

Гибридные наноконъюгаты катионных фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ с анионными квантовыми точками AgInS/ZnS/GSH

О. М. Куликова, В. Б. Шейнин[@]

Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук, 153045 Иваново, Россия

[@]E-mail: vbs@isc-ras.ru

Исследованы закономерности самосборки гибридных наноконъюгатов катионных фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$, $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ и $\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ с водорастворимыми анионными квантовыми точками $\text{AgInS}_2/\text{ZnS/GSH}$, солюбилизованными глутатионом, с максимумом флуоресценции при 578 нм (QD^{578}). Показано, что изомеры $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ образуют с QD^{578} наноконъюгаты состава 1:1, в которых флуоресценция квантовой точки полностью затухает. Положение заряженных катионных групп в $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ оказывает заметное влияние на образование конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$. Эффективность тушения флуоресценции QD^{578} изомерами $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ охарактеризована константами тушения Штерна-Фольмера. Выраженной зависимости времени затухания от концентрации тушителя не обнаружено, что указывает на сильную составляющую статического тушения, обусловленную образованием нефлуоресцирующего стабильного комплекса между изомерами $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ и QD^{578} . Показано, что тетракаатионы $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$, конъюгированные с QD^{578} способны генерировать синглетный кислород. Один из конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ демонстрирует свойства чувствительного флуоресцентного зонда, работающего в сигнальном режиме «Off-On»: взаимодействие QD^{578} с $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ приводит к эффективному тушению флуоресценции квантовой точки с последующим ее восстановлением при отрыве молекулы $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ от поверхности QD^{578} за счет преимущественного связывания фотосенсибилизатора с ДНК.

Ключевые слова: Тетрапиррольные фотосенсибилизаторы, порфирины, квантовые точки, супрамолекулярная самосборка, гибридные органо-неорганические наносборки, фотодинамическая терапия.

Hybrid Nanoconjugates of Cationic Photosensitizers $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ with Anionic Quantum Dots AgInS/ZnS/GSH

Olga M. Kulikova and Vladimir B. Sheinin[@]

G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, 153045 Ivanovo, Russia

[@]Corresponding author E-mail: vbs@isc-ras.ru

The self-assembly patterns of hybrid nanoconjugates of the cationic photosensitizers $\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$, $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ and $\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ with glutathione coated water-soluble anionic quantum dots $\text{AgInS}_2/\text{ZnS/GSH}$, with fluorescence maximum at 578 nm (QD^{578}) were investigated. The $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ isomers form 1:1 nanoconjugates with QD^{578} in which the quantum dot fluorescence is completely quenched. The position of charged cationic groups in the macrocycle has a marked influence on the conjugate formation. The efficiency of QD^{578} fluorescence quenching by $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ isomers was evaluated by calculated Stern-Volmer quenching constants. No pronounced dependence of the fluorescence decay on the quencher concentration was found, indicating the static quenching mechanism with the formation of a nonfluorescent stable complex between $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ isomers and QD^{578} . The $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ tetracations conjugated with QD^{578} are able to produce singlet oxygen under irradiation. Among the investigated conjugates the $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ is shown to display the properties of a sensitive fluorescent probe operating in the “Off-On” signal mode: the interaction of QD^{578} with $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ leads to an effective quantum dot photoluminescence quenching with its subsequent recovery as a result of the $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ molecule detachment from the QD surface due to preferential binding with DNA.

Keywords: Tetrapyrrole photosensitizers, porphyrins, quantum dots, supramolecular self-assembly, hybrid organic-inorganic nanoconjugates, photodynamic theranostics.

Введение

Требования современной медицины предполагают конструирование и синтез гибридных наносистем для фотодинамической терапии опухолей, сочетающих функции целевой доставки лекарственного препарата, диагностики и терапии. Современные успехи в области синтеза и химической модификации порфиринов, а также родственных соединений, предоставляют неограниченные возможности поиска и целенаправленного получения новых молекулярных и самособирающихся супрамолекулярных систем с уникальным набором физико-химических и фотофизических характеристик.^[1–7] Современные тенденции направлены на исследования комбинированных систем с участием порфириновых производных и различных наночастиц с целью улучшения их биораспределения, управления фототоксичностью и предотвращения агрегации. Одной из главных задач разработки функциональных систем для хемосенсорики, катализа, молекулярной электроники, нанобиомедицины является создание и исследование наноразмерных гибридных органо-неорганических конъюгатов.^[8–14] Тетрапиррольные макроциклы очень хорошо известны как фотосенсибилизаторы первого и второго поколений и применяются в фотодинамической терапии онкологических заболеваний, противомикробной и противовирусной терапии.^[15–21] Квантовые точки – флуоресцентные полупроводниковые нанокристаллы с потенциалом применения во многих областях науки и техники, причем в настоящее время можно отметить повышение интереса к их использованию в биологии и медицине в связи с развитием тераностического подхода к разработке фармацевтических препаратов.^[22–27] Квантовые точки имеют значительные преимущества перед большинством используемых флуорофоров как в чувствительности, так и в стабильности; флуоресценция, испускаемая квантовыми точками, может длиться до двадцати дней.^[28–31] Одним из основных ограничений применения квантовых точек на сегодняшний день является их токсичность, поэтому важной практической задачей является получение нетоксичных наночастиц и исследование их биоактивности и биосовместимости. Решением подобной проблемы может стать использование трехкомпонентных квантовых точек, типа CuInS_2 или AgInS_2 . Такие квантовые точки, не содержащие в своем составе токсичных элементов, обладают отличными оптическими и электронными свойствами и могут успешно применяться в качестве биосенсоров, в диагностике и фотодинамической терапии.^[32–36] Актуальной задачей является безопасная доставка терапевтических агентов к месту назначения, поскольку его фотоактивность может привести к повреждению здоровых тканей и клеток крови.^[37–43] Супрамолекулярное взаимодействие фотокаталитически активных порфиринов с биосовместимыми водорастворимыми квантовыми точками может решить такие насущные проблемы как токсичность фотосенсибилизатора, низкая селективность к мишени или нежелательная агрегация и, как следствие, позволит разработать новые носители для целевой и безопасной доставки фотосенсибилизатора в очаг поражения. Данная работа посвяще-

на исследованию самособирающихся водорастворимых наноконъюгатов $\text{ZnP}(n\text{'-PyMe}^+)_4/\text{QD}^{585}$ катионных фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(4\text{'-PyMe}^+)_4$, $\text{ZnP}(3\text{'-PyMe}^+)_4$ и $\text{ZnP}(2\text{'-PyMe}^+)_4$ с водорастворимыми анионными квантовыми точками $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$, сольбилизованными глутатионом (флуоресценция при 578 нм), которые могут выступать в качестве биомаркеров и средства адресной доставки препарата к мишени.

Экспериментальная часть

Реактивы

В качестве объектов исследования были выбраны и синтезированы по опубликованным методикам цинковые комплексы тетраидидов 5,10,15,20-тетракис(N-метилпиридин-4'-ил)порфина $\text{ZnP}(4\text{'-MePy}^+)_4$, 5,10,15,20-тетракис(N-метилпиридин-3'-ил)порфина $\text{ZnP}(3\text{'-MePy}^+)_4$, 5,10,15,20-тетракис(N-метилпиридин-2'-ил)порфина $\text{ZnP}(2\text{'-MePy}^+)_4$.^[44,45] Анионные коллоидные квантовые точки $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ типа ядро/оболочка/лиганд с максимумом флуоресценции при 578 нм (QD^{578}) были получены методом коллоидного синтеза в воде^[46,47] аналогично QD^{585} , которые исследовались ранее.^[48–50] В качестве источника ДНК использовали коммерчески доступный лекарственный препарат «Деринат®» («ФЗ Иммунолекс», Россия), представляющий собой 0.25%-й раствор натриевой соли высокоочищенной ДНК, выделенной из молок рыб осетровых пород. Концентрацию ДНК в растворе определяли спектрофотометрически, используя значения молярных коэффициентов поглощения $\varepsilon = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ на длине волны 260 нм.

Оборудование

Спектры поглощения и флуоресценции были записаны с использованием двухканального спектрофотометра-флуориметра Avantes AvaSpec 2048-2, оборудованного оптоволоконной термостатируемой ячейкой qpod© (Quantum), Титрование растворов проводили с помощью микропипетки с шагом $1 \cdot 10^{-5}$ мл в 1 см флуориметрической кювете при 298,15 К. В качестве источника фотовозбуждения использовали монохромный светодиод LED440-6-30 (Roitner Lasertechnik GmbH, Germany) с фактическим значением максимума на 434 нм. Средние времена жизни флуоресценции были измерены на приборе FluoTime 300 (Picoquant GmbH), оснащенном диодными лазерами (450 нм, частота повторения 40 МГц, длительность импульса 100 пс, Picoquant GmbH; 500 нм, частота повторения 40 МГц, длительность импульса 130 пс, Picoquant GmbH). В качестве параметра корректности аппроксимации кинетики флуоресценции использован функционал χ^2 . Длина волны регистрации подбиралась с учетом значения максимума флуоресценции для каждого образца.

Генерация синглетного кислорода

Исследования фотостабильности и способности к генерации синглетного кислорода проводили в среде фосфатного буферного раствора с pH 7.4. Каждый образец был помещен в стандартную 1 см оптическую кювету, измерения проводились в аэробных условиях при постоянном перемешивании и температуре 25 °C. Концентрация фотосенсибилизатора составляла $4.5 \cdot 10^{-7}$ моль/л. В качестве химической ловушки синглетного кислорода был использован пиридоксин ($C = 2.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).^[51–54] Фотосенсибилизированное окисление пиридоксина контролировали по снижению интенсивно-

сти полосы поглощения с максимумом 323 нм. Спектры поглощения растворов регистрировали в автоматическом режиме с интервалом 30 с на спектрофотометре AvaSpec-2048-2 (Avantes). Растворы облучали с помощью светодиода VL430-5-15 (Roitner Lasertechnik GmbH., Germany) с фактическим максимумом длины волны 428 нм, установленного перпендикулярно направлению измерения поглощения. Наблюдаемые константы скорости фоторазложения (k_{obs}) были рассчитаны из линейных начальных участков зависимости $\ln(A_0/A)$ от времени облучения в программном пакете ORIGIN методом наименьших квадратов.

