоресценции КТ обычно используют теорию индуктивно-резонансного переноса энергии (Forster Resonance Energy Transfer, FRET), которая, в целом, удовлетворительно описывает безызлучательный перенос энергии электронного возбуждения в системах «КТ–краситель». Спектр флуоресценции КТ имеет максимум на длине волны 623 нм и хорошо перекрывается со спектром поглощения Фц в области их длинноволновой полосы поглощения Q_{II} (рис. 1), что является необходимым условием резонанса. Эффективность переноса энергии W является функцией расстояния между донором и акцептором в шестой степени и быстро убывает с его увеличением. Величину W можно оценить, регистрируя изменение длительности флуоресценции КТ при добавлении акцептора энергии (фталоцианина) с помощью спектроскопии высокого временного разрешения. Среднее значение длительности флуоресценции КТ в отсутствие Фц составило 16,8 нс. В присутствии Фц снижаются как интенсивность, так и длительность флуоресценции КТ; на основе полученных данных для соотношения $[Фц]:[КТ] = 3:1$ были рассчитаны некоторые параметры энергетического взаимодействия (эффективность переноса энергии, интеграл перекрывания спектров и среднее расстояние между молекулами Фц и КТ в комплексе). Данное стехиометрическое соотношение использовали по причине наибольшей эффективности метода при сопоставимых количествах молекул донора и акцептора энергии в комплексе. Значения рассчитанных параметров для всех пар Фц–КТ приведены в таблице. Видно, что характерные значения расстояния между флуоресцирующим ядром КТ и Фц составляют порядка 5–6 нм. В то же время, гидродинамический радиус наночастицы составляет $25,5 \pm 1,2$ нм. Это означает, что молекулы Фц локализуются глубоко внутри полимерной оболочки КТ.

При образовании комплекса «КТ–Фц» происходит батохромный сдвиг спектра поглощения

Фц в красной области спектра, который, очевидно, вызван взаимодействием молекул Фц с полимерными цепями, окружающими полупроводниковое ядро КТ. Нужно отметить, что при данном стехиометрическом отношении Фц:КТ практически все молекулы Фц находятся в связанном с КТ состоянии; так, полуширина полосы Q_1 поглощения Фц в однокомпонентном растворе и в комплексе с КТ составила 20 и 22 нм соответственно.

При освещении раствора Фц/КТ красным светом мы обнаружили уменьшение оптической плотности в области поглощения Фц (фотовыцветание). При этом флуоресценция КТ, потушенная в результате первоначального добавления Фц, восстанавливается, очевидно, вследствие уменьшения концентрации тушителя (рис. 2). Восстановление флуоресценции КТ наблюдается и при освещении раствора Фц/КТ синим лазером без дополнительной селективной накачки Фц, поскольку в этих условиях Фц также генерирует АФК в результате переноса энергии от КТ. Параллельно наблюдающееся снижение интенсивности сенсibilизированной флуоресценции Фц не вызвано дезинтеграцией комплекса, так как спектр поглощения Фц, испытавший батохромный сдвиг в результате взаимодействия с КТ, в процессе выцветания Фц не изменяет своего положения. Отметим, что интенсивность сенсibilизированной флуоресценции Фц в течение первых минут освещения увеличивается (рис. 2). Ранее мы показали, что увеличение концентрации Фц в составе комплекса с КТ (начиная с соотношения Фц:КТ = 1:1) приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции Фц вследствие концентрационных эффектов [7]. Таким образом, уменьшающееся в результате фотовыцветания Фц соотношение Фц:КТ должно способствовать усилению сенсibilизированной флуоресценции Фц; при уменьшении соотношения Фц:КТ ниже 1:1 влияние концентрационных эффектов исчезает, и наблюдается уменьшение интенсивности сенсibilизированной флуоресценции Фц.

