

УДК 577

Влияние ионной силы на спектральные свойства комплексов квантовых точек и фталоцианинов алюминия

Д.А. Гвоздев¹, Е.Г. Максимов¹, М.Г. Страховская^{1,2}, М.В. Иванов¹, В.З. Пашенко¹, А.Б. Рубин¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

²Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Ореховый бульвар, 28
E-mail: danil131054@mail.ru

Поступила в редакцию: 01.07.2016

Принята в печать: 13.10.2016

Рассмотрено влияние ионной силы на спектральные свойства отрицательно заряженных полупроводниковых (CdSe/ZnS) нанокристаллов (квантовые точки, КТ) и поликатионных фталоцианинов алюминия (ФЦ). Показано, что образующийся путем самосборки комплекс КТ–ФЦ остается стабильным в широком диапазоне значений ионной силы раствора и соотношения концентраций [ФЦ]/[КТ]. Установлено, что эффективность безызлучательного переноса энергии от КТ к ФЦ возрастает при увеличении ионной силы раствора. Коэффициент усиления флуоресценции ФЦ снижается с ростом числа молекул ФЦ в комплексе с квантовой точкой, достигая отрицательных значений при высоких соотношениях [ФЦ]/[КТ], что может объясняться уменьшением влияния миграции энергии на общую флуоресценцию ФЦ на фоне значительной собственной поглощающей способности большого количества акцепторов. Обнаруженные эффекты представляют интерес с точки зрения разработки принципов отбора компонентов для гибридных комплексов, стабилизированных электростатическим взаимодействием.

INFLUENCE OF IONIC STRENGTH ON THE SPECTRAL PROPERTIES OF THE COMPLEXES OF THE QUANTUM DOTS AND ALUMINUM PHTHALOCYANINES

In the present study we report on the effect of ionic strength on the spectral properties of negatively charged semiconductor (CdSe/ZnS) nanocrystals (quantum dots, QDs), polycationic aluminum phthalocyanines (Pcs) and their complexes. It was shown that the QD–Pc complex formed by self-assembly remains stable over a wide range of ionic strength values (up to 0.2 M) and [Pc]/[QD] concentration ratio. It was found that the efficiency of nonradiative energy transfer from QD to Pc increases with the ionic strength. The best values of Pc fluorescence enhancement coefficient due to efficient excitation energy transfer from QDs were estimated at 4,36. Pc fluorescence enhancement coefficient decreases with increasing number of Pc molecules in complex with a quantum dot, reaching negative values at high [Pc]/[QD] ratios. This effect can be attributed to a decrease in the impact of the energy migration in the total Pc fluorescence due to a significant own absorption capacity of a large number of acceptors. These effects are of interest in terms of developing guidelines for the selection of the components of hybrid complexes stabilized by electrostatic interaction.

ВВЕДЕНИЕ

Фталоцианины (ФЦ) составляют многочисленную группу макроциклических красителей и по химической структуре относятся к тетраазобензопорфиринам. Фталоцианины обладают высокой фотостабильностью, и в фотовозбужденном состоянии запускают фотосенсибилизированные реакции с участием активных форм кислорода, включая синглетный кислород [1]. Последний образуется в результате миграции энергии с триплетного возбужденного состояния фталоцианина на триплетное основное состояние молекулярного кислорода. Флуоресцентные и сенсibiliзирующие свойства ФЦ используют в биомедицинских целях для флуоресцентной визуализации и диагностики [2], противоопухолевой фотодинамической терапии (ФДТ) [3], фотодинамической инактивации микроорганизмов [4], изменения внутриклеточного распределения вводимых соединений [5].

Существует ряд способов оптимизации физико-химических и спектральных свойств ФЦ. Включение в макроцикл в качестве центрального иона металла таких диамагнетиков, как Zn^{2+} или Al^{3+} , приводит к увеличению выхода триплетных возбужденных состояний ФЦ [6]. Гидрофобные свойства макроцикла металлофталоцианинов способствуют образованию в водных растворах нефлуоресцирующих и не способных к генерации синглетного кислорода димеров ФЦ. Однако образование замещенных металлофталоцианинов за счет введения ионогенных заместителей на периферии макроцикла снижает агрегацию ФЦ в водной среде [7]. Перспективным

направлением является создание гибридных комплексов фталоцианиновых флуоресцентных меток и фотосенсибилизаторов с молекулами и наночастицами, усиливающими фотодинамические свойства фотосенсибилизаторов за счет модификации их спектральных свойств и направленной доставки конструкции в клетку или ее компартменты [8, 9], например, с фуллеренами [10] или квантовыми точками [11–15].

Квантовые точки (КТ) давно привлекают внимание в контексте их использования в ФДТ и флуоресцентной диагностике [16–18]. Хотя сами по себе КТ не обладают собственными значительными фотодинамическими свойствами, благодаря высоким квантовым выходам флуоресценции они могут использоваться в качестве флуоресцентной метки для визуализации опухолей [19]. Также квантовые точки могут стать платформой для создания многокомпонентных комплексов с антителами или пептидами, увеличивающими эффективность проникновения комплекса в клетку [20, 21]. Но что гораздо интереснее, квантовые точки можно использовать для модификации спектральных свойств фотосенсибилизаторов. Известно, что КТ могут выступать в роли искусственного «светосборщика» (антенны), способного передавать энергию на акцепторы различной природы по индуктивно-резонансному механизму (FRET) [22, 23]. Фталоцианины имеют интенсивное поглощение в дальней красной или инфракрасной областях спектра с коэффициентами экстинкции более $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [7, 24], однако в видимой области спектра (400–600 нм) поглощение ФЦ, направ-

тив, невелико. В результате образования комплекса КТ–ФЦ (рис. 1а) и миграции энергии от КТ к ФЦ возрастает эффективное сечение поглощения ФЦ, особенно в сине-зеленой части спектра. Как следствие, увеличиваются интенсивность флуоресценции ФЦ и генерация активных форм кислорода [11, 12]. Такие комплексы могут оказаться полезными в ФДТ поверхностных опухолей, а также, вероятно, в двухфотонной ФДТ опухолей глубокого залегания, где собственное поглощение ФЦ в красной области спектра оказывается недостаточным.

Однако применимость технологии такого рода *in vivo* сильно зависит от свойств внутренней среды организма, которая не равнозначна раствору в чистой воде. Важным параметром, способным оказать значительное влияние на фотодинамические свойства и устойчивость комплексов КТ–ФЦ, является ионная сила среды. К настоящему моменту большинство исследованных гибридных комплексов КТ–ФЦ было получено путем самосборки и стабилизации за счет электростатических взаимодействий. Таким образом, исключительную важность имеет вопрос о сохранении фотодинамических свойств таких комплексов при значениях ионной силы окружающей среды, соответствующим таковым *in vivo* [15].

В этой работе мы исследовали устойчивость электростатически стабилизированных гибридных комплексов КТ–ФЦ при изменении ионной силы раствора в области ее физиологических значений. Была изучена структурная стабильность комплекса в растворах при возрастании ионной силы. Особое внимание уделялось изменению спектральных характеристик компонентов комплекса в зависимости от ионной силы среды, поскольку эффективность переноса энергии по механизму FRET зависит от перекрытия спектра флуоресценции донора энергии (КТ) со спектром поглощения ее акцептора (ФЦ) и от расстояния между КТ и ФЦ в комплексе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали два поликатионных холинилзамещенных фталоцианина алюминия (рис. 1б) со средней степенью замещения 4.5 и 6.5 (ФЦ(+4.5) и ФЦ(+6.5)), синтезированные в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК». Коэффициенты молярной экстинкции, максимумы поглощения и флуоресценции этих соединений в водном растворе представлены в табл. 1.

