ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

АКТИВАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ФТАЛОЦИАНИНА АЛЮМИНИЯ ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В СТОМАТОЛОГИИ

Ю.О. Золотарева[1], Д.С. Фаррахова[1, 2, 3], Е.Н. Куприянова[4], В.Б. Лощенов[1, 2, 3]
[1]Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия
[2]Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской Академии Наук, Москва, Россия
[3]ООО «Дентоспек», Троицк, Москва, Россия
[4]АУЗ «Стоматологическая поликлиника №11 ДЗМ», Москва, Россия

Резюме

Ранняя диагностика кариеса и микротрещин эмали имеет большое значение для предотвращения разрушения здоровой эмали зубов. Для выявления микротрещин эмали и очагов скопления патогенной микрофлоры, которые могут стать причиной развития кариеса, в качестве маркера используется фталоцианин алюминия (AlPc) в виде наночастиц. В коллоидном растворе наночастицы не обладают собственной флуоресценцией, в отличие от молекулярной формы. Для перевода частицы в молекулярную форму необходимо присутствие растворителя или специфического окружения (бактерии, макрофаги и др.). Поэтому гидрофобные наночастицы фталоцианина алюминия (nAlPc) могут выступать в качестве маркера для обнаружения скрытых очагов скопления патогенной микрофлоры во время проведения флуоресцентной диагностики. Для сокращения времени диагностики и увеличения эффективности в качестве дополнительных активаторов nAlPc могут быть использованы биологически совместимые поверхностно-активные вещества (ПАВ).

Для проведения локальной флуоресцентной спектроскопии микротрещин эмали и очагов скопления патогенной микрофлоры на поверхности эмали была приготовлена модельная смесь, содержащая ПАВ, вспомогательные компоненты и коллоида nAlPc в концентрации 10 мг/л.

Исследования по взаимодействию модельной смеси с nAlPc и протеланом с эмалью зубов ex vivo показали перспективность использования этого ПАВ для дополнительной активации наночастиц, что позволяет проводить локальную флуоресцентную спектроскопию поверхности эмали зубов через 3 мин после нанесения. Также статистическая обработка результатов показала эффективность использования модельной смеси для локальной флуоресцентной спектроскопии поверхности эмали для выявления микротрещин эмали и очагов скопления патогенной микрофлоры, которая может привести к развитию кариесогенного процесса.

Ключевые слова: локальная флуоресцентная спектроскопия, наночастицы, фталоцианин алюминия, флуоресценция, микротрещины эмали, кариес.

Для цитирования: Золотарева Ю.О., Фаррахова Д.С., Куприянова Е.Н., Лощенов В.Б. Активация наночастиц фталоцианина алюминия для локальной флуоресцентной спектроскопии в стоматологии // Biomedical Photonics. – 2018. – Т. 7, № 3. – С. 4–20. doi: 10.24931/2413–9432–2018–7– 3–4–20.

Контакты: Золотарева Ю.О., e-mail: JOKuznetsova@mail.ru

ALUMINUM PHTHALOCYANINE NANOPARTICLES ACTIVATION FOR LOCAL FLUORESCENCE SPECTROSCOPY IN DENTISTRY

Zolotareva J.O.[1], Farrakhova D.S.[1, 2, 3], Kupriyanova E.N.[4], Loschenov V.B.[1, 2, 3]
[1]National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia
[2]Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[3]Dentospek LLC, Troitsk, Moscow, Russia
[4]SAHI «Dental Clinic No. 11 of the Moscow City Health Department», Moscow, Russia

Abstract

Early diagnosis of caries and tooth enamel microcracks is of great importance for preventing the destruction of healthy tooth enamel. In order to detect microcracks in the enamel and pathogenic microflora foci that can cause caries, nanoform of aluminum phthalocyanine (AlPc) can be used as a marker. In a colloidal solution, the nanoparticles do not fluoresce, unlike their molecular form. To convert the particle into its molecular form, it is necessary to have a solvent or specific environment (bacteria, macrophages, etc.). That is why the hydrophobic nanoparticles of aluminum phthalocyanine (nAlPc) can act as markers for detecting hidden pathogenic microflora during fluorescent

diagnostics. Further reduction of the diagnosis time and increase the efficiency can be achieved by using biologically compatible surfactants as additional activators of nAlPc.
In order to carry out local fluorescence spectroscopy of enamel microcracks and pathogenic microflora foci on the enamel surface, a model compound containing surfactants, auxiliary components and nAlPc colloid at a concentration of 10 mg/l was prepared.
Studies on the interaction of the model compound with nAlPc and Protelan MST-35 with tooth enamel ex vivo have shown this surfactant to be a promising auxiliary activator of the nanoparticles, allowing conducting local fluorescence spectroscopy of the tooth enamel surface 3 min after application. In addition, statistical processing of the results showed the effectiveness of using the model compound for local fluorescence spectroscopy of the enamel surface in order to detect the enamel microcracks and the pathogenic microflora accumulation foci that can lead to the development of a cariogenic process.

Keywords: local fluorescence spectroscopy, nanoparticles, aluminum phthalocyanine, fluorescence, enamel microcracks, caries.

For citations: Zolotareva J.O., Farrakhova D.S., Kupriyanova E.N., Loschenov V.B. Aluminium phthalocyanine nanoparticles activation for local fluorescence spectroscopy in dentistry, *Biomedical Photonics*, 2018, T. 7, No. 3, pp. 4–20 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2018–7– 3–4–20

Contacts: Zolotareva J.O., e-mail: JOKuznetsova@mail.ru

Введение

По данным всемирной организации здравоохранения кариес зубов затрагивает примерно 60–90% школьников и почти 100% взрослых людей во всем мире [1]. Ранняя диагностика заболевания и своевременное лечение позволит не только сохранить здоровье зубов на долгие годы, но и повысить качество жизни.

В настоящее время для проведения ранней диагностики кариеса и различных повреждений зубной эмали используют такие методы как визуальный осмотр и зондирование, рентгенологический и ряд оптических методов. Самые распространенные оптические методы включают в себя использование Рамановского рассеяния, оптическую когерентную томографию, спектроскопию светорассеяния и локальную флуоресцентную спектроскопию.

Рамановское рассеяние применяется для диагностики периодонтита по анализу слюны [2, 3], а также для выявления кариеса при изменении состава и структуры эмали [4–6]. Недостатками этого метода является использование преимущественно в условиях *ex vivo*, а также при наличии уже сформированного поражения зубной эмали. В рамках этого метода не представляется возможным проведение диагностики микротрещин эмали и скрытых очагов скопления патогенной микрофлоры. Оптическая когерентная томография позволяет обнаружить качественные и количественные морфологические изменения твердых тканей зубов *in vivo*. Благодаря хорошему пространственному разрешению метод подходит для ранней диагностики заболеваний зубов, в том числе кариеса, а также болезней тканей пародонта, включая рак полости рта. Трехмерная визуализация – еще одно преимущество использования оптической когерентной томографии в стоматологии. Однако применение этого метода ограничено глубиной проникновения оптического излучения в биоткань и относительно высокой стоимостью проведения процедуры [7]. Локальная флуоресцентная спектроскопия, использующая для диагностики ультрафиолетовое излучение, позволяет выявлять степень и границы поражения эмали кариесом, но не решает проблему диагностики на ранних этапах развития кариеса, когда продукты жизнедеятельности бактерий присутствуют в незначительном количестве [8].

Локальная флуоресцентная спектроскопия, использующая лазерное излучение с длиной волны в красной области спектра, является более передовым диагностическим инструментом. Данный метод позволяет диагностировать зубной камень [9, 10], кариес [11–15] и воспалительные процессы тканей пародонта [16]. Для проведения локальной флуоресцентной спектроскопии эмали в видимом диапазоне спектра необходимо достаточное количество эндогенных порфиринов, которые являются продуктом жизнедеятельности бактерий, скапливающихся в местах повреждения эмали кариесом, в микротрещинах или находящихся на поверхности зубного камня [8, 17]. Но на ранних этапах развития кариеса аутофлуоресценция патогенной микрофлоры выражена слабо, что затрудняет проведение локальной флуоресцентной спектроскопии.

В 2007 г. было предложено использовать наночастицы фталоцианина алюминия (nAlPc) для выявления патогенной микрофлоры, локализующейся в микроповреждениях зубной эмали [18]. Использование наночастиц в качестве маркера обусловлено тем, что в водной среде nAlPc не являются флуоресцентными и фотоактивными [19], но при взаимодействии со специфическим биологическим окружением они начинают флуоресцировать и проявлять фотодинамическую активность. Для возникновения флуоресценции необходимо чтобы молекулы фталоцианина отделились от поверхности частицы или находились в частично связанном состоянии [20], что обычно происходит в присутствии растворителя или специфического окру-

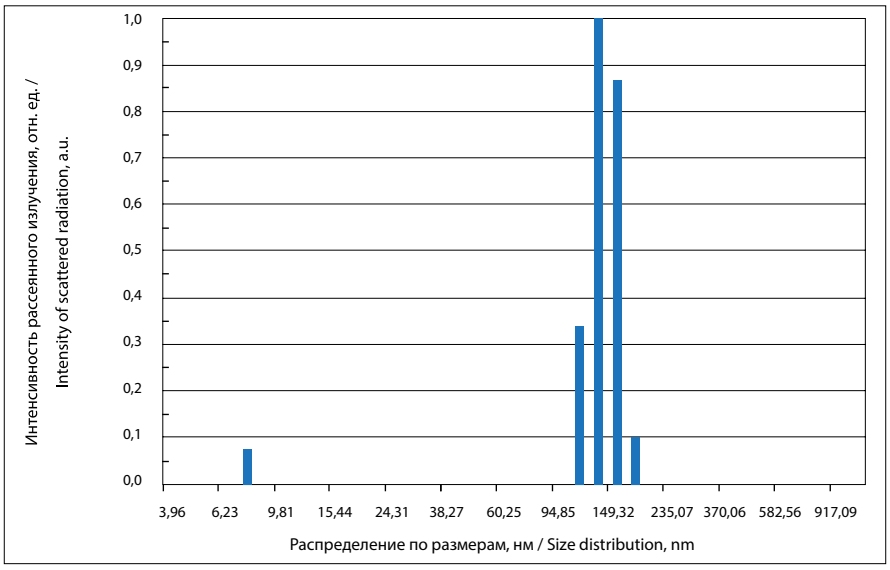


Рис. 1. Распределение nAlPc по гидродинамическому радиусу
Fig. 1. Distribution of nAlPc hydrodynamic radius

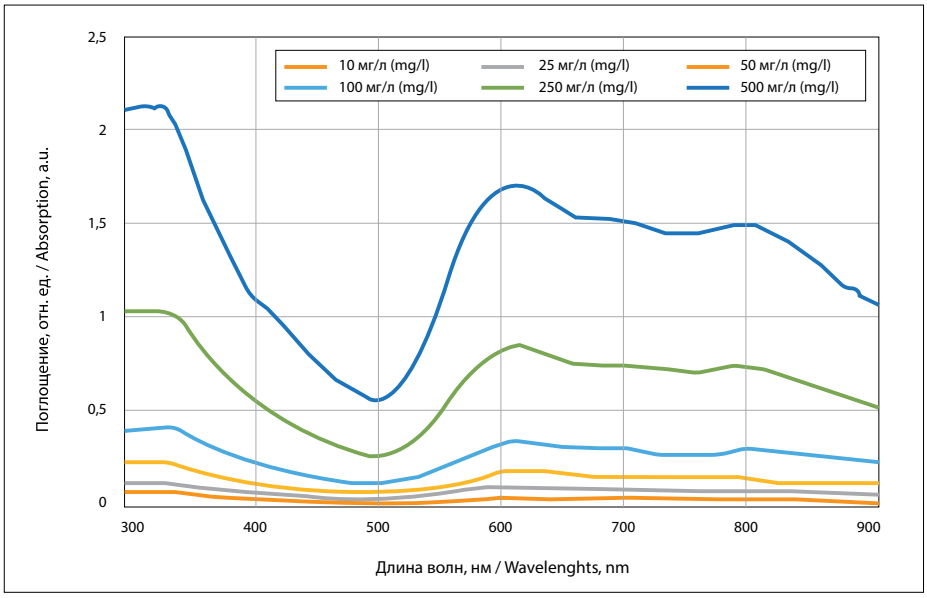


Рис. 2. Спектры поглощения коллоидных растворов nAlPc в концентрациях 10, 25, 50, 100, 250 и 500 мг/л
Fig. 2. Absorption spectra of nAlPc colloidal solutions at concentrations of 10, 25, 50, 100, 250 and 500 mg/l

жения (бактерии, макрофаги и др.) [19–23]. Механизм возникновения флуоресценции предположительно может быть описан при помощи модели, предполагающей переход молекул на поверхности наночастицы из пара- в орто- положение [19, 20, 22–24].