Таблица

Параметры переноса энергии (FRET), рассчитанные для комплексов «КТ–Фц» ($[Фц]:[КТ] = 3:1$): J – интеграл перекрывания спектров поглощения Фц и флуоресценции КТ, W – эффективность переноса энергии, R – расстояние между КТ и Фц в комплексе. Также приведены значения констант скоростей выцветания Фц $k_{фц}$ и НДМА $k_{ндма}$ (10^{-5} с^{-1}) в буферном растворе в присутствии различных компонентов комплекса. Обозначения: Фц 1 и Фц 2 – алюминиевые фталоцианины с зарядом +4,5 и +6,5 соответственно, Фц 3 и Фц 4 – цинковые фталоцианины с зарядом +5 и +8 соответственно

	Фц 1	Фц 2	Фц 3	Фц 4
$J, \cdot 10^{-13} \text{ см}^6$	2,95	7,47	3,38	3,97
$W, \%$	57,4	43,5	41,5	78,7
$R, \text{ \AA}$	60	77	68	53
$k_{фц}$	$9,68 \pm 0,08$	$9,6 \pm 1,1$	$34,7 \pm 0,2$	26 ± 1
$k_{фц}, + \text{ИА–НДМА}$	$13,8 \pm 0,2$	$12,1 \pm 0,2$	104 ± 2	103 ± 3
$k_{фц}, + \text{КТ}$	$15,8 \pm 0,2$	$19,3 \pm 0,2$	106 ± 3	133 ± 2
$k_{фц}, + \text{КТ/ИА–НДМА}$	$12,8 \pm 0,1$	$14,3 \pm 0,3$	22 ± 2	11 ± 1
$k_{ндма}, + \text{Фц}$	105 ± 4	45 ± 2	102 ± 2	137 ± 15
$k_{ндма}, + \text{Фц/КТ}$	244 ± 9	328 ± 8	102 ± 2	241 ± 7

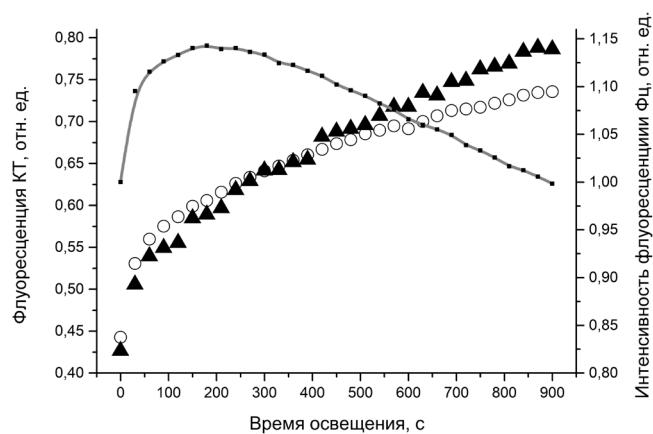


Рис. 2. Восстановление интенсивности I (○) и длительности τ (▲) флуоресценции КТ, а также изменение интенсивности флуоресценции $\Phi_c I$ при освещении раствора $\Phi_c/КТ$ красным светом. Интенсивность сенсibilизированной флуоресценции Φ_c (сплошная кривая; соответствующая ей ось ординат расположена справа) нормирована на ее значение в растворе $\Phi_c/КТ$ в момент начала освещения; интенсивность и длительность флуоресценции КТ нормированы на их значения I_0 и τ_0 в растворе КТ без Φ_c

Мы сравнили скорость фотовыцветания Φ_c , локализованного в полимерной оболочке КТ, и Φ_c в отсутствие КТ (таблица). В однокомпонентном растворе цинковые Φ_c выцветают быстрее алюминиевых. Поскольку корреляция между скоростью фотовыцветания и выходом АФК для Φ_c не выявлена [8], невысокая фотостабильность цинковых Φ_c может быть связана с большей уязвимостью молекулы к атаке АФК. Также видно, что увеличение количества функциональных групп, определяющих заряд Φ_c , способствует снижению скорости фотовыцветания (данный эффект ярко выражен у цинковых Φ_c как в целом менее стабильных). В присутствии КТ скорость фотовыцветания Φ_c значительно увеличивается; больший прирост скорости наблюдается для цинковых Φ_c и положительно коррелирует с зарядом Φ_c . Мы считаем, что диффузия АФК, образованных в результате взаимодействия молекулярного кислорода и Φ_c в возбужденном триплетном состоянии, внутри полимерной оболочки КТ затруднена по сравнению с диффузией АФК в водном растворе. Следовательно, вероятность повреждения молекул Φ_c , находящихся в непосредственной близости к АФК, должна возрасти. Чтобы оценить концентрацию АФК внутри полимерной оболочки КТ, мы использовали химическую ловушку АФК, состоящую из двух компонентов. АФК непосредственно взаимодействуют с имидазолом (ИА), что приводит к образованию его окисленных интермедиатов. В свою очередь, данные интермедиаты взаимодействуют с окрашенным соединением НДМА, которое в результате реакции выцветает. Систему ИА–НДМА можно использовать для определения концентрации АФК в полимерной оболочке КТ, поскольку оба эти соединения также взаимодействуют с КТ. В присутствии КТ спектр поглощения НДМА испытывает батохромный сдвиг на $4,7 \pm 1$ нм без из-

