

УДК 53.06

# Гибридные конструкции фотосенсибилизаторов с люминесцентными наночастицами: дизайн комплексов

Д. А. Гвоздев\*, Е. Г. Максимов, М. Г. Страховская, В. З. Пашенко, А. Б. Рубин

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119991 Россия

\*E-mail: danil131054@mail.ru

Поступила в редакцию 23.03.2021

Принята к печати 14.05.2021

DOI: 10.32607/actanaturae.11379

**РЕФЕРАТ** Увеличение эффективности фотодинамического действия красителей, применяемых в фотодинамической терапии, является важным направлением современной биомедицины. Можно выделить два основных подхода к повышению эффективности фотосенсибилизаторов – направленную доставку к наиболее уязвимой мишени, а также увеличение поглощательной способности молекулы. Оба подхода можно реализовать путем создания конъюгатов красителей с наночастицами. В данном обзоре мы сосредоточимся на особенностях второго подхода, когда наночастицы выполняют функцию светосборщика и безызлучательно передают энергию электронного возбуждения молекуле фотосенсибилизатора. В качестве примера мы рассмотрим гибридные комплексы фотосенсибилизатор–квантовая точка с переносом энергии согласно индуктивно-резонансному механизму. На основе анализа опубликованных данных предложен принцип оптимизации дизайна гибридных комплексов, описаны параметры, влияющие на эффективность переноса энергии и генерации активных форм кислорода в таких системах.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** FRET, фотосенсибилизатор, люминесцентная наночастица, фотодинамическая терапия. **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** АФК – активные формы кислорода; ГК – гибридный комплекс; ЛНЧ – люминесцентная наночастица; КТ – полупроводниковая квантовая точка; ФДТ – фотодинамическая терапия; ФС – фотосенсибилизатор; Фц – фталоцианин.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение

1. Компоненты гибридного комплекса
  - 1.1. Тетрапиррольные фотосенсибилизаторы второго поколения
  - 1.2. Коллоидные квантовые точки
2. Механизмы комплексообразования
  - 2.1. Электростатическое взаимодействие
  - 2.2. Неспецифическая сорбция
  - 2.3. Ковалентное связывание
3. Оптимизация дизайна гибридных комплексов
  - 3.1. Эффективность переноса энергии
  - 3.2. Фотодинамические свойства фотосенсибилизатора
4. Выводы и дальнейшие перспективы

## ВВЕДЕНИЕ

Тераностика, сочетающая фотодинамическую терапию (ФДТ) и флуоресцентную диагностику, является перспективным направлением современной медици-

ны, использующим свет для выявления и ликвидации опухолей, других нежелательных образований, очагов микробного и грибкового заражения кожи и слизистых [1, 2]. Фотодинамические реакции осуществляются молекулами красителя, способными поглощать квант света, переходить в долгоживущее триплетное состояние и в процессе его дезактивации продуцировать активные формы кислорода (АФК) и свободные радикалы. АФК обладают высокой окислительной активностью и могут использоваться для нарушения функциональности отдельных биомолекул и жизнедеятельности целых клеток. Такие красители получили название фотосенсибилизаторов (ФС). Как правило, это сложные гетероциклические соединения, обладающие рядом полос поглощения в видимой области спектра. В настоящее время осуществляется масштабный поиск высокоэффективных ФС с целью использования явления фотосенсибилизации для лечения онкологических и инфекционных заболеваний. Ряд синтетических

ФС уже успешно применяется в клинике для борьбы с некоторыми видами рака, в стоматологии и т.д. [3].

Один из главных критериев отбора красителей для ФДТ – значительная поглощательная способность ФС в красной и ближней инфракрасной областях спектра, поскольку глубина проникновения света этого диапазона в биологические ткани считается наибольшей. Далеко не всегда выполнение этого критерия возможно только за счет модификации структуры молекулы ФС и потому требует привлечения дополнительных светосборщиков. Поглотив свет нужного спектрального диапазона, светосборщик передаст энергию на ФС и тем самым усилит его фотодинамическое действие.

Основным механизмом передачи энергии в таких гибридных комплексах (ГК) считается безызлучательный (Ферстеровский резонансный перенос энергии, FRET). Соответственно, к антенне также предъявляется ряд требований. В частности, условие резонанса накладывает определенные ограничения на спектральные характеристики донора и акцептора энергии. Учитывая, что спектральные свойства компонентов ГК в значительной степени зависят от их структурных свойств, которые к тому же могут изменяться при образовании комплекса, мы получаем сложную многокомпонентную систему, оптимизация дизайна которой представляет одну из самых актуальных задач прикладной биофизики.

В настоящее время люминесцентные наночастицы (ЛНЧ) наиболее популярны как светосборщики для молекул ФС [4]. Это объясняется тем, что наночастицы можно использовать одновременно и как антенну, и как диагностический маркер, и как платформу для направленной доставки. Двум последним аспектам применения наночастиц посвящено достаточное количество обзоров [5–7]; тогда как фундаментальным проблемам использования наночастиц в качестве светосборщика уделяется меньше внимания [8–10].

Среди ЛНЧ наибольшее распространение в фотобиологии получили апконверсионные [11, 12], кремниевые [13] и углеродные [14, 15] наночастицы. Несмотря на проблематичность биосовместимости [16], существует большое количество работ, посвященных применению полупроводниковых наночастиц (квантовых точек, КТ) в качестве доноров энергии для ФС. Вопрос взаимосвязи спектральных и структурных свойств для КТ решен наиболее полно, что позволяет детально исследовать перенос энергии в ГК с их участием.

В обзоре рассмотрены особенности дизайна ГК на основе КТ и ФС с учетом механизма образования комплекса, стехиометрии комплекса и строения компонентов ГК, а также влияние этих параметров

на эффективность переноса энергии и генерации АФК в комплексах. Показано, что с увеличением соотношения компонентов комплекса ФС:ЛНЧ, несмотря на усиление переноса энергии, фотодинамические свойства ФС снижаются вследствие высокой локальной концентрации на поверхности наночастиц. Усиление люминесцентных свойств КТ за счет защитных оболочек может привести к уменьшению эффективности переноса энергии в ГК из-за увеличения расстояния между донором и акцептором энергии. На основе полученных закономерностей предложена методика, позволяющая целенаправленно синтезировать высокоэффективные ГК, имея целью максимальное усиление генерации активных форм кислорода фотосенсибилизатором в составе ГК. Выводы, сформулированные в работе, в значительной степени справедливы по отношению к ГК на основе ЛНЧ всех типов.

## 1. КОМПОНЕНТЫ ГИБРИДНОГО КОМПЛЕКСА

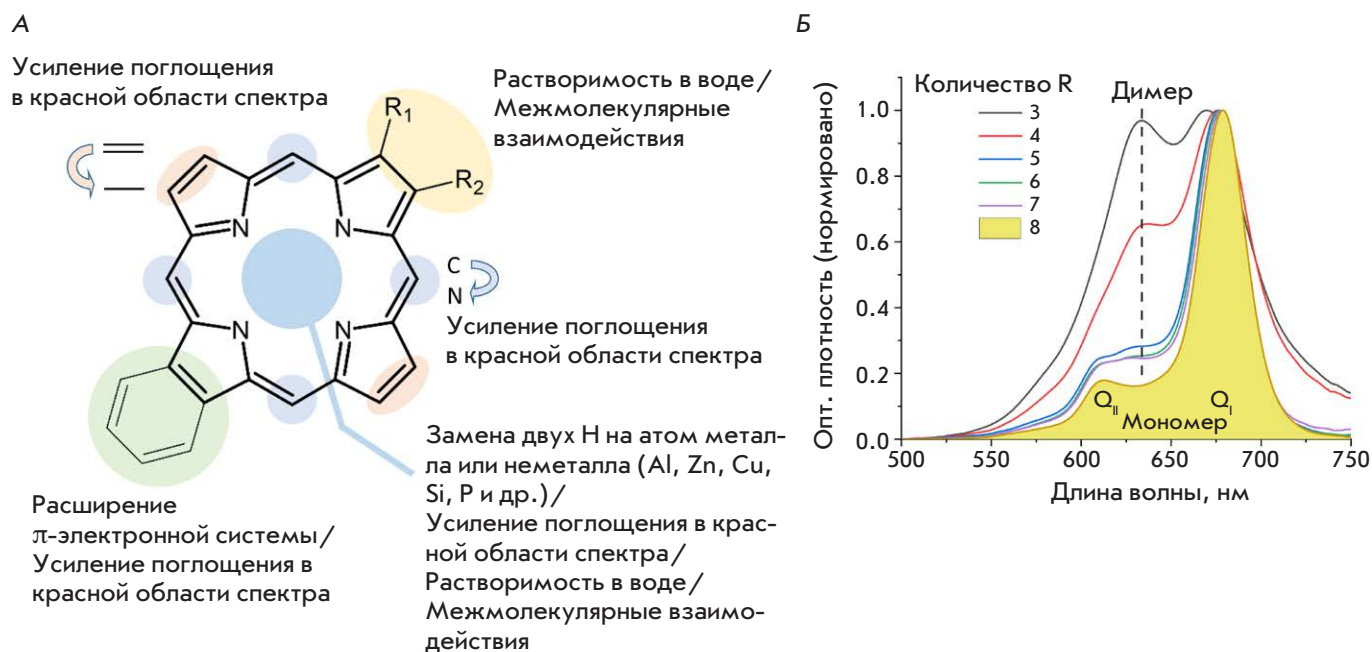
### 1.1. Тетрапиррольные фотосенсибилизаторы второго поколения

Высокоэффективный с точки зрения выхода АФК фотосенсибилизатор должен обладать следующими характеристиками. Во-первых, энергия его триплетного состояния должна быть достаточной для осуществления фотодинамической реакции с участием молекулярного кислорода; отбор ведется в направлении увеличения выхода триплетного состояния и его длительности. Во-вторых, ФС должен находиться в мономерном состоянии, поскольку агрегаты ФС не так эффективно генерируют АФК. В-третьих, ФС должен обладать большой поглощательной способностью, желательно в области «оптического окна» биологических тканей.