Ряд авторов [25, 26] указывает на возможность проведения флуоресцентной диагностики микроповреждений эмали через 15 мин после нанесения коллоида наночастиц на поверхность эмали.

Также из литературных данных известно, что за счет фотодинамического эффекта водорастворимые формы фталоцианина алюминия оказывают ингибирующее действие на рост ряда бактерий, являющихся причиной возникновения различных поражений эмали зубов и тканей пародонта. В частности, фотодинамическая терапия с дисульфированным фталоцианином алюминия приводит к гибели *Streptococcus sanguis, Porphyomonas gingivalis, Escherichia coli, Streptococcus mutans, Candida albicans Actinobacillus actinotnycetetttcotnitans Streptococcus sobrinus, Lactobacillus casei* и *Actinomyces viscosus* [27–31], с хлорированным фталоцианином алюми-

ния – к гибели *Candida albicans* [32, 33], а при использовании в виде наноэмульсии – *Staphylococcus aureus* [34].

Для сокращения времени ожидания «разгорания» флуоресценции в качестве дополнительного активатора nAlPc было предложено использовать поверхностно-активное вещество (ПАВ), которое перевело бы часть поверхностных молекул наночастиц в более подвижное состояние. Эти молекулы, не отрываясь от наночастицы, могут взаимодействовать с микроокружением и проявлять свои флуоресцентные и фотодинамические свойства, которые по своим характеристикам близки к молекулярной форме.

Цель настоящей работы состоит в исследовании взаимодействия лазерного излучения с nAlPc на поверхности эмали для фототераностики начального кариеса. Для достижения цели необходимо разработать метод контроля концентрации и размеров частиц в коллоиде, а также подобрать оптимальное ПАВ с точки зрения безопасности для здоровья и флуоресцентных характеристик для дополнительной активации nAlPc.

Для проведения локальной флуоресцентной спектроскопии поверхности эмали с целью выявления микротрещин эмали и очагов скопления патогенной микрофлоры были приготовлены модельные смеси, содержащие разные ПАВ, коллоид nAlPc и вспомогательные компоненты, и проведен анализ спектрально-флуоресцентных характеристик *in vitro* самих смесей и эмали зубов *ex vivo*.

Материалы и методы

Приготовление коллоида наночастиц фталоцианина алюминия

Для приготовления коллоидного раствора nAlPc были использованы крупнодисперсные кристаллы AlPc производства ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» (Россия) и дистиллированная вода. Кристаллы подвергали диспергированию при помощи ультразвукового гомогенизатора Bandelin SONOPLUS HD2070 с насадкой KE76 (20 кГц, амплитуда 165 μм) (Германия). Длительность диспергирования составила 30 мин. Далее коллоидный раствор был подвержен центрифугированию в установке «Centrifuge ELMI CM-6M» в течение 10 мин в режиме 35 тыс. об/мин. После центрифугирования крупные частицы выпадали в осадок. Мелкие частицы, находящиеся в верхнем слое, были собраны при помощи автоматического пипеточного дозатора. Для контроля размера частиц в коллоиде был использован спектрометр статического и динамического рассеяния света «Photocor Complex» (Россия). Кювету с коллоидным раствором облучали низкоинтенсивным лазером с длиной волны возбуждения 635 нм для регистрации рассеянного света на частицах.

На рис. 1 представлены результаты измерения гидродинамического радиуса nAlPc в водной среде в концентрации 10 мг/л. Частицы nAlPc с гидродинамическим радиусом 140±36 нм и 9±2 нм рассеивают свет в 97% и 3% случаях, соответственно.

Существенно, что водная суспензия наночастиц не флуоресцирует. Для изучения взаимодействия nAlPc с поверхностной микрофлорой эмали использовали коллоид nAlPc в концентрации 10 мг/л.

Контроль концентрации коллоидного раствора наночастиц фталоцианина алюминия

Для контроля концентрации nAlPc в коллоиде была построена нормировочная кривая на основе данных, полученных экспериментальным путем. Были измерены спектры (рис. 2) поглощения коллоидных растворов nAlPc с известными концентрациями при помощи спектрофотометра Hitachi U-3400 (Япония). Были выбраны значения оптической плотности коллоидов при длине волны поглощения 538 нм, нанесенные на график, имеющие линейную зависимость (рис. 3). При помощи нормировочной кривой производили контроль концентрации приготовленного коллоидного раствора nAlPc.

Подготовка экспериментальных образцов для исследования взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с различными поверхностно-активными веществами

Для исследования возможности использования различных ПАВ в качестве дополнительных активаторов nAlPc были приготовлены экспериментальные образцы, содержащие 0,5–2% ПАВ и коллоидный раствор nAlPc в концентрации 10 мг/л. В качестве дополнительных активаторов наночастиц были использованы: твин 80 (Tween 80), пропиленгликоль (Propyleneglycol), протелан (Protelan MST-35), плантекар (Plantacare 1200 UP, Lauryl Glucoside) и лаурилэтоксисульфат натрия (sodium laurylethoxysulfate). Твин 80 представляет собой гидрофильное неионогенное поверхностно-активное вещество, обычно используемое для увеличения биодоступности и адресной доставки лекарств в доклинических исследованиях *in vivo* [35–37]. Пропиленгликоль используется в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки E1520. Плантекар, протелан и лаурилэтоксисульфат натрия разрешены к использованию для приготовления зубных паст [38]. В качестве контрольного образца использовался водный коллоидный раствор nAlPc в концентрации 10 мг/л без добавок.

Создание модельной смеси с наночастицами фталоцианина алюминия и поверхностно-активными веществами для локальной флуоресцентной спектроскопии поверхности эмали

Для проведения ФД эмали зубов *ex vivo* была приготовлена модельная смесь, содержащая nAlPc (10 мг/л), протелан (1%) и дополнительные компоненты. В каче-

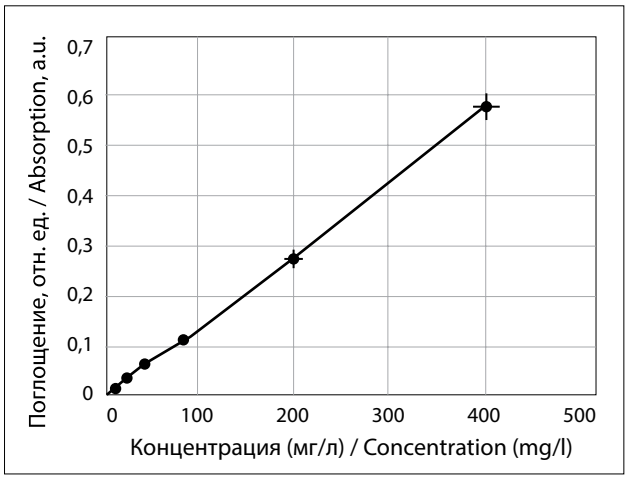


Рис. 3. График нормировочной кривой зависимости поглощения от концентрации коллоида nAlPc, применявшийся для контроля концентрации коллоидного раствора nAlPc
Fig. 3. The graph of the normalized curve used to control nAlPc colloid concentration: the dependence of the absorption on the concentration of the nAlPc colloid

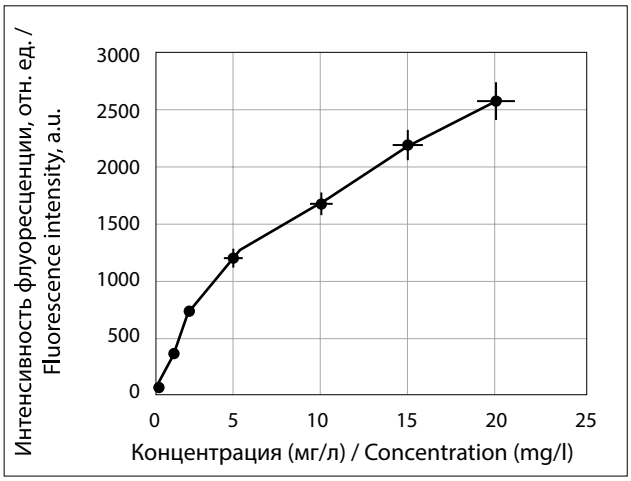


Рис. 4. Зависимость интенсивности флуоресценции nAlPc, перешедших в молекулярную форму, от концентрации при растворении в ДМСО
Fig. 4. The dependence of the fluorescence intensity of nAlPc, transformed into a molecular form, on the concentration at dissolution in DMSO

стве дополнительных компонентов были использованы вещества, которые обычно используются для производства зубной пасты в соответствии с ГОСТ 7983–99 «Пасты зубные. Общие технические условия». Протелан является поверхностно-активным веществом, которое было получено из 100% натуральных материалов и не наносит вред живым организмам и окружающей среде человека.

Перед приготовлением модельного соединения была оптимизирована структура и концентрация компонентов. Образец модельной смеси исследовали сразу же после приготовления и после того, как он находился в специальном термостате (42°C, 1 мес), что эквивалентно выдержке при комнатной температуре в течение 12 мес.

Для исследования спектральных свойств nAlPc в составе модельной смеси с протеланом использовали дополнительные образцы: основа модельной смеси без nAlPc и протелана и модельной смеси только с nAlPc. Дополнительные образцы модельной смеси были подготовлены для проверки гипотезы о том, что ПАВ может активировать поверхностные молекулы наночастицы подобно растворителю. Разница между растворителем наночастиц и ПАВ заключается в том, что растворитель переводит поверхностные молекулы в свободное состояние, в то время как ПАВ делает их более подвижными и способными к взаимодействию с микрофлорой, не отделяя их от поверхности наночастиц [38–40].

Контроль доли активированных наночастиц фталоцианина алюминия в водном растворе и модельной смеси

Для количественной оценки доли активированных nAlPc в образце (перешедших в молекулярную форму) в зависимости от концентрации ПАВ и времени взаимодействия была построена калибровочная кривая. Для построения были использованы экспериментальные данные, полученных при взаимодействии органического растворителя диметилсульфоксида (ДМСО) [41] с различными концентрациями nAlPc (спектрометр «LESA-01-BIOSPEC» (Россия)). Результаты представлены на рис. 4. Из полученных данных можно видеть, что для концентрации наночастиц в 10 мг/л при 100% их растворимости (полном переходе в молекулярную форму) в ДМСО интенсивности флуоресценции составляет 1700 отн. ед. Таким образом, зная концентрацию nAlPc в экспериментальном образце и используя калибровочную кривую, можно определить долю активированных nAlPc (перешедших в молекулярную форму) как отношение интенсивности флуоресценции nAlPc в растворе к интенсивности флуоресценции nAlPc в ДМСО.