менения полуширины спектра, что может свидетельствовать об изменении микроокружения молекул НДМА. Кроме того, в присутствии КТ мы наблюдали значительное увеличение оптической плотности в области поглощения НДМА. Это может быть связано с более высокой растворимостью данного соединения в органической фазе. Поскольку ИА не является окрашенным соединением, мы не можем выявить его локализацию на основе спектральных измерений. Однако нужно заметить, что выцветание НДМА наблюдается только в присутствии ИА, и высокую скорость обесцвечивания НДМА в связанном с КТ состоянии (при наличии Φ_c и актиничного света) было бы трудно объяснить при локализации ИА вне КТ. Кроме того, в присутствии ИА изменяются флуоресцентные характеристики КТ: интенсивность и длительность флуоресценции увеличиваются на $\sim 30\%$, спектр флуоресценции испытывает гипсохромный сдвиг на 1 нм. Выяснение механизма данного эффекта требует дополнительных исследований.

Скорости выцветания НДМА в растворах Φ_c и $\Phi_c/КТ$ приведены в таблице. Из нее следует, что для всех пар Φ_c –КТ (кроме $\Phi_c 3$) скорость выцветания НДМА в растворе комплекса « Φ_c –КТ» оказывается выше, чем в растворе Φ_c без КТ. Несмотря на то, что изменение скорости выцветания химической ловушки в косвенных методах регистрации АФК связывается с изменением равновесной концентрации АФК, в данном случае мы считаем, что увеличение скорости выцветания НДМА в первую очередь вызвано концентрированием реагентов внутри органической оболочки КТ. Так, при имеющихся концентрациях реагентов в растворе (100 нМ КТ, 12 мМ ИА и 20 мкМ НДМА) в среднем на одну наночастицу приходится 500 молекул НДМА и 30 тыс. молекул ИА. Если предположить, что весь ИА в растворе находится в связанном с КТ состоянии (что точно установлено для НДМА), локальные концентрации реагентов в комплексе с КТ оказываются крайне высокими.

Увеличение локальной концентрации молекул-тушителей АФК имеет большое значение, поскольку АФК обладают ограниченным радиусом действия; так, средний пробег молекулы синглетного кислорода, являющегося основным продуктом фотодинамической активности Φ_c , в воде составляет несколько десятков нанометров [9]. Следовательно, эффективное повреждение молекул ИА возможно только в случае близкой локализации ИА к источнику АФК (Φ_c в комплексе с КТ). Известно, что ИА способен образовывать монолигандный комплекс с Φ_c в растворе путем координирования на атом металла в макроцикле Φ_c [10]. Нами показано, что ИА может непосредственно взаимодействовать с Φ_c и в полимерной оболочке КТ. При добавлении ИА в концентрации 12 мМ в раствор Φ_c (1,5 мкМ) мы наблюдали гипсохромный сдвиг спектра поглощения алюми-

ниевых Фц и батохромный сдвиг спектра поглощения цинковых Фц на $\sim 0,5$ и ~ 1 нм соответственно. В полимерной оболочке КТ, где спектр поглощения Фц оказывается смещен в красную область по сравнению с Фц в водном растворе, при добавлении ИА в той же концентрации наблюдается гипсохромный сдвиг полосы Q_1 поглощения всех Фц на ~ 1 нм; при этом оптическая плотность в области поглощения Фц несколько возрастает. По-видимому, присутствие ИА вызывает уменьшение прочности связей молекул Фц с полимерными цепями КТ, однако молекулы Фц не покидают комплекс.

Близкая локализация образующихся интермедиатов ИА к молекуле Фц может способствовать повреждению последней; действительно, в присутствии ИА скорость фотовыцветания Фц в буферном растворе возрастает (таблица). Однако если Фц при этом находится в комплексе с КТ, скорость фотовыцветания Фц, наоборот, снижается. Вероятно, данный эффект объясняется высокой локальной концентрацией НДМА в оболочке КТ и эффективной конкуренцией НДМА с Фц за интермедиаты ИА. Отметим, что присутствие НДМА не оказывает влияния на спектральные свойства Фц в буферном растворе или в комплексе с КТ.

