

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук

На правах рукописи

ЕГОРОВ АНТОН ЕГОРОВИЧ

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКИХ
ХАРАКТЕРИСТИК И ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ФОТОХИМИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ С УЧАСТИЕМ КОМПЛЕКСОВ ЦИАНИНОВЫХ И
ПОРФИРИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ И БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

1.4.4. Физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат химических наук
Костюков Алексей Александрович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Фотосенсибилизаторы в фотодинамической терапии	11
1.2 Тетрапиррольные красители как потенциальные фотосенсибилизаторы.....	15
1.3 Бискарбоцианиновые красители.....	19
1.4 Биомакромолекулы и их роль в доставке фотоактивных веществ	21
1.5 Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА)	21
1.6 Липопротеины низкой плотности (ЛПНП)	24
1.7 Фотоинициаторы в процессах фотополимеризации и 3D-печати	26
1.8 Фотоинициаторы на основе α, α' -бис (замещенных бензилиден)кетонов.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	32
2.1 Вещества и реактивы	32
2.2 Абсорбционная спектроскопия	35
2.3 Люминесцентная спектроскопия.....	36
2.4 Импульсный фотолиз.....	38
2.5 Конфокальная микроскопия.....	40
2.6 Квантово-химические расчеты	41
2.7 Клеточные эксперименты.....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	43
3.1 Спектрально-кинетические характеристики карборанилтетрапирролов.....	43
3.2 Спектрально-кинетические характеристики возбужденных состояний комплексов карборанилтетрапирролов с ЧСА и ЛПНП	51
3.3 Триpletные состояния карборанилтетрапиррольных красителей.	58
3.4 Фотоиндуцированный перенос электрона от донора электрона на триpletные состояния бискарбоцианиновых красителей, комплексообразование с ЧСА	71
3.5 Фотохимические свойства кетоцианиновых красителей на основе α, α' -бис (замещенных бензилиден) циклопентанонов.....	77
3.6 Триpletные состояния метакрилатного производного кетоцианинового красителя.....	85
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	94

ВЫВОДЫ	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	98

ВВЕДЕНИЕ

Фотосенсибилизаторы (ФС) находят применение для лечения некоторых опухолевых заболеваний методом фотодинамической терапии (ФДТ) [1]. В результате поглощения света молекулой ФС она переходит сначала в возбужденное синглетное состояние, после через интеркомбинационную конверсию (ИКК) переходит в триплетное состояние. Триплетное состояние является реакционноспособным, долгоживущим и вступает в реакции с молекулярным кислородом с образованием активных форм кислорода (АФК). АФК являются цитотоксическими интермедиатами и способны приводить к гибели раковых клеток. Использование источников света, работающих в диапазоне видимого и ближнего ИК спектра (650-800 нм) представляет интерес по причинам увеличения глубины проникновения света и уменьшения показателей оптического поглощения в биологических тканях [2]. Для эффективного поглощения света данного спектрального диапазона молекула ФС должна иметь соответствующую интенсивную полосу поглощения. Одним из реакционных путей триплетного состояния является перенос энергии (реакции II типа) на молекулярный кислород, который приводит к образованию синглетного кислорода. Синглетный кислород принадлежит к АФК и является одним из основных цитотоксических интермедиатов. Другой реакцией триплетного состояния является перенос электрона с молекулы донора (реакции I типа) на триплетное состояние молекулы ФС, в результате которого образуется радикал-анион молекулы ФС, который в дальнейшем может взаимодействовать с молекулярным кислородом с образованием супероксидного радикала. Супероксидный радикал также принадлежит к АФК [3].

В процессе развития данного терапевтического метода уже созданы три поколения фотоактивных молекул, в том числе на основе порфиринов и хлоринов [4]. Часть фотосенсибилизаторов на основе тетрапирролов уже применяется для лечения определенных опухолевых заболеваний (препараты Фотофрин, Фоскан, Визудин) [5-8].

Цианиновые красители находят применение в областях молекулярной диагностики, флуоресцентного имиджинга [9-11] хирургии [12] и 3D – печати [13-14].

Среди этого класса красителей особый интерес представляют бискарбоцианиновые красители (БКЦ) поскольку обладают способностью к образованию триплетного состояния при фотовозбуждении. Наличие центрального гетероцикла, связывающего два цианиновых хромофора приводит к диполь-дипольному взаимодействию данных хромофоров и туннелированию электрона через центральный гетероцикл [15]. Оба эти эффекта приводят к расщеплению синглетного уровня. В результате в спектре поглощения появляется дополнительная полоса, сдвинутая в длинноволновую область. Наличие интенсивных полос поглощения в красной области электромагнитного спектра, а также способность генерировать АФК позволяет рассматривать эти красители как потенциальные фотосенсибилизаторы [16-23].