Для количественной оценки процента активированных наночастиц в составе готовой модельной смеси был приготовлен образец, содержащий модельную смесь и ДМСО. В экспериментальном образце концентрация наночастиц составила 2,5 мг/л. Для достижения однородности состава образец был подвергнут ультразвуковому воздействию. После этого были получены максимумы интенсивностей флуоресценции модельной смеси и экспериментального образца с ДМСО, где наблюдалось полное растворение nAlPc, означающее переход в молекулярную форму. Соотношение между максимумами флуоресценции было использовано для определения доли активированных nAlPc в готовом модельной смеси.

Биологические образцы для экспериментальных исследований

Для исследования взаимодействия nAlPc с эмалью зуба и патогенной микрофлорой, содержащейся на поверхности и в микроповреждениях эмали зуба, были использованы образцы человеческих зубов (всего 41 образец), удаленные по различным клиническим показаниям. Образцы удаленных зубов от момента удаления до времени проведения эксперимента содержались в водном 0,9%-ом растворе хлорида натрия для максимальной сохранности микрофлоры, содержащейся на поверхности эмали.

Во время эксперимента коллоид nAlPc или модельную смесь наносили на поверхность зубной эмали и через 3 мин смывали водой.

Экспериментальная установка для исследования взаимодействия коллоида наночастиц фталоцианина алюминия с поверхностно-активными веществами, коллоида наночастиц фталоцианина алюминия и модельной смеси с наночастиц фталоцианина алюминия и протеланом с поверхностной микрофлорой эмали зубов

Для проведения исследований была собрана экспериментальная установка, которая состояла из лазерного источника для возбуждения флуоресценции и миниатюрного универсального спектрометра для регистрации и анализа флуоресцентного сигнала.

В качестве источника излучения для возбуждения флюоресценции использовался лазер (632,8 нм). Детектирование сигнала осуществляли с помощью лазерного спектрометра «LESA-01-BIOSPEC» (Россия) [42]. Схема измерительной установки представлена на рис. 5.

Измерение флуоресценции в образцах, содержащих nAlPc и ПАВ, проводили на временных интервалах: 0–180 мин, 1–6 сут. Для проведения измерений кювету с образцом помещали в специально разработанную камеру (рис. 4) с достаточным уровнем защиты от посторонних источников. Волоконно-оптический зонд (ВОЗ) находится в контакте с образцом под углом 15°, во избежание попадания отраженного света от противоположной стенки эппендорфа в приемные волокна. ВОЗ состоит из одного осветительного и шести приемных волокон. Диаметр дистального конца 1,8 мм.

При проведении исследований по взаимодействию коллоида nAlPc и модельной смеси (с nAlPc и протеланом) с поверхностной микрофлорой эмали зубов ВОЗ располагался в контакте с образцом.

Для визуальной оценки флуоресцентного изображения поверхности эмали до и после нанесения модельной смеси на эмаль зуба была использована видеофлуоресцентная система, которая состоит из источника лазерного излучения (635 нм), светового фильтра с диапазоном пропускания 650–1500 нм и чувствительной черно-белой камеры.

Обработка результатов

При исследовании взаимодействия nAlPc с различными ПАВ обработку результатов, полученных в виде спектров при помощи установки ЛЭСА-01 «Биоспек», осуществляли в несколько этапов. На первом этапе для каждой временной точки полученные спектры усредняли (при помощи программы Uno Momento, поддерживающейся в среде Windows). Следующим шагом была нормировка на лазерный пик для возможности сравнения нескольких спектров, полученных на разных временных промежутках, и с целью учета влияния разнообразных факторов (геометрии измерений, мощности лазера). Далее для каждого экспериментального образца был построен график зависимости интенсивности флуоресценции nAlPc от времени при взаимодействии с различными ПАВ при различных концентрациях. Аналогичные действия по обработке результатов осуществляли при исследовании спектроскопических свойств модельной смеси с nAlPc и протеланом.

Экспериментальные результаты с биологическими образцами включали в себя две группы. Первая группа состояла из коллодного раствора nAlPc и биологических образцов человеческих зубов, а вторая группа включала модельную смесь с nAlPc и протеланом и биологические образцы.

Для каждого образца из обеих групп была получена серия спектров аутофлуоресценции эмали до и спектров флуоресценции AlPc после нанесения коллоида наночастиц или модельной смеси на эмаль зубов. Каждая серия спектров представляла собой набор данных, полученных от различных областей на поверхности эмали зубов. Данные, полученные при исследовании взаимодействия коллоида nAlPc и модельной смеси с эмалью зуба *ex vivo*, были нормированы на время экспозиции. На основе серий спектров для каждого биологического образца было рассчитано среднее значение спектра аутофлуоресценции до и флуоресценцию AlPc после нанесения коллоида наночастиц или модельной смеси на эмаль зуба.

Далее, используя среднее значение спектра, для каждого образца было рассчитано значение коэффициента аутофлуоресценции эмали $k_{аф}$ как отношение площадей под спектром аутофлуоресценции эмали к площади под лазерным пиком. Аналогичные действия проводили для расчета коэффициента флуоресценции $k_{фл}$ nAlPc после нанесения коллоида на эмаль в рамках одного образца.

Таким образом, для каждой экспериментальной группы образцов был получен массив данных с коэффициентами аутофлуоресценции эмали до и коэффициентами флуоресценции nAlPc после нанесения коллоида наночастиц или модельной смеси на поверхность эмали зубов. Для оценки разницы во флуоресценции с поверхности эмали до и после применения экспериментальных композиций с

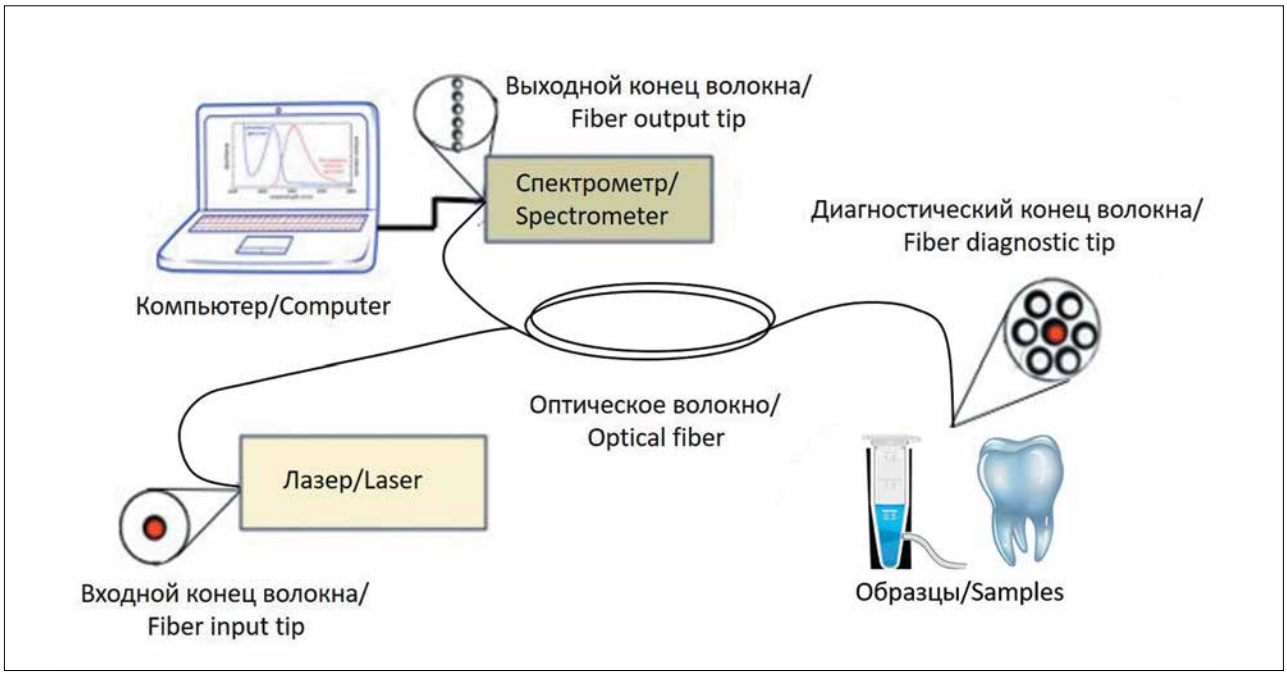


Рис. 5. Схематическое представление измерительной установки
Fig. 5. Experimental setup

nAlPc для каждого образца был рассчитан коэффициент усиления флуоресценции, представляющий собой отношение $k_{фл}$ к $k_{аф}$, при этом для расчета $k_{аф}$ выбирали ту площадь под спектром аутофлуоресценции, которая соответствовала границам флуоресцентного сигнала nAlPc:

$$k_{ДК} = \frac{k_{фл}}{k_{аф}}$$

Коэффициенты усиления флуоресценции для каждого образца использовали для статистической обработки экспериментальных результатов, проводившейся с использованием компьютерной программы «Статистика SPSS v23.0». Для сравнения двух групп зубов (при применении коллоидного раствора nAlPc или модельного соединения с nAlPc) использовался t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с различными поверхностно-активными веществами

Известно, что ПАВ влияют на фотофизические и фотохимические свойства органических молекул. В присутствии ПАВ изменяются кислотно-основные свойства молекул в основном и возбужденном состоянии. Меняются спектрально-люминесцентные характеристики и агрегатное состояние красителей. Протекание большого количества химических реакций в присутствии ПАВ отличается от их протекания в растворах [43].

На состояние среды этанол и ПАВ воздействуют примерно одинаковым образом [40]. Так как этанол является растворителем наночастиц nAlPc [41], то ПАВ, вступая во взаимодействие с наночастицами, способен активировать их, подобно растворителю [38, 39].

Исследование динамики взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с пропиленгликолем

В ходе эксперимента была исследована зависимость индекса флуоресценции наночастиц при взаимодействии с пропиленгликолем (концентрация 0,5–2%) на временном промежутке от 0 мин до 7 сут. Было выявлено, что пропиленгликоль не вступает во взаимодействие с наночастицами и не вызывает флуоресценции nAlPc.

Исследование динамики взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с твин 80

Поверхностно-активное вещество твин 80 (полисорбат-80) является эмульгатором, который используется в пищевой и косметической промышленности [39]. В работе [44] твин 80 использовал для приготовления эмульсии для улучшения адресной доставки лекарства хлорированного AlPc и для усиления биораспределения наночастиц за счет покрытия поверхности частиц AlPc [41]. Также биологически совместимые ПАВ (твины) могут быть использованы для уменьшения молекулярной агрегации, которая наблюдается для гидрофобных фталоцианинов, таких как AlPc, в водной среде. Известно, что агрегация ухудшает

эффективность фотодинамической терапии и снижает интенсивность флуоресценции [45].

На рис. 6 представлен график зависимости интенсивности флуоресценции nAlPc от времени при взаимодействии с твин 80 в различных концентрациях. Из графиков видно, что сильный рост флуоресценции nAlPc наблюдается практически на всех временных промежутках при взаимодействии с твином 80. Увеличение флуоресценции nAlPc происходит вплоть до 4 сут. Потом происходит спад с последующим ростом.