Очевидно, что фотодинамические свойства определяются строением молекулы ФС. Мы рассмотрим взаимосвязь структурных и фотофизических свойств ФС на примере красителей тетрапиррольной природы, наиболее распространенных ФС второго поколения.

Родоначальником тетрапиррольного ряда является порфин. Спектр поглощения порфина состоит из интенсивной полосы  $Soret$  на границе УФ- и видимой области, а также четырех низкоинтенсивных узких полос в видимой области ( $Q_1-Q_{IV}$ ; нумерация начинается с длинноволновой). Существует несколько основных способов модификации структуры молекулы порфина, позволяющих получить ФС с высокой фотодинамической активностью (рис. 1А):

А) последовательное гидрирование двух двойных связей, которые формально не входят в сопряженную систему, вызывает смещение полосы  $Q_1$  в длин-



**Рис. 1.** А – структура молекулы порфина и возможные способы ее модификации. Б – спектры поглощения фталоцианинов цинка, модифицированных различным количеством холиновых групп R

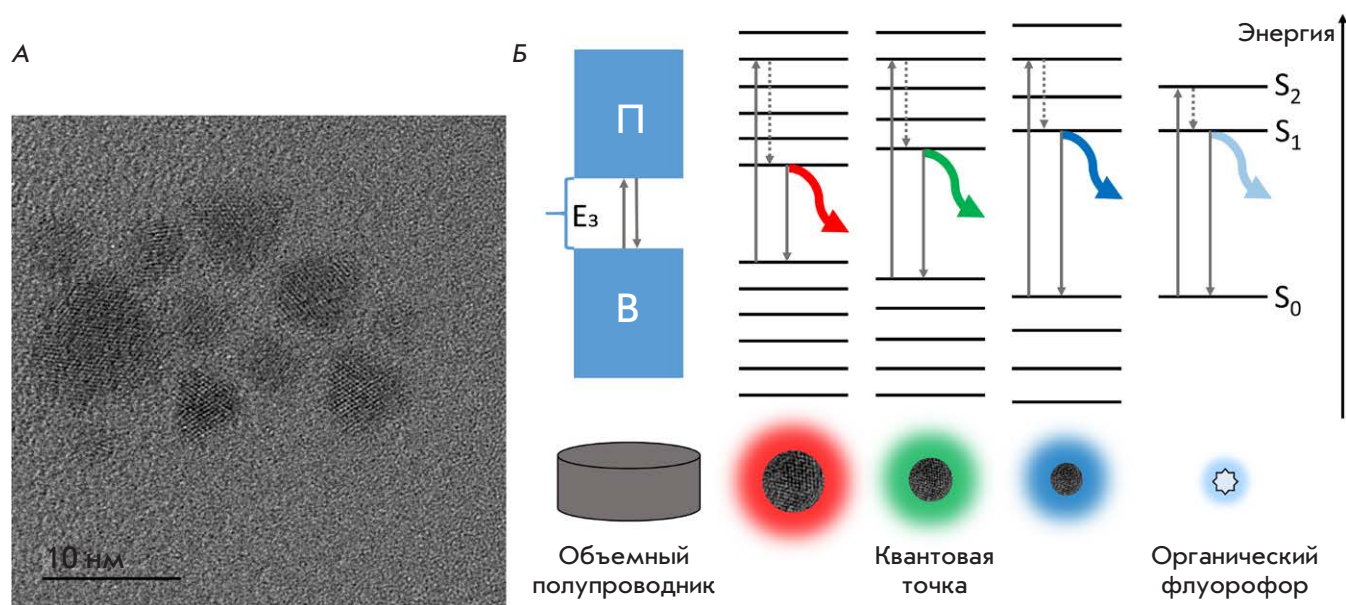
новолновую область спектра (батохромный сдвиг) и увеличение ее интенсивности более чем на порядок. Гидрирование дает начало классам дигидропорфиринов (хлоринов) и тетрагидропорфиринов (бактериохлоринов);

Б) замена углерода в метинных группах СН на атом азота (тетразапорфирины) или включение бензольных колец в макроцикл молекулы красителя (тетрабензопорфирины) приводит к увеличению интенсивности полос  $Q_1$  и  $Q_{III}$ , а также к их батохромному сдвигу. Наибольший эффект наблюдается при совмещении этих двух подходов, т.е. в классе тетразатетрабензопорфиринов или фталоцианинов (Фц);

В) координация макроциклом молекулы порфина различных элементов за счет неподеленных электронных пар центральных атомов азота. Для порфиринов наиболее типичны комплексы с двухвалентными металлами. Образование металлокомплекса приводит к вырождению четырех полос поглощения в видимой области спектра в две, интенсивность которых значительно увеличивается. Такая ситуация характерна для всех красителей порфиринового ряда, не имеющих гидрированных пиррольных колец. При встраивании атома металла в макроцикл Фц наблюдается незначительный батохромный сдвиг полос  $Q_1$  и  $Q_{II}$ , причем величина батохромного сдвига возрастает с увеличением порядкового номера металла [17].

Модификация структуры порфиринов также изменяет характеристики возбужденного триплетного состояния. Так, при переходе от порфиринов к хлоринам выход возбужденного триплетного состояния несколько уменьшается [18]. Тяжелые и парамагнитные атомы металлов в составе Фц увеличивают вероятность синглет-триплетного перехода, поэтому такие Фц обладают высоким выходом возбужденного триплетного состояния [19]. Кроме того, увеличивается вероятность безызлучательной дезактивации в основное состояние за счет вовлечения  $d$ -оболочек металла в систему сопряжения [20]; соотношение между константами этих процессов определяется природой металла и боковых заместителей [21].

Растворимость ФС тетрапиррольного ряда в воде осуществляется путем включения на периферии макроцикла боковых заместителей. Обычно это низкомолекулярные лиганды, придающие молекуле полярность и/или заряд [22]. Максимальное количество боковых заместителей, которые могут быть введены в молекулу тетрапиррола, определяется количеством мест связывания на пиррольных (бензольных в случае бензопорфиринов) кольцах и равно восьми как для орто-, так и для мета-замещения [23]. Для кремниевых ФС (или комплексов ФС с трехвалентными металлами) доступно введение аксиальных лигандов [24]. Боковые заместители существенно влияют на оптические и фотофизические свойства ФС [17, 25, 26]. Широкий выбор заместителей с опре-



**Рис. 2.** А – электронная микрофотография наночастиц CdSe/ZnS. Б – энергетические спектры объемного и наноразмерного полупроводника в сравнении с энергетическим спектром органического флуорофора. П – зона проводимости, В – зона валентности,  $E_z$  – запрещенная зона,  $S_0$ ,  $S_1$  и  $S_2$  – основного, первого и второго возбужденный электронный уровень соответственно. Вертикальные стрелки обозначают электронные переходы, пунктирные стрелки – переход на нижний возбужденный уровень, сопровождающийся тепловой диссипацией энергии

деленными свойствами, а также возможность варьирования степени замещения позволяют создавать замещенные ФС для различных областей промышленности (катализаторы, сенсоры, элементы солнечных батарей) и медицины.

Несмотря на то что химическая модификация молекул ФС делает их более водорастворимыми, гидрофобная природа макроцикла определяет вероятность агрегации данных молекул в водных растворах. Доказано существование нескольких типов агрегатов тетрапирролов [27]. Агрегаты Н-типа (олигомерные) и D-типа (димерные) имеют узкую полосу поглощения в видимой области, смещенную в синюю область спектра по сравнению с полосой поглощения мономерной формы (рис. 1Б). Молекулы тетрапиррола в таких агрегатах образуют структуру типа «сэндвич»; агрегаты не флуоресцируют, так как возбужденное состояние дезактивируется безызлучательно за счет внутримолекулярной конверсии. Агрегаты J-типа (полимерные) имеют широкую полосу поглощения, смещенную в красную область спектра по сравнению с полосой поглощения мономерной формы; агрегаты образованы молекулами ФС, взаимодействующими торцевыми частями. Возможно одновременное существование молекул порфиринов в обеих формах (равновесие мономер/агрегат) во всех типах агрегатов, а также переходы между этими состояниями [28–30]. Агрегация может вызываться изменением ряда параметров внешней среды (рН и ионная сила раствора)

[31, 32], увеличением концентрации ФС [33], а также инициироваться образованием комплекса тетрапирролов с молекулами другой природы [34]. Вероятность агрегации также зависит от наличия и природы центрального атома металла в макроцикле ФС.

## 1.2. Коллоидные квантовые точки

Квантовые точки объединяют физические и химические свойства молекул с оптоэлектронными свойствами полупроводников. КТ представляет собой люминесцирующий полупроводниковый нанокристалл, характерные размеры которого находятся в диапазоне 3–10 нм (рис. 2А). Известно, что вследствие квантово-размерных эффектов свойства наноматериалов качественно отличаются от свойств объемного аналога [35]. Если размер объекта не превышает Борковский радиус экситона, характерный для данного материала, то носитель заряда внутри объекта оказывается в трехмерной потенциальной яме [36]. Это приводит к модификации энергетического спектра (рис. 2Б). Классический спектр полупроводника с валентной зоной, запрещенной зоной и зоной проводимости преобразуется в набор дискретных энергетических уровней с характерным зазором  $h^2/8\pi^2mr^2$ , где  $h$  – постоянная Планка,  $m$  – эффективная масса носителя заряда, а  $r$  – радиус КТ. Между этими уровнями возможны переходы электрона, сопровождающиеся поглощением или излучением кванта света в видимом диапазоне длин волн.



За счет поглощенной энергии электрон переходит на высокоэнергетический уровень, так что в кристалле КТ образуется экситон – электрон-«дырочная» пара. Деактивация возбужденного состояния осуществляется путем рекомбинации экситона с излучением избыточной энергии и в виде кванта света.