Кетоцианиновые красители отмечаются наличием триплетного состояния (n, π^*) – типа локализованного на карбонильной группе красителя. Данное триплетное состояние характеризуется высокой реакционной способностью в реакциях переноса протона и электрона. Благодаря этой особенности данные красители могут рассматриваться не только как потенциальные фотосенсибилизаторы для ФДТ, но и использоваться в качестве фотоинициаторов в процессах радикальной фотополимеризации [24-25]. Объемные структуры, созданные методом аддитивной фотополимеризации применяются в качестве медицинских изделий [26-27] и систем доставки лекарств [28-29]. При фотооблучении молекул фотоинициатора с помощью радикальных интермедиатов происходит инициация процесса цепной полимеризации [30]. К классу кетоцианиновых красителей можно отнести красители на основе бис-бензилиден кетонов. Они имеют достаточно высокую молекулярную экстинкцию (до $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), что наряду с возможностью регулировать длину хромофора позволяет получать молекулы фотоинициаторов пригодные для использования при различных источниках фотовозбуждения [31].

Актуальность работы. Настоящая работа посвящена исследованию фотохимических свойств возбужденных состояний новых карборанилтетрапиррольных, бискарбоцианиновых и кетоцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами (БММ). Исследование фотохимических процессов с участием молекулы ФС, приводящих к образованию АФК является важным для оценки влияния строения фотоактивной молекулы на её фотохимические свойства. Изучение процессов переноса энергии, и переноса электрона, которые приводят к генерации АФК, позволяет улучшить понимание механизмов действия ФС. Кетоцианиновые красители представляют интерес благодаря способности образовывать возбужденные триплетные состояния и генерировать АФК, не только в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для биомедицинского применения, но и фотоинициаторов (ФИ) в процессах фотополимеризации. Для улучшения характеристик производимых изделий необходимо создание новых молекул-фотоинициаторов. Кетоцианиновые красители уже находят применение в технологии 3D-печати в качестве фотоинициаторов. Изменение структуры и фотохимических свойств данных фотоактивных молекул может приводить к более быстрому и точному изготовлению трехмерных структур.

Степень разработанности темы исследования. Актуальной проблемой в ФДТ является поиск новых молекул - фотосенсибилизаторов. В процессе развития ФДТ было создано уже три поколения фотосенсибилизаторов. Данная работа связана с исследованием фотохимических свойств новых фотоактивных молекул, комбинирующих действие фотосенсибилизатора, и агента для бор-нейтронозахватной терапии. Другой проблемой при проведении ФДТ является гипоксия опухолей. В условиях выраженной гипоксии актуальным становится использование ФС, действующих преимущественно по первому типу. В данной работе проведено исследование возможности действия бискарбоцианинового красителя как ФС первого типа. Разработка новых фотоактивных молекул для использования в процессах фотополимеризации также является актуальной

задачей. В данной работе исследованы фотохимические свойства нового кетоцианинового красителя для использования в аддитивных технологиях.

Целью настоящей диссертационной работы является исследование фотохимических свойств ряда новых тетрапиррольных, бискарбоцианиновых и кетоцианиновых красителей, изучение процессов деактивации возбужденных состояний в зависимости от строения молекулы, исследование процессов переноса энергии с участием возбужденного триплетного состояния красителя и молекулярного кислорода, а также процессов переноса электрона с участием возбужденного триплетного состояния и донора электронов, а также характеристика процессов комплексообразования с молекулами ЧСА и ЛПНП.

Для выполнения этой цели были **поставлены следующие задачи:**

1. Методами импульсного фотолиза установить спектрально-кинетические характеристики триплетных состояний тетрапиррольных, бискарбоцианиновых и кетоцианиновых красителей в органических растворителях и в комплексах с ЧСА.
2. Методами спектрофотометрии и спектрофлуориметрии охарактеризовать комплексообразование красителей с молекулами ЧСА и ЛПНП.
3. Установить влияние структуры молекулы тетрапиррольных красителей на фотохимические процессы в органических растворителях.
4. Определить влияние молекулярного окружения на роль различных путей деактивации возбужденных состояний молекул кетоцианиновых красителей.
5. Установить спектрально-кинетические характеристики продуктов процесса фотопереноса электрона с участием бискарбоцианиновых красителей в модельной системе с донором электрона.

Объектом исследования были выбраны тетрапиррольные, бискарбоцианиновые и кетоцианиновые красители и их комплексы с биомакромолекулами.

Предмет исследований: спектрально-кинетические свойства возбужденных синглетных и триплетных состояний красителей классов тетрапирролов, бискарбоцианинов и кетоцианинов и их комплексов с биомакромолекулами.