Также было замечено, что через 4 сут наночастицы в экспериментальных образцах начинают выпадать в осадок. При взбалтывании образуются хлопья, которые не растворяются. Максимальная доля активированных молекул, находящихся на поверхности nAlPc варьирует в диапазоне 6–8% от их общего расчетного количества при концентрациях твин 80 0,5–2%.

Исследование динамики взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с лаурилэтоксисульфатом натрия

Лаурилэтоксисульфат натрия является чрезвычайно гидрофильным ПАВ [38]. При концентрациях 1% и 2% в образце вызывает рост флуоресценции nAlPc вплоть до 3–4 сут, потом наночастицы начинают выпадать в осадок, и флуоресценция снижается (рис. 7).

Относительно невысокую флуоресценцию nAlPc вызывает присутствие в образце лаурилэтоксисульфата натрия в концентрации 0,5%. Доля активированных молекул варьирует в диапазоне 0,5–3% при концентрациях лаурилэтоксисульфата натрия 0,5–2%.

Исследование взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия в зависимости от времени при взаимодействии с протеланом

Протелан получен из 100% натурального, возобновляемого, растительного сырья и не содержат сульфатов, консервантов, ЕО-групп и 1,4-диоксана. Как химическое вещество протелан характеризуется высокой пенообразующей способностью и используется в производстве средств по уходу за полостью рта. Также этот ПАВ используется в условиях космоса, не наносит вред организму и окружающей среде. Легко биоразлагается и одобрен Cosmos стандартом [46]. При взаимодействии наночастиц с протеланом при концентрациях 0,5% и 1% наблюдается сильное увеличение максимума интенсивности флуоресценции на 6 сут с момента приготовления образцов, а при концентрации 2% на 4 сут (рис. 8).

Снижение флуоресценции наночастиц связано с их агрегацией и выпадением в осадок. Доля активированных наночастиц варьирует в диапазонах 2–4,5% при концентрациях ПАВ 0,5–2%.

Исследование динамики взаимодействия наночастиц фталоцианина алюминия с плантекаром

Плантекар (Lauryl Glucoside) синтезируется из натурального сырья в процессе ректификации растительных жиров (кокосового масла и глюкозы). В косметических средствах выступает в роли эмульгатора, диспергатора, естественного пенообразователя, повышает вязкость консистенции, совершенно нетоксичен и легко биоразлагается. При взаимодействии с nAlPc вызывает их флуоресценцию, увеличение которой сохраняется до 3–6 сут в зависимости от концентрации. Снижение флуоресценции наночастиц связано с их агрегацией и последующим выпадением в осадок. Доля активированных nAlPc варьирует в диапазонах 0,6–2% при концентрациях ПАВ 0,5–2% (рис. 9).

Спектры флуоресценции наночастиц фталоцианина алюминия при взаимодействии с различными поверхностно-активными веществами

В ходе эксперимента было выявлено, что имеется определенный сдвиг в длине волны флуоресценции nAlPc при взаимодействии с лаурилсульфатом натрия относительно других ПАВ на 15 нм вне зависимости от концентрации веществ и времени после начала взаимодействия. На рис. 10 представлен спектр флуоресценции nAlPc через 40 мин после взаимодействия с различными видами ПАВ (концентрация 2%).

Было сделано предположение, что сдвиг в длине волны флуоресценции может быть связан с разницей в pH раствора ПАВ с наночастицами или поглощающими характеристиками ПАВ.

Для каждого ПАВ величины pH составили: для пропиленгликоля – 5,5–8; для твин 80 – 5,5–7,5; для лаурилэтоксисульфата натрия – 7–9; для протелана – 9–10; для плантекара – 11,5–12,5. Как видно из представленных данных, нет связи между pH образцов и сдвигом в длине волны флуоресценции nAlPc при взаимодействии с лаурилсульфатом натрия относительно других ПАВ. Важно также отметить, что ни один из экспериментальных образцов не обладал критической концентрацией мицеллообразования ПАВ и тип гидрофильной группы ПАВ не влияет на флуоресценцию наночастиц [39].

Были получены графики спектров поглощения различных ПАВ в концентрации 1% по объему, полученные при помощи спектрофотометра Hitachi U-3400 (Япония).

Результаты измерений показали, что все ПАВ не поглощают в диапазоне спектра от 350 нм до 850 нм и не оказывают сильного влияния на спектры флуоресценции nAlPc. Поэтому причина в изменении длин волн флуоресценции наночастиц при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия относительно других спектров до конца не ясна.

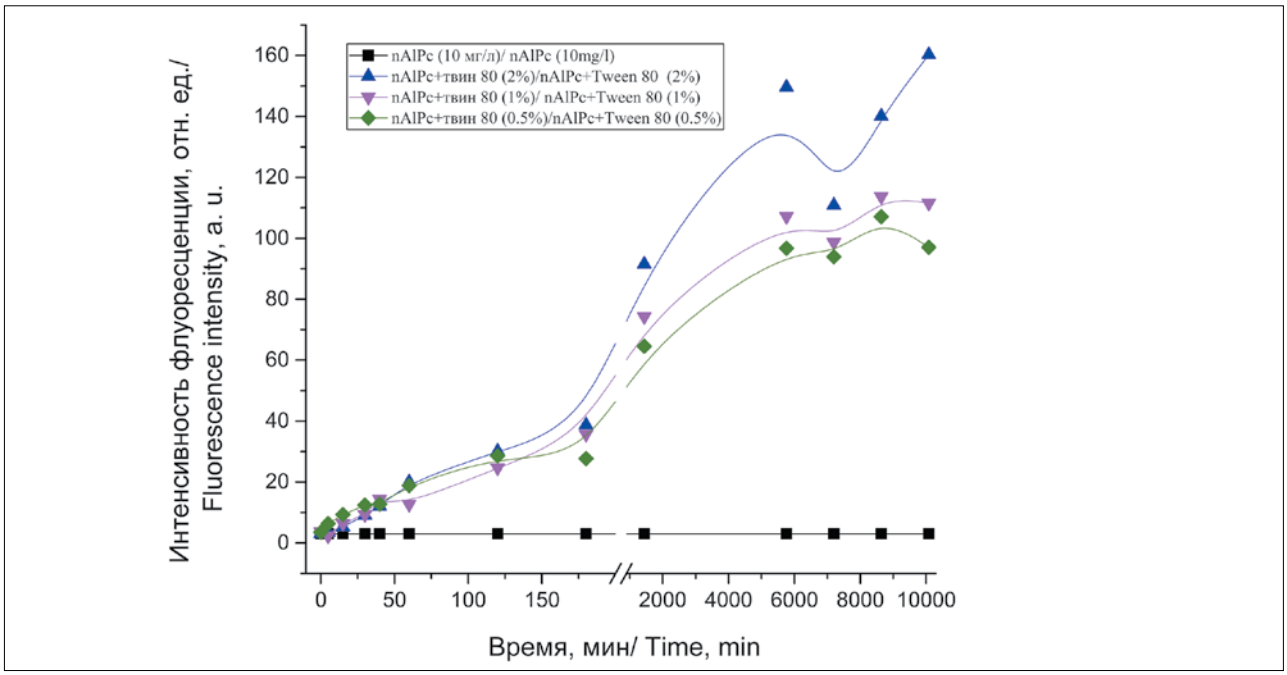


Рис. 6. Динамика интенсивности флуоресценции nAlPc при взаимодействии с твин 80 в концентрациях 0,5–2%
Fig. 6. The dependence of the fluorescence intensity on time in interaction with Tween 80 in concentrations of 0.5–2%

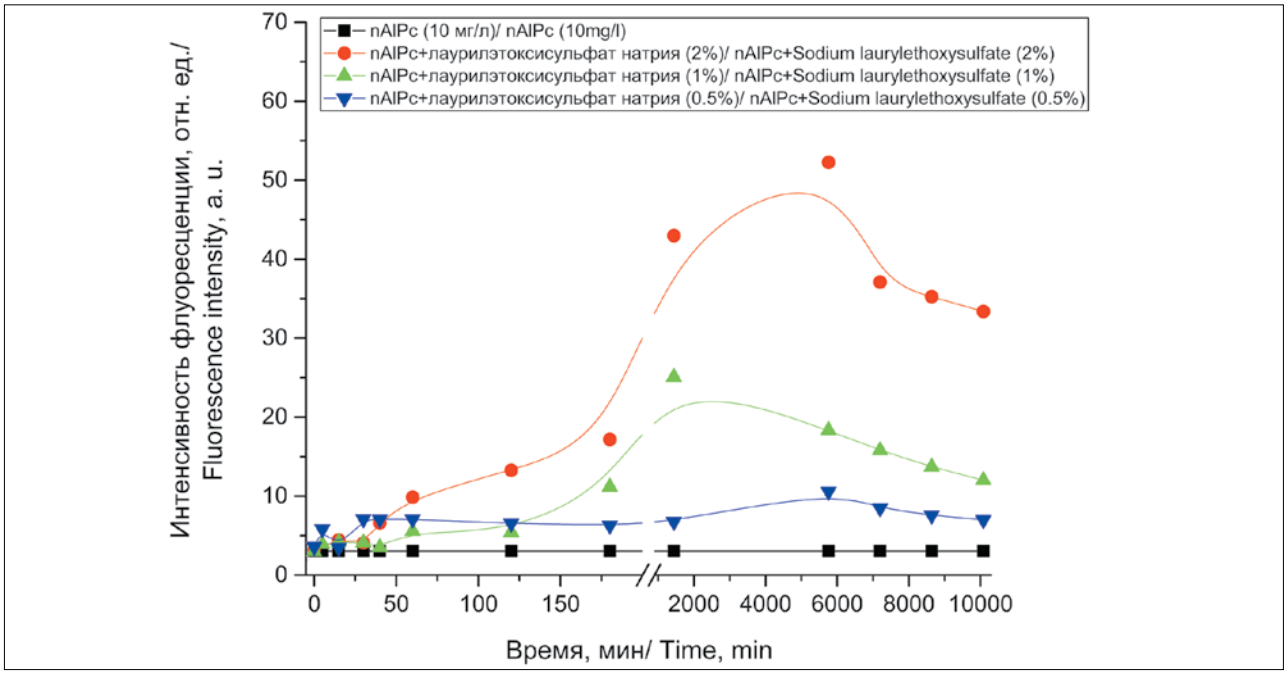


Рис. 7. Динамика интенсивности флуоресценции nAlPc при взаимодействии с лаурилэтоксисульфатом натрия в концентрациях 0,5–2%
Fig. 7. The dependence of the fluorescence intensity of nAlPc on time at interaction with sodium laurylethoxysulfate in concentrations of 0.5–2%

Спектроскопические свойства модельной смеси с наночастицами фталоцианина алюминия и протеланом для проведения локальной флуоресцентной спектроскопии поверхности эмали

Для эксперимента по исследованию спектроскопических свойств nAlPc в составе модельной смеси для проведения ФД состояния эмали использовали различные образцы: основа модельной смеси без nAlPc и протелана; модельная смесь с nAlPc; модельная смесь с nAlPc и протеланом. Основная цель эксперимента была в проверке гипотезы, заключающейся в том, что ПАВ, вступая во взаимодействие с