В качестве донора энергии для увеличения эффективного сечения поглощения ФЦ использовали квантовые точки с ядром из CdSe производства ООО НТИЦ «Нанотех-Дубна», Россия. Защитная оболочка из ZnS пассивирует поверхностные дефекты кристаллической решетки ядра, что усиливает флуоресцентные свойства КТ, а внешняя оболочка из органических лигандов (ориентированных карбоксильными группами во внешнюю среду) обеспечивает водорастворимость и отрицательный заряд КТ. В соответствии с результатами нашей предыдущей работы [25], ФЦ(+4.5) и ФЦ(+6.5) и КТ данного типа образовывали гибридные комплексы с высокоэффективным переносом энергии. В данной работе были выбраны КТ600 и КТ620, поскольку их квантовые выходы флуоресценции различаются более чем в 8 раз. Характеристики КТ600 и КТ620 указаны в табл. 2. Диаметры ядер КТ, коэффициенты их молярной экстинкции и концентрации были вычислены на основе эмпирических формул, приведенных в работе Yu с соавт. [26]. Квантовый выход флуоресценции КТ определяли по формуле

$$\varphi = \varphi_0 \frac{S D_0}{S_0 D}, \tag{1}$$

где φ – относительный квантовый выход, S – площадь под спектром флуоресценции, D – оптическая плотность рас-

твора на длине волны возбуждения флуоресценции (455 нм). Индекс 0 соответствует флуорофору-стандарту с известным квантовым выходом флуоресценции φ_0 . В качестве стандарта использовали родамин В (квантовый выход флуоресценции принимали равным 0.65 в спиртовом растворе [27]).

В экспериментах в качестве растворителя использовали дистиллированную воду. Для оценки влияния ионной силы на электростатическое взаимодействие КТ и ФЦ в комплексе готовились растворы с ионной силой в 0, 0.05, 0.1, 0.15 и 0.2 М (ионная сила плазмы крови человека и большинства других биологических жидкостей близка к 0.15). Необходимое значение ионной силы достигалось путем добавления в растворы КТ/ФЦ 2 М раствора NaCl.

Спектры поглощения регистрировали с помощью CCD-спектрометра USB2000 с дейтерий-вольфрамовой лампой DT-MINI-2-GS (Ocean Optics, США) в качестве источника света. Для регистрации стационарных спектров флуоресценции использовали CCD-спектрометр USB4000 (Ocean Optics, США). Измерения проводили в тонких 10×2-мм кварцевых кюветках. Поглощение ФЦ на длине волны возбуждения флуоресценции КТ за счет экранизации снижает реальную интенсивность возбуждающего светового луча. Кроме того, на длинах волн флуоресценции КТ поглощение ФЦ снижает измеряемую интенсивность свечения КТ. Таким образом, измеряемая величина интенсивности флуоресценции КТ становится меньше истинной. Для оценки и нивелирования этих

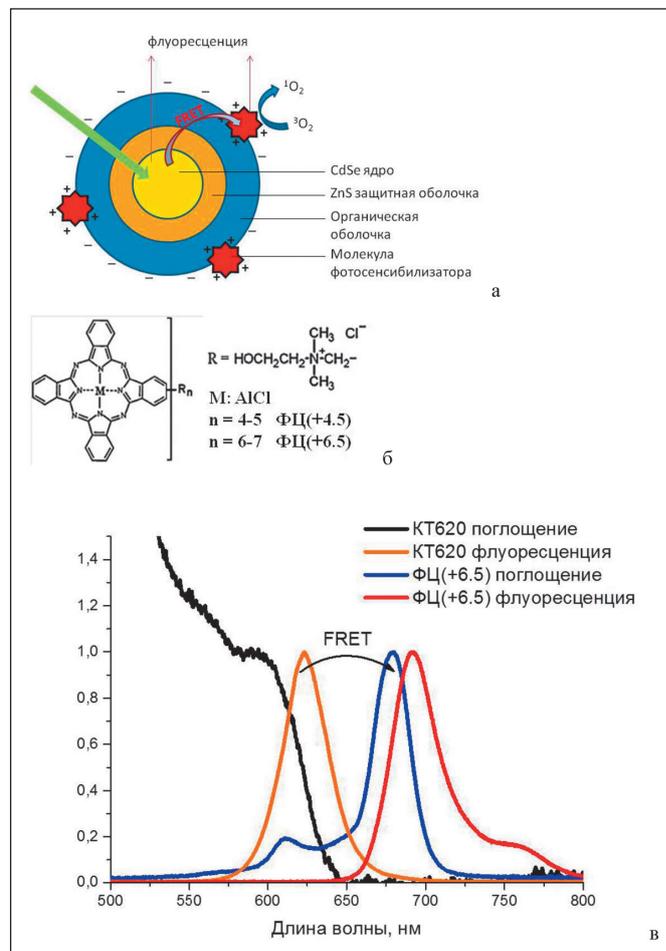


РИСУНОК 1 | а) Схема гибридного комплекса КТ–ФЦ. б) Структурные формулы фталоцианинов. n – средняя степень включения заместителей R. в) Нормированные спектры поглощения и флуоресценции КТ620 и ФЦ(+6.5)

ТАБЛИЦА 1 | Спектральные свойства замещенных фталоцианинов алюминия в растворах с разной ионной силой. Длина волны возбуждения флуоресценции 655 нм

	Ионная сила раствора, М	Положение максимума поглощения, нм	Положение максимума флуоресценции, нм	Коэффициент молярной экстинкции, М ⁻¹ см ⁻¹	Интенсивность флуоресценции, отн. ед.	Время жизни флуоресценции, нс
ФЦ(+4.5)	0	681.8	697.1	150000*	181.3	5.35
	0.05	683	698.5	164200	243.9	5.37
	0.1	683.4	698.7	171000	251.5	5.36
	0.15	683.7	698.7	175900	251.9	5.34
	0.2	683.7	698.7	178200	242.6	5.32
ФЦ(+6.5)	0	679.8	693.6	185000*	217.5	5.04
	0.05	681.4	694.8	190800	301.9	5.05
	0.1	682.4	694.8	195800	303.9	5.06
	0.15	682.7	694.8	200000	301.2	5.05
	0.2	683	694.8	206000	307.9	5.05

*Коэффициенты молярной экстинкции в водном растворе (без добавления соли) приведены в соответствии с данными Макарова с соавт. [7].

ТАБЛИЦА 2 | Спектральные свойства полупроводниковых нанокристаллов

Тип КТ	Максимум эмиссии, Нм	Квантовый выход флуоресценции, %	Диаметр ядра, Нм	Коэффициент молярной экстинкции, М ⁻¹ см ⁻¹
КТ600	613	4.5	3.3	141400
КТ620	622	38.4	4.1	240150

эффектов использовали коэффициент коррекции, предложенный в работе [28]:

$$\eta = \frac{A_{xo}A_{yo}(1-10^{-A_{xi}})(1-10^{-A_{yi}})}{A_{xi}A_{yi}(1-10^{-A_{xo}})(1-10^{-A_{yo}})} \quad (2)$$

где A_{yo} и A_{xo} – поглощение донора энергии (КТ) на длине волны максимума флуоресценции КТ и возбуждения флуоресценции КТ (405 нм) соответственно, а A_{yi} и A_{xi} – поглощение смеси донора и акцептора на тех же длинах волн. С помощью коэффициента вычисляли эффективность миграции энергии $W = 1 - I_{DA}/\eta I_D$, где I_{DA} – интенсивность флуоресценции донора энергии (КТ) в присутствии акцептора (ФЦ), I_D – интенсивность флуоресценции КТ в контроле в отсутствие тушителя.

Для исследования динамики фотоиндуцированных изменений флуоресценции и оптической плотности использовали программное обеспечение Spectrasuite (Ocean Optics, США). Мгновенные спектры флуоресценции с пикосекундным временным разрешением получали с помощью измерительного комплекса на основе системы однофотонного счета SimpleTau140 (Becker & Hickl, Германия) [29]. Для возбуждения флуоресценции КТ и ФЦ использовали светодиодные лазеры LDH-405 и PLS-445/660 (InTop, Россия): длительность импульса 25 пс, частота следования импульсов 10 МГц, энергия одиночного импульса 13 пДж, длина волны возбуждения флуоресценции 405, 445 и 655 нм соответственно. Сигнал флуоресценции по световоду, расположенному под углом 90°

к направлению возбуждающего света, 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 530–730 нм при использовании дифракционной решетки с разрешением 12.5 нм/канал. Среднее время жизни флуоресценции рассчитывали по формуле:

$$\tau = \sum_i a_i \tau_i \quad (3)$$

где τ_i – время жизни i -й компоненты, a_i – нормированный вклад i -й компоненты ($\sum a_i = 1$). Кинетики затухания флуоресценции аппроксимировали суммой трех экспонент для КТ и одной экспонентой для ФЦ.