Поскольку зазор между энергетическими уровнями КТ зависит от размера частицы, то при увеличении радиуса кристалла спектр люминесценции КТ испытывает батохромный сдвиг. Таким образом, варьируя размер кристалла, можно подобрать КТ с необходимыми спектральными свойствами для конкретных исследовательских задач.

Квантовые точки поглощают свет в широком диапазоне длин волн с коэффициентами молярной экстинкции порядка  $10^5$ – $10^6$  л/моль·см. Это вызвало большой интерес к КТ как перспективным люминесцентным меткам для биологических исследований. Однако для успешного применения в биологии необходимо преодолеть два существенных недостатка КТ: низкий квантовый выход люминесценции ( $\phi$ ) и гидрофобность полупроводникового материала.

Основная причина низких значений  $\phi$  – дефекты кристаллической решетки на поверхности нанокристалла, которые играют роль «ловушек» (англ. trap states) для носителя заряда [36]. Локализация носителя заряда в такой «ловушке» препятствует излучательной рекомбинации экситона. Говорят, что КТ переходит в так называемое «выключенное» состояние, которое у отдельного кристалла может составлять до 100 с [37].

Впервые количество дефектов на поверхности КТ снизили в 1990 году с помощью покрытия нанокристалла CdSe защитной оболочкой из ZnS [38]. Далее мы будем называть люминесцирующую центральную часть многослойной КТ ее ядром. Сульфид цинка также является полупроводником, но более широкозонным, что создает потенциальный барьер для носителя заряда и способствует локализации экситона в ядре КТ. Кроме того, защитная оболочка представляет собой физический барьер между ядром КТ и окружающей средой, что делает оптические свойства КТ менее чувствительными к химическим реакциям на ее поверхности. К 1996 году развитие методов покрытия ядра КТ защитной оболочкой обеспечило появление образцов относительно монодисперсных нанокристаллов с  $\phi \sim 50\%$  [39]; современные методы синтеза КТ позволяют получить образцы нанокристаллов с  $\phi \sim 80$ – $90\%$  [40]. Нужно отметить, что величина  $\phi$  нелинейно зависит от толщины защитной оболочки КТ: показано, что защитная оболочка, состоящая более чем из трех слоев ZnS, вызывает тушение люминесценции КТ с ядром CdSe [41]. Есть мнение, что с увеличением количества атомных

слоев в оболочке увеличивается вероятность образования собственных дефектов [42].

Кроме того, применение КТ в биологических исследованиях предполагает перевод гидрофобных нанокристаллов в водную фазу. Обычно для этого используют методы заместительной химии, когда молекулы-прекурсоры, покрывающие КТ в процессе их синтеза, заменяют на амфифильные лиганды с необходимыми свойствами.

Адсорбироваться на поверхность нанокристалла могут любые молекулы с нуклеофильными группами. Органическая оболочка может быть многослойной: на слой низкомолекулярных гидрофобных лигандов дополнительно адсорбируют амфифильный полимер, который и определяет поверхностные свойства КТ. Помимо водорастворимости, органическая оболочка в значительной степени обеспечивает пассивацию дефектов кристаллической решетки [43]. Однако органические лиганды могут покрывать не всю поверхность КТ, поэтому некоторые дефекты кристаллической решетки сохраняются [36]. Кроме того, лиганды могут служить причиной образования новых энергетических уровней: известно, что тиолы тушат люминесценцию КТ из CdSe вследствие появления энергетического уровня, лежащего ниже первого возбужденного уровня КТ [36].

Длительность люминесценции КТ составляет, как правило, 5–20 нс, что вполне достаточно для осуществления эффективного переноса энергии. Кинетика затухания люминесценции КТ характеризуется двумя-тремя временными компонентами. На данный момент отсутствует ясное понимание причин комплексности кинетики затухания люминесценции КТ [35]. Наиболее распространенная гипотеза связывает каждую временную компоненту с эмиссией из определенного энергетического состояния. Об этом свидетельствует сложная структура экситонного пика поглощения КТ [44]. В простейшем случае (биэкспоненциальная зависимость) быстрая компонента соответствует излучательной рекомбинации экситона, а более медленная – излучению, опосредованному дефектами кристаллической решетки [45, 46]. В этой модели спектр люминесценции КТ состоит из двух взаимно перекрывающихся полос, которые не всегда могут быть разделены. Вклад медленной компоненты падает с уменьшением температуры [45] и квантового выхода люминесценции [40]. В таком случае кинетика затухания люминесценции идеальных КТ без дефектов представляла бы собой моноэкспоненту; действительно, в некоторых образцах КТ обнаружена всего одна временная компонента [37, 47]. Чем больше различных дефектов в кристаллах (особенно у КТ со структурой ядро/оболочка), тем больше временных компонент в кинетике затухания люминесценции [39].

Альтернативной причиной появления нескольких временных компонент в кинетике затухания люминесценции КТ может быть полидисперсность частиц по размеру. Увеличение размера КТ приводит не только к батохромному сдвигу спектра люминесценции, но и к соответствующему сдвигу экситонной полосы в спектре поглощения [48], к уменьшению длительности люминесценции [49] и куполообразному по характеру изменению величины  $\Phi$  [50]. Следовательно, в образце, содержащем несколько фракций КТ разного размера, будет наблюдаться уширенный спектр люминесценции, являющийся суперпозицией спектров от разных фракций КТ, которые обладают собственными значениями квантового выхода и длительности люминесценции. Как правило, из-за сложности интерпретации временных компонент, в качестве длительности люминесценции КТ используют средневзвешенную величину по всем компонентам.

## 2. МЕХАНИЗМЫ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ

Создать гибридные комплексы ЛНЧ–ФС в водном растворе можно за счет следующих типов взаимодействий: электростатического, ковалентного или группы взаимодействий, объединяемых под понятием сорбции (рис. 3). При образовании связей любого из этих типов наблюдаются изменения спектральных свойств ФС; свойства ЛНЧ изменяются крайне редко и не связаны с самим процессом сборки ГК [51–53].

### 2.1. Электростатическое взаимодействие

ГК часто образуются при смешивании водных растворов ЛНЧ и ФС за счет электростатического притяжения разноименно заряженных компонентов (рис. 3, 1.1–1.2). Изменения спектральных свойств ФС в таком случае должны определяться возмущением электронной плотности и могут различаться по своему характеру в зависимости от природы и стехиометрического отношения компонентов ГК. Опубликованы сведения о следующих эффектах комплексообразования:

- 1) батохромный сдвиг спектров поглощения и/или флуоресценции ФС [54–59],
- 2) гипсохромный сдвиг спектров поглощения и флуоресценции ФС [52, 60–62],
- 3) гипохромизм [52, 56, 57, 60],
- 4) уменьшение квантового выхода флуоресценции [60, 62],
- 5) увеличение [60, 63] квантового выхода триплетного состояния,
- 6) увеличение [60, 62] времени жизни триплетного состояния.

Увеличение выхода триплетных состояний ФС обычно объясняют так называемым «эффек-

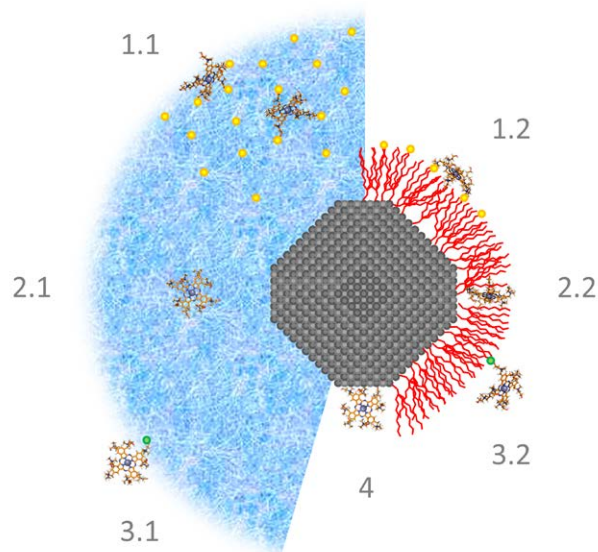


Рис. 3. Наиболее распространенные способы образования гибридного комплекса квантовая точка–фотосенсибилизатор. 1.1–1.2 – электростатическое взаимодействие, 2.1–2.2 – абсорбция и адсорбция, соответственно, 3.1–3.2 – ковалентное взаимодействие, 4 – координирование. Серым цветом показано кристаллическое ядро КТ, синим – полимерная оболочка, красным – оболочка из низкомолекулярных лигандов. Оранжевой точкой обозначены заряженные функциональные группы на полимере/лиганде, зеленой – ковалентная связь

том тяжелого атома». Эффект заключается в том, что в присутствии атомов тяжелых металлов (Cd, Te) увеличивается вероятность внутримолекулярной конверсии ФС в триплетное состояние, что приводит также к уменьшению квантового выхода флуоресценции ФС. В отдельных случаях при образовании ГК ион кадмия из КТ может встраиваться в макроцикл безметалльного ФС [62, 64]. Отмечено [65], что величина изменений оптических свойств ФС возрастает с увеличением размера кристалла КТ. Наличие защитной оболочки из сульфида цинка должно снижать влияние атомов тяжелых металлов в ядре КТ на свойства ФС.

### 2.2. Неспецифическая сорбция

ГК, образованные за счет электростатического притяжения разноименно заряженных наночастиц и фотосенсибилизаторов, не требуют сложных протоколов приготовления и являются достаточно устойчивыми. Однако замечено, что смешивание одноименно заряженных компонентов в некоторых случаях также приводит к образованию ГК [66–70]. Следовательно, в самосборке ГК могут участвовать

взаимодействия, отличные от электростатических, которые мы будем далее объединять под термином «сорбция».