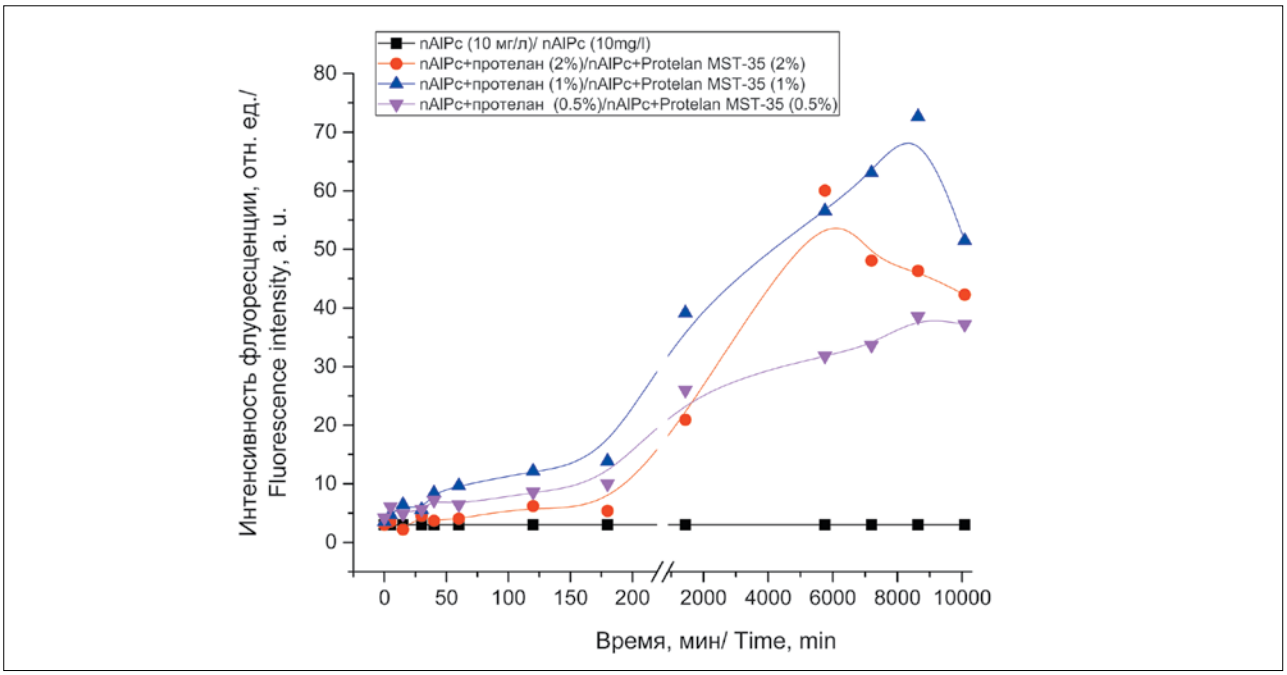


Рис. 8. Динамика интенсивности флуоресценции nAlPc при взаимодействии с протеланом в концентрациях 0,5–2%.
Fig. 8. The dependence of the fluorescence intensity of nAlPc on time at interaction with Protelan MST-35 in concentrations of 0.5–2%

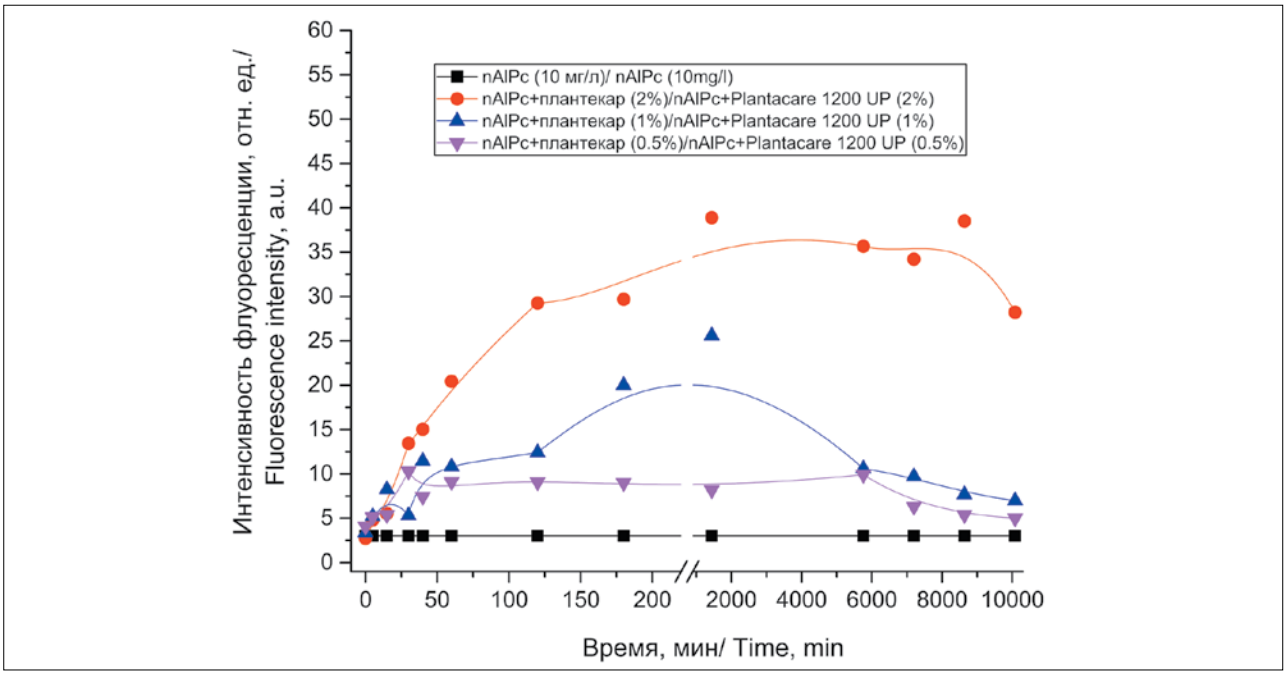


Рис. 9. Динамика интенсивности флуоресценции nAlPc при взаимодействии с плантекаром в концентрациях 0,5–2%.
Fig. 9. The dependence of the fluorescence intensity of nAlPc on time at interaction with Plantacare 1200 UP in concentrations of 0.5–2%

nAlPc, способен активировать поверхностные молекулы, подобно растворителю, с той лишь разницей, что растворитель переводит молекулы в свободное состояние, а ПАВ делает их более подвижными и реакционноспособными, не отрывая их от наночастицы [38–40].

Образцы модельной смеси были исследованы сразу после приготовления и после выдержки в специальном термостате при 42°C в течение 1 мес, что эквивалентно нахождению при комнатной температуре в течение 12 мес. Результаты исследований представлены на рис. 11. Пик на длине волны 632,8 нм соот-

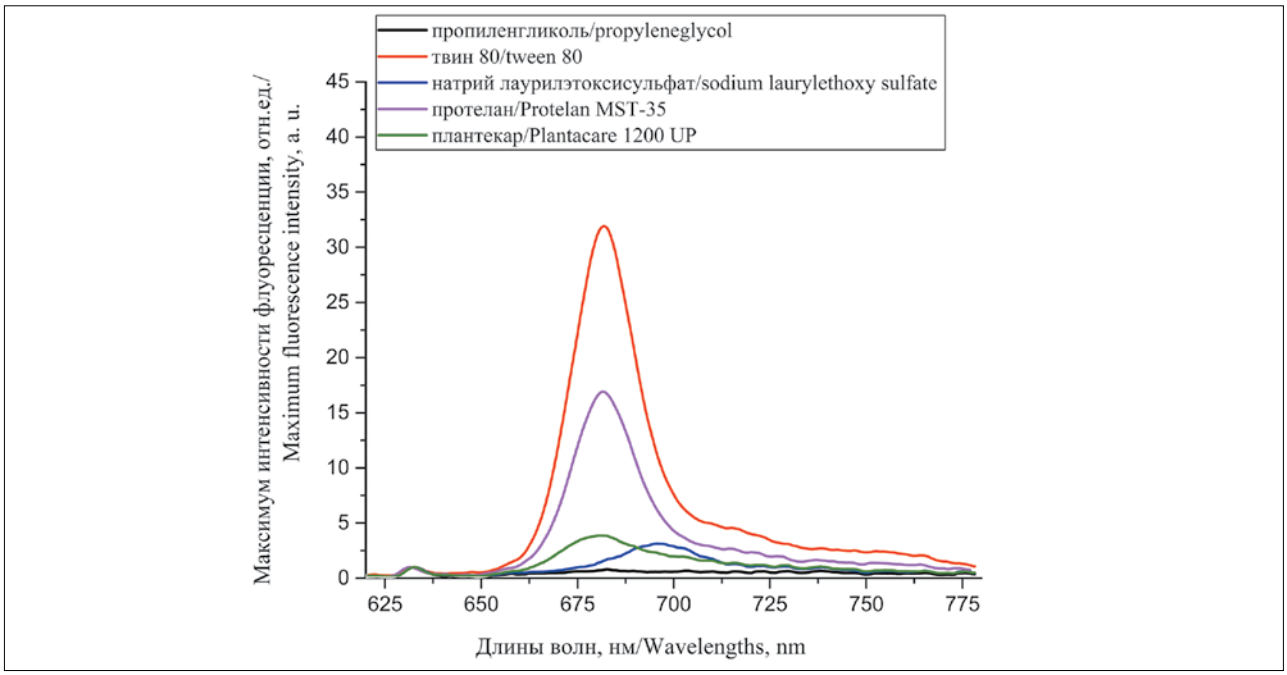


Рис. 10. Спектры флуоресценции nAlPc при взаимодействии с различными ПАВ через 120 мин после приготовления образцов
Fig. 10. Fluorescence spectra of nAlPc interacting with various surfactants 120 min after sample preparation

ветствует рассеянному назад от поверхности образца лазерному излучению, которое было использовано для нормировки спектров флуоресценции (670 нм) и численной оценки концентрации флуоресцирующих компонентов.

Как видно из полученных экспериментальных данных, спектроскопические свойства модельной смеси сразу после приготовления и после выдержки, моделирующей 12-месячное хранение изменились в сторону увеличения интенсивности флуоресценции в 2 раза. Расчеты показывают, что флуоресцирующие молекулы находятся в связанном с наночастицами состоянии. pH модельной смеси составил 6,27. В составе также отсутствовала микрофлора: *Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*, плесневые грибы и дрожжи. Модельная смесь обладает микробиологической чистотой, однородной и густой консистенцией, пригодной для использования в клинических условиях. Предварительный срок годности модельной смеси составляет не менее 12 мес.

Для количественной оценки процента активированных молекул в составе готовой модельной смеси с nAlPc и протеланом был приготовлен образец, содержащий модельную смесь и ДМСО, который является растворителем наночастиц. В экспериментальном образце концентрация наночастиц составила 2,5 мг/л. Результаты измерения флуоресценции наночастиц в образце, а также в модельной смеси, представлены на рис. 12.

Интенсивность флуоресценции всех молекул при растворении nAlPc в ДМСО составляет порядка 100 отн. ед., при концентрации nAlPc в образце 2,5 мг/л. При заявленной концентрации в модельной смеси в 10 мг/л, интенсивность флуоресценции молекул фталоцианина должна составить 400 отн. ед. Как видно из рис. 10 и 11, интенсивность флуоресценции в составе модельной смеси примерно 4–8 отн. ед. Таким образом, можно сделать вывод, что в готовой модельной смеси в активированном состоянии находится порядка 1–5% молекул. Такое небольшое количество молекул, находящихся в свободном состоянии, позволит не только увеличить эффективность и снизить время ФД, но и различить флуоресценцию наночастиц при наличии и отсутствии патогенной микрофлоры в исследуемой области.