Научная новизна работы заключается в определении спектрально-кинетических характеристик синглетных и триплетных состояний ряда новых красителей класса тетрапирролов, бискарбоцианинов и кетоцианиновых красителей и их комплексов БММ. Охарактеризованы процессы переноса энергии и электрона с участием триплетных состояний данных веществ. Определены константы комплексообразования исследуемых веществ с молекулами ЧСА и ЛПНП. Установлены зависимости строения фотоактивных молекул и путей деактивации возбужденных состояний.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что впервые были установлены спектральные и кинетические характеристики возбужденных состояний новых красителей тетрапиррольного, бискарбоцианинового и кетоцианинового классов. Были получены константы комплексообразования красителей с ЧСА и ЛПНП. Определена эффективность образования синглетного кислорода тетрапиррольными красителями. Установлен фотоперенос электрона с участием триплетного состояния бискарбоцианинового красителя в модельной системе с донором электрона и установлены спектрально-кинетические характеристики анион-радикала красителя. Показано увеличение эффективности образования синглетного кислорода кетоцианиновым красителем при введении метакрилатных заместителей.

Положения, выносимые на защиту:

1. Введение карборановых заместителей в тетрапиррольные красители позволяет сохранить флуоресцентные и фотосенсибилизирующие характеристики ($\Phi_{\Delta} > 0,5$) красителей.
2. Исследованные тетрапиррольные и бискарбоцианиновые красители образуют комплексы с молекулами ЧСА и ЛПНП с константой связывания $K_b \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$. В процессе комплексообразования наблюдается усиление

флуоресценции, как результат увеличения жесткости молекулярной структуры красителя при встраивании в макромолекулу альбумина.

3. Бискарбоцианиновые красители вступают в реакцию фотопереноса электрона в системе с донором электрона (аскорбиновая кислота). В результате переноса электрона образуется анион-радикал красителя, который гибнет в процессе рекомбинации с константой скорости $2k = 1-2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$.
4. Новое метакрилатное производное на основе бис-бензилиденциклопентанона демонстрирует повышенную генерацию синглетного кислорода и радикальных интермедиатов по сравнению с исходной незамещенной молекулой красителя. Новое производное является более перспективным ФИ для использования в аддитивных технологиях по сравнению с исходной молекулой.
5. Исследованные карборанилтетрапиррольные красители демонстрируют цитотоксическое действие на опухолевые клетки НСТ116 *in vitro*.

Методология и методы исследования. В данной работе использованы различные спектральные методы, такие как спектрофотометрия, флуориметрия, спектрофлуорометрия высокого временного разрешения, импульсный и лазерный фотолиз.

Личный вклад автора. Автор принимал участие во всех этапах исследования, от постановки цели и задач исследования и постановки эксперимента до публикации результатов проделанной работы. Диссертант выполнил весь объем физико-химических исследований, занимался обработкой массива полученных данных. Работы с клеточными культурами выполнялись совместно с сотрудниками ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН А.В. Шибасовой и А.А. Марковой. Полученные результаты представлялись диссертантом на конференциях.

Степень достоверности полученных результатов. В работе широко использовались современные методы физико-химических исследований: спектрофотометрия, времяразрешенная флуориметрия в режиме счета единичных фотонов, флуоресцентная спектроскопия, лазерный и импульсный фотолиз.

Повторность проведения экспериментов и статистическая оценка погрешности полученных результатов обеспечивала достоверность результатов.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы опубликованы в 7 статьях в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК, 3 тезисах докладов на конференциях и симпозиумах. Результаты работы были представлены на: Симпозиуме Современная химическая физика, Туапсе, Россия, 16-25 сентября 2019; Симпозиуме Современная химическая физика, Туапсе, Россия, 24 сентября – 4 октября 2021, Конференция химия, физика, биология: пути интеграции, Москва, 20–22 апреля 2022 года.

Связь работы с научными программами и проектами. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда по проекту № 18-13-00463 «Механизмы фотохимических процессов в комплексах полиметиновых красителей с двумя сопряженными хромофорами и белков».

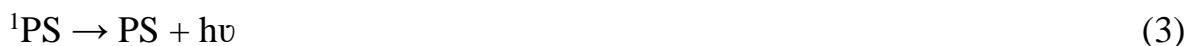
Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, и списка литературы, включающего 249 источников. Диссертация изложена на 125 страницах, включает 13 таблиц и 53 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Литературный обзор посвящен описанию принципов действия фотосенсибилизаторов в фотодинамической терапии, рассмотрению фотоактивных молекул класса цианиновых и тетрапиррольных красителей, а также описанию фотоинициирующих систем, в том числе на основе кетоцианиновых фотоинициаторов, применяемых в процессах фотополимеризации и 3D – печати.