Результаты и обсуждение

Водорастворимые анионные квантовые точки $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ с максимумом флуоресценции при 578 нм

Для получения гибридных органо-неорганических конъюгатов с изомерными фотосенсибилизаторами $\text{ZnP}(\text{n'-MePy})_4$ были использовали анионные коллоидные квантовые точки $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ типа Core/Shell/L, солюбилизованные глутатионом с максимумом флуоресценции при 578 нм (QD^{578}). Аббревиатура $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ (синонимы AIS/ZnS/GSH, Ag-In-S/ZnS/GSH) является условной, поскольку не отражает стехиометрию большого разнообразия квантовых точек этого вида. В действительности, реальный состав и размер полупроводникового ядра $\text{Ag}_x\text{In}_y\text{S}_z$ подбирается эмпирическим путем, чтобы обеспечить тонкую настройку квантового выхода и максимума флуоресценции целевых квантовых точек. Неорганическая оболочка Zn_nS_m состоит из эпитаксиальных слоев более широкозонного полупроводника ($E_g \text{ ZnS} \approx 3,68$ эВ), который удерживает носители заряда в ядре ($E_g \text{ AgInS}_2 \approx 1,88$ эВ), пассивирует его поверхностные состояния и физически изолирует от агрессивного воздействия водной среды. Глутатионовые лиганды GSH, связанные с поверхностными атомами цинка через сульфидные якорные группы, формируют заряженную за счет ионизации терминальных групп $(\text{COOH})(\text{COOH})(\text{NH}_2)$ органическую оболочку с pH-зависимым суммарным зарядом Σq (Рисунок 1), который обеспечивает растворимость и агрегационную устойчивость квантовых точек

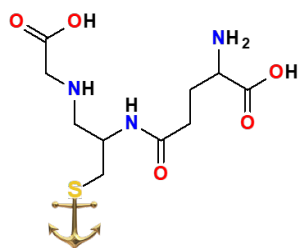


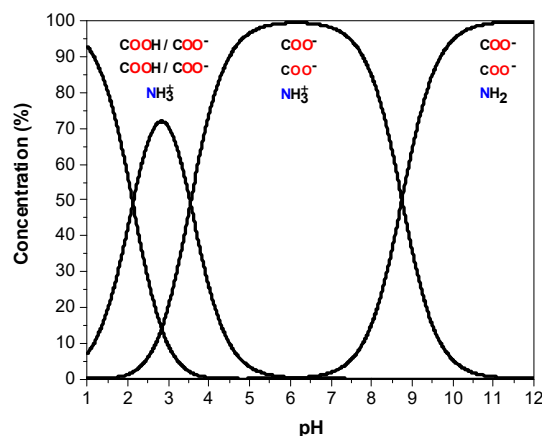
Рисунок 1. Лиганд глутатиона и pH-зависимая ионизация его терминальных групп ($pK_1=2,12/\text{COOH}$, $pK_2=3,59/\text{COOH}$, $pK_3=8,75/\text{NH}_3^+$ [54]).

$\text{Ag}_x\text{In}_y\text{S}_z/\text{Zn}_n\text{S}_m/(\text{GS})_k^{\Sigma q}$. В pH-нейтральной водной среде терминальные группы глутатионовых лигандов практически полностью ионизированы до цвиттер-ионов $/\text{SG}^{+/-}$, формирующих суммарный отрицательный заряд лигандной оболочки анионных квантовых точек $\text{Ag}_x\text{In}_y\text{S}_z/\text{Zn}_n\text{S}_m/(\text{GS}^{+/-})_k$. Близость максимумов флуоресценции анионных QD^{578} и QD^{585} , которые уже были исследованы ранее, указывает на их близкий размер, который лежит в интервале от 2 до 3 нм. [47]

В предыдущих работах мы предложили и обосновали упрощенную MM^+ модель анионной QD^{585} на основе октаэдрического нанокристалла сфалерита $\text{Zn}_{161}\text{S}_{161}$ размером 2,71 нм, которую успешно применили для интерпретации взаимодействия QD^{585} с катионным порфирином $\text{H}_2\text{P}(4'\text{-MePy})_4$ в pH-нейтральном водном растворе при 25 °C. [48–50]

Такая модель является достаточно гибкой, поскольку может быть легко адаптирована к множеству других коллоидных квантовых точек типа Core/Shell/L, солюбилизованных различными органическими лигандами. Для «визуализации» анионной коллоидной QD^{578} в водном растворе *in situ* была построена ее идеализированная полноразмерная 3D модель $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}/\text{Zn}_{111}\text{S}_{111}/(\text{H})_{78}(\text{OH})_{54}(\text{SG}^{+/-})_{24}$ (Рисунок 2), адаптированная к условиям pH-нейтральной водной среды с температурой 25 °C.

В этой аббревиатуре в круглых скобках показаны терминальные группы поверхностных атомов серы $\text{S}(\text{H})$ и цинка $\text{Zn}(\text{OH})$; $\text{Zn}(\text{SG}^{+/-})$. Модель анионной QD^{578} (MQD^{578}) представляет собой гидратированный и солюбилизованный глутатионом октаэдрический $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}/\text{Zn}_{111}\text{S}_{111}$ нанокристалл размером 2,73 нм с двумя различными наборами $\{111\}_{\text{ЗВ}}$ граней. Первый набор включает четыре открытые грани, усталанные атомами серы с терминальными группами SH. Второй набор включает четыре грани с терминальными группами ZnOH и $\text{ZnSG}^{+/-}$, заселенные глутатионом с учетом стерического фактора. Кроме этого, запись $/(\text{H})_{78}(\text{OH})_{54}(\text{SG}^{+/-})_{24}$ показывает степень ионизации всех терминальных групп QD^{578} в pH-нейтральном водном растворе при 25 °C. С учетом глутатионовых лигандов полный размер MQD^{578} составляет около 4,85 нм, а соотношение количества атомов Core/Shell/Surface равно 31% / 69% / 47%, соответственно.



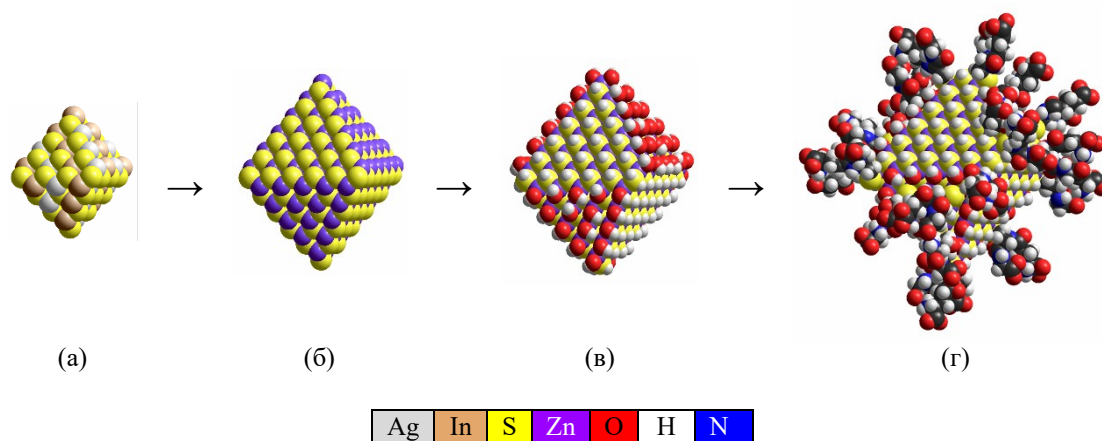


Рисунок 2. Этапы сборки MQD⁵⁷⁸. (а) - Нанокристалл халькопирита $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}$ размером 1,76 нм; (б) – Core/Shell нанокристалл размером 2,73 нм из халькопирита покрытого одним эпитаксиальным слоем сфалерита $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}/\text{Zn}_{111}\text{S}_{111}$; (в) - гидратированный Core/Shell нанокристалл $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}/\text{Zn}_{111}\text{S}_{111}/(\text{H})_{78}(\text{OH})_{78}$ с терминальными SH и ZnOH группами; (г) - коллоидная анионная MQD⁵⁷⁸ $\text{Ag}_{25}\text{In}_{25}\text{S}_{50}/\text{Zn}_{111}\text{S}_{111}/(\text{H})_{78}(\text{OH})_{54}(\text{GS}^{+/-})_{24}$ размером 4,85 нм, сольбилизованная ионизированными глутатионовыми лигандами. В круглых скобках показаны терминальные группы поверхностных атомов S(H), Zn(OH) и Zn(SG^{+/-}). За размер наночастиц принят радиус описанной сферы.