Результаты исследования взаимодействия коллоида наночастиц фталоцианина алюминия с эмалью зубов ex vivo

Результаты исследований по выявлению характера взаимодействия коллоидного раствора nAlPc с эмалью образцов зубов *ex vivo* показали, что через 3 мин наблюдается невысокая флуоресценция, обусловленная аутофлуоресценцией микрофлоры и незначительной активацией поверхностных молекул наночастиц. Заметное усиление флуоресценции nAlPc происходит через 1 ч после нанесения коллоидного раствора. Это говорит о

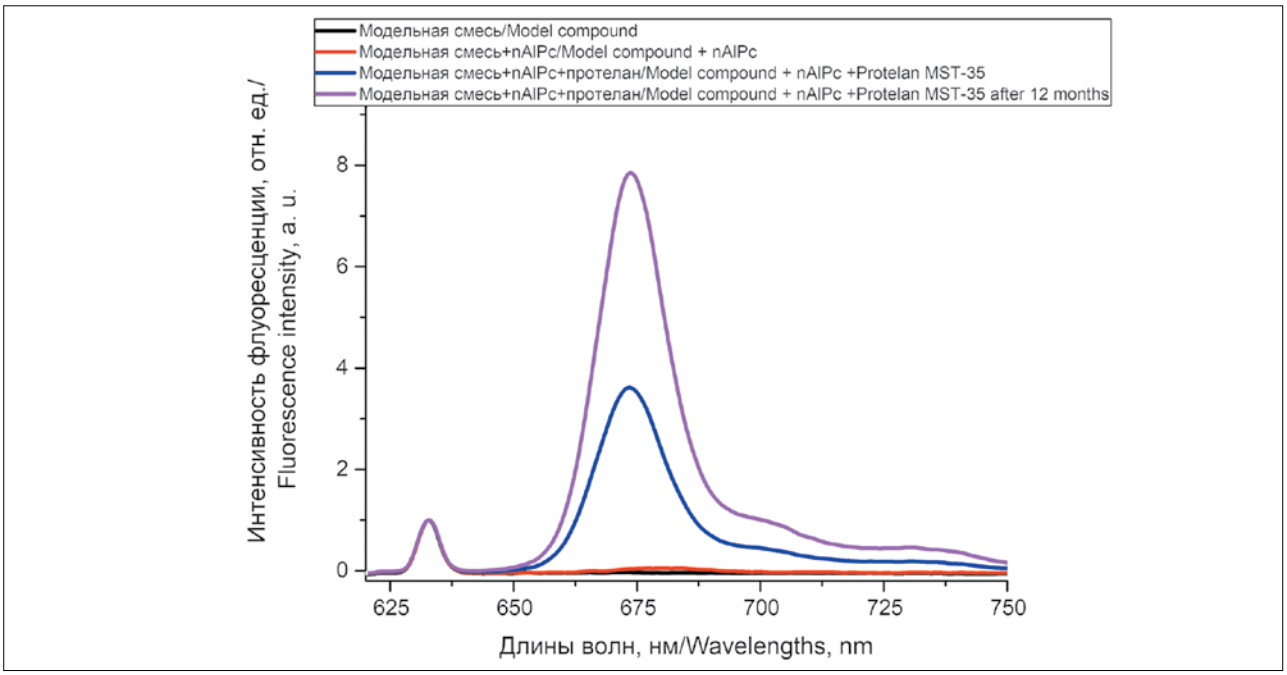


Рис. 11. Спектры флуоресценции модельной смеси, модельной смеси с nAlPc и модельной смеси с nAlPc и протеланом, полученные сразу после приготовления и через 12 мес
Fig. 11. Fluorescence spectra of the model compound, the model compound with nAlPc and the model compound with nAlPc and Protelan MST-35 measured immediately after preparation and 12 months later

том, что для активации поверхностных молекул наночастицы патогенной микрофлорой, расположенной на поверхности эмали зуба, необходимо некоторое время.

Для проведения флуоресцентной диагностики в клинических условиях увеличение флуоресценции через 1 ч является слишком большим промежутком времени для проведения процедуры. Данная проблема решается путем введения в состав коллоида дополнительного активатора nAlPc, который позволит сократить время проведения диагностики.

Для данной экспериментальной группы для каждого образца были рассчитаны коэффициенты усиления флуоресценции (через 3 мин после нанесения коллоида), которые использовали в дальнейших статистических расчётах.

Результаты исследования взаимодействия модельной смеси и поверхностной микрофлоры эмали зубов

Было исследовано взаимодействие модельной смеси (с nAlPc и протеланом) с поверхностной микрофлорой эмали зубов. Для каждого образца был рассчитан коэффициент усиления флуоресценции, как описано в материалах и методах. На рис. 13 представлен пример спектров аутофлуоресцении эмали до нанесения и флуоресценции nAlPc после нанесения модельной смеси.

На рис. 14 представлены видеофлуоресцентные изображения поверхности эмали зубов до нанесения модельной смеси (*а*) и через 3 мин (*б*).

Статистическая обработка двух групп измерений на человеческих зубах *ex vivo* (при применении коллоидного раствора nAlPc и модельной смеси с nAlPc) с применением t-критерия достоверности Стьюдента показала, что результаты расчета статистически значимы ($p<0,05$), и использование протелана для дополнительной активации nAlPc обосновано.

Выводы

Экспериментальные исследования показали достоверную эффективность использования nAlPc в составе модельной смеси для локальной флуоресцентной спектроскопии поверхности эмали для выявления микротрещин эмали и потенциальных очагов скопления патогенной микрофлоры.

Исходя из анализа результатов по исследованию взаимодействия коллоида nAlPc с различными ПАВ, можно заключить, что в начальные моменты времени во взаимодействие с ПАВ вступают наиболее мелкие частицы и молекулы в составе коллоида, а по истечении времени вклад в интенсивность флуоресценции вносят молекулы, относящиеся к более крупным частицам.

Спектроскопические исследования модельной смеси с nAlPc и протеланом показали эффективность использования этого ПАВ для дополнительной активации наночастиц, что позволяет проводить ФД

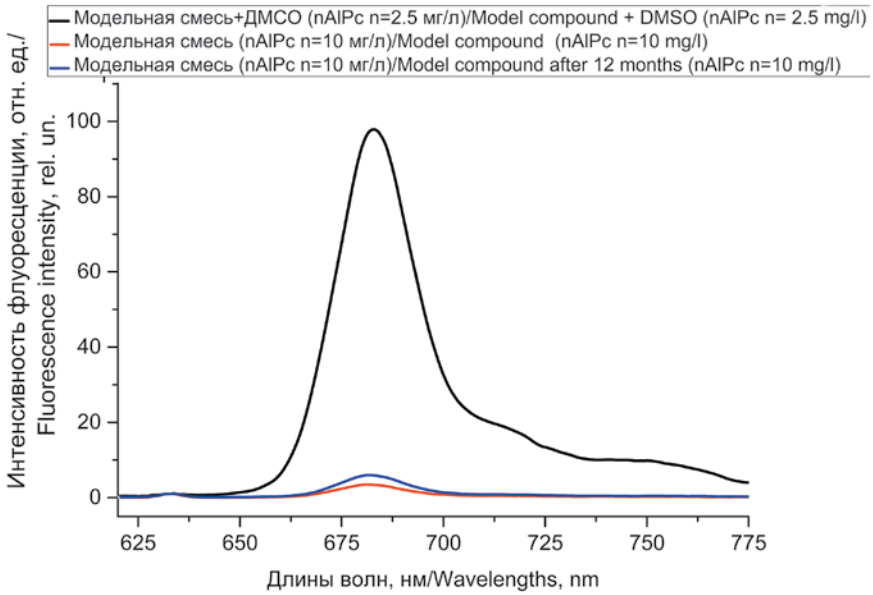


Рис. 12. Спектры флуоресценции модельной смеси с nAlPc (2,5 мг/л) и ДМСО и модельной смеси с nAlPc (10 мг/л) сразу после приготовления и спустя 12 мес

Fig. 12. Fluorescence spectra of the model compound (nAlPc 2.5 mg/l) with DMSO, and model compound (nAlPc 10 mg/l) immediately after preparation and 12 months later

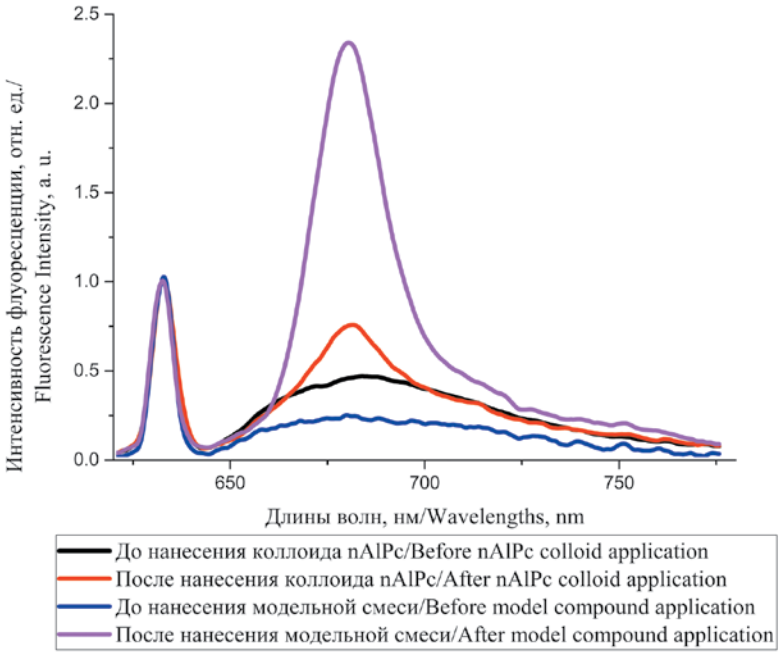
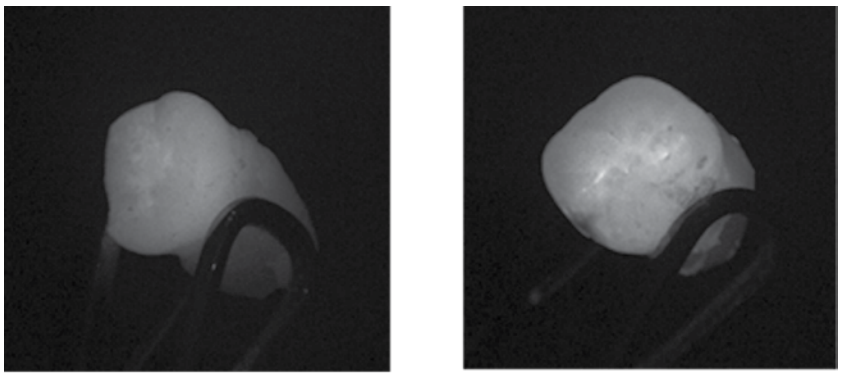


Рис. 13. Спектры флуоресценции nAlPc до и после нанесения модельной смеси с ПАВ и коллоида nAlPc на поверхность эмали зубов (экспозиция 3 мин)

Fig. 13. nAlPc fluorescence spectra before and after the application of the model compound with surfactant and nAlPc colloid on the tooth enamel surface (3 min exposition)



а б

Рис. 14. Видео-флуоресцентные изображения поверхности эмали зубов:
а – до нанесения модельной смеси;
б – через 3 мин после нанесения модельной смеси
Fig. 14. Video-fluorescent images of the tooth enamel surface:
a – before the model compound application;
б – 3 min after the model compound application

поверхности эмали зубов через 3 мин после нанесения. Добавление протелана в модельную смесь для проведения ФД эмали зубов активирует не более 1–5% молекул nAlPc.