1.1 Фотосенсибилизаторы в фотодинамической терапии

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является быстроразвивающимся методом для лечения рака. Это неинвазивный способ лечения, основанный на введении вещества - фотосенсибилизатора (ФС), который накапливается в опухолевых тканях и может возбуждаться источником света определенной длины волны. При фотовозбуждении молекулы ФС она переходит в возбужденное синглетное состояние (Уравнение 1). Оно характеризуется мультиплетностью равной 1, так как при переходе не меняется взаимная ориентация спинов электронов (Рисунок 1). В дальнейшем молекула может испустить фотон и вернуться в основное состояние (Уравнение 3) – этот процесс называется флуоресценция. Другим путем деактивации является внутренняя конверсия в основное состояние (Уравнение 2). Другим безызлучательным переходом при деактивации синглетно-возбужденного состояния является интеркомбинационная конверсия (ИКК). В результате ИКК молекула переходит в возбужденное триплетное состояние (Уравнение 4).



Триплетное состояния – это электронное состояние, которое характеризуется мультиплетностью равной 3 (Рисунок 1).

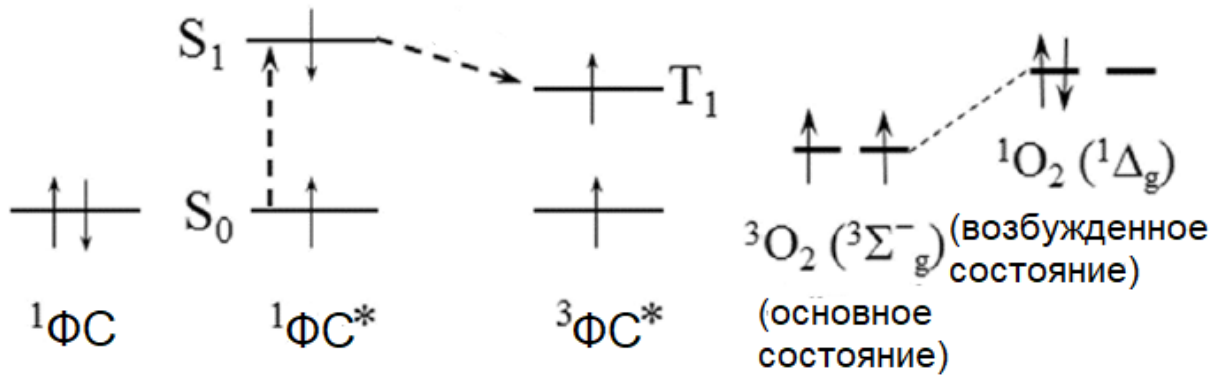
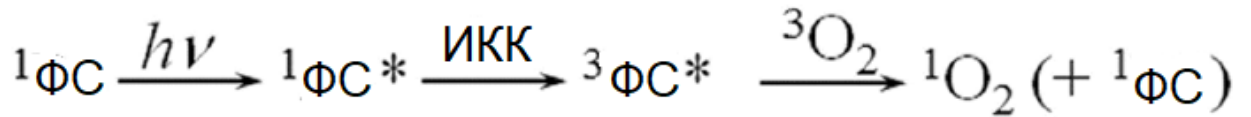


Рисунок 1 – Схематическое изображение электронного строения возбужденных состояний молекулы фотосенсибилизатора

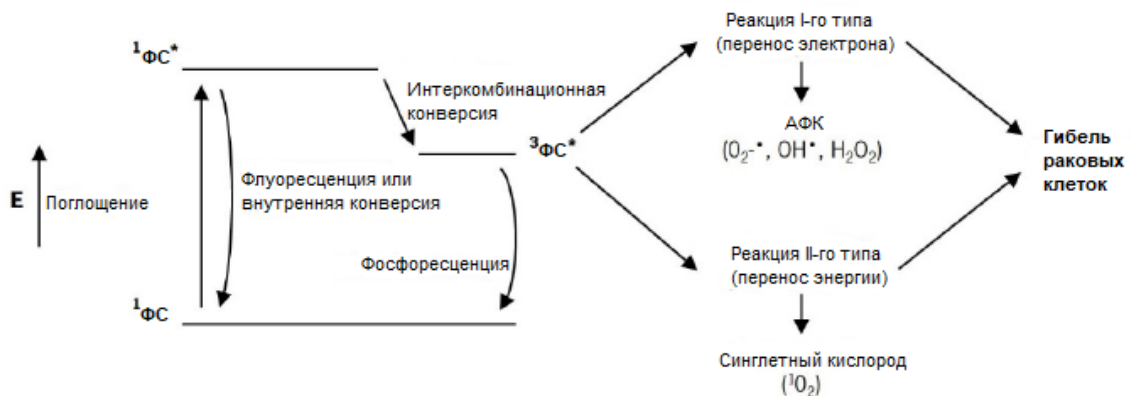


Рисунок 2 – Схематическое изображение диаграммы Яблонского и механизмы действия ФС

Молекула переходят в триплетное состояние в результате фотовозбуждения и в некоторых случаях в результате химических реакций. Диаграмма Яблонского (Рисунок 2), показывает заселение различных электронных состояний молекулы и процессы деактивации этих состояний.