Для изучения скорости вращения молекул регистрировали кинетики поляризации флуоресценции. Для этого кинетику затухания флуоресценции регистрировали при двух положениях широкополосных поляризационных фильтров WP25M-UB (Thorlabs, США), расположенных перед кюветой с образцом и на канале регистрации сигнала флуоресценции от образца. Кинетику анизотропии флуоресценции $r(t)$ вычисляли по формуле

$$r(t) = \frac{I_{VV}(t) - I_{VH}(t)}{I_{VV}(t) + 2I_{VH}(t)} \quad (4)$$

где $I_{VV}(t)$ и $I_{VH}(t)$ – кинетики затухания флуоресценции при параллельных и скрещенных поляризаторах соответ-

ственно. Измерения проводили в термостатируемой ячейке Qpod 2e (Quantum Northwest, США) при температуре 25 °С. Кинетику анизотропии флуоресценции аппроксимировали суммой экспонент

$$r(t) = \sum_i^n r_{0i} e^{-t/\theta_i},$$

где r_{0i} — максимальная (фундаментальная) анизотропия i -й компоненты, θ_i — корреляционное время вращения i -й компоненты, $n = 1, 2$.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

•ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФТАЛОЦИАНИНОВ

Известно, что ионная сила раствора, как и качественный состав ионов, оказывает значительное влияние на спектральные и фотодинамические характеристики порфиринов и ФЦ, в ряде случаев приводя к образованию димеров и агрегатов [30, 31]. Димеры легко детектируются по появлению в спектре поглощения пика в области 630–640 нм [7]. В выбранном интервале значений ионной силы (0.05–0.2 М) растворов использованных нами фталоцианинов мы не обнаружили агрегации молекул ФЦ. Тем не менее добавление соли в водные растворы ФЦ вызывает изменение как спектров поглощения, так и спектров флуоресценции (табл. 1).

При увеличении значения ионной силы в растворе мы наблюдали рост коэффициента молярной экстинкции ФЦ, а также сдвиг их спектров поглощения и флуоресценции в длинноволновую область, сопровождающийся уменьшением величины Стоксова сдвига. Возможно, это является следствием изменения сольватного состояния молекулы ФЦ и экранировки боковых заряженных групп ФЦ противоионами, так как изменение состояния и положения периферических заместителей при разных значениях ионной силы оказывает влияние на оптические свойства фталоцианинов [11]. При добавлении соли (увеличивая значение ионной силы раствора до 0.05 М) мы также наблюдали увеличение интенсивности флуоресценции ФЦ. Однако дальнейшее увеличение величины ионной силы до 0.2 М не оказывало значительного эффекта. По всей видимости, образование облака противоионов вокруг молекул ФЦ при первоначальном увеличении ионной силы раствора до 0.05 М имеет наибольшее значение в наблюдаемом эффекте [30, 31]. Как видно из табл. 1, хотя с ростом величины ионной силы также увеличивается оптическая плотность раствора ФЦ, не выполняется соотношение $I/I_0 = D/D_0$, где I и D — интенсивность флуоресценции ФЦ и оптическая плотность его раствора с ненулевой ионной силой, I_0 и D_0 — при нулевой ионной силе соответственно. Следовательно, в присутствии соли увеличивается квантовый выход флуоресценции ФЦ. В то же время мы не увидели достоверных изменений времени жизни флуоресценции ФЦ в зависимости от ионной силы, т.е. сумма констант дезактивации возбужденного состояния ФЦ должна оставаться постоянной. Это может говорить о том, что увеличение ионной силы раствора вызывает изменение зарядового состояния молекулы ФЦ и тем самым способствует увеличению константы флуоресценции, одновременно вызывая снижение вероятности дезактивации возбужденного состояния по другим каналам — внутренней конверсии или синглет-триплетному переходу.

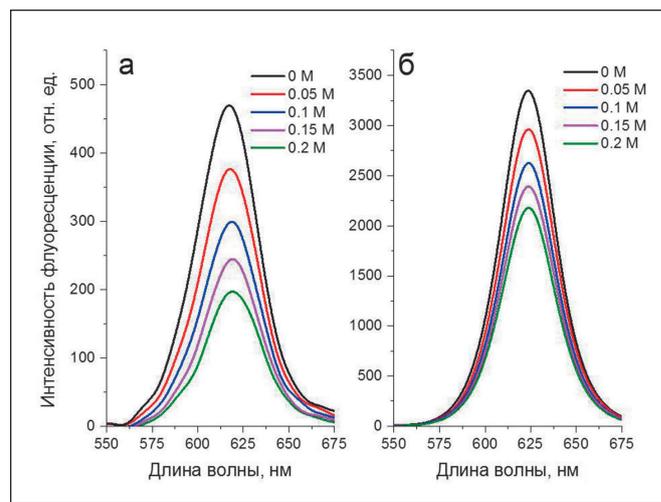


РИСУНОК 2 | Изменения спектра флуоресценции 0.1 мкМ раствора КТ600 (а) и КТ620 (б) в зависимости от ионной силы раствора

•ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Известно, что после поглощения кванта света в КТ и образования экситона один из носителей заряда (электрон или «дырка») может локализоваться на дефектах кристаллической структуры КТ. Таким образом, квантовая точка оказывается в «выключенном» состоянии, когда рекомбинация пары электрон-«дырка» и, следовательно, флуоресценция невозможны. Хотя механизмы захвата носителя заряда дефектами нанокристалла остаются предметом дискуссии [32], предполагается, что конформационное состояние лигандов во внешней органической оболочке КТ оказывает влияние на вероятность перехода квантовой точки в «выключенное» состояние. С увеличением ионной силы раствора использованные нами квантовые точки проявляли заметное уменьшение интенсивности (рис. 2) и времени жизни флуоресценции (КТ600 с 11.7 нс в водном растворе до 9.8 нс в растворе с ионной силой 0.2 М; КТ620 — с 19.4 до 16.7 нс). Возможно, катионы натрия, образующие облако противоионов у отрицательно заряженной поверхности КТ, таким образом, изменяют локальное электрическое поле и зарядовое состояние органической оболочки КТ, что увеличивает вероятность локализации носителя заряда на дефектах нанокристалла и тем самым способствует снижению квантового выхода флуоресценции. Нужно отметить, что при фиксированном значении ионной силы флуоресценция КТ600 тушится сильнее, чем флуоресценция КТ620. Вероятность перехода квантовой точки в «выключенное» состояние в значительной степени зависит от толщины защитной оболочки и количества дефектов на кристаллической решетке КТ [33] и определяет величину квантового выхода флуоресценции КТ. Как видно из рис. 2, в данном диапазоне значений ионной силы флуоресценция КТ600 тушится сильнее, чем КТ620, по-видимому, из-за тонкой защитной оболочки ZnS этой квантовой точки (подробнее см. раздел «Влияние ионной силы на эффективность переноса энергии в гибридном комплексе КТ–ФЦ»).

•ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОЕ СВЯЗЫВАНИЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК И ФТАЛОЦИАНИНОВ АЛЮМИНИЯ

Удобным способом проверки эффективности комплексообразования является анализ кинетики анизотропии флуоресценции фталоцианина, скорость вращения молекул которого зависит от массы, размера и формы гидратированного ФЦ или его комплекса с КТ. Для возбуждения флуоресценции

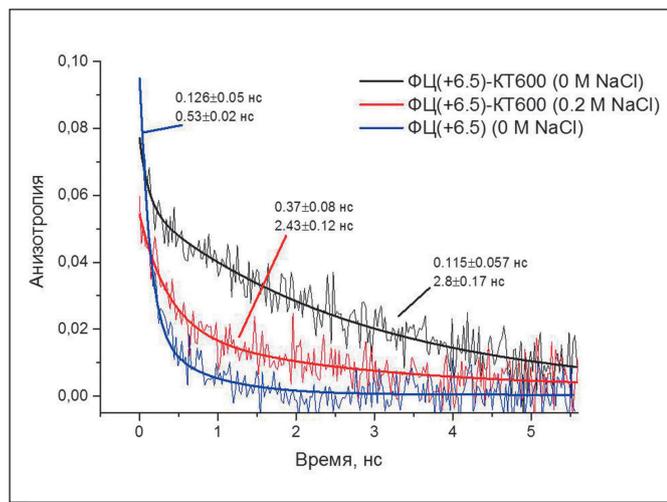


РИСУНОК 3 | Кинетика анизотропии флуоресценции фталоцианина ФЦ(+6.5) в водном растворе (синяя кривая), а также в комплексе с КТ600 ([ФЦ]/[КТ] = 1 : 1) в водном растворе (черная кривая) и в растворе с ионной силой 0.2 М (красная кривая)

в данном случае использовали красный лазер с длиной волны 655 нм, поскольку такое возбуждение является селективным для ФЦ (рис. 1в). При использовании источников с меньшей длиной волны регистрируемая анизотропия может дополнительно уменьшаться вследствие переноса энергии с КТ на ФЦ [34].