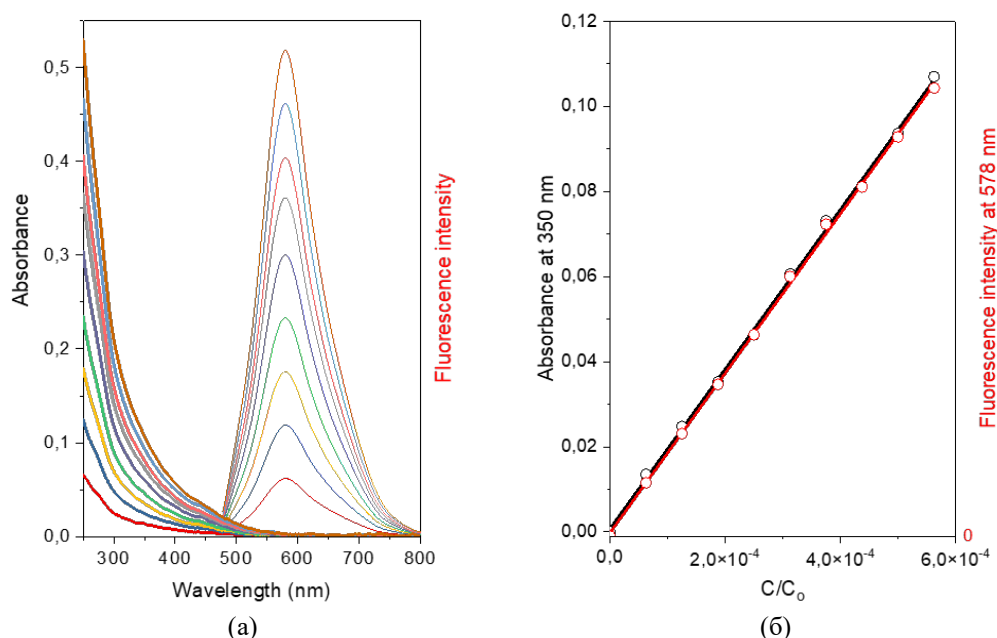


Рисунок 3. (а) Синхронные спектры поглощения (толстые линии) и флуоресценции (тонкие линии) pH-нейтральных водных растворов QD⁵⁷⁸ и (б) их линейные концентрационные зависимости в интервале 0 – 0,1 A³⁵⁰ при 25 °C.

Квантовые точки QD⁵⁷⁸ были охарактеризованы спектрами поглощения и флуоресценции в pH нейтральных водных растворах при 25 °C (Рисунок 3а). Оптические спектры поглощения QD⁵⁷⁸ имеют типичный для $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}$ QDs вид: интенсивное поглощение, монотонно ниспадающее с ростом длины волны, и интенсивную широкую полосу флуоресценции с максимумом при 578 нм. Для водных растворов QD⁵⁷⁸ с оптической плотностью $A^{350} < 0,1$ строго ($r > 0,999$) соблюдается линейная концентрационная зависимость оптической плотности и интенсивности флуоресценции (Рисунок 3б). Поскольку коэффициенты экстинкции водных растворов QD⁵⁷⁸ неизвестны (в качестве примера для QD⁵⁸⁵ $\lg \epsilon = 5,68^{[48]}$), вместо молярной концентрации нами была использована приведенная концентрация C/C_0 ,

вычисленная через добавленный объем раствора QD⁵⁷⁸ с неизвестной концентрацией C_0 (1)

$$C/C_0 = [\Sigma(\Delta V/(V_0 + \Sigma \Delta V))] \quad (1)$$

где V_0 - стартовый объем воды в оптической кювете, $\Sigma \Delta V$ – добавленный объем раствора QD⁵⁷⁸ с концентрацией C_0 .

Кинетика затухания флуоресценции анионных QD⁵⁷⁸ в водном растворе при 298,15 К и pH = 7,5 (Рисунок 4) не является моно экспоненциальной и хорошо описывается суммой двух экспонент (2).

$$I(t) = A_1 \exp(-t/\tau_1) + A_2 \exp(-t/\tau_2), \quad (2)$$

где $I(t)$ – функция затухания флуоресценции, A_1 , A_2 – предэкспоненциальные множители, отражают долю

флуоресцирующих молекул с временем жизни флуоресценции τ_1 , τ_2 . Среднее время жизни флуоресценции анионных QD⁵⁷⁸ составило 480 нс, что существенно больше по сравнению, например, с 20 нс для CdSe или CdTe QDs.^[56–58]

Тетракаатионы **ZnP(2'-MePy⁺)₄**, **ZnP(3'-MePy⁺)₄** и **ZnP(4'-MePy⁺)₄**

В водных растворах исходные соли **ZnP(n'-MePy⁺)₄** диссоциируют до соответствующих тетракаатионов **ZnP(n'-MePy⁺)₄**, растворы которых подчиняются закону Бера по крайней мере до $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л (Рисунки S1-S3, Сопроводительная информация). Линейный участок концентрационного интервала был использован в нашей работе для количественного исследования взаимодействия трех изомеров **ZnP(n'-MePy⁺)₄** с QD⁵⁷⁸.

В отличие от **ZnP(4'-MePy⁺)₄** с симметрично расположенными заместителями MePy⁺, несимметричные изомеры **ZnP(2'-MePy⁺)₄** и **ZnP(3'-MePy⁺)₄** образуют четыре атропоизомера в свободном состоянии и шесть атропоизомеров при адсорбции на поверхности (Таблица 1).

В качестве примера на Рисунке 5(а) показана молекулярная геометрия UDUD атропоизомера **ZnP(3'-MePy⁺)₄** с попеременным расположением кватернизованных атомов азота над (U) и под (D) плоскостью порфириновой платформы.

Причиной существования атропоизомеров **ZnP(2'-MePy⁺)₄** и **ZnP(3'-MePy⁺)₄** являются ротационные барьеры, обусловленные ван-дер-ваальсовым от

талкиванием между β -пиррольными атомами водорода с одной стороны, и атомами водорода или метильными группами в 2'-положениях пиридинных колец с другой (Рисунок 5(б)). В общем случае наличие ротационных барьеров предполагает образование растворов равновесных смесей равновероятных атропоизомеров. Очевидно, что изомерия и атропоизомерия тетракаатионов **ZnP(n'-MePy⁺)₄** влияет на эффективность электростатического связывания с QD⁵⁷⁸ и, как следствие, на прочность соответствующих наноконъюгатов QD⁵⁷⁸/**ZnP(n'-MePy⁺)₄**.

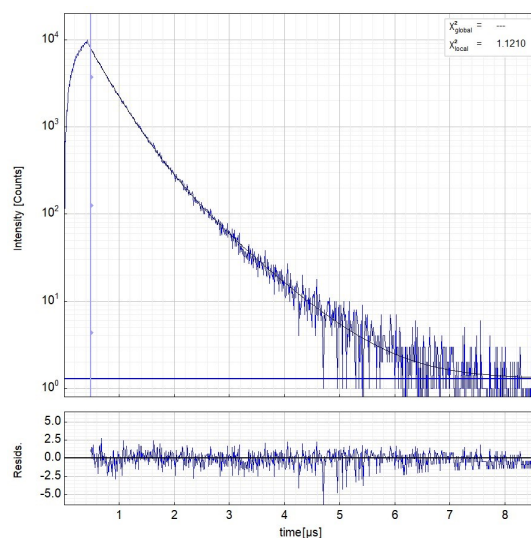


Рисунок 4. Кривая затухания флуоресценции QD⁵⁷⁸ в pH-нейтральном водном растворе при 25 °C.

Таблица 1. Атропоизомеры тетракаатионов **ZnP(n'-MePy⁺)₄**.

Соединение		Конфигурация				
ZnP(4'-MePy⁺)₄		нет				
ZnP(3'-MePy⁺)₄	UUUU	UUUD	UUDD	UDUD	UDDD*	DDDD*
ZnP(2'-MePy⁺)₄	UUUU	UUUD	UUDD	UDUD	UDDD*	DDDD*

*) совпадают в растворе с предыдущими конфигурациями, выделенными жирным шрифтом, но не совпадают с ними при адсорбции на поверхности

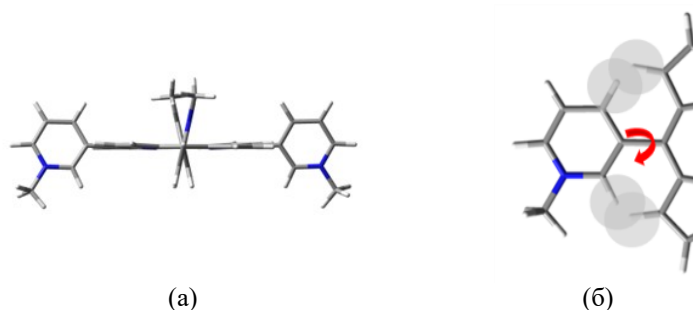


Рисунок 5. Молекулярная геометрия тетракаатиона **ZnP(3'-MePy⁺)₄**. На (а) показан UDUD атропоизомер с попеременным расположением кватернизованных атомов азота над (U) и под (D) плоскостью порфириновой платформы. На (б) показано перекрытие ван-дер-ваальсовых радиусов атомов водорода для копланарной конформации с минимальной H_βH₂-дистанцией.