В перспективе, совместное использование nAlPc с ПАВ позволит увеличить не только чувствительность и эффективность ФД твёрдых тканей зуба, но и эффективность ФДТ тканей пародонта.

Часть экспериментальных работ по изготовлению модельной смеси была выполнена при финансовой поддержке предприятия ООО «Дентоспек» (Троицк, Москва, Россия).

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomas S.S., Mohanty S., Jayanthi J.L., et al. Clinical trial for detection of dental caries using laser-induced fluorescence ratio reference standard // J. Biomed. Opt. – 2013. – Vol. 15, No. 2. – P. 1–8.
2. Gonchukov S.A., Sukhinina A.A., Bakhmutov D.N., et al. Periodontitis diagnostics using resonance Raman spectroscopy on saliva // Laser Phys. Lett. – 2013. – Vol. 10, No. 7. – 075610.
3. Gonchukov S., Sukhinina A., Bakhmutov D., Minaeva S. Raman spectroscopy of saliva as a perspective method for periodontitis diagnostics // Laser Phys. Lett. – 2012. – Vol. 9, No. 1. – P. 73–77.
4. Ramakrishnaiah R., Rehman G., Basavarajappa S., et al. Applications of Raman Spectroscopy in Dentistry: Analysis of Tooth Structure // Appl. Spectrosc. Rev. – 2014. – Vol. 50, No. 4. – P. 332–350.
5. Tsuda H., Arends J. Raman Spectroscopy in Dental Research: A Short Review of Recent Studies // Adv. Dent. Res. – 1997. – Vol. 11, No. 4. – P. 539–547.

REFERENCES

1. Thomas S.S., Mohanty S., Jayanthi J.L., Varughese J.M., Balan A., Subhash N. Clinical trial for detection of dental caries using laser-induced fluorescence ratio reference standard, *J. Biomed. Opt.*, 2013, Vol. 15, No. 2, pp. 1–8.
2. Gonchukov S.A., Sukhinina A.A., Bakhmutov D.N., Biryukova T.B., Tsvetkov M.C., Bagratashvily V.C. Periodontitis diagnostics using resonance Raman spectroscopy on saliva, *Laser Phys. Lett.*, 2013, Vol. 10, No. 7, 075610.
3. Gonchukov S., Sukhinina A., Bakhmutov D., Minaeva S. Raman spectroscopy of saliva as a perspective method for periodontitis diagnostics, *Laser Phys. Lett.*, 2012, Vol. 9, No. 1, pp. 73–77.
4. Ramakrishnaiah R., Rehman G., Basavarajappa S., Alkhuraif A., Durgesh B.H., Khan A.S., Rehman I. Applications of Raman Spectroscopy in Dentistry: Analysis of Tooth Structure, *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2014, Vol. 50, No. 4, pp. 332–350.
5. Tsuda H., Arends J. Raman Spectroscopy in Dental Research: A Short Review of Recent Studies, *Adv. Dent. Res.*, 1997,Vol. 11, No. 4, pp. 539–547.

6. Buchwald T., Okulus Z., Szybowicz M. Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection–new insights // J. Raman Spectrosc. – 2017. – Vol. 48, No. 8. – P. 1094–1102.
7. Hsieh Y.-S., Ho Y.C., Lee S.Y., et al. Dental Optical Coherence Tomography // Sensors (Basel). – 2013. – Vol. 13, No. 7. – P. 8928–8949.
8. Chen Q.G., Zhu H.H., Xu Y., et al. Quantitative method to assess caries via fluorescence imaging from the perspective of autofluorescence spectral analysis // Laser Phys. – 2015. – Vol. 25, No. 8. – P. 1–9.
9. Buchalla W., Lennon A.M., Attin T. Fluorescence spectroscopy of dental calculus // J. Periodontal Res. – 2004. – Vol. 39, No. 5. – P. 327–332.
10. Bakhmutov D., Gonchukov S., Sukhinina A. Fluorescence spectroscopy of dental calculus // Laser Phys. Lett. – 2010. – Vol. 7, No. 5. – P. 384–387.
11. Bakhmutov D.N., Gonchukov S.A., Kharchenko O., et al. Early Dental Caries Detection by Fluorescence Spectroscopy // Laser Phys. Lett. – 2004. – Vol. 1, No. 11. – P. 565–569.
12. Bakhmutov D.N., Gonchukov S.A., Kharchenko O. Early caries naked-eyed examination // Laser Phys. Lett. – 2008. – Vol. 5, No. 5. – P. 375–378.
13. Borisova E.G., Uzunov T.T., Avramov L.A. Early Differentiation between Caries and Tooth Demineralization Using Laser-Induced Autofluorescence Spectroscopy // Lasers Surg. Med. – 2004. – Vol. 34, No. 3. – P. 249–253.
14. Drakaki E., Makropoulou M., Khabbaz M., Serafetinideset A.A. Reflectance, scattering and laser induced fluorescence for the detection of dental caries // Proc. SPIE. – 2003. – 5141_348.
15. Drakaki E.A., Makropoulou M.I., Khabbaz M., Serafetinides A.A. Laser Induced Fluorescence in diagnosis of dental caries // Proc. SPIE. – 2003. – Vol. 5149. – P. 45–52.
16. Sinyaeva M.L., Mamedov A.A., Vasilchenko S.Y., et al. Fluorescence Diagnostics in Dentistry // Laser Phys. – 2004. – Vol. 14, No. 8. – P. 1132–1140.
17. Schoenly J.E., Seka W., Featherstone J.D., Rechmann P. Near-UV laser treatment of extrinsic dental enamel stains // Lasers Surg. Med. – 2012. – Vol. 44, No. 4. – P. 339–345.
18. Синяева М.Л., Васильченко С.Ю., Волкова А.И. и др. Использование наночастиц фталоцианина алюминия для детектирования микроповреждений эмали зубов // Российские нанотехнологии. – 2007. – Т. 2, № 11–12. – С. 58–63.
19. Steiner R., Breymayer J., Rueck A., et al. Crystalline organic nanoparticles for diagnosis and PDT // Proc. SPIE. – 2015. – Vol. 9308. – P. 1–7.
20. Breymayer J., Rück A., Ryabova A.V., et al. Fluorescence investigation of the detachment of aluminum phthalocyanine molecules from aluminum phthalocyanine nanoparticles in monocytes/macrophages and skin cells and their localization in monocytes/macrophages // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2014. – Vol. 11, No. 3. – P. 380–390.
21. Vasilchenko S.Y. Volkova A.I., Ryabova A.V., et al. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantology // J. Biophotonics. – 2010. – Vol. 3, No. 5–6. – P. 336–346.
22. Kuznetsova J.O., Makarov V.I. Application of nanophotosensitizers (aluminum phthalocyanine nanoparticles) for early diagnosis and prevention of inflammatory diseases // J. Phys. Conf. Ser. – 2016. – Vol. 737, No. 1. – P. 1–3.
23. Kuznetsova J.O., Farrakhova D.S., Yassin M.G. Aluminum phthalocyanine nanoparticles as a contrast agent for the detection of tooth enamel microcracks // Photon Lasers Med. – 2016. – Vol. 5, No. 4. – P. 267–322.
24. Быстров Ф.Г., Макаров В.И., Поминова Д.В. и др. Исследование кинетики затухания фотолюминесценции молекулярных нанокристаллов фталоцианина алюминия при взаи-

6. Buchwald T., Okulus Z., Szybowicz M. Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection–new insights, *J. Raman Spectrosc.*, 2017, Vol. 48, No. 8, pp. 1094–1102.
7. Hsieh Y.-S., Ho Y.C., Lee S.Y., Chuang C.C., Tsai J.C., Lin K.F., Sun C.W. Dental Optical Coherence Tomography, *Sensors (Basel)*, 2013, Vol. 13, No. 7, pp. 8928–8949.
8. Chen Q.G., Zhu H.H., Xu Y., Lin B., Chen H. Quantitative method to assess caries via fluorescence imaging from the perspective of autofluorescence spectral analysis, *Laser Phys.*, 2015, Vol. 25, No. 8, pp. 1–9.
9. Buchalla W., Lennon A.M., Attin T. Fluorescence spectroscopy of dental calculus, *J. Periodontal Res.*, 2004, Vol. 39, No. 5, pp. 327–332.
10. Bakhmutov D., Gonchukov S., Sukhinina A. Fluorescence spectroscopy of dental calculus, *Laser Phys. Lett.*, 2010, Vol. 7, No. 5, pp. 384–387.
11. Bakhmutov D.N., Gonchukov S.A., Kharchenko O., Nikiforova O., Vdovin Yu. Early Dental Caries Detection by Fluorescence Spectroscopy, *Laser Phys. Lett.*, 2004, Vol. 1, No. 11, pp. 565–569.
12. Bakhmutov D.N., Gonchukov S.A., Kharchenko O. Early caries naked-eyed examination, *Laser Phys. Lett.*, 2008, Vol. 5, No. 5, pp. 375–378.
13. Borisova E.G., Uzunov T.T., Avramov L.A. Early Differentiation between Caries and Tooth Demineralization Using Laser-Induced Autofluorescence Spectroscopy, *Lasers Surg. Med.*, 2004, Vol. 34, No. 3, pp. 249–253.
14. Drakaki E., Makropoulou M., Khabbaz M., Serafetinideset A.A. Reflectance, scattering and laser induced fluorescence for the detection of dental caries, *Proc. SPIE*, 2003, 5141_348.
15. Drakaki E.A., Makropoulou M.I., Khabbaz M., Serafetinides A.A. Laser Induced Fluorescence in diagnosis of dental caries, *Proc. SPIE*, 2003, Vol. 5149, pp. 45–52.
16. Sinyaeva M.L., Mamedov A.A., Vasilchenko S.Y., Volkova A.I., Loschenov V.B. Fluorescence Diagnostics in Dentistry, *Laser Phys.*, 2004,Vol. 14, No. 8, pp. 1132–1140.
17. Schoenly J.E., Seka W., Featherstone J.D., Rechmann P. Near-UV laser treatment of extrinsic dental enamel stains, *Lasers Surg. Med.*, 2012, Vol. 44, No. 4, pp. 339–345.
18. Sinyaeva M.L., Vasil'chenko S.Yu., Volkova A.I., Korovin S.B., Mamedov Ad.A., Kuz'min S.G., Luk'yanets E.A., Loshchenov V.B., Konov V.I. Use of aluminum phthalocyanine nanoparticles for tooth enamel microdamage detection, Rossiyskie nanotekhnologii, 2007, Vol. 2, No. 11–12. pp. 58–63. (in Russian)
19. Steiner R., Breymayer J., Rueck A., Loschenov V.B., Ryabova A.V. Crystalline organic nanoparticles for diagnosis and PDT, *Proc. SPIE*, 2015, Vol. 9308, pp. 1–7.
20. Breymayer J., Rück A., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Steiner R.W.. Fluorescence investigation of the detachment of aluminum phthalocyanine molecules from aluminum phthalocyanine nanoparticles in monocytes/macrophages and skin cells and their localization in monocytes/macrophages, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2014,Vol. 11, No. 3, pp. 380–390.
21. Vasilchenko S.Y. Volkova A.I., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Konov V.I., Mamedov A.A., Kuzmin S.G., Lukyanets E.A. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantology, *J. Biophotonics*, 2010, Vol. 3, No. 5–6, pp. 336–346.
22. Kuznetsova J.O., Makarov V.I. Application of nanophotosensitizers (aluminum phthalocyanine nanoparticles) for early diagnosis and prevention of inflammatory diseases, *J. Phys. Conf. Ser.*, 2016, Vol. 737, No. 1, pp. 1–3.
23. Kuznetsova J.O., Farrakhova D.S., Yassin M.G. Aluminum phthalocyanine nanoparticles as a contrast agent for the detection of tooth enamel microcracks, *Photon Lasers Med.*, 2016, Vol. 5, No. 4, pp. 267–322.
24. Bystrov F.G., Makarov V.I., Pominova D.V., Ryabova A.V., Loshchenov V.B. Analysis of photoluminescence decay kinetics of aluminum phthalocyanine nanoparticles interacting with immune cells, *Biomedical Photonics*, 2016, Vol. 5, No. 1, pp. 3–8. (in Russian)