В контроле в водном растворе ФЦ в отсутствие квантовой точки оба типа ФЦ демонстрировали двухкомпонентную кинетику анизотропии с характерными значениями корреляционных времен вращения 0.1 и 0.5–0.6 нс (рис. 3, синяя кривая), $r_0 = \sum r_{0i}$ не превышала 0.1, что является верхним пределом фундаментальной анизотропии для молекул этого типа [35]. Поскольку дипольные моменты поглощения (в двух Q-полосах, где и происходило возбуждение флуоресценции) ФЦ лежат в плоскости макроцикла молекулы [36], быстрая компонента соответствует вращению в плоскости макроцикла. Это выражается в значительном падении амплитуды анизотропии от 0.09 до 0.02. Медленная компонента с меньшей амплитудой (порядка 0.02) соответствует вращению вне плоскости макроцикла, что требует большей перестройки водного окружения молекулы ФЦ. Интересно, что при добавлении соли в такой раствор кинетика анизотропии становится однокомпонентной с характерным временем вращения 0.4 нс. Очевидно, это говорит о том, что облако противоионов вокруг молекулы ФЦ способствует изменению формы молекулы, вращающейся вместе со своей гидратной оболочкой, с дискообразной на более близкую к сферической, и это вызывает вырождение корреляционных времен разных осей вращения в одно.

При добавлении к раствору ФЦ эквимольного количества КТ в кинетике анизотропии появляется новая компонента с характерными значениями корреляционных времен жизни 2.8–3 нс в водном растворе и 2.5 нс в растворе с ионной силой 0.2 М. По-видимому, это время соответствует вращению комплекса ФЦ–КТ. Быстрая компонента, характерная для свободного ФЦ, наблюдается в растворе ФЦ–КТ (рис. 3) только в первые минуты после приготовления раствора. Кинетики анизотропии растворов ФЦ–КТ, инкубированных в течение получаса, содержат только одну компоненту, соответствующую вращению комплекса КТ–ФЦ (см. рис. 6б). Следовательно, к этому времени все молекулы ФЦ, находящиеся в растворе, оказываются в связанном с КТ состоянии.

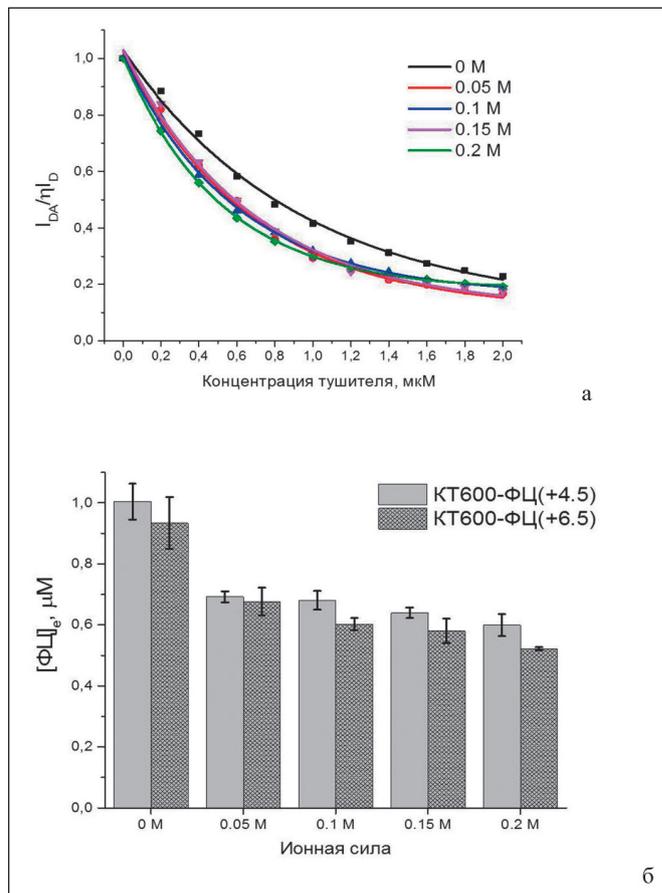


РИСУНОК 4 | а) Изменения относительного квантового выхода флуоресценции КТ600 в паре с ФЦ(+6.5) в зависимости от концентрации фталоцианина при различной ионной силе раствора. б) Концентрация ФЦ, вызывающая тушение флуоресценции КТ в e раз (получена путем аппроксимации кривых тушения флуоресценции КТ на рис. 4а моноэкспонентой) в зависимости от ионной силы

Моноэкспоненциальный характер кинетики анизотропии, устанавливающийся после инкубации фталоцианина с квантовыми точками, свидетельствует, что молекулы ФЦ не испытывают каких-либо вращательных движений на поверхности квантовой точки.

Таким образом, можно утверждать, что во всем исследованном интервале концентраций и величин ионной силы большинство молекул ФЦ находятся в связанном с поверхностью КТ состоянии.

•ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ В ГИБРИДНОМ КОМПЛЕКСЕ КТ–ФЦ

В комплексе, где имеет место миграция энергии, ее эффективность определяется степенью тушения флуоресценции донора энергии, в нашем случае таковой являлась КТ. Для эксперимента по изучению эффективности миграции энергии в комплексе КТ–ФЦ в зависимости от ионной силы были приготовлены пять растворов со значением ионной силы 0, 0.05, 0.1, 0.15 и 0.2 М соответственно. Далее к этим растворам, содержащим КТ в концентрации 0.2 мкМ, производилось последовательное добавление тушителя (ФЦ), при котором каждая новая порция ФЦ приводила к возрастанию его концентрации в конечном растворе на 0.2 мкМ. Таким образом, соотношение [ФЦ]/[КТ] в растворе росло от 1 : 1 до 10 : 1. Через 3 мин после добавления каждой очередной порции ФЦ и установления равновесия регистриро-

ТАБЛИЦА 3 | Параметры FRET для различных комбинаций КТ и ФЦ. R_0 – ферстеровский радиус, R – расстояние между донором и акцептором энергии, W – эффективность миграции энергии, S – интеграл перекрывания спектров флуоресценции КТ и поглощения ФЦ, k – константа скорости миграции энергии. Значения указаны для комплекса с соотношением $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}] = 1 : 1$ в дистиллированной воде

Состав комплекса		$R_0, \text{Å}$	$R, \text{Å}$	$W, \%$	$S, \times 10^{-13} \text{ см}^{-6}$	$k, \times 10^7 \text{ с}^{-1}$
КТ600	ФЦ(+4.5)	29.8	42.1	11.1	3.33	1.46
	ФЦ(+6.5)	33	40.8	21.9	6.15	3.27
КТ620	ФЦ(+4.5)	43.6	56.6	17.3	3.52	1.19
	ФЦ(+6.5)	48.5	58	25.5	6.67	1.95

вали интенсивность и время жизни флуоресценции донора и акцептора энергии методом счета фотонов. Одновременно производилась регистрация стационарных спектров флуоресценции, что позволяло контролировать возможное изменение формы спектров. На основании полученных данных строили зависимости $I_{\text{DA}}/\eta I_{\text{D}}$ и $\tau_{\text{DA}}/\tau_{\text{D}}$ от концентрации ФЦ, где I_{DA} и τ_{DA} – интенсивность и время жизни флуоресценции донора энергии (КТ) в присутствии акцептора (ФЦ), I_{D} и τ_{D} – интенсивность и время жизни флуоресценции КТ в контроле в отсутствие тушителя. Данные по тушению флуоресценции КТ фталоцианинами алюминия показаны на *рис. 4* на примере КТ600. Нужно отметить, что зависимости $I_{\text{DA}}/\eta I_{\text{D}}$ и $\tau_{\text{DA}}/\tau_{\text{D}}$ для каждой пары КТ–ФЦ и при каждом значении ионной силы практически идентичны, что говорит об отсутствии значимого вклада статического тушения.