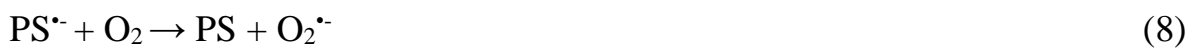
Излучательный переход из триплетного состояния в основное синглетное состояние называется фосфоресценцией (Уравнение 5). Поскольку при данном

переходе происходит изменение мультиплетности электронного состояния молекулы, его можно отнести к интеркомбинационной конверсии.



В дальнейшем триплетное состояние может принимать участие в ряде реакций, которые можно отнести к реакциям по механизму ФДТ типа I и типа II [32]:

Механизм ФДТ по типу I:



Механизм ФДТ по типу II:



Механизм действия фотосенсибилизаторов по типу I включает процессы переноса электрона с участием другого возбужденного триплетного состояния (Уравнение 6) или донора электронов (Уравнение 7). ФС в возбужденном состоянии взаимодействует непосредственно с субстратом, таким как клеточная мембрана или биомолекула, и вступает в реакции с отщеплением атома водорода или переноса электрона с образованием свободных радикалов и ионов-радикалов. Полученный анион радикал молекулы фотосенсибилизатора в дальнейшем вступает в реакцию с молекулярным кислородом с образованием супероксидного радикала (Уравнение 8). В дальнейшем могут образовываться такие АФК как HO^{\bullet} и H_2O_2 вызывающие окислительный стресс, который может привести к гибели клеток. Механизм реакции по II типу включает перенос энергии с триплетного состояния молекулы фотосенсибилизатора на молекулярный кислород с образованием синглетного кислорода (Уравнение 9). Триплетное состояние молекулы фотосенсибилизатора имеет большее время жизни (до десятков микросекунд), что дает достаточно времени для прямой передачи энергии молекулярному кислороду.

Молекула кислорода в основном состоянии является триплетной, то есть неспаренные электроны имеют один и тот же спин. При активации молекулы

кислорода происходит изменение спина возбужденного электрона, что приводит изменению мультиплетности молекулы. Синглетный кислород является сильным окислителем и легко окисляет такие компоненты клетки как липиды, белки и нуклеиновые кислоты. Внутриклеточное распределение синглетного кислорода влияет на терапевтический эффект ФДТ [33]. Время жизни синглетного кислорода в живой, функционирующей клетке составляет 3 мкс [34]. Эффективность образования синглетного кислорода является одной из важнейших характеристик ФС и определяется квантовым выходом и временем жизни его триплетного возбужденного состояния [35].

Второй важный цитотоксичный интермедиат – супероксидный радикал. Эндогенный супероксидный радикал образуется в митохондриях [36-37] и в результате реакции диспропорционирования превращается в перекись водорода (H_2O_2) (Уравнение 10) [38]:



Супероксидный радикал имеет низкую реакционную способность в биологических системах [39], и короткое время жизни [40-41], и деактивируется в реакции диспропорционирования. Для регуляции уровня супероксидного радикала в клетке существуют защитные механизмы, включающие действие супероксид дисмутазы (SOD), и каталазы [41]. Как окислитель супероксидный радикал может вступать в реакцию с ионами металлов, допамином, адреналином и аскорбатом с образованием перекиси водорода [42].

Перекись водорода является нестабильным соединением и достаточно сильным окислителем. Это соединение также может выступать источником более токсичных интермедиатов, таких как гидроксил радикал (OH^{\cdot}), образующихся в реакции Фентона (Уравнение 11):



Именно по этой причине уровень концентрации перекиси водорода регулируются вне- и внутриклеточными ферментами, включая каталазу, глутатион-пероксидазу и пероксиредоксины [39; 43-44].

Гидроксил радикал, генерирующийся в реакции Фентона, является одним из самых реакционноспособных интермедиатов из числа АФК. Он не является селективным и реагирует с высокой константой скорости практически с любой молекулой в клетке (липиды, аминокислоты, нуклеотиды и сахара) [39], [45-47]. Реакционная способность гидроксил радикала настолько высока, что никакой фермент не может использовать его в качестве субстрата, так как это потребовало бы диффузно-контролируемого проникновения к активному участку фермента. Его активность может быть уменьшена удалением перекиси водорода и ионов переходных металлов из клетки. Поскольку времена жизни очень малы (10^{-9} с) [48], гидроксильный радикал нейтрализуется, вступая в реакцию с любыми окисляемыми молекулами, находящимися в пределах его доступа.