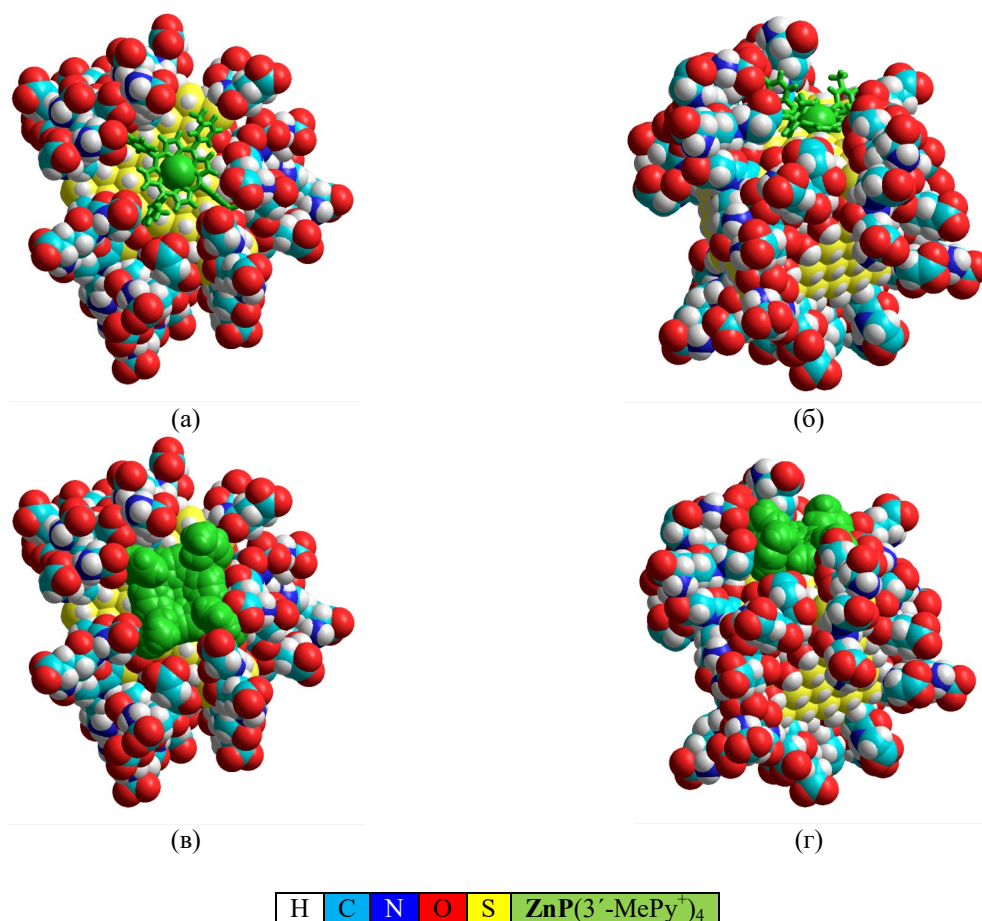


Рисунок 6. В качестве примера показан докинг UDUD атропоизомера $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ с MQD^{578} . (а) и (б) - позиционирование $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ на открытой $\{111\}_{\text{ZB}}$ SH-границы, обрамленной ионизированными глутатионовыми лигандами. (в) и (г) - комплементарность $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ и QD^{578} в составе $\text{MQD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$.

Гибридные органо-неорганические наноконъюгаты $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$

Взаимодействие между анионными квантовыми точками QD^{578} и тетракатонами $\text{H}_2\text{P}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ в рН-нейтральном водном растворе при 25 °С сопровождается чрезвычайно быстрой (за время смешивания реагентов) самосборкой соответствующих наноконъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$. Для объяснения этого феномена мы проанализировали взаимодействие между MQD^{585} и порфириновыми тетракатонами. Анализ полученных моделей показал, что открытые $\{111\}_{\text{ZB}}$ грани, устланные терминальными группами SH и обрамленные ионизированными глутатионовыми лигандами $\text{SG}^{+/-}$, обладают практически идеальной комплементарностью в отношении $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ (Рисунок 6).

Самосборка наноконъюгатов $\text{MQD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ происходит в результате электростатического взаимодействия между карбоксилатными группами глутатионовых лигандов и кватернизированными атомами азота тетракатонов. Кроме этого дополнительно образуется координационная связь между атомом цинка тетракатонов и одним из поверхностных атомов серы квантовой точки. Длина этой связи (~2,30 Å) сопоставима с длиной аксиальной связи (~2,27 Å) в свободных гидросульфидных комплексах $(\text{HS}^-)\text{ZnP}(n'$

$\text{MePy}^+)_4$. Расстояние между протонами поверхностных SH групп и тетрапиррольной платформой ZnP составляет около 2,02 Å, что предполагает дополнительное SH-π связывание $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ с QD^{578} . В результате тетракатоны $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ лежат на поверхности MQD^{578} как "блины на сковороде".

Спектры флуоресценции QD^{578} и поглощения изомеров $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ частично перекрываются, обеспечивая перенос энергии возбуждения от квантовой точки на металлопорфирин. В результате прямого титрования анионных QD^{578} тетракатонами $\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$, $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ или $\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ обнаружено взаимодействие, которое в итоге приводит к полному тушению флуоресценции QD^{578} (Рисунки 7, S4, S5). Поскольку спектры поглощения квантовой точки при падении интенсивности флуоресценции остаются неизменными, можно исключить деградацию QD^{578} как причину тушения ее флуоресценции.

Образование конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ сопровождается значительным красным сдвигом и уменьшением интенсивностей полос поглощения по сравнению со спектрами свободных металлопорфиринов (Таблица 2). Титрование водных растворов QD^{578} изомерными тетракатонами $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ характеризуется количественным выходом соответствующих конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$, которые образуются с чрезвычайно высокой скоростью уже за время

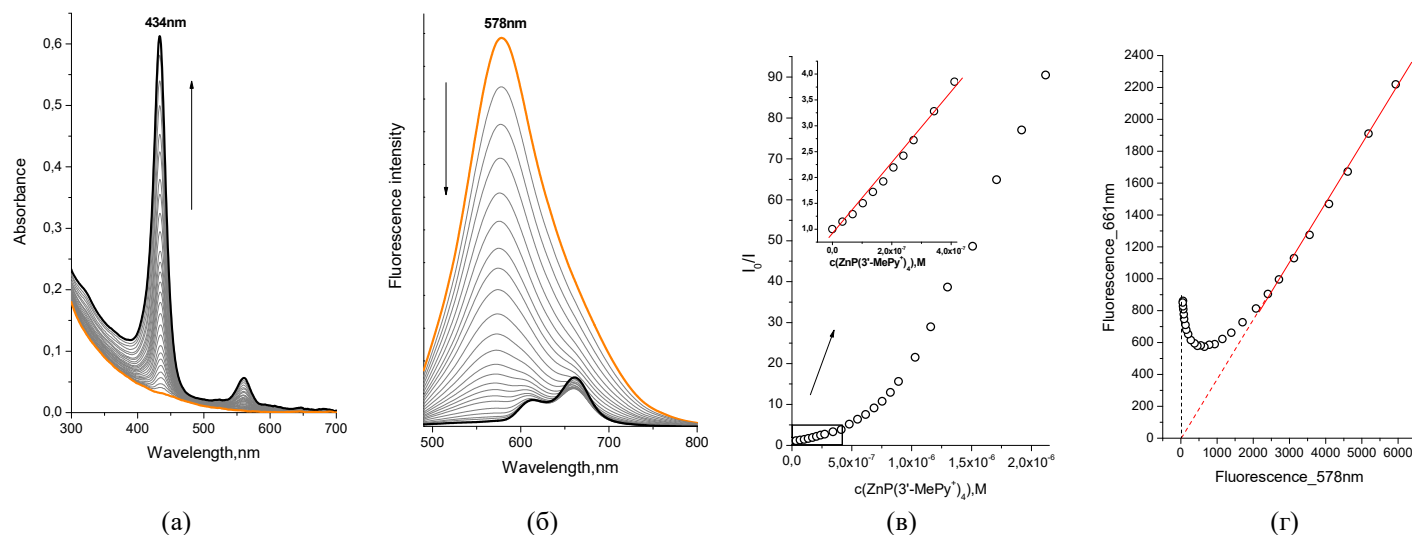


Рисунок 7. Изменения в спектрах поглощения (а) и флуоресценции (б) при образовании конъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ в процессе титрования QD^{578} раствором $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ ($0 - 2,75 \cdot 10^{-6}$ М) в воде ($\text{pH } 7,5$, 25°C), (в) - зависимость Штерна-Фольмера для тушения флуоресценции QD^{578} при добавлении раствора $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$, (г) - отношение интенсивности флуоресценции на максимумах длин волн QD^{578} (578 нм) и $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ (661 нм) в процессе титрования QD^{578} раствором $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ ($0 - 2,75 \cdot 10^{-6}$ М) в воде ($\text{pH } 7,5$, 25°C).

Таблица 2. Параметры образования наноконъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ в водном растворе, $\text{pH } 7,5$, 25°C .

Порфирин	Core, λ_{max} , нм (lgε)	Наноконъюгат	Core, λ_{max} , нм (lgε)	K_{SV} , M^{-1}	K_{b} , M^{-1}	n	% тушения QD^{578}
$\text{ZnP}(4'\text{-MePy}^+)_4$	436(5,33)	$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-MePy}^+)_4$	444(5,23)	$3,06 \cdot 10^6$	$3,23 \cdot 10^6$	1,24	80
$\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$	428(5,43)	$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$	433(5,33)	$6,01 \cdot 10^6$	$5,89 \cdot 10^6$	1,34	90
$\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$	424(5,37)	$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$	429(5,28)	$2,54 \cdot 10^6$	$2,63 \cdot 10^6$	1,14	70

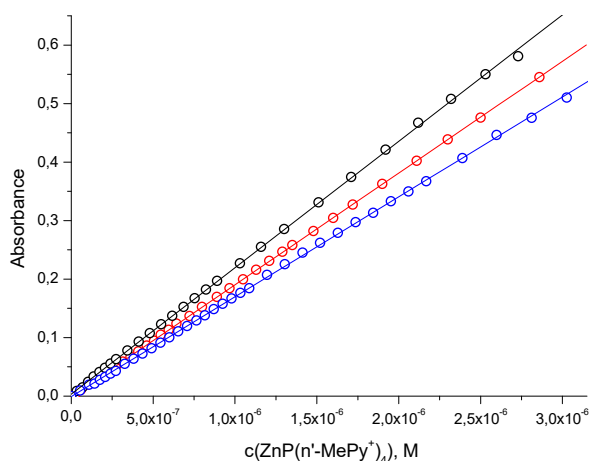


Рисунок 8. Линейная зависимость интенсивности поглощения наноконъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ – синий (максимум поглощения 444 нм), $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ – черный (максимум поглощения 433 нм), $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ – красный (максимум поглощения 429 нм) от добавленной концентрации соответствующего изомера $\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$.

смешивания реагентов. В условиях титрования оптическая плотность (концентрация) растворов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ прямо пропорциональна добавленной концен-

трации титрантов (Рисунок 8). Значения коэффициентов экстинкции свободных тетракатионов $\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ и в составе конъюгатов с QD^{578} приведены в Таблице 2.