Зная отношение $\tau_{\text{DA}}/\tau_{\text{D}}$, легко вычислить эффективность миграции энергии $W = 1 - \tau_{\text{DA}}/\tau_{\text{D}}$. Кроме того, в программе PhotochemCAD были рассчитаны интегралы перекрывания S -спектров флуоресценции КТ и спектров поглощения ФЦ, что позволило определить для каждого комплекса ферстеровские радиусы

$$R_0 = \sqrt[6]{8.8 \times 10^{-25} (\chi^2 n^4 \varphi_d S)},$$

где φ_d – квантовый выход флуоресценции донора энергии в отсутствие акцептора, χ^2 – фактор, описывающий взаимную ориентацию дипольных моментов донора и акцептора (в растворе вследствие случайной ориентации дипольных моментов значение χ^2 принимают равным 2/3), n – показатель преломления среды. Расстояние R между донором и акцептором определяется формулой $W = 1/(1+(R_0/R)^6)$, а константа скорости миграции энергии $k = (R_0/R)^6/\tau_{\text{D}}$. Значения перечисленных выше параметров приведены в *табл. 3* для всех пар КТ–ФЦ в водном растворе с соотношением концентраций $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}] = 1 : 1$.

Из *табл. 3* следует, что расстояние R между донором и акцептором для каждой КТ практически не зависит от типа ФЦ. Это говорит о том, что молекулы ФЦ в водных растворах формируют с квантовыми точками стабильные комплексы, причем расстояние R , по-видимому, одновременно является радиусом КТ. Таким образом, исходя из данных *табл. 3*, разность R для КТ600 и КТ620 с учетом погрешности можно оценить в 1.6 нм, что в 4 раза больше, чем разница в радиусах их ядер (*табл. 2*). Поскольку состав и толщина органической оболочки, обеспечивающей КТ водорастворимость и заряд, для КТ600 и КТ620 одинаковы, то дополнительная разница радиусов КТ в 1.2 нм должна быть связана с неодинаковостью толщины защитной оболочки ZnS ядер КТ600 и КТ620. Вероятно, у КТ600 она очень тонкая и, следовательно [33], мало защищает от захвата носителя заряда дефектами кристаллической решетки ядра. Это согласуется с низким квантовым выходом флуоресценции КТ600 (4.5 %).

Из *рис. 4* видно, что при переходе из водного раствора в раствор с ненулевой ионной силой эффективность миграции энергии от КТ к ФЦ увеличивается, а при дальнейшем увеличении значений ионной силы раствора эффект уже мало зависит от ее величины. Мы полагаем, что наблюдаемая картина является следствием совокупного эффекта трех различных факторов. Во-первых, с увеличением ионной силы мы наблюдали рост поглощающей способности ФЦ в отсутствие КТ (*табл. 1*). Увеличение молярного коэффициента поглощения ФЦ приводит к росту величины интеграла перекрывания спектров S и потому в значительной степени ответственно за увеличение эффективности переноса энергии при переходе из водного раствора в раствор с ненулевой ионной силой. Во-вторых, в растворе квантовых точек без ФЦ с увеличением ионной силы происходит заметное уменьшение квантового выхода флуоресценции КТ, что должно, наоборот, вызывать снижение эффективности миграции энергии в системе при увеличении ионной силы раствора. Третьим фактором является ослабление силы электростатического взаимодействия между КТ и ФЦ в комплексе с ростом ионной силы раствора, что может снизить эффективность миграции энергии вследствие увеличения расстояния между донором и акцептором энергии. Однако анализ данных по тушению флуоресценции КТ не выявил достоверных изменений расстояния между КТ и ФЦ в комплексе в зависимости от величины ионной силы.

Как было показано в работах [25, 37], в результате миграции энергии от КТ увеличивается интенсивность флуоресценции некоторых фотосенсибилизаторов, что сопровождается увеличением скорости генерации синглетного кислорода. Для оценки интенсивности свечения ФЦ в комплексе с КТ мы рассчитывали коэффициент усиления флуоресценции A по следующей формуле:

$$A = \frac{F - F_0}{F_0} = \frac{F}{F_0} - 1, \tag{5}$$

где F – интенсивность флуоресценции ФЦ в комплексе с КТ (при длине волны возбуждения 405 нм), F_0 – интенсивность флуоресценции ФЦ в той же концентрации в отсутствие КТ. Значения параметра A для ФЦ в парах с различными квантовыми точками ($[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}] = 1 : 1$ для соответствия *табл. 3*) в зависимости от ионной силы раствора приведены в *табл. 4*.

Из *табл. 4* видно, что величина коэффициента усиления флуоресценции ФЦ в паре с КТ620 больше, чем в паре с КТ600, что совпадает с большей эффективностью миграции энергии в комплексах ФЦ с КТ620. Однако наибольшие значения параметра A наблюдаются в комплексах квантовых точек с ФЦ(+4.5), а не ФЦ(+6.5), хотя эффективность миграции энергии в комплексах КТ с ФЦ(+4.5) меньше, чем с ФЦ(+6.5) (*табл. 3*). Важно отметить, что коэффициент усиления флуоресценции не отражает эффективность самого безызлучательного переноса энергии от КТ на ФЦ. Чтобы

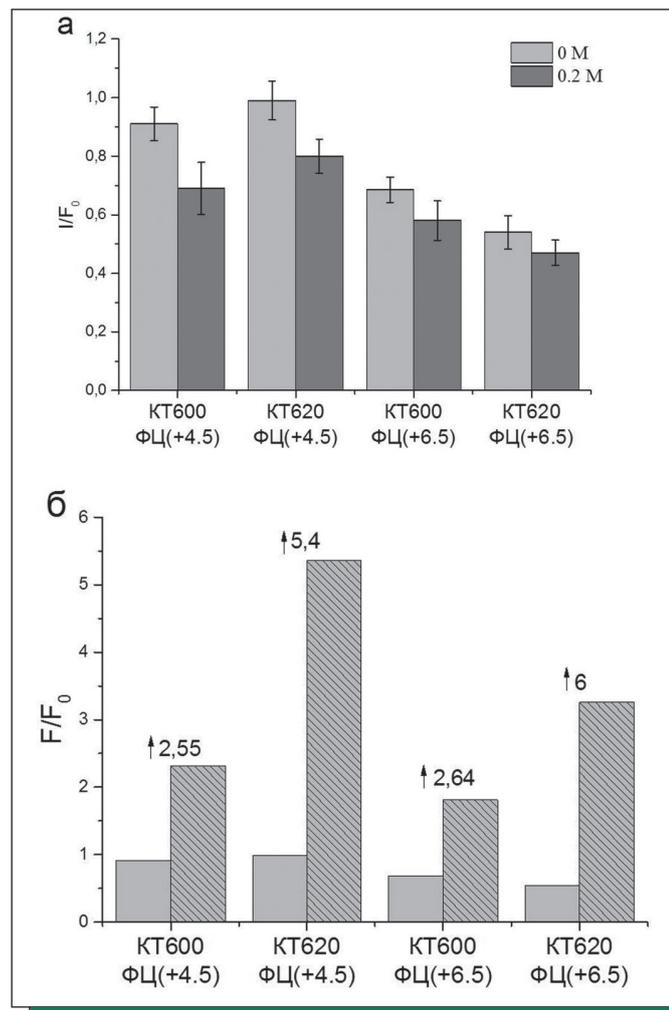


РИСУНОК 5 а) Интенсивность I флуоресценции ФЦ, отнесенная к ее значению F_0 в растворе ФЦ без КТ, в парах с различными КТ при значении ионной силы раствора 0 М (синие столбцы) и 0.2 М (красные столбцы). Возбуждение на длине волны 655 нм. б) Сравнительные изменения интенсивности флуоресценции ФЦ в результате образования гибридного комплекса (синие столбцы, из рис. 5а) и в результате миграции энергии (желтые столбцы; данные взяты из табл. 4 для водного раствора, $F/F_0 = A + 1$). Цифры со стрелками показывают, во сколько раз возросла интенсивность флуоресценции ФЦ, находящегося на поверхности КТ, в результате миграции энергии. $[ФЦ]/[КТ] = 1 : 1$