Идеальный фотосенсибилизатор в соответствии с [49], обладает следующими свойствами: (а) простой синтез и очистка вещества, (б) высокий квантовый выход синглетного кислорода (Φ_{Δ}), (в) интенсивное поглощение в красной области видимого спектра (650-800 нм), (г) эффективное накопление в опухолях и низкая темновая цитотоксичность, (д) стабильность и растворимость в физиологических жидкостях, (е) быстрое выведение из тела после окончания лечения. Далее будут рассмотрены различные классы красителей как потенциальные фотосенсибилизаторы.

1.2 Тетрапиррольные красители как потенциальные фотосенсибилизаторы

Красители класса тетрапирролов уже нашли применение для лечения некоторых опухолевых заболеваний [5-8]. К преимуществам фотосенсибилизаторов на основе тетрапирролов относят высокие квантовые выходы триплетных состояний и синглетного кислорода, высокая химическая стойкость и легкий синтез. К первому поколению тетрапиррольных ФС относятся порфирин натрия и гематопорфирины. Для увеличения способности поглощать свет в длинноволновой области спектра и увеличения активности в отношении

образования АФК, проводили химическую модификацию ФС первого поколения. Второе поколение ФС представляет собой синтетические соединения, включая модифицированные производные порфиринов, хлоринов, бактериохлоринов и фталоцианинов и другие, конъюгированные с различными молекулами-мишенями. Они обладают увеличенной молярной экстинкцией в видимом и ближнем инфракрасном диапазоне электромагнитного спектра, а также высоким квантовым выходом синглетного кислорода и более предсказуемой зависимостью между дозой препарата и терапевтическим ответом, что позволяет оказывать более эффективное воздействие на опухоль. В настоящее время лучшая стратегия для достижения высокой селективности ФС в отношении определенных участков опухоли заключается в их сочетании с биомолекулами, антителами, белками и углеводами [50-51]. ФС третьего поколения представляют собой ФС инкапсулированные в различных носителях, что повышает их селективность в отношении опухолей. Для создания таких конъюгатов используются наночастицы золота, кремния, квантовые точки, углеродные нанотрубки и другие молекулы [52-53]. Биосовместимые CdSe квантовые точки конъюгированные водорастворимым порфирином были созданы для использования в ФДТ с двухфотонным возбуждением [52]. Было показано что данные конъюгаты при двухфотонном возбуждении способны генерировать синглетный кислород в два раза более эффективно по сравнению с раствором порфирина. Кремневые наночастицы сами по себе не обладают фотосенсибилизирующими свойствами, но они могут использоваться для инкапсуляции фотосенсибилизаторов, поскольку являются химически инертными и оптически прозрачными [52]. Химическую функционализацию кремниевых частиц можно проводить благодаря наличию гидроксильных групп на ее поверхности. Было показано что создание кремниевых наночастиц с мета-тетра(гидроксифенил)-хлорином позволяет повысить эффективность образования синглетного кислорода по сравнению с использованием самого фотосенсибилизатора. Наночастицы кремния модифицированные органическими лигандами могут использоваться для создания конъюгатов с гидрофильными и гидрофобными молекулами, что делает их

перспективными агентами для доставки фотосенсибилизаторов [52]. Было показано, что создание ковалентных конъюгатов наночастиц кремния с молекулами фотосенсибилизаторов позволяют эффективно генерировать синглетный кислород при фотовозбуждении молекул ФС и сохранять спектральные характеристики молекулы ФС. Мезопористые кремниевые наночастицы также подробно исследовались из-за большой площади поверхности, объема пор и химической стабильности [53]. Данные частицы могут быть использованы в качестве нанодоставщика для гидрофобных ФС, таких как фталоцианин цинка, которые подвержены агрегации в водных растворах. Проводили химическую модификацию фталоцианина цинка с помощью полиэтиленгликоля и полиэтиленimina и последующее инкапсулирование ФС в мезопористые кремниевые наночастицы. В клеточных экспериментах было показано увеличение цитотоксичности данной системы благодаря наличию положительно заряженного полиэтиленimina. В дальнейшем проводили модификацию с помощью полиэтиленгликоля для понижения цитотоксичности и увеличения биосовместимости. Введение полученного препарата приводил к накоплению препарата в опухоли и в дальнейшем, к гибели опухоли при освещении красным светом (680 нм). Для повышения эффективности доставки ФС функционализировались с помощью галактозы. Эксперименты по конфокальной микроскопии показали, что ФС функционализированные галактозой демонстрируют лучшее накопление в клетках благодаря опосредованному рецепторами эндоцитозу, что приводит к накоплению наночастиц в эндосомальных и лизосомальных компартментах клеток. В 1995 году было предложено использовать порфирин натрия (Photofrin II) для ФДТ с последующим лазерным облучением в качестве нового метода лечения рака [38]. Опухолевая селективность этого соединения обусловлена его высоким сродством к липопротеинам низкой плотности (ЛПНП). Известно, что в раковых тканях увеличена экспрессия ЛПНП рецепторов, что определяет успех применения Photofrin II в ФДТ [39]. Показано, что ФС локализуется в раковых клетках на мембранах митохондрий, эндоплазматическом ретикулуме и комплексе Гольджи [40]. Облучение порфира

