

**ПРОЦЕССЫ ПЕРЕНОСА ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ  
И ФОТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ  
ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ НАНОКРИСТАЛЛОВ CdSe/ZnS С  
ПОРФИРИНОВЫМ СЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ХЛОРИНОМ  $e_6$**

**М. А. Логацкая, А. О. Гутовский**

Люминесцентные полупроводниковые нанокристаллы (НК) – новый тип ультрадисперсных материалов, который благодаря своим особым спектрально-люминесцентным характеристикам обладает большим потенциалом при разработке новых фотосенсибилизирующих агентов для фотодинамической терапии (ФДТ). ФДТ – метод лечения ряда онкологических и неонкологических заболеваний, основанный на комбинированном воздействии видимого света и фотосенсибилизатора (ФС) [1]. Результативность ФДТ в значительной степени определяется способностью ФС поглощать свет и генерировать активные формы кислорода. По этой причине особый интерес представляет подбор сенсibilизатора с высоким молярным коэффициентом экстинкции и квантовым выходом образования активных форм кислорода (АФК). Предполагается, что конъюгация интенсивно поглощающих НК и традиционных ФС с высоким квантовым выходом АФК позволит получить новые фотосенсибилизирующие агенты, увеличение фотохимической активности которых опосредовано процессами безызлучательного переноса энергии возбуждения (БПЭ) от

НК на молекулу органического ФС [2]. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования механизмов БПЭ между НК и ФС. Поскольку для обеспечения водорастворимости НК, используемых в биомедицинских приложениях, их поверхность покрывают солюбилизующей оболочкой, важным аспектом при изучении БПЭ является исследование влияния на характеристики этого процесса свойств поверхности НК.

Целью нашей работы являлось изучение процессов переноса энергии возбуждения и фотохимической активности нековалентных комплексов ФС хлорина  $e_6$  (хл  $e_6$ ) с полупроводниковыми НК, солюбилизированными различными лигандами.

В работе использовали НК типа ядро/оболочка CdSe/ZnS, диаметр ядра составлял около 2,6 нм. Поверхность НК пассивировалась тремя типами солюбилизующих лигандов: меркаптоундекановой кислотой (НКМ), глутатионом (НКГ) и полиэтиленгликолем с молярной массой 1000 (НКП).

Все три типа исследуемых НК обладают близкими спектрально-люминесцентными характеристиками. Спектр люминесценции НК ( $\lambda_{\text{max}}=533$  нм) перекрывается с II и частично с III полосой в спектре поглощения хл  $e_6$ , что позволяет рассматривать исследуемые НК в качестве потенциального донора энергии возбуждения для хл  $e_6$ . Результаты исследования титрования растворов хл  $e_6$  НК показали, что в спектре возбуждения хл  $e_6$  появляются полосы, характерные для НК. Данные результаты свидетельствуют об образовании комплексов НК:хл  $e_6$  с безызлучательным переносом энергии. С целью анализа процессов комплексообразования хл  $e_6$  и НК исследовали спектральные свойства комплексов с различным соотношением хл  $e_6$ :НК тушение люминесценции НК и увеличение интенсивности флуоресценции хл  $e_6$  на 665 нм при возбуждении в полосе поглощения НК. Исследования проводили в различных модельных системах: в Трис-буфере, этаноле, а также в растворе сывороточного альбумина быка (САБ).

При изучении растворов НК: хл  $e_6$  в Трис-буфере установлено, что эффективность переноса энергии возбуждения существенно зависит от типа поверхностного лиганда НК. При молярном соотношении НК:хл  $e_6$  1:3 степень тушения люминесценции НКП составляет 98,3%. Для НКМ и НКГ характерно меньшее изменение интенсивности испускания: при тех же условиях степень тушения люминесценции НКМ составляет 57%, в то время как для НКГ аналогичная величина равна 53%. Для исследованных типов НК наблюдается существенно различные изменения флуоресценции хл  $e_6$  (рис. 1). Увеличение относительной интенсивности флуоресценции акцептора наиболее велико в комплексах хл  $e_6$ :НКП (в 10,7 раз при соотношении хл  $e_6$ :НК 1:5). Для комплексов хл  $e_6$ :НКМ эта величина

составляет 6,7. Для хл  $e_6$ :НКГ изменения интенсивности флуоресценции хл  $e_6$  при тех же условиях практически не происходит, несмотря на наблюдаемое тушение люминесценции НКГ.

В результате исследования спектрально-люминесцентных характеристик НК и хл  $e_6$  в этаноле установлено, что процессы образования комплексов происходят не только в водной среде, но и в спирте. Сравнение степени изменения флуоресценции акцептора в присутствии донора показывает, что эффективность БПЭ в этаноле несколько меньше, чем в водном растворе. Соотношение этого показателя в комплексах с НК, пассивированными различными лигандами, аналогично таковому для водной среды. Снижение эффективности БПЭ в этаноле по сравнению с буферным раствором может отражать снижение константы связывания НК с молекулами хл  $e_6$  при переходе к менее полярным средам. Другим фактором, обуславливающим изменение эффективности БПЭ в спиртовых растворах, может являться уменьшение интеграла перекрытия вследствие батохромного сдвига полосы люминесценции НК.