оценить увеличение интенсивности флуоресценции ФЦ непосредственно вследствие миграции энергии от квантовой точки, необходимо в качестве F_0 (в формуле (5)) использовать интенсивность I флуоресценции ФЦ на поверхности КТ в отсутствие миграции энергии, поскольку в результате адсорбции молекул ФЦ на поверхности внешней органической оболочки КТ спектральные свойства молекулы ФЦ могут изменяться. Для проверки этого предположения методом счета фотонов при возбуждении светом с $\lambda = 655$ нм регистрировали интенсивность флуоресценции раствора ФЦ до и после добавления КТ ($[ФЦ]/[КТ] = 1 : 1$). Поскольку коэффициент экстинкции квантовых точек на используемой длине волны излучения лазера крайне мал (рис. 1в), то все наблюдаемые изменения флуоресценции ФЦ не являлись следствием миграции энергии. Результаты показаны на рис. 5а.

Из рис. 5а (синие столбцы) следует, что интенсивность флуоресценции ФЦ при взаимодействии с КТ снижается ($I/F_0 < 1$), вероятно, в результате изменения конформации

молекулы ФЦ при адсорбции на поверхность КТ. В случае ФЦ(+6.5) это снижение весьма значительно (на 30 % в комплексе с КТ600 и 45 % в комплексе с КТ620). Поскольку ФЦ(+6.5) по сравнению с ФЦ(+4.5) несет большее число зарядов, то его электростатическое взаимодействие с КТ должно быть сильнее, и, следовательно, изменение конформации более выражено, что приводит к большему падению интенсивности флуоресценции. Таким образом, в формуле для коэффициента усиления флуоресценции в качестве контроля следует брать интенсивность флуоресценции ФЦ на поверхности КТ, а не в растворе в отсутствие квантовой точки. В таком случае коэффициент усиления флуоресценции вследствие миграции энергии (равный цифре со стрелкой на рис. 5б за вычетом единицы) для ФЦ(+6.5) окажется выше, чем для ФЦ(+4.5).

Суммируя вышесказанное, можно сделать следующие предположения о характере взаимодействия КТ и ФЦ в комплексе:

КТ и ФЦ в водном растворе формируют устойчивый комплекс на основе электростатического взаимодействия положительно заряженных боковых радикалов ФЦ с отрицательными зарядами органической оболочки КТ. Предполагаем, что заряды боковых радикалов не позволяют проникнуть молекуле ФЦ внутрь органической оболочки.

При взаимодействии и образовании электростатических связей участвуют все боковые холиновые радикалы ФЦ. Таким образом, молекула ФЦ расположена параллельно поверхности КТ и не способна вращаться.

Молекула ФЦ, связанная с квантовой точкой, находится в ином конформационном состоянии по сравнению с равновесной конформацией в растворе, что приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции фталоцианина.

На основе данных положений можно высказать некоторые замечания относительно влияния ионной силы на взаимодействие КТ и ФЦ в гибридном комплексе. Во-первых, увеличение ионной силы раствора должно вызывать ослабление электростатического взаимодействия между КТ и ФЦ, в результате чего конформации свободного ФЦ и ФЦ в комплексе с КТ не будут столь сильно отличаться друг от друга. Во-вторых, величина ионной силы раствора может оказывать влияние непосредственно на спектральные свойства ФЦ, связанного с квантовой точкой. Это означает, что интенсивность флуоресценции ФЦ на поверхности КТ с увеличением ионной силы должна расти и приближаться к своему значению в растворе ФЦ без КТ. Действительно, если сравнить интенсивность флуоресценции ФЦ на поверхности КТ до и после добавления в раствор хлорида натрия, то оказывается, что в присутствии NaCl интенсивность флуоресценции выше (на ~10 % во всех парах КТ–ФЦ, данные не показаны). Однако, как видно на рис. 5а, значение I/F_0 в присутствии соли (красные столбцы) ниже, чем в воде (синие столбцы). Очевидно, это связано с ростом квантового выхода флуоресценции раствора ФЦ в присутствии соли, в результате чего значение знаменателя F_0 в растворе с ионной силой 0.2 М значительно превышает значение F_0 в отсутствие соли. По этой же причине (роста интенсивности флуоресценции ФЦ с увеличением ионной силы в контроле в отсутствие КТ) при добавлении соли падает параметр A ФЦ (табл. 4), в то время как эффективность миграции энергии возрастает.

Использованный 16-канальный детектор счета фотонов спектральной ширины 200 нм позволял одновременно регистрировать флуоресценцию как КТ, так и ФЦ, поэтому коэффициент усиления флуоресценции ФЦ был рассчитан одновременно с кривыми тушения флуоресценции КТ (на рис. 4а) для тех же соотношений $[ФЦ]/[КТ]$. В этом экспе-

ТАБЛИЦА 4 | Коэффициент усиления флуоресценции ФЦ в парах с различными КТ в зависимости от ионной силы раствора

Ионная сила, М	КТ600-ФЦ(+4.5)	КТ620-ФЦ(+4.5)	КТ600-ФЦ(+6.5)	КТ620-ФЦ(+6.5)
0	1.32	4.36	0.81	2.26
0.05	0.63	3.44	-0.04	0.85
0.1	0.24	2.67	-0.19	0.69
0.15	0.01	2.02	-0.26	0.45
0.2	-0.04	1.81	-0.28	0.44

рименте мы наблюдали уменьшение параметра A с ростом концентрации ФЦ. В некоторых работах [38, 39] показано, что фотодинамические и спектральные свойства некоторых фотосенсибилизаторов в комплексах с квантовыми точками при высоких соотношениях $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}]$ оказываются менее выраженными, чем у исходного раствора ФС. Можно предположить, что если общее число акцепторов на поверхности КТ значительно увеличивается, то решающий вклад во флуоресценцию образца вносят не получающие энергию от КТ молекулы ФЦ (которые флуоресцируют с пониженной интенсивностью по сравнению с ФЦ в растворе) и потому коэффициент усиления флуоресценции ФЦ падает и может стать отрицательным. Показатель A был рассчитан для ФЦ(+4.5) в парах с КТ600 и КТ620 в большом интервале концентраций ФЦ, где соотношение $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}]$ варьировали от 1 : 1 до 100 : 1 (рис. 6а). Кроме того, для трех точек этой зависимости ($[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}] = 25 : 1, 50 : 1$ и $100 : 1$) были рассчитаны кинетики анизотропии (рис. 6б) флуоресценции ФЦ(+4.5). Установлено, что с ростом концентрации ФЦ параметр A уменьшается, причем при высоких концентрациях ФЦ коэффициент усиления флуоресценции становится отрицательным, что подтверждает наши предположения. При этом все молекулы ФЦ даже при очень высоких соотношениях $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}]$ оказываются связанными с КТ, поскольку коэффициент усиления флуоресценции ФЦ так и остается отрицательным, а кинетики анизотропии флуоресценции КТ описываются в одноэкспоненциальном приближении, что означает отсутствие свободных молекул ФЦ в растворе. Действительно, оценка площади поверхности использованных нами квантовых точек (порядка 210 nm^2 для КТ600 и 410 nm^2 для КТ620) позволяет предположить адсорбцию в монослой с плотной упаковкой порядка 65 и 130 молекул ФЦ соответственно (площадь молекулы ФЦ в плоскости макроцикла около 3.2 nm^2). На самом деле, адсорбироваться на поверхность КТ может и большее число молекул ФЦ, взаимодействуя с зарядами органической оболочки КТ не всеми холинными радикалами (т.е. когда плоскость молекулы ФЦ перпендикулярна поверхности КТ).