натрия при 630 нм в опухолевых клетках индуцирует образование синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), который приводит к гибели раковой клетки. Позднее, был представлен новый подход к синтезу ФС, который заключался в комбинировании Photofrin II с полиэтиленгликоль-полилизин (L-лизин) (PLL-g-PEG), что позволило усилить локализацию ФС в опухоли [54]. В этом случае фотофрин II прочно связан с PLL-g-PEG посредством ионных и гидрофобных взаимодействий, что обеспечивает его лучшую противораковую эффективность по сравнению с исходным соединением. Поскольку нуклеиновые кислоты и пептиды различаются по структуре, связям, стабильности, растворимости, наличию и расположению функциональных групп, существуют различные синтетические подходы для создания конъюгатов порфиринов с каждым типом биомолекул. Более того, такие конъюгаты имеют различное применение, например, порфирины связанные с ДНК (особенно катионные порфирины), используются для обнаружения специфических вторичных структур нуклеиновых кислот, окрашивания ядер и как противомикробные химиотерапевтические агенты [55]. На данный момент ведется разработка новых поколений ФС с использованием стратегии инкапсулирования ФС в липосомы, мицеллы, металлические каркасы, а также использованием наночастиц в качестве носителей [56]. Основными целями при разработке таких ФС являются снижение неблагоприятного воздействия на здоровые клетки, окружающие опухоль, и улучшение фармакокинетики и опухолеспецифического накопления этих ФС за счет создания биоконъюгатов. Имобилизация различных биомолекул на ФС, может обеспечивать специфическое связывание с опухолевыми клетками, минимизируя токсический эффект на здоровых клетках. Поскольку глубина проникновения света в ткани растет с увеличением длины волны, тетрапирролы с интенсивным поглощением в красной области спектра (хлорины, бактериохлорины и фталоцианины) являются перспективными для создания ФС нового поколения [57]. Хлорин е6 (Ce6) является одним из востребованных соединений в разработке ФС нового поколения за счет малой темновой цитотоксичности и эффективным противоопухолевым действием при облучении. Был получен конъюгат хлорина Ce6 с поли(этиленгликоль)-полимолочной

кислотой (mPEG-PLA-Ce6), который может самособираться с образованием стабильных наночастиц [58]. Наночастицы были охарактеризованы размером, дзета потенциалом, эффективностью генерации синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$). В монослое и трехмерных сфероидах клеток аденокарциномы легкого человека, генерация $^1\text{O}_2$ при воздействии mPEG-PLA-Ce6 был значительно выше, чем для исходного Ce6. Наночастицы показали более высокую эффективность в доставке ФС, что указывает на перспективность данного подхода для осуществления транспортировки ФС [58].

За последние несколько лет большая часть исследований в области ФС второго поколения проведена в направлении модификации и оптимизации порфириновых и родственных им красителей [59]. В дальнейшем возникший интерес к функционализации ФС с помощью молекул-мишеней (антитела, углеводы, аминокислоты, пептиды, инкапсулирующие носители, липосомы, мицеллы и молекул наночастиц) привел к развитию ФС третьего поколения [60]. Благодаря наличию биомолекул, полученные конъюгаты могут обладать повышенной способностью к проникновению и накоплению в клетках. В дальнейшем при облучении красным светом (>600 нм) можно добиваться цитотоксического действия за счет фотоактивации тетрапиррольной части синтезированного конъюгата. Координация усилий в различных областях химии, биомедицины, биотехнологии и биоинженерии могут открыть новые возможности в ФДТ и сделать данный терапевтический подход более перспективным [61].

1.3 Бискарбоцианиновые красители

Бискарбоцианиновые красители представляют собой класс соединений, содержащих две хромофорные системы [62]. В ряде случаев возможно взаимодействие двух хромофорных систем. Для этого кванты света, поглощаемые каждым из хромофоров, должны быть близкими по энергии. Каждый из хромофоров красителя может рассматриваться как диполь. При определенных

значениях угла между взаимодействующими диполями происходит расщепление полос поглощения [62].