В зависимости от строения органической оболочки КТ возможны два варианта сорбции ФС. Если поверхность КТ покрыта слоем низкомолекулярных лигандов, то молекулы ФС за счет периферических [64] или аксиальных [71–73] гидрофобных заместителей встраиваются в этот монослой. В таком случае речь идет о поверхностном связывании (адсорбции, *рис. 3, 2.2*). Взаимодействие такого рода ослабевает с ростом разветвленности заместителя [73]. Интересно, что эффективность переноса энергии сначала увеличивается с длиной заместителя в результате более прочного взаимодействия, однако далее снижается, если длина заместителя начинает превышать длину низкомолекулярного лиганда на поверхности КТ [72].

Частный случай адсорбции – прямое взаимодействие молекулы ФС с кристаллом КТ (*рис. 3, 4*). Можно считать доказанным образование координационной связи между третичным атомом азота в составе молекулы ФС и атомами кристаллической решетки CdSe/ZnS КТ в толуоле [74–78]. При этом необходим плотный контакт между ФС и кристаллом КТ, чему может препятствовать внешняя органическая оболочка наночастицы. В то же время образование координационной связи не должно сопровождаться обязательным вытеснением органических лигандов молекулой ФС, поскольку адсорбция может происходить на лишенных лигандов участках поверхности наночастицы. Молекула порфирина, очевидно, может адсорбироваться на КТ как плоскостью макроцикла с участием всех боковых пиридиловых колец, так и торцом с участием одного-двух пиридиловых заместителей. Об этом говорит повышение эффективности переноса энергии  $W$  в ГК с увеличением количества пиридиловых заместителей в молекуле порфирина с 1 до 4, но величина  $W$  оказывается сравнимой у монопиридилпорфирина и бипиридилпорфирина с противоположным расположением пиридиловых колец.

При образовании ГК наблюдали гипсохромное смещение спектра флуоресценции порфирина, а также увеличение длительности его флуоресценции [79]. По мнению авторов, выраженность эффектов уменьшалась с увеличением концентрации порфирина в растворе из-за увеличения доли молекул порфирина, не связанных с КТ. Кроме того, при образовании ГК наблюдали батохромное смещение полосы  $S_{0r}$ , которое, возможно, вызвано изменением структуры  $\pi$ -системы электронов при координации атома азота пиридила на атом цинка КТ, или более высокой диэлектрической проницаемостью среды вблизи по-

верхности наночастицы по сравнению с раствором толуола.

Возможность координационного взаимодействия предложена для объяснения образования ГК между отрицательно заряженной квантовой точкой из CdTe (покрытие из 3-меркаптопропионовой кислоты) и тетрасульфоталлоцианином алюминия, также несущим отрицательный заряд [80]. Предполагается, что молекула ФС координируется атомом алюминия на карбоксильную группу КТ. Идея была распространена на КТ из CdTe, покрытые тиогликолевой кислотой [81, 82].

Особый интерес представляют комплексы ФС с ЛНЧ, покрытыми полимерной оболочкой [70, 83–90]. Считается, что молекулы ФС в таких комплексах могут встраиваться в объем полимера, поэтому в данном случае речь идет об абсорбции (*рис. 3, 2.1*). Этот вывод сделан на том основании, что гидродинамический радиус ЛНЧ (вместе с полимерной оболочкой) превышает расстояние между донором и акцептором, необходимое для наблюдающегося эффективно переноса энергии по механизму FRET.

При образовании ГК за счет сорбции отмечали разнонаправленные изменения спектральных свойств ФС в зависимости от типа молекулы ФС [78, 85, 87, 89, 91, 92] или отсутствие каких-либо изменений, что связывают с адсорбцией, когда встраивание минимально [64]. При сорбции может наблюдаться агрегация молекул ФС [93].

Как правило, триплетный выход ФС растет при сорбции на ЛНЧ [67, 92] (однако не всегда [68]; в [91] наблюдали уменьшение времени жизни триплетного состояния ФС). Это может быть связано с тем, что при встраивании молекулы ФС внутрь органической оболочки КТ уменьшается вероятность тушения триплетного состояния ФС кислородом [78].

### 2.3. Ковалентное связывание

Комплексы наночастиц и ФС, полученные на основе ковалентного взаимодействия, имеют ряд преимуществ перед ГК, стабилизированными иными типами взаимодействий (*рис. 3, 3.1–3.2*). Во-первых, взаимодействие осуществляется между конкретными функциональными группами ФС и органической оболочки КТ, поэтому известна точная локализация ФС в ГК. Это позволяет предсказать некоторые фотофизические свойства ГК. Во-вторых, такой ГК потенциально более стабилен в присутствии биологических объектов и сред. Все это обусловило большой интерес к ковалентно сшитым ФС и наночастицам [53, 65, 94–100].

Образование ковалентной связи легко контролировать по появлению соответствующих линий в спектрах комбинационного рассеяния или в спектрах



поглощения в ИК-области [65, 94, 96]. В то же время при использовании распространенных методов сшивки сложно контролировать соотношение ФС:ЛНЧ в конечном продукте. Кроме того, в случае сшивки через amino- и карбоксильную группы возможно образование ГК электростатически взаимодействующих компонентов, которое сложно предотвратить. По этим причинам в ряде работ не удалось сравнить свойства ковалентно сшитого ГК и его электростатически стабилизированного аналога [94, 96, 98].

Более значимая проблема состоит в том, что линкер, образующийся между молекулой ФС и поверхностью ЛНЧ, дополнительно увеличивает расстояние между ними. Это отрицательно сказывается на эффективности переноса энергии, которая быстро снижается при увеличении расстояния между донором и акцептором энергии. Из рис. 3 видно, что при использовании полимерной оболочки влияние этого эффекта может быть критическим.

В большинстве работ изменения спектральных характеристик ФС при образовании ГК одинаковы для ковалентного и электростатического способов связывания: гипсохромный сдвиг спектра поглощения ФС и гипохромизм [94, 95, 97] или батохромный сдвиг спектра поглощения ФС и гипохромизм [98]. Отмечается отсутствие изменений спектральных свойств ФС при образовании ковалентной связи [96].

### 3. ОПТИМИЗАЦИЯ ДИЗАЙНА ГИБРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Создание гибридных комплексов на основе ЛНЧ подразумевает увеличение эффективности генерации АФК фотосенсибилизатором при возбуждении в тех областях спектра, где сам ФС обладает низкой поглощательной способностью. Поскольку такое усиление фотодинамических свойств ФС достигается за счет безызлучательного переноса энергии, оптимизацию дизайна ГК в первую очередь связывают с оптимизацией переноса энергии по механизму FRET. Однако нужно отметить, что набор свойств ГК, способствующих эффективному переносу энергии, вообще говоря, может не совпадать с набором свойств ГК, способствующим усилению фотодинамической активности ФС в составе ГК. По этой причине мы рассмотрим два указанных аспекта оптимизации ГК отдельно.

#### 3.1. Эффективность переноса энергии

Так как перенос энергии приводит к увеличению скорости дезактивации возбужденного состояния донора энергии, степень тушения люминесценции ЛНЧ является основным критерием, позволяющим количественно оценить эффективность переноса.

Рассмотрим наиболее простую систему квантовая точка–тетрапиррольный ФС, стабилизирован-

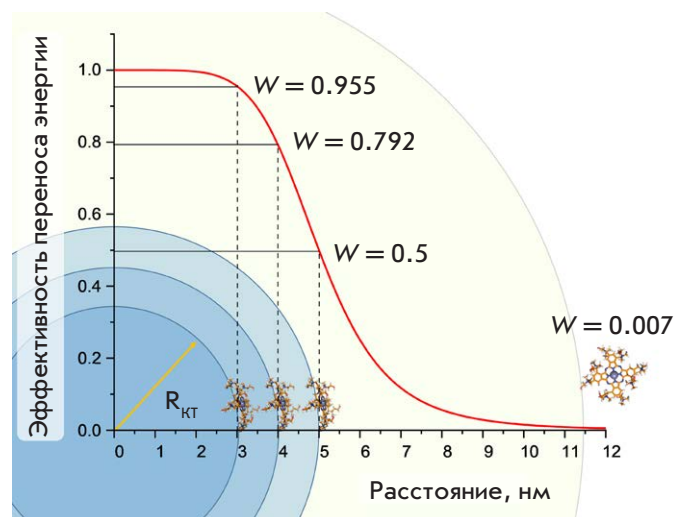


Рис. 4. Зависимость эффективности переноса энергии  $W$  в ГК от размера  $R_{КТ}$  ядра квантовой точки (при условии возможности образования координационной связи непосредственно между молекулой ФС и ядром КТ). Значение радиуса Ферстера ( $R_0$ ) выбрано равным 5 нм. Показан пример ГК с ковалентно пришитым к полимерной оболочке КТ фотосенсибилизатором (общий радиус КТ 11.5 нм)

ную за счет координации ФС на поверхность нанокристалла. Предметом оптимизации будет перенос энергии, способствующий увеличению поглощательной способности ФС в сине-зеленой области спектра. Согласно теории безызлучательного индуктивно-резонансного переноса энергии, эффективность этого процесса ( $W$ ) может быть увеличена за счет:

- увеличения интеграла перекрытия ( $J$ ) спектров люминесценции ЛНЧ и поглощения ФС;
- увеличения квантового выхода люминесценции ЛНЧ;
- уменьшения расстояния ЛНЧ–ФС;
- увеличения коэффициента молярной экстинкции молекулы ФС;
- увеличения стехиометрического отношения ФС:ЛНЧ.

Увеличить величину  $J$  можно путем смещения спектра люминесценции КТ в более длинноволновую область ближе к спектру поглощения ФС. Поскольку положение спектра люминесценции КТ легко задается в процессе их синтеза, при фиксированном положении спектра поглощения ФС легко подобрать КТ, обеспечивающую максимальное значение величины  $J$ . Однако батохромный сдвиг спектра люминесценции КТ происходит за счет увеличения размера частицы, что приводит к увеличению расстояния КТ–ФС и уменьшению эффективности переноса энергии  $W$  (рис. 4). Как правило, это сопровождается уменьшением квантового выхода



люминесценции КТ, что также должно отрицательно сказаться на величине  $W$ . Хотя квантовый выход люминесценции КТ можно увеличить за счет наращивания оболочки из более широкозонного полупроводника, такая модификация приведет не только к увеличению выхода люминесценции, но и к дополнительному росту размера кристалла и, соответственно, увеличению расстояния донор-акцептор энергии. Альтернативный способ заключается в подборе материалов кристаллической решетки ядра КТ. Наличие же на КТ органической оболочки, с одной стороны, экранирует поверхность кристалла от молекул растворителя, поэтому выход люминесценции КТ должен увеличиться; с другой стороны, в зависимости от природы молекул органической оболочки на поверхности кристалла могут образоваться дополнительные дефекты, и квантовый выход люминесценции уменьшится.