Таким образом, при создании платформ для доставки молекул ФС к мишеням воздействия необходимо учитывать функциональное состояние действующего вещества в микроокружении, создаваемом наноплатформой. Если при осуществлении успешной доставки молекулы ФС, локализованные на наноплатформе, будут подвергаться освещению, эффективность действия ФС на биологические мишени может быть крайне низкой, поскольку образующиеся АФК будут повреждать в первую очередь молекулы ФС. Однако известно, что при увеличении концентрации Фц в составе комплекса с полупроводниковыми КТ, покрытыми полимерной оболочкой, скорость образования АФК существенно уменьшается вследствие концентрационных эффектов [11]. Важно, что данный эффект продемонстрирован для Фц в мономерной форме; некоторые Фц в высокой концентрации подвергаются димеризации при связывании с КТ [12], что должно привести к дополнительному снижению скорости образования АФК фотосенсибилизатором в составе наноплатформы. Следовательно, в условиях *in vivo* высокая концентрация ФС в составе векторной платформы должна способствовать уменьшению вероятности потери действующего вещества в результате фотовыцветания, так как в таких условиях образо-

вание АФК ингибировано. В данной работе мы не использовали высокие соотношения Фц:КТ, поскольку для изучения фотовыцветания ФС требуется эффективная генерация АФК.

С другой стороны, для увеличения эффективности фотодинамического действия ФС необходимо а) добиться полной разгрузки наноплатформы вблизи мишени воздействия либо б) обеспечить локализацию молекул ФС в поверхностном слое наноплатформы для более эффективной диффузии образующихся АФК в окружающий раствор. Этим особенностям должно быть уделено большое внимание при подборе компонентов для создания наноплатформы и оптимизации ее дизайна. Наличие же флуоресцирующего ядра в составе наноплатформы может стать дополнительным инструментом диагностики функционального состояния ФС в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*. Так, восстановление флуоресценции КТ при инкубации комплекса «КТ–Фц» с биологическими объектами может свидетельствовать а) о фотовыцветании Фц в составе комплекса или б) о выходе Фц из комплекса во внешнюю среду, поскольку в таком случае расстояние между Фц и КТ оказывается слишком большим для осуществления переноса энергии по механизму FRET. Эти процессы можно разделить, регистрируя флуоресценцию Фц при возбуждении в области поглощения КТ, так как сенсibilizированная флуоресценция Фц в случае «а» должна усиливаться при уменьшении соотношения Фц:КТ, а в случае «б», наоборот, уменьшаться вследствие дезинтеграции комплекса с переносом энергии.

В данной работе была исследована фотостабильность замещенных металлофталоцианинов в составе комплекса с КТ, покрытой полимерной оболочкой, для моделирования поведения Фц в составе наноплатформы для доставки ФС к мишени воздействия. При встраивании молекул Фц в полимерную оболочку наночастицы скорость фотовыцветания Фц увеличивается вследствие высокой концентрации АФК, образованных Фц, в оболочке КТ. Данный эффект необходимо учитывать при разработке систем доставки молекул ФС в процедурах фотодинамической терапии рака и инактивации микроорганизмов.

Исследования выполнены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ (проект № АААА-А16-116021660035-3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Annunzio S.R., Costa N.C.S., Mezzina R.D., Graminha M.A.S., Fontana C.R. Chlorin, phthalocyanine, and porphyrin types derivatives in phototreatment of cutaneous manifestations: A review // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20. N 16: 3861.

2. Ghorbani J., Rahban D., Aghamiri S., Teymouri A., Bahador A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: An overview // Laser Ther. 2018. Vol. 27. N 4. P. 293–302.

3. Martinez De Pinillos Bayona A., Mroz P., Thunshelle C., Hamblin M.R. Design features for optimization of

tetrapyrrole macrocycles as antimicrobial and anticancer photosensitizers // *Chem. Biol. Drug Des.* 2017. Vol. 89. N 2. P. 192–206.

4. *Bechet D., Couleaud P., Frochot C., Viriot M.L., Guillemain F., Barberi-Heyob M.* Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents // *Trends Biotechnol.* 2008. Vol. 26. N 11. P. 612–621.

5. *Samia A.C.S., Dayal S., Burda C.* Quantum dot-based energy transfer: perspectives and potential for applications in photodynamic therapy // *Photochem. Photobiol.* 2006. Vol. 82. N 3. P. 617–625.