модействии с иммунокомпетентными клетками // Biomed. Photonics. – 2016. – Т. 5, № 1. – P. 3–8.
25. Sinyaeva M.L., Panchenko V.Y., Sabotinov N.V., et al. Optimization of parodontium tissue irradiation method for fluorescent diagnostic (FD) and photodynamic therapy (PDT) // Proc. SPIE. – 2004. – Vol. 5449. – P. 462–465.
26. Васильченко С.Ю., Волкова А.И., Коровин С.Б. и др. Исследование флюоресцентных свойств наночастиц фталоцианина алюминия в микроповреждениях эмали зуба // Рос. биотер. журн. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 77–80.
27. Dobson J., Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser // Arch. Oral Biol. – 1992. – Vol. 37, No. 11. – P. 883–887.
28. Lacey J.A., Phillips D. The photobleaching of disulfonated aluminium phthalocyanine in microbial systems // Photochem. Photobiol. Sci. – 2002. – Vol. 1, No. 2. – P. 120–125.
29. Lacey J.A., Phillips D. Fluorescence lifetime measurements of disulfonated aluminium phthalocyanine in the presence of microbial cells // Photochem. Photobiol. Sci. 2002. – Vol. 1, No. 6. – P. 378–383.
30. Wilson M., Dobson J., Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser // Oral Microbiol. Immunology. – 1993. – No. 8. – P. 182–187.
31. Carrera E.T., Dias H.B., Corbi S.C.T., et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review // Laser Phys. – 2016. – Vol. 26, No. 12. doi: 10.1088/1054–660X/26/12/123001
32. Yin R., Hamblin M.R. Antimicrobial Photosensitizers: Drug Discovery Under the Spotlight // Curr. Med. Chem. – 2015. – Vol. 22, No. 18. – P. 2159–2185.
33. Carmello J.C., Alves F., Ribeiro A., et al. In vivo photodynamic inactivation of Candida albicans using chloro-aluminum phthalocyanine // Oral Dis. – 2016. – Vol. 22, No. 5. – P. 415–422.
34. Ribeiro A.P., Andrade M.C., Bagnato V.S., et al. Antimicrobial photodynamic therapy against pathogenic bacterial suspensions and biofilms using chloro-aluminum phthalocyanine encapsulated in nanoemulsions // Lasers Med. Sci. – 2015. – Vol. 30, No. 2. – P. 549–559.
35. Ragelle H., Crauste-Manciet S., Seguin J., et al. Nanoemulsion formulation of fisetin improves bioavailability and antitumour activity in mice // Int. J. Pharm. – 2012. – Vol. 427, No. 2. – P. 452–459.
36. Zhang H., Yao M., Morrison R.A., Chong S. Commonly used surfactant, Tween 80, improves absorption of P-glycoprotein substrate, digoxin, in rats // Arch Pharm Res. – 2015. – Vol. 26, No. 9. – P. 768–772.
37. Natarajan J., Baskaran M., Humtsoe L.C., et al. Enhanced brain targeting efficacy of Olanzapine through solid lipid nanoparticles // Artif. Cells. Nanomedicine. Biotechnol. – 2016. – Vol. 45, No. 2. – P. 364–371.
38. Salaguer J.-L. Surfactants Types and Uses. – Venezuela: Laboratorio FIRP, 2002. – 49 p.
39. Холмберг К., Йёнссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. – 513 с.
40. Саввин С.Б. Поверхностно-активные вещества. – М.: Наука, 1991. – 251 с.
41. Asem H., El-Fattah A.A., Nafee N., et al. Development and biodistribution of a theranostic aluminum phthalocyanine nanophotosensitizer // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2016. – Vol. 13. – P. 48–57.
42. Loschenov V., Konov V., Prokhorov A. Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics // Laser Phys. – 2000. – Vol. 10, No. 6. – P. 1188–1207.
43. Иванов В.Л., Ляшкевич С.Ю. Влияние поверхностно-активных веществ на цепную реакцию фотозамещения галогена сульфогруппой в галогенгидроксинафталинах // Химия высоких энергий. – 2013. – Т. 47, No. 4. – С. 293–297.

25. Sinyaeva M.L., Panchenko V.Y., Sabotinov N.V., Mamedov A.A., Lervkin V.V., Kharnas S.S., Volkova A.I., Loschenov V.B., Berezin A.N., Kiselev G.L. Optimization of parodontium tissue irradiation method for fluorescent diagnostic (FD) and photodynamic therapy (PDT), *Proc. SPIE*, 2004, Vol. 5449, pp. 462–465.
26. Vasil'chenko S.Yu., Volkova A.I., Korovin S.B., Loshchenov V.B., Sinyaeva M.L., Mamedov Ad.A., Luk'yanets E.A., Kuz'min S.G. Investigation of aluminum phthalocyanine nanoparticles fluorescent properties in tooth enamel microdamage, *Ros. bioter. zhurn.*, 2006, Vol. 5, No. 2, pp. 77–80. (in Russian)
27. Dobson J., Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser, *Arch. Oral Biol.*, 1992, Vol. 37, No. 11, pp. 883–887.
28. Lacey J.A., Phillips D. The photobleaching of disulfonated aluminium phthalocyanine in microbial systems, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, Vol. 1, No. 2, pp. 120–125.
29. Lacey J.A., Phillips D. Fluorescence lifetime measurements of disulfonated aluminium phthalocyanine in the presence of microbial cells, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, Vol. 1, No. 6, pp. 378–383.
30. Wilson M., Dobson J., Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser, *Oral Microbiol. Immunology*, 1993, No. 8, pp. 182–187.
31. Carrera E.T., Dias H.B., Corbi S.C.T., Marcantonio R.A.C., Bernardi A.C.A., Bagnato V.S., Hamblin M.R., Rastelli A.N.S. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review, *Laser Phys.*, 2016, Vol. 26, No. 12. doi: 10.1088/1054–660X/26/12/123001
32. Yin R., Hamblin M.R. Antimicrobial Photosensitizers: Drug Discovery Under the Spotlight, *Curr. Med. Chem.*, 2015, Vol. 22, No. 18, pp. 2159–2185.
33. Carmello J.C., Alves F., Ribeiro A., Basso F.G., de Souza Costa C.A., Tedesco A.C., Primo F.L., Mima E.G., Pavarina A.C. In vivo photodynamic inactivation of Candida albicans using chloro-aluminum phthalocyanine, *Oral Dis.*, 2016, Vol. 22, No. 5, pp. 415–422.
34. Ribeiro A.P., Andrade M.C., Bagnato V.S., Vergani C.E., Primo F.L., Tedesco A.C., Pavarina A.C. Antimicrobial photodynamic therapy against pathogenic bacterial suspensions and biofilms using chloro-aluminum phthalocyanine encapsulated in nanoemulsions, *Lasers Med. Sci.*, 2015, Vol. 30, No. 2, pp. 549–559.
35. Ragelle H., Crauste-Manciet S., Seguin J., Brossard D., Scherman D., Arnaud P., Chabot G.G. Nanoemulsion formulation of fisetin improves bioavailability and antitumour activity in mice, *Int. J. Pharm.*, 2012, Vol. 427, No. 2, pp. 452–459.
36. Zhang H., Yao M., Morrison R.A., Chong S. Commonly used surfactant, Tween 80, improves absorption of P-glycoprotein substrate, digoxin, in rats, *Arch Pharm Res*, 2015, Vol. 26, No. 9, pp. 768–772.
37. Natarajan J., Baskaran M., Humtsoe L.C., Vadivelan R., Justin A. Enhanced brain targeting efficacy of Olanzapine through solid lipid nanoparticles, *Artif. Cells. Nanomedicine. Biotechnol.*, 2016, Vol. 45, No. 2, pp. 364–371.
38. Salaguer J.-L. *Surfactants Types and Uses*. Venezuela, Laboratorio FIRP, 2002. 49 p.
39. Kholmberg K., Yensson B., Kronberg B., Lindman B. *Poverkhnostno-aktivnye veshchestva i polimery v vodnykh rastvorakh* [Surfactants and polymers in aqueous solutions]. Moscow, BINOM, Laboratoriya znaniy Publ., 2013. 513 p.
40. Savvin S.B. *Poverkhnostno-aktivnye veshchestva* [Surfactants]. Moscow, Nauka Publ., 1991. 251 p.
41. Asem H., El-Fattah A.A., Nafee N., Zhao Y., Khalil L., Muhammed M., Hassan M., Kandil S. Development and biodistribution of a theranostic aluminum phthalocyanine nanophotosensitizer, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 2016, Vol. 13, pp. 48–57.
42. Loschenov V., Konov V., Prokhorov A. Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics, *Laser Phys.*, 2000, Vol. 10, No. 6, pp. 1188–1207.

44. Silva E.P.O., Franchi L.P., Tedescoa A.C. Chloro-aluminium phthalocyanine loaded in ultradeformable liposome for photobiology studies on human glioblastoma // RSC Adv. – 2016. – Vol. 83. – P. 1–10.
45. Muehlmann L.A., Ma B.C., Longo J.P., et al. Aluminum-phthalocyanine chloride associated to poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) nanoparticles as a new third-generation photosensitizer for anticancer photodynamic therapy // Int. J. Nanomedicine. – 2014. – Vol. 9. – P. 1199–1213.
46. Cath T.Y., Adams D., Childress A.E. Membrane contactor processes for wastewater reclamation in space: II. Combined direct osmosis, osmotic distillation, and membrane distillation for treatment of metabolic wastewater // J. Memb. Sci. – 2005. – Vol. 257, No. 1–2. – P. 111–119.

43. Ivanov V.L., Lyashkevich S.Yu. Influence of surfactants on the chain reaction of halogen photosubstitution by a sulfonyl hydroxide group in halogenhydroxynaphthalenes, *Khimiya vysokikh energiy*, 2013, Vol. 47, No. 4, pp. 293–297. (in Russian)
44. Silva E.P.O., Franchi L.P., Tedescoa A.C. Chloro-aluminium phthalocyanine loaded in ultradeformable liposome for photobiology studies on human glioblastoma, *RSC Adv.*, 2016, Vol. 83, pp. 1–10.
45. Muehlmann L.A., Ma B.C., Longo J.P., Almeida Santos Mde F., Azevedo R.B. Aluminum-phthalocyanine chloride associated to poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) nanoparticles as a new third-generation photosensitizer for anticancer photodynamic therapy, *Int. J. Nanomedicine*, 2014, Vol. 9, pp. 1199–1213.
46. Cath T.Y., Adams D., Childress A.E. Membrane contactor processes for wastewater reclamation in space: II. Combined direct osmosis, osmotic distillation, and membrane distillation for treatment of metabolic wastewater, *J. Memb. Sci.*, 2005, Vol. 257, No. 1–2, pp. 111–119.