Возможно увеличение величины  $J$  за счет гипсохромного смещения спектра поглощения ФС, так как в этом случае для создания ГК можно использовать КТ меньшего размера. Действительно, уменьшение размера КТ приведет к увеличению квантового выхода люминесценции КТ и уменьшению расстояния КТ–ФС, что увеличит значение  $W$ . Однако применение подобной стратегии означает, что красная область спектра не будет использоваться для генерации АФК. Кроме того, в предельном случае смещения спектров в синюю область отпадает необходимость использования КТ, так как многие безметалльные ФС очень хорошо поглощают синий свет за счет полосы  $S_{01}$ .

Таким образом, сложные системы на основе КТ обладают рядом параметров, которые нельзя оптимизировать одновременно вследствие их взаимоисключающего влияния друг на друга. Следовательно, добиться наибольшей эффективности переноса энергии можно только за счет компромиссных значений параметров ФС и КТ.

Однозначно увеличивает величину  $W$  изменение только двух параметров – увеличение коэффициента молярной экстинкции ФС и стехиометрического отношения ФС:ЛНЧ.

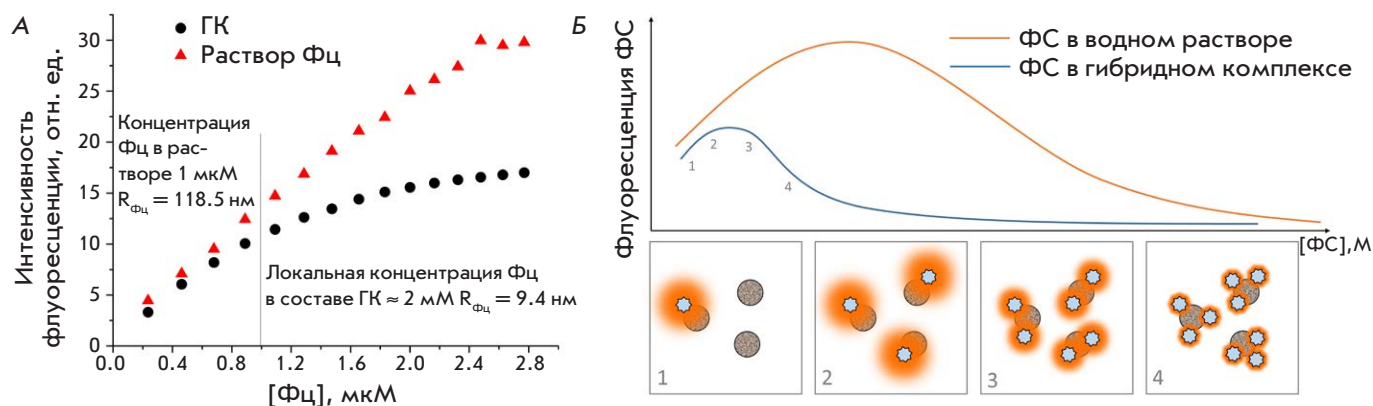
Коэффициент молярной экстинкции ФС в видимой области спектра обычно увеличивают путем введения в макроцикл атома металла. Поскольку при образовании металлокомплекса существенно увеличивается время жизни триплетного состояния ФС, то это дополнительно способствует усилению фотодинамической активности ФС. Альтернативные пути увеличения коэффициента молярной экстинкции ФС – замена углерода на азот в метинных мостиках макроцикла, увеличение ароматичности макроцикла за счет бензольных колец и гидрирование двой-

ных связей – приводят еще и к дополнительному батохромному смещению спектра поглощения ФС. Следовательно, для сохранения максимальной величины интеграла перекрытия  $J$  необходимо дополнительно сдвинуть спектр люминесценции КТ в длинноволновую область. Эффекты, вызванные таким смещением, могут привести к уменьшению эффективности переноса энергии в ГК.

Стехиометрическое отношение ФС:ЛНЧ можно увеличивать до некоего предельного значения, которое зависит от способа комплексообразования. Если ГК стабилизирован за счет ковалентной сшивки, то  $[ФС:ЛНЧ]_{max}$  определяется количеством функциональных групп на органической оболочке КТ (т.е. их плотностью и площадью поверхности КТ). Если ГК стабилизирован за счет электростатических взаимодействий, то  $[ФС:ЛНЧ]_{max}$  определяется количеством заряженных групп на органической оболочке КТ, а также количеством заряженных групп на молекуле ФС. Уже здесь появляется неоднозначность: чем больше зарядов на ФС, тем прочнее взаимодействие, но в то же время на поверхности КТ поместится меньше молекул ФС.

Если ГК стабилизирован за счет сорбционных взаимодействий, то  $[ФС:ЛНЧ]_{max}$  определяется площадью поверхности ЛНЧ, а также гидрофильно-гидрофобным балансом молекулы ФС. В случае объемной полимерной оболочки наночастицы  $[ФС:ЛНЧ]_{max}$  будет намного больше, чем при использовании монослоя из низкомолекулярных лигандов; однако дополнительные молекулы ФС будут находиться достаточно далеко от центра КТ, так что эффективность переноса энергии на эти молекулы ФС будет минимальной. На *рис. 4* представлена ситуация, где ФС ковалентно пришит к полимерной оболочке КТ; видно, что при общем радиусе наночастицы 11.5 нм и величине  $R_0 = 5$  нм эффективность переноса энергии на данную молекулу ФС составит не более 0.7%.

Теоретически, к росту эффективности переноса энергии может привести увеличение значения фактора  $\chi^2$ , описывающего взаимную ориентацию в пространстве дипольных моментов переходов донора и акцептора. Значения  $\chi^2$  могут изменяться в пределах от 0 до 4. В растворах, где вследствие вращательной диффузии ориентация молекул случайна,  $\chi^2$  принимают равным 2/3. Так поступают и в случае ГК, поскольку большая часть КТ не обладает анизотропией люминесценции. Тем не менее, в общем случае ориентация моментов переходов в ГК может отличаться от случайной. Предполагается, что исследование анизотропии флуоресценции ФС и ЛНЧ может помочь оценить возможные взаимные ориентации дипольных моментов переходов и тем самым уточнить значение  $\chi^2$  [101].



**Рис. 5.** А – концентрационное изменение интенсивности флуоресценции алюминиевого Фц в водном растворе и в электростатически стабилизированном комплексе с покрытой полимером КТ.  $R_{Фц}$  – расстояние между двумя молекулами Фц в среде (вода в случае однокомпонентного раствора Фц и полимерная оболочка КТ в случае раствора ГК). Длина волны возбуждения флуоресценции 655 нм. Б – зависимость интенсивности флуоресценции Фс в воде и в ГК от концентрации Фс (концентрация ЛНЧ постоянна). 1–4 – схематичное изображение ГК различной стехиометрии и интенсивности флуоресценции Фс в таких ГК

### 3.2. Фотодинамические свойства фотосенсибилизатора

Успешный акт переноса энергии вызывает переход молекулы Фс в возбужденное состояние. Следствием переноса энергии может быть увеличение выхода АФК или увеличение интенсивности флуоресценции Фс. Увеличение поглощательной способности Фс, выражающееся в виде роста интенсивности его сенсibilизированной флуоресценции, может использоваться для расчета эффективности переноса энергии  $W$  [58, 75, 82]. Однако более корректным считается использование спектральных характеристик донора энергии для расчета величины  $W$ , так как усиление фотодинамических свойств Фс в ГК сильно зависит от стехиометрического отношения Фс:ЛНЧ.

Известно, что в разбавленном растворе при увеличении концентрации Фс интенсивность его флуоресценции сначала линейно возрастает, однако в достаточно концентрированных растворах сначала выходит на плато, а затем снижается (рис. 5) [102]. Этот эффект можно назвать самотушением флуоресценции Фс. К самотушению флуоресценции Фс может приводить агрегация Фс и эффекты внутреннего фильтра. Агрегация Фс рассмотрена в разделе 1.1. Эффекты внутреннего фильтра заключаются в экранировании возбуждающего света слоями раствора Фс, которые находятся ближе к передней стенке кюветы (1), и перепоглощении флуоресценции (2). Последнее возможно, так как тетрапиррольные Фс обладают небольшим стоксовым сдвигом ( $\sim 10$  нм), так что спектры поглощения и флуоресценции Фс в значительной мере перекрываются. Помимо куполообразной зависимости интенсивности флуоресценции Фс от его концентрации, это явление приводит

к bathochromному сдвигу спектра флуоресценции Фс и увеличению регистрируемой длительности флуоресценции Фс [103].

Тушение флуоресценции Фс в присутствии наночастиц является широко распространенным эффектом [55, 104–106]. Концентрационная зависимость интенсивности флуоресценции Фс в ГК с полупроводниковыми наночастицами также носит куполообразный характер [59, 70, 71, 87], однако самотушение начинается при намного меньшей концентрации Фс по сравнению с Фс в однокомпонентном растворе (рис. 5А). Действительно, максимальное значение величины Фс:ЛНЧ в ГК может превышать 1000, так что при образовании комплекса локальная концентрация Фс может достигать единиц мМ [90].