Кинетики анизотропии флуоресценции ФЦ на рис. 6б отличаются амплитудой r_0 , которая падает с ростом соотношения $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}]$. Известно, что наличие переноса энергии вызывает снижение фундаментальной анизотропии [34]. Очевидно, с ростом локальной концентрации молекул ФЦ на поверхности КТ возрастает вероятность переноса энергии (по механизму Ферстера [40]) между соседними молекулами ФЦ. Перенос энергии может иметь место, поскольку величина Стокса сдвига в спектре фталоцианинов достаточно мала, что обеспечивает значительное перекрытие спектров флуоресценции донорной молекулы ФЦ и спектра поглощения акцепторной молекулы ФЦ. Нужно отметить, что в контроле без КТ зависимость флуоресценции ФЦ от его концентрации переставала быть линейной, достигая насыщения и затем

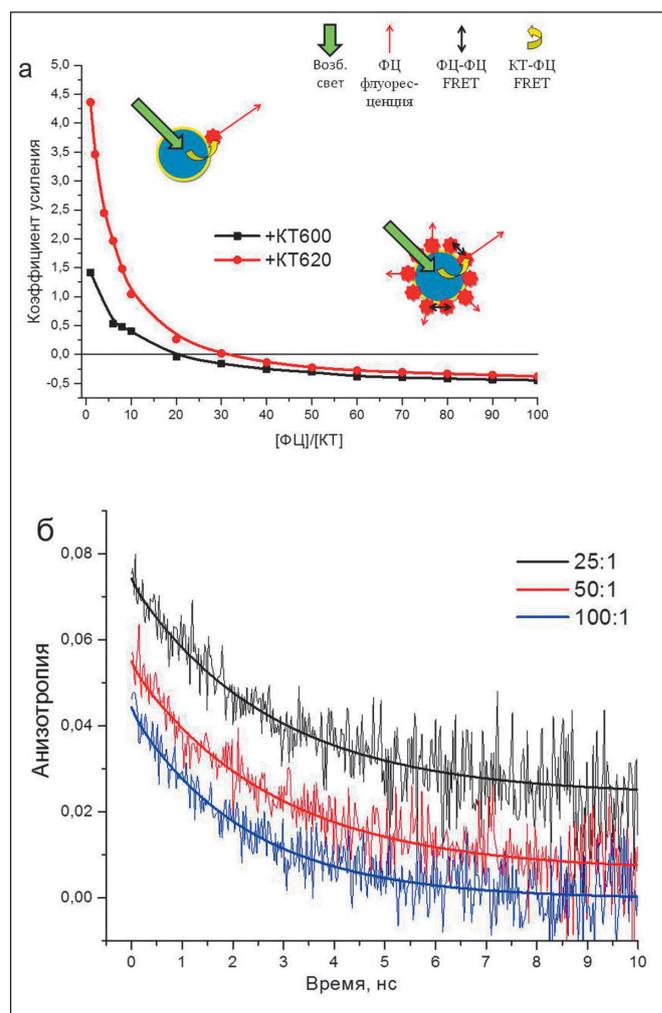


РИСУНОК 6 | а) Концентрационная зависимость коэффициента усиления флуоресценции ФЦ(+4.5) в парах с различными КТ в водном растворе. б) Кинетики анизотропии флуоресценции ФЦ(+4.5) в паре с КТ600 при различных соотношениях $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}]$. Инкубация в течение получаса

уменьшаясь при увеличении концентрации ФЦ свыше 14 μM , что соответствует отношению $[\text{ФЦ}]/[\text{КТ}] = 70 : 1$ на рис. 6а. Возможно, концентрационное тушение флуоресценции ФЦ на поверхности КТ может наступать при еще меньших концентрациях ФЦ, что вызовет уменьшение измеряемого коэффициента усиления флуоресценции ФЦ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе исследовано влияние ионной силы на стабильность и процессы миграции энергии в гибридных ком-

плексах на основе полупроводниковых квантовых точек и замещенных фталоцианинов алюминия. Мы показали, что электростатическое взаимодействие в гибридном комплексе КТ–ФЦ достаточно велико, поскольку увеличение ионной силы раствора до физиологических значений (0.15–0.2 М) не нарушает стабильности комплекса КТ–ФЦ; кроме того, наличие ионов NaCl в растворе способствует усилению эффективности миграции энергии в комплексе. Тем не менее поведение комплекса КТ–ФЦ во внутренней среде организма требует дополнительных исследований. Так, влияние многих видов органических и неорганических ионов, а также белковой фракции на свойства гибридных комплексов все еще достаточно слабо изучено.

При образовании комплекса с КТ в отсутствие миграции энергии происходит уменьшение интенсивности флуоресценции фталоцианина, причем этот эффект определяется как размером квантовой точки, так и количеством положительных зарядов на периферии макроцикла молекулы ФЦ. Последнее возможно лишь в том случае, когда молекула ФЦ взаимодействует с поверхностью КТ всеми боковыми заместителями (или, по крайней мере, большинством). Это находит подтверждение в эксперименте по изучению кинетики анизотропии флуоресценции ФЦ, где при образовании гибридного комплекса в растворе мы не наблюдаем собственного вращения ФЦ на поверхности КТ. Вероятно, уменьшение интенсивности флуоресценции ФЦ может быть связано с изменением конформационного состояния молекулы ФЦ при адсорбции на поверхность КТ. Поскольку характер изменения конформационного состояния ФЦ определяет-

ся силой электростатического притяжения ФЦ к квантовой точке, увеличение ионной силы раствора приводит к ослаблению электростатического взаимодействия и частичному восстановлению интенсивности флуоресценции ФЦ.