Тушение флуоресценции квантовой точки при взаимодействии с порфирином может быть описано уравнением Штерна-Фольмера. График Штерна-Фольмера, полученный из данных тушения флуоресценции QD^{578} соединениями $\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ (Рисунки 7, S4, S5) демонстрирует отклонение от линейности в сторону оси у, что согласно [59] может указывать на наличие сложных процессов тушения смешанного динамического и статического характера, связанных с количеством добавленного порфирина. Причиной отклонения от линейности также может быть неидентичность излучающих центров - квантовых точек со слегка отличающимися характеристиками - распределением по размерам, количеством лигандов, эффективными зарядами. Кроме того, известно, что цинковые комплексы $\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ обладают собственной интенсивной флуоресценцией, которая может вносить вклад в наблюдаемые спектры флуоресценции при накоплении свободного $\text{ZnP}(\text{n-PyMe}^+)_4$ в растворе. На графике, представленном на Рисунке 7(d), можно выделить два линейных участка, экстраполяция которых дает пересечение в точке, где флуоресценция обоих компонентов полностью потушена. В действительности, этой

точке соответствует флуоресценция избыточной концентрации свободных тетракационов $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ (Рисунки 7, S4, S5). Время жизни флуоресценции для раствора, соответствующего конечной точке титрования ($c(\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4) = 2,7 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) составило $\tau_{av} = 1,18$, что практически соответствует времени жизни флуоресценции свободного $\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$ $\tau_{av} = 1,36$. Долгоживущей компоненты, соответствующей вкладу времени жизни свободной квантовой точки в измеренной кинетике затухания флуоресценции не обнаружено (Рисунок 9(b)).

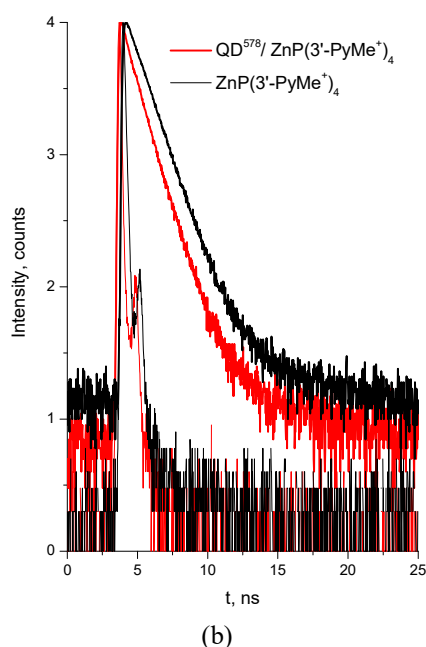
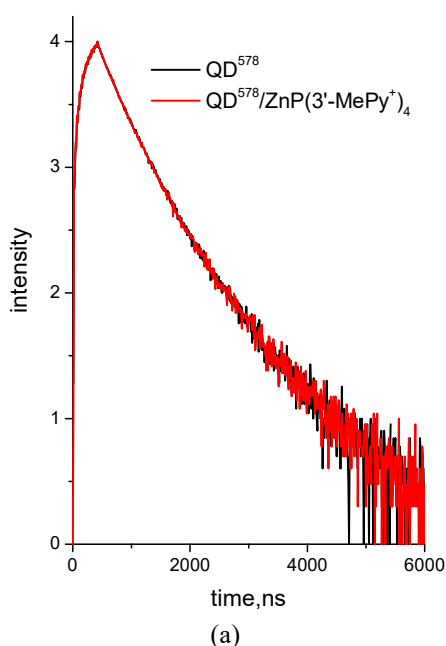


Рисунок 9. Кривые затухания флуоресценции: (a) - растворов QD^{578} и конъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ при концентрации $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4 = 4 \cdot 10^{-7} \text{ моль/л}$; (b) - растворов $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ и конъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ при концентрации $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4 = 2,75 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$.

При начальных добавках изомеров $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ на зависимости Штерна-Фольмера можно выделить прямолинейные участки (Рисунки 7, S4, S5), которые описываются уравнением $I_0/I = 1 + K_{SV}[\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4]$, что позволило определить соответствующие константы K_{SV} (Таблица 2). На основании K_{SV} и времени жизни флуоресценции квантовой точки $\tau = 480 \text{ нс}$ были вычислены константа скорости тушения $k_q = K_{SV}/\tau$. Полученные значения k_q составляют порядка $10^{13} \text{ M}^{-1} \text{ с}^{-1}$, что позволяет исключить вклад динамического тушения, связанного с диффузионными столкновениями.^[60] Для уточнения механизма тушения QD^{578} были измерены времена жизни флуоресценции для свободной QD^{578} и для квантовой точки в присутствии тушителя.^[58] В области концентраций добавленного $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$, где соблюдается линейный участок в координатах Штерна-Фольмера, отношение времен затухания флуоресценции в отсутствие (τ_0) и в присутствии (τ) тушителя $\tau_0/\tau = 1$ (Рисунок 9(a)), что указывает на сильную составляющую статического тушения, обусловленную образованием нефлуоресцирующего стабильного комплекса между QD^{578} и $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$, а наблюдаемая в растворе флуоресценция является собственным свечением свободных квантовых точек. В данном случае константа K_{SV} в уравнении Штерна-Фольмера будет иметь смысл константы образования комплекса $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ (см. строение QD^{578}). Полученные значения констант тушения Штерна-Фольмера сопоставимы с данными, полученными для комплексов органических молекул с квантовыми точками.^[61–65]

Оценить параметры связывания квантовых точек с молекулами порфиринов можно используя метод, применяющийся для описания взаимодействия наноструктур и биомолекул, согласно которому интенсивность флуоресценции квантовой точки зависит от концентрации добавленного тушителя в соответствии с формулой (3):^[66,67]

$$(I_0 - I)/I = ([\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4]/K_{\text{diss}})^n \quad (3)$$

Таким образом, используя данные флуориметрического титрования (Рисунки 7, S4, S5) можно рассчитать константу образования комплекса и его стехиометрию, используя логарифмическую форму уравнения:

$$\lg[(I_0 - I)/I] = \lg K_b + n \lg[\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4] \quad (4)$$

где I_0 , I – флуоресценция квантовой точки в отсутствие и присутствие тушителя, соответственно. Наклон полученной линейной зависимости $\lg[(I_0 - I)/I]$ от логарифма концентрации добавленного металлопорфирина (Рисунок 10) позволяет определить стехиометрию полученного комплекса, а значение $\lg[\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4]$ в точке $\lg[(I_0 - I)/I] = 0$ равно обратной величине логарифма константы связывания квантовой точки с порфирином.

Полученные значения хорошо согласуются с константами Штерна-Фольмера, а коэффициент перед аргументом, близкий к 1, соответствует 1:1 стехиометрии комплекса в диапазоне концентраций тетракационов $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$, соответствующему практически полному тушению фотолюминесценции квантовых точек (Таблица 2).

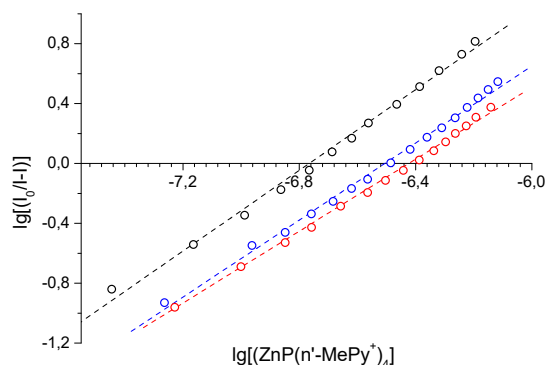


Рисунок 10. Зависимость $\lg[(I_0-I)/I]$ при образовании конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ от логарифма концентрации добавленного порфирина: $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ – синий, $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ – черный, $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ – красный.

Генерация синглетного кислорода

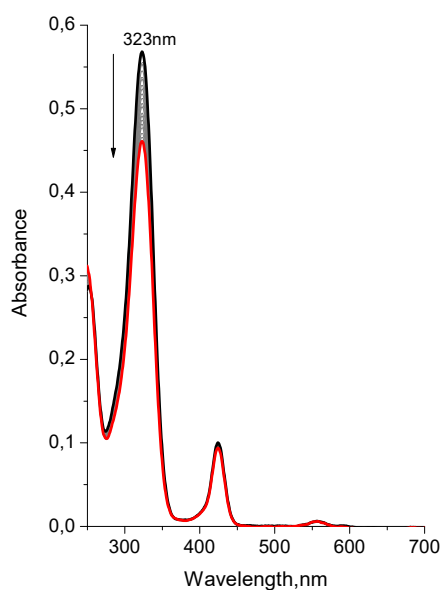
Фотостабильность и способность к генерации синглетного кислорода являются ключевыми характеристиками потенциальных фотосенсибилизаторов. Методом, основанным на мониторинге фоторазложения пиридоксина в фосфатном буферном растворе при облучении светом с длиной волны 430 нм была определена способность изомерных $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ к выработке синглетного кислорода как в свободном состоянии, так и в составе наноконъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$. Концентрация металлопорфиринов в каждом эксперименте составляла 0,4 μM , в точке где для $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ соблюдается линейность зависимости Штерна-Фольмера (Рисунки 7, S4, S5) и в растворе весь металлопорфирин связан в комплекс $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$. В качестве среды был выбран фосфатный буферный раствор с pH 7,4, соответствующим нормальной кислот-

ности крови и межклеточной среды. Полосы поглощения пиридоксина и исследуемых фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ не перекрываются, что обеспечивает как селективную генерацию синглетного кислорода, так и удобный мониторинг фоторазложения пиридоксина по поглощению при 323 нм. В присутствии всех изомеров $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ наблюдалось заметное падение интенсивности поглощения раствора пиридоксина на полосе 323 нм (Рисунки 11, S6, S7).