Увеличение соотношения Фс:ЛНЧ может привести к агрегации Фс в органической оболочке ЛНЧ. Такой эффект наблюдается при любом типе взаимодействия Фс с ЛНЧ, кроме ковалентной сшивки. Любой Фс в растворе находится в состоянии динамического равновесия мономер–агрегаты, которое может быть сдвинуто в сторону образования агрегатов. Вероятность этого процесса зависит как от структурных свойств молекулы Фс (тип атома металла, природа и число периферических заместителей), так и от особенностей строения органической оболочки ЛНЧ. Так, нами показано, что цинковые и алюминиевые Фц, несмотря на наличие восьми периферийных карбоксильных групп, агрегируют при связывании с апконверсионными ЛНЧ, покрытыми полимерной оболочкой с концевыми аминогруппами, причем цинковые Фц подвергаются агрегации при более низких концентрациях, чем алюминиевые Фц [107]. При этом агрегаты Фс продолжают акцеп-

тировать энергию электронного возбуждения ЛНЧ, причем эффективность этого процесса возрастает за счет большего перекрытия спектра поглощения агрегатов со спектром люминесценции ЛНЧ.

Кроме того, концентрирование ФС из раствора на поверхность ЛНЧ приводит к «просветлению» раствора в области поглощения ФС. В таком случае, фотодинамическая активность ФС в ГК дополнительно снижается вследствие экранирования части молекул ФС.

Представим, что количество молекул ФС на поверхности ЛНЧ может бесконечно возрастать без увеличения среднего расстояния ФС–ЛНЧ, равного радиусу Ферстера  $R_0$ . Согласно теории Ферстера, при  $\text{ФС:ЛНЧ} = x = 1$  на расстоянии  $R_0$  эффективность переноса энергии  $W$  равна 50%. При  $x = 10$  значение  $W = 91\%$ ; при  $x = 100$  значение  $W = 99\%$ ; при  $x = 1000$  значение  $W = 99.9\%$ . Видно, что наибольший прирост величины  $W$  наблюдается при увеличении  $\text{ФС:ЛНЧ}$  от 1 до 10, что намного меньше характерных величин  $[\text{ФС:ЛНЧ}]_{\text{max}}$ . Можно сказать, что с увеличением количества молекул ФС в составе ГК абсолютная эффективность переноса энергии  $W$  возрастает, в то время как удельная эффективность  $W$  (в перерасчете на одну молекулу ФС) снижается.

Следовательно, чем больше молекул ФС находится в комплексе с ЛНЧ, тем меньше каждая из них получает дополнительной энергии и потому усиление фотодинамических свойств ФС стремится к нулю, а фотодинамическая активность ФС в составе ГК при больших отношениях  $\text{ФС:ЛНЧ}$  оказывается ниже активности свободного ФС вследствие эффектов самотушения.

Наконец, использование некоторых типов оболочек ЛНЧ может привести к тому, что АФК, образовавшиеся в результате реакции ФС с молекулярным кислородом внутри органической оболочки ЛНЧ, не смогут эффективно повреждать мишени в окружающем ГК растворе, так как диффузия в оболочке ЛНЧ затруднена. В таком случае наиболее вероятной мишенью окисления окажется непосредственно молекула ФС. Действительно, в электростатически стабилизированных ГК на основе фталоцианинов алюминия и КТ, покрытых полимерной оболочкой, мы наблюдали быстрое выцветание красителя как при селективном освещении ФЦ, так и при возбуждении КТ с последующим переносом энергии [108]. В результате измеряемое количество АФК оказывается меньше реального. Хотя такое расчетное значение концентрации АФК является по сути «кажущимся», именно оно соответствует эффективной концентрации АФК, способных проявлять фотодинамическую активность вне гибридного комплекса.

Таким образом, увеличение эффективности переноса энергии в ГК за счет увеличения величины  $\text{ФС:ЛНЧ}$  в известной степени противоречит идее усиления фотодинамической активности ФС.

Нужно отметить, что результатом взаимодействия ФС и ЛНЧ может стать перенос электрона. Это явление наблюдается достаточно редко и легко обнаруживается по сильным изменениям спектральных свойств ФС вследствие образования анион-радикалов и других производных [63, 109]. Кроме того, перенос электрона означает переход КТ в «выключенное» состояние, когда уместна модель классического статического тушения. В таком случае происходит тушение интенсивности люминесценции КТ без изменения ее длительности. К сожалению, длительность люминесценции ЛНЧ оценивали лишь в некоторых работах, и отсутствие такой оценки может привести к неверной интерпретации результатов эксперимента [52, 56].

### ВЫВОДЫ И ДАЛЬНЕЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

Все выявленные функциональные связи между структурными и спектральными свойствами ФС и ЛНЧ, способными оказать влияние на эффективность работы ЛНЧ в качестве светосборщика, и усиление фотодинамической активности ФС в составе ГК можно свести в единую схему, представленную на рис. 6. Видно, что все главные характеристики ФС и ЛНЧ взаимосвязаны между собой, поэтому полный набор параметров, оптимизированный по наибольшему выходу АФК, должен представлять собой некий компромисс.

Поиск этого компромисса представляет первоочередную задачу для ФДТ на пути создания ФС третьего поколения. Однако полученные данные, несмотря на внушительное количество работ, посвященных ГК, слишком обрывочны и разнородны, что не позволяет провести глобальный анализ и подобрать требуемый набор характеристик ГК. Это возможно только при комплексном подходе, когда все связи, показанные на рис. 6, можно будет выявить как количественные зависимости. Поскольку большинство из указанных параметров связаны известными формулами теории FRET, затруднение возникает только на этапе выявления связи структурных и фотофизических характеристик компонентов ГК. В первую очередь, это касается ЛНЧ, поскольку взаимосвязь структурных и спектральных свойств тетрапиррольных ФС изучена более полно.

Однако для оптимизации дизайна ГК недостаточно обладать информацией о свойствах каждого компонента. Такие явления, как агрегация ФС, статическое тушение люминесценции ЛНЧ в результате образования дефектов поверхности нанокристалла

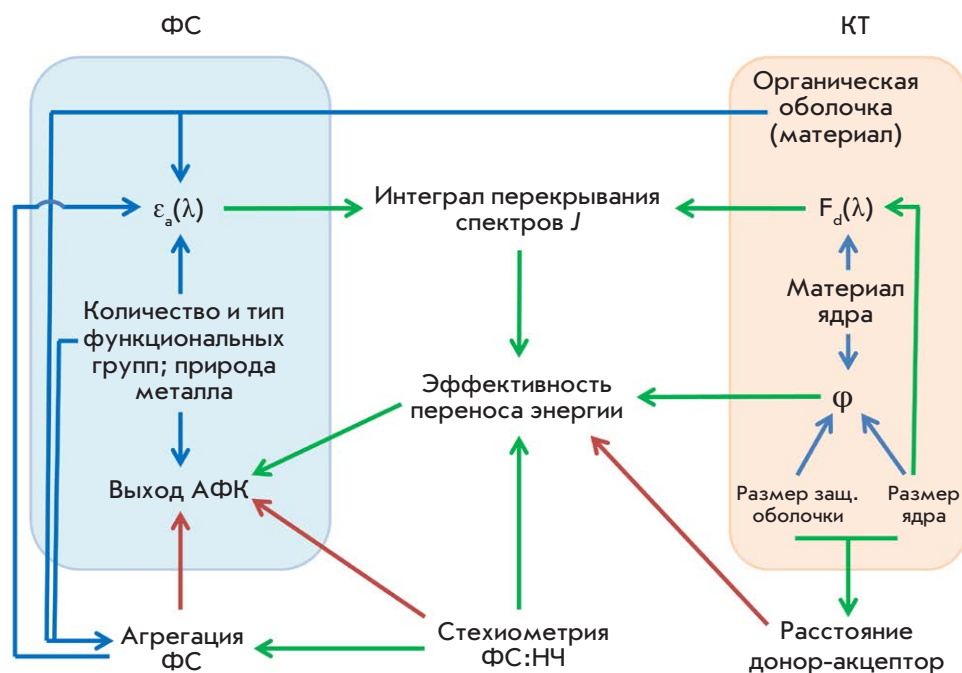


Рис. 6. Схема функциональных связей между параметрами структуры молекул ФС / КТ и их фотофизическими свойствами, а также влиянием этих свойств на выход активных форм кислорода через параметры переноса энергии по механизму FRET.  $F_d(\lambda)$  – спектр люминесценции КТ,  $\epsilon_a(\lambda)$  – спектр поглощения ФС,  $\phi$  – квантовый выход люминесценции. Зеленые стрелки обозначают положительную корреляцию между параметрами, красные – отрицательную корреляцию, синие – наличие корреляции сложного типа

с участием ФС, могут быть количественно изучены только при образовании ГК. Также нужно отметить, что возмущение электронной плотности в молекуле ФС при образовании ГК (даже при отсутствии описанных выше эффектов агрегации и тушения) оказывает некоторое влияние на фотофизические свойства ФС и тем самым косвенно влияет на эффективность переноса энергии и усиление выхода АФК. Отсутствие учета любого из описанных выше параметров приводит к тому, что даже при наличии ФС и ЛНЧ с оптимальными для FRET спектральными характеристиками далеко не всегда удастся получить ГК, в котором наблюдается усиление флуоресценции ФС или скорости генерации им АФК [87, 98, 104–106]. Обычно это приводит к отказу от механизма FRET в качестве модели для описания взаимодействий наночастицы и ФС [51, 56, 91, 93, 110].

Вероятно, в результате оптимизации дизайна ГК можно найти несколько вариантов комплексов, значительно отличающихся набором внутренних характеристик, но имеющих сопоставимые значения выхода АФК (или сопоставимых по эффективности использования определенных областей спектра для генерации АФК). Поскольку усиление фотодинамических характеристик ФС возможно только при низких значениях ФС:ЛНЧ, когда люминесценция ЛНЧ потушена не полностью, то люминесценцию ЛНЧ можно использовать в диагностических целях.