Установленные зависимости величины миграции энергии от качественного и количественного состава комплексов КТ–ФЦ в значительной степени способствуют созданию гибридных комплексов с улучшенными фотофизическими и фотохимическими характеристиками. Согласно нашим данным, использование квантовых точек в качестве искусственных антенных комплексов для молекул ФЦ оправданно лишь тогда, когда количество молекул акцептора энергии, приходящихся на одну молекулу донора энергии (КТ), не превышает 10–15. Дальнейшее увеличение числа молекул ФЦ приводит к значительному падению интенсивности их флуоресценции вследствие концентрационного тушения и снижению способности КТ обслуживать большое число акцепторов энергии. Экстремально низкие соотношения [ФЦ]/[КТ] (1 : 1) также оказываются невыгодными, так как при этом эффективность миграции энергии в гибридном комплексе составляет величину порядка 20 %.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 15-04-01930 А, 15-29-01167 офи_м, 14-04-01536 А) и Министерством образования и науки Российской Федерации грант Президента РФ МК-5949.2015.4. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы в рамках научного проекта № 15-34-70007 «мол_а_мос».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Spikes J.D. Phthalocyanines as photosensitizers in biological systems and for the photodynamic therapy of tumors // *Photochemistry and Photobiology*. 1986. V. 43. № 6. P. 691–699.
- Lv F., Cao B., Cui Y., Liu T. Zinc phthalocyanine labelled polyethylene glycol: preparation, characterization, interaction with bovine serum albumin and near infrared fluorescence imaging *in vivo* // *Molecules*. 2012. V. 17. № 6. P. 6348–6361.
- Bonnett R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy // *Chem. Soc. Rev.* 1995. V. 24. № 1. P. 19–33.
- 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. Электростатическое связывание замещенных металлофталоцианинов с клетками энтеробактерий: роль в фотодинамической инактивации // *Биохимия*. 2009. Т. 74. № 12. С. 1603–1614.
- Selbo P.K., Hogset A., Prasmickaite L., Berg K. Photochemical internalisation: a novel drug delivery system // *Tumour Biol*. 2002. V. 23. № 2. P. 103–112.
- Ali H., van Lier J.E. Metal complexes as photo- and radiosensitizers // *Chem Rev*. 1999. V. 99. № 9. P. 2379–2450.
- Макаров Д.А., Кузнецова Н.А., Южакова О.А., Савина Л.П., Каляя О.Л., Лукьянец Е.А., Негримовский В.М., Страховская М.Г. Поликатионные фталоцианины цинка и алюминия: синтез, влияние степени замещения на физико-химические свойства и фотодинамическую активность в водной среде // *Журн. физической химии*. 2009. Т. 83. № 6. С. 1183–1190.
- Slastnikova T., Rosenkranz A., Zalutsky M., and Sobolev A. Modular nanoprotectors for targeted intracellular delivery of drugs: folate receptors as potential targets // *Current Pharmaceutical Design*. 2009. V. 21. № 9. P. 1227–1238.
- Muehlmann L.A., Ma B.C., Longo J.P., Almeida Santos M. de F., Azevedo R.B. Aluminum-phthalocyanine chloride associated to poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) nanoparticles as a new third-generation photosensitizer for anticancer photodynamic therapy // *Int. J. Nanomedicine*. 2014. V. 9. P. 1199–1213.
- Huang Y.Y., Sharma S.K., Yin R., Agrawal T., Chiang L.Y., Hamblin M.R. Functionalized fullerenes in photodynamic therapy // *J. Biomed. Nanotechnol*. 2014. V. 10. № 9. P. 1918–1936.
- Tekdas D.A., Durmus M., Yanika H., Ahsena V. Photodynamic therapy potential of thiol-stabilized CdTe quantum dot-group 3A phthalocyanine conjugates (QD-Pc) // *Spectrochimica Acta Part A* 93. 2012. P. 313–320.
- Skripka A., Valanciunaite J., Dauderis G., Poderys V., Kubiliute R., and Rotomskis R. Two-photon excited quantum dots as energy donors for photosensitizer chlorin e6 // *J. of Biomedical Optics*. 2013. V. 18. № 7. P. 078002.
- Li L., Zhao J.F., Won N., Jin H., Kim S., and Chen J.Y. Quantum dot aluminum phthalocyanine conjugates perform photodynamic reactions to kill cancer cells via fluorescence resonance energy transfer (FRET) // *Nanoscale Res. Lett*. 2012. V. 7. P. 386.
- Viana O.S., Ribeiro M.S., Rodas A.C., Rebouças J.S., Fontes A., Santos B.S. Comparative Study on the Efficiency of the Photodynamic Inactivation of *Candida albicans* Using CdTe Quantum Dots, Zn(II) Porphyrin and Their Conjugates as Photosensitizers // *Molecules*. 2015. V. 20. № 5. P. 8893–8912.
- D'Souza S., Antunes E., Nyokong T. Synthesis and photophysical studies of CdTe quantum dot-monosubstituted zinc phthalocyanine conjugates // *Inorganica Chimica Acta*. 2011. V. 367. № 1. P. 173–181.
- Samia A.C.S., Chen X., Burda C. Semiconductor quantum dots for photodynamic therapy // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125. № 51. P. 15736–15737.
- Rizvi S.B., Rouhi S., Taniguchi S., Yang S.Y., Green M., Keshtgar M., Seifalian A.M. Near-infrared quantum dots for HER2 localization and imaging of cancer cells // *Int. J. Nanomedicine*. 2014. V. 9. P. 1323–1337.
- Kamila S., McEwan C., Costley D., Atchison J., Sheng Y., Hamilton G.R., Fowley C., Callan J.F. Diagnostic and Therapeutic Applications of Quantum Dots in Nanomedicine // *Top. Curr. Chem*. 2016. V. 370. P. 203–224.
- Biju V., Mundayoor S., Omkumar R.V., Anas A., Ishikawa M. Bioconjugated quantum dots for cancer research: Present status, prospects and remaining issues // *Biotechnology Advances*. 2010. V. 28. P. 199–213.
- Hafian H., Sukhanova A., Turini M., Chames P., Baty D., Pluot M., Cohen J.H., Nabiev I., Millot J.M. Multiphoton imaging of tumor biomarkers with conjugates of single-domain antibodies and quantum dots // *Nanomedicine*. 2014. V. 10. № 8. P. 1701–1709.
- Liu B.R., Chen H.H., Chan M.H., Huang Y.W., Aronstam R.S., Lee H.J. Three Arginine-Rich Cell-Penetrating Peptides Facilitate Cellular Internalization of Red-Emitting Quantum Dots // *J. Nanosci. Nanotechnol*. 2015. V. 15. № 3. P. 2067–2078.
- Karpulevich A.A., Maksimov E.G., Sluchanko N.N., Vasiliev A.N., and Paschenko V.Z. Highly efficient energy transfer from quantum dot to allophycocyanin in hybrid structures // *J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2016. V. 160. P. 96–101.
- Schmitt F.J., Maksimov E.G., Hätti P., Weißenborn J., Jayasagar V., Razjivin A.P., Paschenko V.Z., Renger G. Coupling of different isolated photosynthetic light harvesting complexes and CdSe/ZnS nanocrystals via Förster resonance energy transfer // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2012. V. 1817. № 8. P. 1461–1470.
- Nyokong T., Antunes E. // *Photochemical and Photophysical Properties of Metallophthalocyanines*. In: *Handbook of Porphyrin Science / Eds Kadish K.M., Smith K.M., Guillard R.* Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2010. V. 7. P. 247–357.
- Максимов Е.Г., Гвоздев Д.А., Страховская М.Г., Пашенко В.З. Гибридные структуры из поликатионных фталоцианинов алюминия и квантовых точек // *Биохимия*. 2015. Т. 80. № 3. С. 389–398.
- Yu W.W., Qu L., Guo W., and Peng X. Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals // *Chem. Mater*. 2003. V. 15. P. 2854–2860.

27. Kubin R.F., Fletcher A.N. Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes // *J. Luminescence*. 1982. V. 27. № 4. P. 455–462.
28. Borissevitch I.E. More about the inner filter effect: corrections of Stern-Völmer fluorescence quenching constants are necessary at very low optical absorption of the quencher // *J. Luminescence*. 1999. V. 81. № 3. P. 219–224.
29. 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.
30. Aggarwal L.P., Borissevitch I.E. On the dynamics of the TPPS4 aggregation in aqueous solutions: successive formation of H and J aggregates // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2006. V. 63. № 1. P. 227–233.
31. Ma H.L., Jin W.J. Studies on the effects of metal ions and counter anions on the aggregate behaviors of meso-tetrakis(p-sulfonatophenyl)porphyrin by absorption and fluorescence spectroscopy // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2008. V. 71. № 1. P. 153–160.
32. Cordones A., Leone S. Mechanisms for Charge Trapping in Single Semiconductor Nanocrystals Probed by Fluorescence Blinking // *Chem. Soc. Rev.* 2013. V. 42. № 8. P. 3209–3221.
33. Grabolle M., Ziegler J., Merkulov A., Nann T., and Resch-Genger U. Stability and Fluorescence Quantum Yield of CdSe–ZnS Quantum Dots—Influence of the Thickness of the ZnS Shell *Ann. N.Y.: Acad. Sci.*, 2008. V. 1130. № 1. P. 235–241.
34. Lakowicz J.R. Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd ed. New York: Springer, 2006. xxvi, 954 p.
35. Tao T. Time-dependent fluorescence depolarization and Brownian rotational diffusion coefficients of macromolecules // *Biopolymers*. 1969. V. 8. P. 609–632.
36. Kadish K., Guillard R. The Porphyrin Handbook, V. 17: Phthalocyanines: Properties and Materials. Academic Press, 2002. 326 p.
37. Tsay J.M., Trzoss M., Shi L., Kong X., Selke M., Jung M.E., Weiss S. Singlet oxygen production by peptide-coated quantum dot-photosensitizer conjugates // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. № 21. P. 6865–6871.
38. Rakovich A., Rakovich T., Kelly V., Lesnyak V., Eychmüller A., Rakovich Y.P., Donegan J.F. Photosensitizer methylene blue-semiconductor nanocrystals hybrid system for photodynamic therapy // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2010. V. 10. № 4. P. 2656–2662.
39. Zhang X., Liu Z., Ma L., Hossu M., Chen W. Interaction of porphyrins with CdTe quantum dots // *Nanotechnology*. 2011. V. 22. № 19. P. 195501.
40. Petrásek Z., Phillips D. A time-resolved study of concentration quenching of disulfonated aluminium phthalocyanine fluorescence // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2003. V. 2. № 3. P. 236–244.