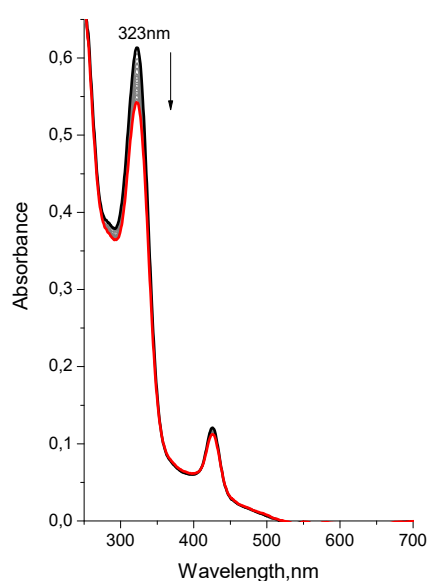
В отсутствие фотосенсибилизаторов существенных изменений в спектрах поглощения раствора пиридоксина не обнаружено в течение всего времени облучения (Рисунок 12). Установлено, что фотоокисление пиридоксина происходит как в присутствии свободных тетракаатионов $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$, так и в присутствии наноконъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$ (1:1). Это означает, что молекулы $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$, связанные с QD^{578} , также способны генерировать синглетный кислород. При одинаковых условиях возбуждения и одинаковых молярных концентрациях $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$ и $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$ фотоокисление пиридоксина протекает быстрее со свободными изомерами $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$, (Рисунок 12, Таблица 3).

Таблица 3. Наблюдаемые константы скорости фотоокисления пиридоксина (k_{obs}) в фосфатном буферном растворе (pH 7,4, 25 °C) в присутствии исследованных фотосенсибилизаторов.

Сенсибилизатор	$k_{\text{obs}} \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$
$\text{ZnP}(4'\text{-MePy}^+)_4$	$3,46 \pm 0,01$
$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-MePy}^+)_4$	$1,27 \pm 0,01$
$\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$	$4,17 \pm 0,01$
$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-MePy}^+)_4$	$2,23 \pm 0,01$
$\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$	$3,49 \pm 0,01$
$\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$	$2,06 \pm 0,01$



(a)



(б)

Рисунок 11. Спектральные изменения при облучении пиридоксина в присутствии: (а) $\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$ и (б) $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-MePy}^+)_4$ в фосфатном буферном растворе с pH 7,4, 25 °C.

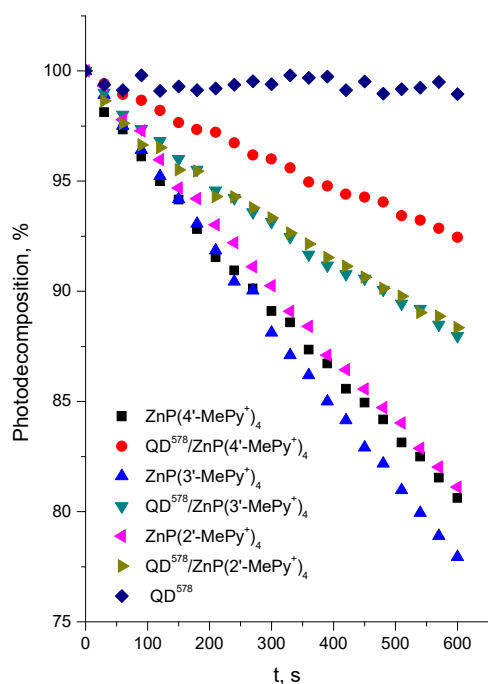


Рисунок 12. Падение интенсивности поглощения пиридоксина на длине волны 323 нм при облучении раствора светодиодом с длиной волны 428 нм в присутствии изомеров $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ и их конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ в фосфатном буферном растворе (pH 7,4, 25 °C)

Более низкая генерация синглетного кислорода в составе $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ может быть объяснена несколькими причинами: [48,50] координация порфиринами цинка молекулу глутатиона в качестве экстралигандов приводит к частичному увеличению нерадиационной деактивации возбужденных триплетных состояний; в QD^{578} экранирует доступ молекулы кислорода к возбужденной молекуле ФС. Примечательно, что в $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ не происходит увеличения флуоресценции порфиринового компонента. Это обстоятельство наряду с наблюдаемым снижением способности изомеров $\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ к генерации синглетного кислорода в их составе, позволяет предположить, что эффективное тушение флуоресценции квантовой точки при взаимодействии с порфирином происходит в результате процесса фотоиндуцированного переноса электрона (PIET), а процесс резонансного переноса энергии от квантовой точки на молекулу фотосенсибилизатора (RET) в данном случае не реализуется.

Разгорание флуоресценции QD^{578} при взаимодействии $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-MePy}^+)_4$ с ДНК

Известно, что катионные порфирины эффективно взаимодействуют с ДНК, внешняя поверхность которой покрыта фосфатными группами, как правило ионизированными и имеющими отрицательный заряд в условиях pH физиологических жидкостей. [68–73] Процесс связывания катионного порфирина с ДНК зависит от различных факторов, таких как наличие или отсутствие в координационной полости иона металла, размер и форма заместителей в макроцикле, величина положительного заряда в молекуле, последовательность нуклеотидов спирали ДНК и ионной силы рас-

творения. [74–77] Взаимодействие порфиринов с молекулами ДНК не ограничивается ионным взаимодействием и может иметь различную природу, большое значение также имеют водородные связи, ван-дер-ваальсовы и дисперсионные взаимодействия. Таким образом, в присутствии ДНК, способной конкурировать за $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$, возможно разрушение наноконъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ с восстановлением флуоресценции обоих компонентов.

Ранее было показано, что наноконъюгаты $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ в результате эффективного тушения флуоресценции QD^{578} тетракационными $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ (70–90%, Таблица 2), находятся в состоянии «выключенного» флуоресцентного сигнала. Добавление ДНК, конкурирующей за $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ приводит к частичному разрушению конъюгатов $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ и, как следствие, к разгоранию флуоресценции за счет образования свободных QD^{578} (Рисунок 13). Относительная интенсивность флуоресценции (I/I_0) (где I – интенсивность флуоресценции раствора $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ в присутствии ДНК, а I_0 – интенсивность флуоресценции свободных QD^{578}) демонстрирует линейную зависимость от концентрации ДНК в диапазоне $0,7 \cdot 10^{-7} - 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л для всех исследованных систем (Рисунок 13). Добавление до $7,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л ДНК к конъюгатам $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ и $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ восстанавливает флуоресценцию до 8% и 10% от исходной для свободных QD^{578} , соответственно (Рисунок 13г,е). Для конъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ разгорание флуоресценции достигает 28% в момент добавления ДНК (Рисунок 13б линия 1, 13д) и 60% на следующее утро (Рисунок 13б линия 2, 13д). Зонд $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ более эффективно работает в сигнальном режиме «Off-On»: взаимодействие QD^{578} с $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ приводит к тушению флуоресценции QD^{578} с последующим разгоранием при взаимодействии с ДНК.

Экспериментально установленный факт тушения флуоресценции при конъюгации противоположно заряженных флуорофоров: водорастворимых квантовых точек и порфириновых фотосенсибилизаторов, может быть положен в основу разработки тераностических препаратов типа «on/off» с контролируемой флуоресценцией и фототоксичностью. Принцип действия «on/off» систем заключается в ингибировании фотоактивности компонентов в течение всего периода его введения и адресной доставки к мишени («off») с последующим восстановлением фотоактивности под действием энзимов клеточного вещества или других факторов («on»).

Выводы

В настоящей работе исследовано взаимодействие цинковых комплексов катионных тетрапиррольных фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$, $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ и $\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ с анионными квантовыми точками QD^{585} $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ (QD^{585}), которое в pH-нейтральном водном растворе сопровождается чрезвычайно быстрой – за время смешивания реагентов, самосборкой соответствующих наноконъюгатов $\text{QD}^{585}/\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$. Положение катионных групп в $\text{ZnP}(n'\text{-PyMe}^+)_4$ оказывает существенное влияние как на геометрию самого фотосенсибилизатора, так и на пара-

метры образующихся наноконъюгатов $\text{QD}^{585}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$. Образование $\text{QD}^{585}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ сопровождается эффективным тушением флуоресценции QD^{585} . Анализ спектральных изменений в процессе тушения указывает на сильную статическую составляющую, обусловленную образованием нефлуоресцирующих стабильных 1:1 комплексов между изомерами $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ и QD^{578} , охарактеризованных реалистичными полноразмерными 3D моделями $\text{MQD}^{585}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$. Исследование фотоактивности наноконъюгатов $\text{QD}^{585}/\text{ZnP}(\text{n}'\text{-PyMe}^+)_4$ показало, что молекулы фотосенсибилизаторов $\text{ZnP}(\text{n}'\text{-MePy}^+)_4$, связанные с QD^{578} также способны генерировать синглетный кислород. Конъюгат $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ демонстрирует свой-

ства чувствительного флуоресцентного зонда, работающего в сигнальном режиме «Off-On»: взаимодействие QD^{578} с изомером $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ приводит к эффективному тушению флуоресценции QD^{578} с последующим ее восстановлением при отрыве молекулы $\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ от QD^{578} за счет конкурентного связывания с ДНК. Таким образом, водорастворимые квантовые точки типа $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}/\text{GSH}$ потенциально могут быть использованы в качестве эффективной и безопасной системы доставки фотосенсибилизаторов, работающих по принципу «off/on», поверхность которых можно селективно модифицировать биосовместимыми лигандами под определенный тип связывания с конкретной мишенью.