Очевидно, такие ГК могут применяться для решения конкретных задач ФДТ и флуоресцентной диагностики в зависимости от свойств объекта-мишени. В связи с этим необходимо сказать, что направления оптимизации дизайна ГК рассмотрены нами исключительно в аспекте усиления выхода АФК. На самом деле итоговая фотодинамическая активность будет зависеть не только от поглощательной способности ГК и выхода АФК, но и от эффективности взаимодействия ГК с клетками, механизма интернализации, стабильности ГК в присутствии компонентов крови при введении препарата на основе ГК в кровеносную систему. Весьма вероятно, что подходы к оптимизации ГК с целью увеличения эффективности направленной доставки значительно повлияют на итоговый набор параметров ГК. Следовательно, схема, представленная на рис. 6, должна быть расширена с учетом всех аспектов функциональной активности ГК как фотосенсибилизатора третьего поколения. Составление полной схемы такого рода позволит вывести оценку перспективы использования ГК с переносом энергии в ФДТ на качественно новый уровень и потому является главной задачей современной медицинской биофизики. ●

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-70042.*



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bissonnette L., Bergeron M.G. // *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2006. V. 6. № 3. P. 433–450.
2. Kelkar S.S., Reineke T.M. // *Bioconjug. Chem.* 2011. V. 22. № 10. P. 1879–1903.
3. Frochot C., Mordon S. // *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2019. V. 23. № 04–05. P. 347–357.
4. Lucky S.S., Soo K.C., Zhang Y. // *Chem. Rev.* 2015. V. 115. № 4. P. 1990–2042.
5. Sobolev A.S. // *Acta Naturae.* 2020. V. 12. № 4. P. 47–56.
6. Sokolov A.V., Kostin N.N., Ovchinnikova L.A., Lomakin Y.A., Kudriaeva A.A., Shemyakin M.M., Ovchinnikov Yu.A. // *Acta Naturae.* 2019. V. 11. № 2. P. 28–41.
7. Zdobnova T.A., Lebedenko E.N., Deyev S.M. // *Acta Naturae.* 2011. V. 3. № 1. P. 29–47.
8. Wang X., Valiev R.R., Ohulchanskyi T.Y., Ågren H., Yang C., Chen G. // *Chem. Soc. Rev.* 2017. V. 46. № 14. P. 4150–4167.
9. Martynenko I.V., Litvin A.P., Purcell-Milton F., Baranov A.V., Fedorov A.V., Gun'ko Y.K. // *J. Mater. Chem. B. Royal Soc. Chem.* 2017. V. 5. № 33. P. 6701–6727.
10. Algar W.R., Krull U.J. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 391. № 5. P. 1609–1618.
11. Khaydukov E.V., Mironova K.E., Semchishen V.A., Generalova A.N., Nechaev A.V., Khochenkov D.A., Stepanova E.V., Lebedev O.I., Zvyagin A.V., Deyev S.M., et al. // *Sci. Rep. Nat. Publ. Group.* 2016. V. 6. P. 35103.
12. Su Q., Feng W., Yang D., Li F. // *Acc. Chem. Res.* 2017. V. 50. № 1. P. 32–40.
13. Couleaud P., Morosini V., Frochot C., Richeter S., Raehm L., Durand J.-O. // *Nanoscale.* 2010. V. 2. № 7. P. 1083–1095.
14. Li Y., Bai G., Zeng S., Hao J. // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2019. V. 11. № 5. P. 4737–4744.
15. Gao G., Guo Q., Zhi J. // *Small.* 2019. V. 15. № 48. P. 1902238.
16. Filali S., Pirot F., Miossec P. // *Trends Biotechnol.* 2020. V. 38. № 2. P. 163–177.
17. Гуринович Г.П., Севченко А.И., Соловьев К.Н. // *Успехи физических наук.* 1963. Т. 79. № 2. С. 173–234.
18. Bautista-Sanchez A., Kasselouri A., Desroches M.C., Blais J., Maillard P., de Oliveira D.M., Tedesco A.C., Prognon P., Delaire J. // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2005. V. 81. № 3. P. 154–162.
19. Idowu M., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2008. V. 200. № 2–3. P. 396–401.
20. Gonçalves P.J., De Boni L., Borissevitch I.E., Zílio S.C. // *J. Phys. Chem. A.* 2008. V. 112. № 29. P. 6522–6526.
21. Ogunsipe A., Nyokong T. // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2005. V. 4. № 7. P. 510–516.
22. Kuznetsova N.A., Gretsova N.S., Derkacheva V.M., Mikhalenko S.A., Solov'eva L.I., Yuzhakova O.A., Kaliya O.L., Luk'yanets E.A. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2002. V. 72. № 2. P. 300–306.
23. Çakır D., Göksel M., Çakır V., Durmuş M., Biyiklioglu Z., Kantekin H. // *Dalt. Trans.* 2015. V. 44. № 20. P. 9646–9658.
24. Oleinick N.L., Antunez A.R., Clay M.E., Rihter B.D., Kenney M.E. // *Photochem. Photobiol.* 1993. V. 57. № 2. P. 242–247.
25. Bonnett R., Charlamides A.A., Land E.J., Sinclair R.S., Tait D., Truscott T.G. // *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases.* 1980. V. 76. P. 852–859.
26. Wróbel D., Boguta A. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2002. V. 150. № 1–3. P. 67–76.
27. Kadish K.M., Smith K.M., Guillard R. *The Porphyrin Handbook.* San Diego: Acad. Press, 2003.
28. Gonçalves P.J., Corrêa D.S., Franzen P.L., De Boni L., Almeida L.M., Mendonça C.R., Borissevitch I.E., Zílio S.C. // *Spectrochim. Acta – Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2013. V. 112. P. 309–317.
29. Maiti N.C., Mazumdar S., Periasamy N. // *J. Phys. Chem. B.* 1998. V. 102. № 9. P. 1528–1538.
30. Gandini S.C.M., Yushmanov V.E., Borissevitch I.E., Tabak M. // *Langmuir.* 1999. V. 15. № 9. P. 6233–6243.
31. Kaliya O.L., Kuznetsova N.A., Bulgakov R.A., Solovyova L.I., Shevchenko E.N., Slivka L.K., Lukyanets E.A. // *Macroheterocycles.* 2016. V. 9. № 2. P. 186–192.
32. Suchan A., Nackiewicz J., Hnatejko Z., Waclawek W., Lis S. // *CHEMIK.* 2014. V. 68. № 4. P. 369–376.
33. Suchan A., Nackiewicz J., Hnatejko Z., Waclawek W., Lis S. // *Dye. Pigment.* 2009. V. 80. № 2. P. 239–244.
34. Gandini S.C.M., Yushmanov V.E., Perussi J.R., Tabak M., Borissevitch I.E. // *J. Inorg. Biochem.* 1999. V. 73. № 1–2. P. 35–40.
35. Олейников В.А., Суханова А.В., Набиев И.Р. // *Рос. нанотехнологии.* 2007. Т. 2. № 1–2. С. 160–173.
36. Kim J.Y., Voznyy O., Zhitomirsky D., Sargent E.H. // *Adv. Mater.* 2013. № 25. P. 4986–5010.
37. Lane L.A., Smith A.M., Lian T., Nie S. // *J. Phys. Chem. B.* 2014. V. 118. № 49. P. 14140–14147.
38. Kortan A.R., Opila R.L., Bawendi M.G., Steigerwald M.L., Carroll P.J., Brus L.E. // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. V. 112. № 4. P. 1327–1332.
39. Hines M.A., Guyot-Sionnest P. // *J. Phys. Chem.* 1996. V. 100. № 2. P. 468–471.
40. Wang X., Qu L., Zhang J., Peng X., Xiao M. // *Nano Lett.* 2003. V. 3. № 8. P. 1103–1106.
41. Grabolle M., Ziegler J., Merkulov A., Nann T., Resch-Genger U. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1130. P. 235–241.
42. Dabbousi B.O., Rodriguez-Viejo J., Mikulec F.V., Heine J.R., Mattoussi H., Ober R., Jensen K.F., Bawendi M.G. // *J. Phys. Chem. B.* 1997. V. 101. № 46. P. 9463–9475.
43. Hohng S., Ha T. // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126. № 5. P. 1324–1325.
44. Kapitonov A.M., Stupak A.P., Gaponenko S.V., Petrov E.P., Rogach A.L., Eychmüller A. // *J. Phys. Chem. B.* 1999. V. 103. № 46. P. 10109–10113.
45. Bawendi M.G., Carroll P.J., Wilson W.L., Brus L.E. // *J. Chem. Phys.* 1992. V. 96. № 2. P. 946–954.
46. An L., Chao K., Zeng Q., Han X., Yuan Z., Xie F., Fu X., An W. // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2013. V. 13. P. 1368–1371.
47. Wuister S.F., Swart I., van Driel F., Hickey S.G., Donega C. De Mello // *Nano Lett.* 2003. V. 3. № 4. P. 503–507.
48. Yu W.W., Qu L., Guo W., Peng X. // *Chem. Mater.* 2003. V. 15. № 14. P. 2854–2860.
49. Hong M., Guo-Hong M., Wen-Jun W., Xue-Xi G., Hong-Liang M. // *Chinese Phys. B.* 2008. V. 17. № 4. P. 1280.
50. Qu L., Peng X. // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. V. 124. № 9. P. 2049–2055.
51. Zhang X., Liu Z., Ma L., Hossu M., Chen W. // *Nanotechnology.* 2011. V. 22. P. 195501.
52. Moeno S., Idowu M., Nyokong T. // *Inorganica Chim. Acta.* 2008. V. 361. № 9–10. P. 2950–2956.
53. Adegoke O., Khene S., Nyokong T. // *J. Fluoresc.* 2013. V. 23. № 5. P. 963–974.
54. Viana O.S., Ribeiro M.S., Rodas A.C.D., Rebouças J.S., Fontes A., Santos B.S. // *Molecules.* 2015. V. 20. № 5. P. 8893–8912.
55. Rotomskis R., Valanciunaite J., Skripka A., Steponkiene S., Spogis G., Bagdonas S., Streckyte G. // *Lith. J. Phys.* 2013. V. 53. № 1. P. 57–68.
56. Keane P.M., Gallagher S.A., Magno L.M., Leising M.J., Clark I.P., Greeham G.M., Towrie M., Gun'ko Y.K., Kelly J.M., Quinn S.J. // *Dalt. Trans.* 2012. V. 41. № 42. P. 13159.
57. Vaishnavi E., Renganathan R. // *Analyst.* 2014. V. 139. № 1.