6. *Kraljic I., Moshni S.E.* A new method for the detection of singlet oxygen in aqueous solutions // *Photochem. Photobiol.* 1978. Vol. 28. P. 577–581.

7. *Gvozdev D.A., Maksimov E.G., Strakhovskaya M.G., Ivanov M. V., Paschenko V.Z., Rubin A.B.* The effect of ionic strength on spectral properties of quantum dots and aluminum phthalocyanine complexes // *Nanotechnol. Russ.* 2017. Vol. 12. N 1–2. P. 73–85.

8. *Kuznetsova N.A., Makarov D.A., Yuzhakova O.A., Solovieva L.I., Kaliya O.L.* Study on the photostability of water-soluble Zn (II) and Al (III) phthalocyanines in aqueous solution // *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2010. Vol. 14. N 11. P. 968–974.

9. *Krasnovsky A.A. Jr.* Singlet molecular oxygen in photobiochemical systems: IR phosphorescence studies // *Membr. Cell Biol.* 1998. Vol. 12. N 5. P. 665–690.

10. *Zaitseva S.V., Zdanovich S.A., Koifman O.I.* Coordination properties of (chloro)aluminum-5,15-Diphenyloctaalkylporphyrin in the reactions with small organic molecules // *Russ. J. Coord. Chem.* 2010. Vol. 36. N 5. P. 323–329.

11. *Gvozdev D.A., Maksimov E.G., Strakhovskaya M.G., Moysenovich A.M., Ramonova A.A., Moisenovich M.M., Goryachev S.N., Paschenko V.Z., Rubin A.B.* A CdSe/ZnS quantum dot-based platform for the delivery of aluminum phthalocyanines to bacterial cells // *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* 2018. Vol. 187. P. 170–179.

12. *Martynenko I.V., Orlova A.O., Maslov V.G., Fedorov A.V., Berwick K., Baranov A.V.* The influence of phthalocyanine aggregation in complexes with CdSe/ZnS quantum dots on the photophysical properties of the complexes // *Beilstein J. Nanotechnol.* 2016. Vol. 7. N 1. P. 1018–1027.

Поступила в редакцию
09.10.2019 г.

После доработки
11.12.2019 г.

Принята в печать
25.12.2019 г.

RESEARCH ARTICLE

PHOTBLEACHING OF PHTHALOCYANINES IN THE COMPLEX WITH COLLOIDAL QUANTUM DOTS

D.A. Gvozdev*, E.G. Maksimov, V.Z. Paschenko

*Department of Biophysics, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia
email: danil131054@mail.ru

Currently, fluorescent nanoparticles are considered as promising enhancers of photodynamic activity of traditional photosensitizers in the procedures of photodynamic therapy of cancer and inactivation of pathogens. On the one hand, such nanoparticles act as a nanoplatform for target delivery of dye molecules to cells, on the other – as light-harvesting antennas that increase the effective absorption cross-section of the dye. In this paper the influence of semiconductor CdSe/ZnS quantum dots coated with a polymer shell on the photostability of zinc or aluminum polycationic phthalocyanines was studied. It was shown that in presence of the quantum dots the rate of photobleaching of phthalocyanines increases significantly both with direct illumination of phthalocyanine by red light and with the quantum dot-mediated illumination by blue light. This effect can be explained by the fact that phthalocyanine is the primary target for the attack of reactive oxygen species inside the polymer shell of the quantum dot. The rate of bleaching of chemical trap of the reactive oxygen species 4-nitroso-N,N-dimethylaniline in phthalocyanine solution increases in the presence of the quantum dot under red light illumination. We believe that the chemical trap is concentrated in the polymer shell of the quantum dot, which increases the probability of its damage by active oxygen species generated by the phthalocyanine. Since the diffusion of reactive oxygen species from the polymer shell of a nanoparticle into the surrounding solution is slow, the use of quantum dots as an enhancer of the photodynamic action of phthalocyanines can be effective only in the absence of significant steric obstacles to the diffusion of reactive oxygen species to the target molecules of photodynamic inactivation.

Keywords: *photobleaching, phthalocyanine, quantum dot, chemical trap, reactive oxygen species, imidazole*

Сведения об авторах

Гвоздев Даниил Александрович – науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-985-307-94-21; e-mail: danil131054@mail.ru

Максимов Евгений Георгиевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-926-735-04-37; e-mail: emaksimoff@yandex.ru

Пащенко Владимир Захарович – докт. физ.-мат. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-905-564-43-37; e-mail: vz.paschenko@gmail.com