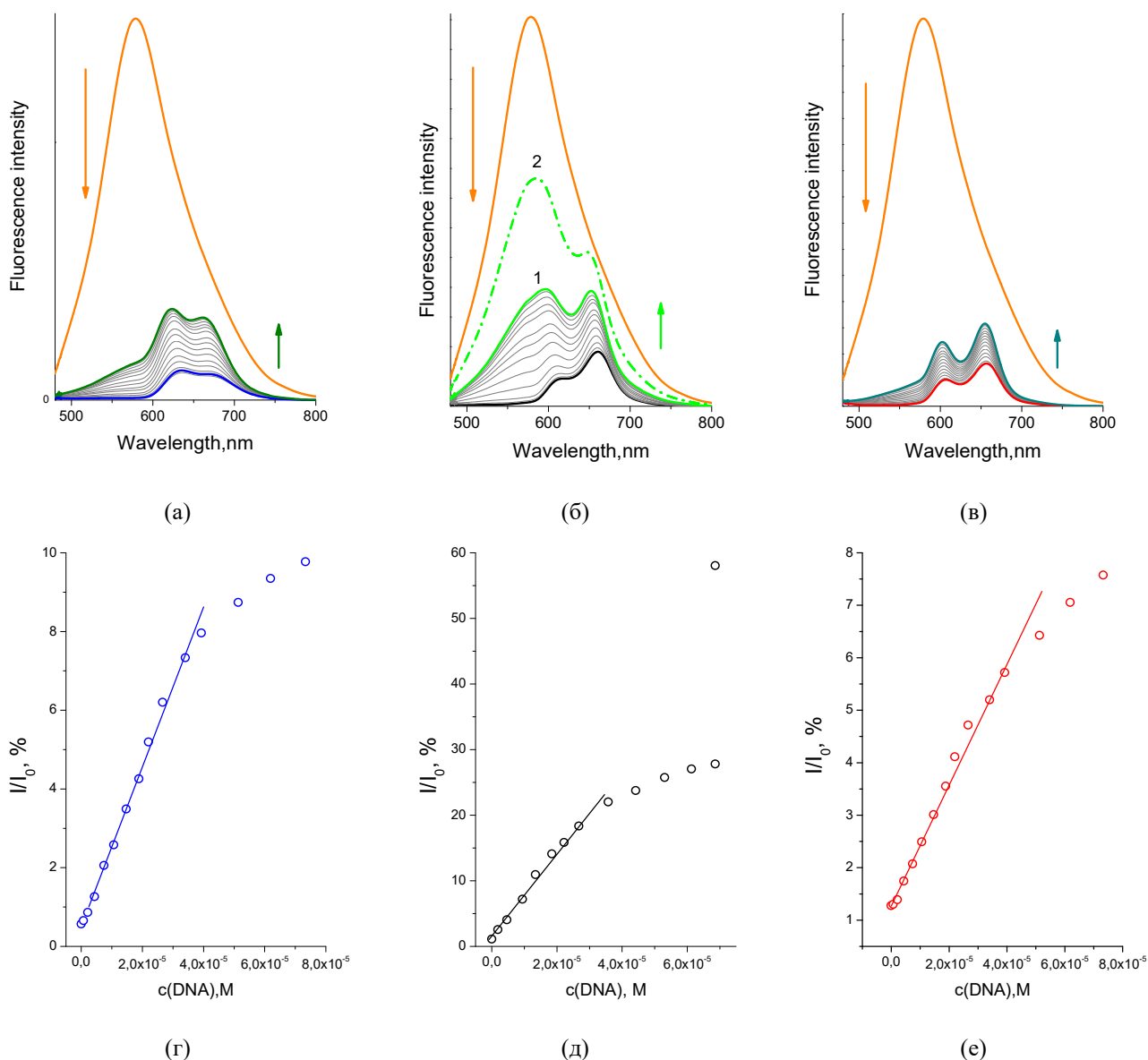


Рисунок 13. Разгорание флуоресценции водных растворов наноконъюгата $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(4'\text{-PyMe}^+)_4$ (а), (г); $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(3'\text{-PyMe}^+)_4$ (б), (д) и $\text{QD}^{578}/\text{ZnP}(2'\text{-PyMe}^+)_4$ (в), (е) при добавлении раствора ДНК ($C=0 - 7,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Оранжевая линия – исходный спектр свободных QD^{578} .

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00491, <https://rscf.ru/project/23-23-00491/> с привлечением обо-

рудования центра коллективного пользования «Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований».

References

- Boscencu R., Radulea N., Manda G., Machado I.F., Socoteanu R.P., Lupuliasa D., Burloiu A.M., Mihai D.P., Ferreira L.F.V. *Molecules* **2023**, *28*, 1149. DOI: 10.3390/MOLECULES28031149.
- a) Koifman O.I., Ageeva T.A. *Russ. J. Org. Chem.* **2022**, *58*, 443–479. DOI: 10.1134/S1070428022040017; b) Efimova E., Pechnikova N., Lubimsev A., Aleksandriyskiy V., Ageeva T. *Russ. Khim. Zh. [Russ. Chem. J.]* **2022**, *66*(4), 71–76. <https://rcj-isuct.ru/article/view/4887>
- Koifman O.I., Ageeva T.A., Beletskaya I.P., Averin A.D., Yakushev A.A., Tomilova L.G., Dubinina T.V., Tsivadze A.Y., Gorbunova Y.G., Martynov A.G., Konarev D.V., Khasanov S.S., Lyubovskaya R.N., Lomova T.N., Korolev V.V., Zenkevich E.I., Blaudeck T., von Borczyskowski C., Zahn D.R.T., Mironov A.F., Bragina N.A., Ezhov A.V., Zhdanova K.A., Stuzhin P.A., Pakhomov G.L., Rusakova N.V., Semenishyn N.N., Smola S.S., Parfenyuk V.I., Vashurin A.S., Makarov S.V., Dereven'kov I.A., Mamardashvili N.Z., Kurtikyan T.S., Martirosyan G.G., Burmistrov V., Aleksandriiskii V.V., Novikov I.V., Pritmov D.A., Grin M.A., Suvorov N.V., Tsygankov A.A., Fedorov A.Y., Kuzmina N.S., Nyuchev A.V., Otvagin V.F., Kustov A.V., Belykh D.V., Berezin D.B., Solovieva A.B., Timashev P.S., Milaeva E.R., Gracheva Y.A., Dodokhova M.A., Saffronenko A.V., Shpakovsky D.B., Syrbu S.A., Gubarev Y.A., Kiselev A.N., Koifman M.O., Lebedeva N.S., Yurina E.S. *Macrocyclics* **2020**, *13*, 311. DOI: 10.6060/mhc200814k.
- Nitka M.A., Zerbe K.E., Dee J.M., Cranswick M.A., Zovinka E.P., De Backere J.R. *Green Chem. Lett. Rev.* **2023**, *16*(1). DOI: 10.1080/17518253.2022.2164700.
- Yu F., Zhou Y.J. *Trends Biotechnol.* **2024**, September 27. DOI: 10.1016/j.tibtech.2024.09.009.
- Zakharov M.S., Tertyshnaya Y.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2023**, *59*, 1083–1101. DOI: 10.1134/S1070428023070011.
- Zhang Y., Higashino T., Imahori H. *J. Mater. Chem. A* **2023**, *11*, 12659–12680. DOI: 10.1039/D2TA09264F.
- Achadu O.J., Nyokong T. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2017**, *174*, 339–347. DOI: 10.1016/J.SAA.2016.11.043.
- Chen J., Guo Z., Xin Y., Gu Z., Zhang L., Guo X. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *489*, 215191. DOI: 10.1016/J.CCR.2023.215191.
- Das R., Kumar A., Singh C., Kayastha A.M. *Food Chem.* **2025**, *464*, 141905. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2024.141905.
- Kundu S., Patra A. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 712–757. DOI: 10.1021/ACS.CHEMREV.6B00036.
- Massironi A. *Curr. Nanosci.* **2023**, *20*, 188–205. DOI: 10.2174/1573413719666230410113733.
- Qi X., Xiang Y., Cai E., Ge X. X., Chen X., Zhang W., Li Z., Shen J. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *496*, 215426. DOI: 10.1016/J.CCR.2023.215426.
- Safi M., Domitrovic T., Kapur A., Zhan N., Aldeek F., Johnson J.E., Mattoussi H. *Bioconjug. Chem.* **2017**, *28*, 64–74. DOI: 10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.6B00609.
- Akbar A., Ghosh M. *ChemRxiv*. **2023**. DOI: 10.26434/CHEMRXIV-2023-JTMFM.
- Aebischer D., Serafin I., Batóg-Szczęch K., Dynarowicz K., Chodurek E., Kawczyk-Krupka A., Bartusik-Aebischer D. *Pharm.* **2024**, *17*, 932. DOI: 10.3390/PH17070932.
- Tian Z., Li H., Liu Z., Yang L., Zhang C., He J., Ai W., Liu Y. *Curr. Treat. Options Oncol.* **2023**, *24*, 1274–1292. DOI: 10.1007/S11864-023-01120-0.
- Yang F., Xu M., Chen X., Luo Y. *Biomed. Pharmacother.* **2023**, *164*, 114933. DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2023.114933.
- Zhou W., Jiang X., Zhen X. *Biomater. Sci.* **2023**, *11*, 5108–5128. DOI: 10.1039/D3BM00730H.
- Chen L., Bai H., Xu J.F., Wang S., Zhang X. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 13950–13957. DOI: 10.1021/ACSAMI.7B02611.
- Kustov A.V. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]* **2023**, *66*(12), 32–40. DOI: 10.6060/ivkkt.20236612.6902.
- Yan H., Pan X., Chua M.H., Wang X., Song J., Ye Q., Zhou H., Xuan A.T.Y., Liu Y., Xu J. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 10708–10717. DOI: 10.1039/C3RA48064J.
- Liu F., Ma Y., Xu L., Liu L., Zhang W. *Biomater. Sci.* **2015**, *3*, 1218–1227. DOI: 10.1039/C5BM00045A.
- Ali M.K., Javadi S., Afzal H., Zafar I., Fayyaz K., ul Ain Q., Rather M.A., Hossain M.J., Rashid S., Khan K.A., Sharma R. *Environ. Res.* **2023**, *232*, 116290. DOI: 10.1016/J.ENVIRES.2023.116290.
- Alipour B., Mortezaadeh T., Abdulsahib W.K., Arzhang A., Malekzadeh R., Farhood B. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2023**, *86*, 104682. DOI: 10.1016/J.JDDST.2023.104682.
- Qureshi A., Shaikh T., Niazi J.H. *Analyst* **2023**, *148*, 1633–1652. DOI: 10.1039/D2AN01690G.
- Zahed Z., Hadi R., Imanzadeh G., Ahmadian Z., Shafiei S., Zadeh A.Z., Karimi H., Akbarzadeh A., Abbaszadeh M., Ghadimi L.S., Kafil H.S., Kazeminava F. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *254*, 127802. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2023.127802.
- Hildebrandt N., Lim M., Kim N., Choi D.Y., Nam J.M. *Chem. Commun.* **2023**, *59*, 2352–2380. DOI: 10.1039/D2CC06178C.
- Huang S., Huang G. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 20884–20897. DOI: 10.1039/D4RA04402A.
- Wang Z., Yao B., Xiao Y., Tian X., Wang Y. *Chemosens.* **2023**, *11*, 405. DOI: 10.3390/CHEMOSENSORS11070405.
- Wu H., Li J.H., Yang W.C., Wen T., He J., Gao Y.Y., Hao G.F., Yang W.C. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2023**, *40*, e00218. DOI: 10.1016/J.TEAC.2023.E00218.
- Carvalho I.C., Mansur A.A.P., Carvalho S.M., Florentino R.M., Mansur H.S. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *133*, 739–753. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.04.140.
- Liu Y., Zhang F., He X., Ma P., Huang Y., Tao S., Sun Y., Wang X., Song D. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *294*, 263–269. DOI: 10.1016/J.SNB.2019.05.057.
- Mir I.A., Radhakrishnan V.S., Rawat K., Prasad T., Bohidar H. B. *Sci. Reports* **2018**, *8*, 9322. DOI: 10.1038/s41598-018-27246-y.
- Oluwafemi O.S., May B.M.M., Parani S., Rajendran J.V. *J. Mater. Res.* **2019**, *34*, 4037–4044. DOI: 10.1557/JMR.2019.362.
- Yang B., Zhang Y., Zhang Q., Liu Y., Yan Y. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* **2019**, *30*, 18794–18801. DOI: 10.1007/S10854-019-02233-9.
- Lv B., Zhao Y., Liang Y., Cao J. *Chem. Eng. J.* **2024**, *498*, 155438. DOI: 10.1016/J.CEJ.2024.155438.
- Mariño-Ocampo N., Dibona-Villanueva L., Escobar-Álvarez E., Guerra-Díaz D., Zúñiga-Núñez D., Fuentealba D., Robinson-Duggon J. *Photochem. Photobiol.* **2023**, *99*, 469–497. DOI: 10.1111/PHP.13749.
- Soumya K., More N., Choppadandi M., Aishwarya D. A., Singh G., Kapusetti G. *Biomed. Technol.* **2023**, *4*, 11–20. DOI: 10.1016/J.BMT.2023.01.005.
- Yu X.-T., Sui Sh.-Y., He Y.-X., Yu Ch.-H., Peng Q. *Biomater. Adv.* **2022**, *135*, 212725. DOI: 10.1016/j.bioadv.2022.212725.
- Yan R., Zhan M., Xu J., Peng Q. *Biomater. Adv.* **2024**, *159*, 213820. DOI: 10.1016/J.BIOADV.2024.213820.
- Yu M., Cao R., Ma Z., Zhu M. *J. Mater. Chem. B* **2023**, *11*, 1416–1433. DOI: 10.1039/D2TB02248F.
- Zhao W., Wang L., Zhang M., Liu Z., Wu C., Pan X., Huang Z., Lu C., Quan G. *MedComm* **2024**, *5*, e603. DOI: 10.1002/MCO2.603.