- P. 225–234.
58. Martynenko I.V., Kuznetsova V.A., Orlova A.O., Kanaev P.A., Maslov V.G., Loudon A., Zaharov V., Parfenov P., Gun'ko Y.K., Baranov A.V., et al. // *Nanotechnology*. IOP Publ. 2015. V. 26. № 5. P. 055102.
  59. Martynenko I.V., Kuznetsova V.A., Orlova A.O., Kanaev P.A., Gromova Y., Maslov V.G., Baranov A.V., Fedorov A. // *Proc. SPIE*. 2014. V. 9126. P. 91263C.
  60. Idowu M., Chen J.Y., Nyokong T. // *New J. Chem.* 2008. V. 32. № 2. P. 290–296.
  61. Duong H.D., Rhee J.I. // *Chem. Phys. Lett.* 2011. V. 501. № 4–6. P. 496–501.
  62. Ahmed G.H., Aly S.M., Usman A., Eita M.S., Melnikov V.A., Mohammed O.F. // *Chem. Commun. Royal Soc. Chem.* 2015. V. 51. № 38. P. 8010–8013.
  63. Moeno S., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2009. V. 201. № 2–3. P. 228–236.
  64. Chambrier I., Banerjee C., Remiro-Buenamañana S., Chao Y., Cammidge A.N., Bochmann M. // *Inorg. Chem.* 2015. V. 54. № 15. P. 7368–7380.
  65. Tshangana C., Nyokong T. // *Spectrochim. Acta – Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2015. V. 151. P. 397–404.
  66. Moeno S., Antunes E., Khene S., Litwinski C., Nyokong T. // *Dalt. Trans.* 2010. V. 39. P. 3460–3471.
  67. Moeno S., Antunes E., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem. Elsevier B.V.*, 2011. V. 218. № 1. P. 101–110.
  68. Moeno S., Nyokong T. // *Polyhedron*. 2008. V. 27. № 8. P. 1953–1958.
  69. Jhonsi M.A., Renganathan R. // *J. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 344. № 2. P. 596–602.
  70. Skripka A., Dapkute D., Valanciunaite J., Karabanovas V., Rotomskis R. // *Nanomaterials*. 2019. V. 9. № 1. P. 9.
  71. Dayal S., Królicki R., Lou Y., Qiu X., Berlin J.C., Kenney M.E., Burda C. // *Appl. Phys. B Lasers Opt.* 2006. V. 84. № 1–2. P. 309–315.
  72. Dayal S., Lou Y., Samia A.C.S., Berlin J.C., Kenney M.E., Burda C. // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. V. 128. P. 13974–13975.
  73. Dayal S., Li J., Li Y.S., Wu H., Samia A.C.S., Kenney M.E., Burda C. // *Photochem. Photobiol.* 2008. V. 84. № 1. P. 243–249.
  74. Zenkevich E., Cichos F., Shulga A., Petrov E.P., Blaudeck T., von Borczyskowski C. // *J. Phys. Chem. B*. 2005. V. 109. P. 8679–8692.
  75. Zenkevich E.I., Sagun E.I., Knyukshto V.N., Stasheuski A.S., Galievsky V.A., Stupak A.P., Blaudeck T., von Borczyskowski C. // *J. Phys. Chem. C*. 2011. V. 115. № 44. P. 21535–21545.
  76. Zenkevich E.I., Stupak A.P., Goehler C., Krasselt C., von Borczyskowski C. // *ACS Nano*. 2015. V. 9. № 3. P. 2886–2903.
  77. Blaudeck T., Zenkevich E.I., Abdel-Mottaleb M., Szwaykowska K., Kowerko D., Cichos F., von Borczyskowski C. // *Chem-PhysChem*. 2012. V. 13. № 4. P. 959–972.
  78. Lemon C.M., Karnas E., Bawendi M.G., Nocera D.G. // *Inorg. Chem.* 2013. V. 52. № 18. P. 10394–10406.
  79. Zenkevich E.I., Blaudeck T., Shulga A.M., Cichos F., von Borczyskowski C. // *J. Lumin.* 2007. V. 122–123. № 1–2. P. 784–788.
  80. Ma J., Chen J.Y., Idowu M., Nyokong T. // *J. Phys. Chem. B*. 2008. V. 112. № 15. P. 4465–4469.
  81. Orlova A.O., Martynenko I.V., Maslov V.G., Fedorov A.V., Gun'ko Y.K., Baranov A.V. // *J. Phys. Chem. C*. 2013. V. 117. № 44. P. 23425–23431.
  82. Orlova A.O., Gubanova M.S., Maslov V.G., Vinogradova G.N., Baranov A.V., Fedorov A.V., Goukko I. // *Opt. Spectrosc.* 2010. V. 108. № 6. P. 927–933.
  83. Narband N., Mubarak M., Ready D., Parkin I.P., Nair S.P., Green M.A., Beeby A., Wilson M. // *Nanotechnology*. 2008. V. 19. P. 445102.
  84. Valanciunaite J., Skripka A., Streckyte G., Rotomskis R. // *Laser Appl. Life Sci.* 2010. V. 7376. P. 737607.
  85. Valanciunaite J., Skripka A., Araminaite R., Kalantojus K., Streckyte G., Rotomskis R. // *Chemija*. 2011. V. 22. № 4. P. 181–187.
  86. Borissevitch I.E., Parra G.G., Zagidullin V.E., Lukashev E.P., Knox P.P., Paschenko V.Z., Rubin A.B. // *J. Lumin.* 2013. V. 134. P. 83–87.
  87. Skripka A., Valanciunaite J., Dauderis G., Poderys V., Kubiliute R., Rotomskis R. // *J. Biomed. Opt.* 2013. V. 18. № 7. P. 78002.
  88. Kurabayashi T., Funaki N., Fukuda T., Akiyama S., Suzuki M. // *Anal. Sci.* 2014. V. 30. № 5. P. 545–550.
  89. Yaghini E., Giuntini F., Eggleston I.M., Suhling K., Seifalian A.M., MacRobert A.J. // *Small*. 2014. V. 10. № 4. P. 782–792.
  90. Gvozdev D.A., Maksimov E.G., Strakhovskaya M.G., Moiseyevich A.M., Ramonova A.A., Moiseyevich M.M., Goryachev S.N., Paschenko V.Z., Rubin A.B. // *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 2018. V. 187. P. 170–179.
  91. Suchánek J., Lang K., Novakova V., Zimcik P., Zelinger Z., Kubát P. // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2013. V. 12. № 5. P. 743.
  92. Tekdaş D.A., Durmuş M., Yanik H., Ahsen V. // *Spectrochim. Acta – Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2012. V. 93. P. 313–320.
  93. Arvani M., Virkki K., Abou-Chahine F., Efimov A., Schramm A., Tkachenko N.V., Lupo D. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. № 39. P. 27414–27421.
  94. Britton J., Antunes E., Nyokong T. // *Inorg. Chem. Commun.* 2009. V. 12. № 9. P. 828–831.
  95. Britton J., Antunes E., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2010. V. 210. № 1. P. 1–7.
  96. Chidawanyika W., Litwinski C., Antunes E., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2010. V. 212. № 1. P. 27–35.
  97. D'Souza S., Antunes E., Litwinski C., Nyokong T. // *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2011. V. 220. № 1. P. 11–19.
  98. D'Souza S., Antunes E., Nyokong T. // *Inorganica Chim. Acta*. 2011. V. 367. № 1. P. 173–181.
  99. Charron G., Stuchinskaya T., Edwards D.R., Russell D.A., Nann T. // *J. Phys. Chem. C*. 2012. V. 116. № 16. P. 9334–9342.
  100. Tsolekile N., Ncapayi V., Obiyenwa G.K., Matoetoe M., Songca S., Oluwafemi O.S. // *Int. J. Nanomedicine*. 2019. V. 14. P. 7065–7078.
  101. Lakowicz J.R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3rd ed. Springer US, 2006. P. 449.
  102. Ghosh M., Nath S., Hajra A., Sinha S. // *J. Lumin.* 2013. V. 141. P. 87–92.
  103. Dhami S., de Mello A.J., Rumbles G., Bishop S.M., Phillips D., Beeby A. // *Photochem. Photobiol.* 1995. V. 61. № 4. P. 341–346.
  104. Visheratina A.K., Martynenko I.V., Orlova A.O., Maslov V.G., Fedorov A.V., Baranov A.V., Gun'ko Y.K. // *J. Opt. Technol.* 2014. V. 81. № 8. P. 444–448.
  105. Rakovich A., Savateeva D., Rakovich T., Donegan J.F., Rakovich Y.P., Kelly V., Lesnyak V., Eychmüller A. // *Nanoscale Res. Lett.* 2010. V. 5. № 4. P. 753–760.
  106. Dadadzhyanov D.R., Martynenko I.V., Orlova A.O., Maslov V.G., Fedorov A.V., Baranov A.V. // *Opt. Spectrosc.* 2015. V. 119. № 5. P. 738–743.
  107. Gvozdev D.A., Lukashev E.P., Gorokhov V.V., Pashchenko V.Z. // *Biochem.* 2019. V. 84. № 8. P. 911–922.
  108. Gvozdev D.A., Maksimov E.G., Paschenko V.Z. // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2020. V. 75. № 1. P. 7–12.
  109. Aly S.M., Ahmed G.H., Shaheen B.S., Sun J., Mohammed O.F. // *J. Phys. Chem. Lett.* 2015. V. 6. № 5. P. 791–795.
  110. Tsay J.M., Trzoss M., Shi L., Kong X., Selke M., Jung E., Weiss S. // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 129. № 21. P. 6865–6871.