Особый интерес с точки зрения биомедицинских приложений представляет исследование влияния белка на эффективность БПЭ в нековалентных комплексах НК:хл  $e_6$ . Мы изучили фотофизические характеристики комплексов НК:хл  $e_6$  в присутствии различных концентраций белка. Обнаружено, что добавление в водный раствор САБ приводит к большему увеличению интенсивности флуоресценции хл  $e_6$  по сравнению с растворами нековалентных комплексов НК, не содержащих белка. Необходимо отметить, что зависимость эффективности БПЭ от соотношения НК:белок не монотонна, а имеет максимум: существует оптимальное соотношение САБ:НК, при котором процесс переноса наиболее эффективен. Для НКМ и НКГ это соотношение составляет 5:3, для НКП 1:1.

Установленный характер зависимости эффективности БПЭ от концентрации белка, по всей вероятности, обусловлен конкуренцией двух процессов. При добавлении САБ к раствору НК происходит связывание части белка с НК, результатом чего становится стабилизация люминесцентных характеристик НК. В свою очередь, это приводит к увеличению эффективности БПЭ. При превышении определенной концентрации белка, часть молекул хл  $e_6$  связывается с белковыми молекулами, не адсорбированными на поверхности наночастиц, и не взаимодействует с НК, что приводит к наблюдаемому снижению эффективности БПЭ.

С целью оценки фотохимической активности комплексов НК:хл  $e_6$ , мы использовали флуоресцентный зонд 1,3-дифенилизобензофуран (ДФИБФ). Снижение интенсивности его флуоресценции отражает окисление зонда АФК, такими, как синглетный кислород и супероксид анион радикал. Сравнение скоростей фотоокисления ДФИФФ в водных и спиртовых

растворах комплексов НК:хл  $e_6$  дает существенно различные результаты. Так, добавление к спиртовому раствору хл  $e_6$  НК в эквимольной концентрации приводит к увеличению относительной скорости фотоокисления ДФИБФ в сравнении с растворами НК и хл  $e_6$  в отдельности. Установлено, что при добавлении азида натрия в концентрации 1мМ происходит уменьшение скорости фотоокисления ДФИБФ (на 75%). В то же время для водных растворов комплексов ускорение окисления ДФИБФ не наблюдается. При добавлении азида натрия наблюдается ускорение окисления ДФИБФ. Исходя из анализа полученных данных можно заключить, что механизмы фотоактивности комплексов НК:хл  $e_6$  различаются для водных и спиртовых растворов. Если для спиртовых растворов основную роль в фотосенсибилизирующей активности играет образование синглетного кислорода, то в водных средах фотоактивность комплексов опосредована генерацией других АФК, предположительно, радикальных форм.

Добавление к водному раствору комплексов НК:хл  $e_6$  САБ в небольших концентрациях приводит к увеличению фотохимической активности комплексов. Данный эффект может быть обусловлен несколькими факторами. Покрытие НК белковой оболочкой позволяет стабилизировать люминесцентные характеристики НК, а так же, как указано выше, увеличить эффективность БПЭ. Еще одним фактором является изменение свойств микроокружения комплексов вследствие адсорбции белка, которое оказывает влияние на значение квантового выхода АФК.

Таким образом, установлено, что исследуемые НК образуют комплексы с хл  $e_6$ , в которых протекают процессы БПЭ. Механизмы фотосенсибилизирующей активности данных комплексов существенно зависят от природы растворителя.

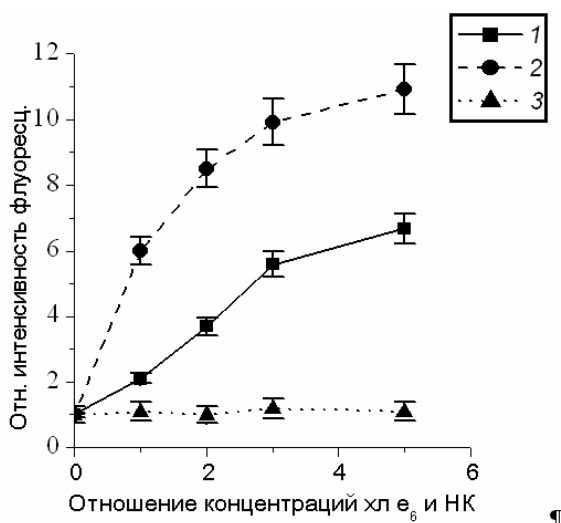


Рис. 1. Увеличение интенсивности флуоресценции хл  $e_6$  на 665 нм при возбуждении на 460 нм в присутствии НК: 1 – НКМ, 2 – НКП, 3 – НКГ.

## Литература

1. *Castano A. P. et al.* Mechanism in photodynamic therapy: part one. photosensitizers, photochemistry and cellular localization//Photodiagnostic and Photodynamic Therapy. 2004. V.1. P. 279-293.
2. *Samia A.C.S. et. al.* Semiconductor quantum dots for photodynamic therapy// J. Am. Chem. Soc. 2003. V. 125. P. 15736–7.