44. Hambright P., Gore T., Burton M. *Inorg. Chem.* **1976**, *15*, 2314–2315. DOI: 10.1021/IC50163A072.
45. Sugata S., Yamanouchi S., Matsushima Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, *25*, 884–889. DOI: 10.1248/CPB.25.884.
46. Stroyuk O., Weigert F., Raevskaya A., Spranger F., Würth C., Resch-Genger U., Gaponik N., Zahn D.R.T. *J. Phys. Chem. C* **2019**, *123*, 2632–2641. DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b11835.
47. Stroyuk O., Raevskaya A., Spranger F., Selyshchev O., Dzhagan V., Schulze S., Zahn D.R.T., Eychmüller A. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122*, 13648–13658. DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b00106.
48. Zenkevich E.I., Sheinin V.B., Kulikova O.M., Koifman O.I. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2023**, *27*, 543–562. DOI: 10.1142/S1088424623500323.
49. Zenkevich E.I., Sheinin V.B., Kulikova O.M., Koifman O.I. *Macroheterocycles* **2023**, *16*, 189–203. DOI: 10.6060/mhc235102z.
50. Zenkevich E., Blaudeck T., Sheinin V., Kulikova O., Selyshchev O., Dzhagan V., Koifman O., von Borczyskowski C., Zahn D.R.T. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1244*, 131239. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.131239.
51. Bilski P., Li M.Y., Ehrenshaft M., Daub M.E., Chignell C.F. *Photochem. Photobiol.* **2000**, *71*, 129–134. DOI: 10.1562/0031-8655(2000)0710129SIPVBP2.0.CO2.
52. Calori I.R., Gusmão L.A., Tedesco A.C. *J. Photochem. Photobiol.* **2021**, *7*, 100041. DOI: 10.1016/J.JPAP.2021.100041.
53. Ehrenshaft M., Bilski P., Li M., Chignell C.F., Daub M.E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 9374–9378. DOI: 10.1073/PNAS.96.16.9374.
54. Ohta B.K., Foote C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12064–12065. DOI: 10.1021/JA0205481.
55. Arnstein H.R.V. *FEBS Lett.* **1988**, *234*, 506–506. DOI: 10.1016/0014-5793(88)80153-4.
56. Boles M.A., Ling D., Hyeon T., Talapin D.V. *Nat. Mater.* **2016**, *15*, 141–153. DOI: 10.1038/nmat4526.
57. Wang R., Shang Y., Kanjanaboos P., Zhou W., Ning Z., Sargent E.H. *Energy Environ. Sci.* **2016**, *9*, 1130–1143. DOI: 10.1039/C5EE03887A.
58. *Self-Assembled Organic-Inorganic Nanostructures. Optics and Dynamics* (von Borczyskowski Ch., Zenkevich E., Eds.), **2017**. 412 p. DOI: 10.1201/9781315364544.
59. *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (Lakowicz J.R., Ed.) Springer New York, NY, **2006**. 954 p. DOI: 10.1007/978-0-387-46312-4.
60. Pal A., Srivastava S., Saini P., Raina S., Ingole P.P., Gupta R., Sapra S. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 22690–22699. DOI: 10.1021/ACS.JPCC.5B06795.
61. Sandros M.G., De Gao, Benson D.E. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12198–12199. DOI: 10.1021/JA054166H.
62. Shen J.S., Yu T., Xie J.W., Jiang Y. B. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, *11*, 5062–5069. DOI: 10.1039/B900053D.
63. Yuan J., Guo W., Yang X., Wang E. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 362–368. DOI: 10.1021/AC801533U.
64. Zhao D., Chan W. H., He Z., Qiu T. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 3537–3543. DOI: 10.1021/AC9000892.
65. Zhu K., Hu X., Ge Q., Sun Q. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *812*, 199–205. DOI: 10.1016/J.ACA.2014.01.007.
66. Solomonov A.V., Shipitsyna M.K., Vashurin A.S., Rumyantsev E.V., Timin A.S., Ivanov S.P. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2016**, *168*, 12–20. DOI: 10.1016/J.SAA.2016.05.044.
67. Tsyupka D.V., Mordovina E.A., Ponomaryova T.S., Drozd D.D., Goryacheva I.Y., Goryacheva O.A. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2023**, *671*, 131648. DOI: 10.1016/J.COLSURFA.2023.131648.
68. Sazanovich I.V., Petrov E.P., Chirvony V.S. *Opt. Spectrosc. [Оптика и спектроскопия]* **2006**, *100*, 209–218. DOI: 10.1134/S0030400X0602010X.
69. Keane P.M., Kelly J.M. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *364*, 137–154. DOI: 10.1016/J.CCR.2018.02.018.
70. Ramos C.I.V., Monteiro A.R., Moura N.M.M., Faustino M.A.F., Trindade T., Neves M.G.P.M.S. *Biomolecules* **2021**, *11*, 1404. DOI: 10.3390/BIOM11101404/S1.
71. Cho S.Y., Han J.H., Jang Y.J., Kim S.K., Lee Y.A. *ACS Omega* **2020**, *5*, 10459–10465. DOI: 10.1021/ACSOMEGA.0C00471.
72. Kretzer B., Herényi L., Csík G., Orosz Á., Tordai H., Kiss B., Kellermayer M.S. *Biophys. J.* **2024**, *123*, 83a. DOI: 10.1016/j.bpj.2023.11.566.
73. Falanga A.P., D’Urso A., Travagliente G., Gangemi C.M.A., Marzano M., D’Errico S., Terracciano M., Greco F., De Stefano L., Dardano P., Rea I., Piccialli G., Oliviero G., Borbone N. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *268* (Pt 2). DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2024.131801.
74. Sari M.A., Battioni J.P., Dupré D., Mansuy D., Pecq J.B.L. *Biochemistry* **1990**, *29*, 4205–4215. DOI: 10.1021/bi00469a025.
75. Mathew D., Sujatha S. *J. Inorg. Biochem.* **2021**, *219*, 111434. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111434.
76. Kuroda R., Takahashi E., Austin C.A., Fisher L.M. *FEBS Lett.* **1990**, *262*, 293–298. DOI: 10.1016/0014-5793(90)80213-3.
77. Moroshkina E., Osinnikova D., Travkina V. *Vestnik of St Petersburg University. Series 4. Physics. Chemistry* **2016**, *3* (Is. 4), 372–381. DOI: 10.21638/11701/spbu04.2016.404.

Received 16.11.2024

Accepted 26.11.2024