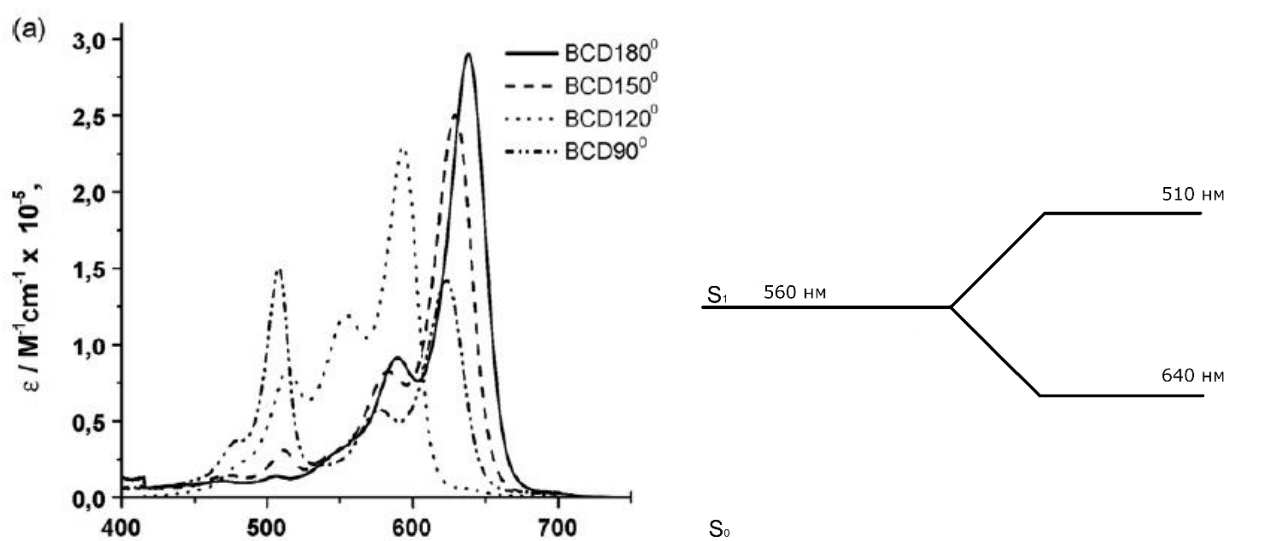


Рисунок 3 – Спектры поглощения ряда бискарбоцианиновых красителей с различными углами между хромофорами в этаноле (слева) [62]. Расщепление синглетного уровня БКЦ, приводящее к появлению двух новых полос поглощения (510 нм и 640 нм) (справа)

Помимо диполь-дипольного взаимодействия на расщепление спектра поглощения также влияет туннелирование электрона через центральный гетероцикл. Строение центрального гетероцикла, с одной стороны, регулирует расстояние между хромофорами, то есть определяет значение диполь-дипольного взаимодействия.

С другой стороны, степень π -конъюгации в центральном гетероцикле определяет вероятность туннелирования электрона [63]. При этом разница в интенсивности между полосами определяется углом, образуемым взаимодействующими хромофорами. Расщепление синглетного (расщепление Давыдова [64]) уровня является результатом как диполь-дипольного взаимодействия хромофоров, так и эффектом туннелирования электрона через центральный гетероцикл. Цианиновые красители с оптическим поглощением в красной и ближней ИК области представляют особый интерес из-за возможного

использования в биомедицинских целях [63]. Однако удлинение цепи хромофора приводит к увеличению гибкости молекулы и уменьшению флуоресценции и ИКК, а также снижению химической и фотохимической стабильности. Бисхромофорные красители – красители в которых два сопряженных хромофора связаны между собой центральным гетероциклом, представляют интерес из-за высоких значений коэффициента молярной экстинкции ($\approx 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) в диапазоне 500-700 нм, относительно высокими значениями квантового выхода триплетных состояний из-за небольшой разницы между синглетным и триплетным уровнями энергии и высоким сродством к биомолекулам [65-66].

В данной работе рассмотрены фотохимические процессы двух бискарбоницианиновых красителей. БКЦ1 и БКЦ2 состоят из центрального бензбистиазольного гетероцикла, соединенного двумя π -сопряженными цепочками с концевыми индолениновыми гетероциклами.

1.4 Биомакромолекулы и их роль в доставке фотоактивных веществ

Среди молекул-доставщиков, присутствующих в кровотоке, можно выделить альбумин и липопротеины низкой плотности (ЛПНП). Альбумины являются доставщиками различных эндогенных и экзогенных лигандов. ЛПНП в свою очередь ответственны за доставку гидрофобных соединений. Раковые опухоли накапливают и метаболизируют большее количество альбумина по сравнению с нормальными, поэтому исследование связывания молекулы фотосенсибилизатора с альбумином представляется важным для оценки эффективности доставки ФС в клетки [67]. Далее представлено более детальное описание данных биомакромолекул и их функций.

1.5 Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА)

Один из наиболее важных факторов, который влияет на распределение лекарственных соединений это их способность связываться с ЧСА. Альбумин

является наиболее распространённым белком в плазме крови человека. ЧСА состоит из полипептидной цепочки из 585 аминокислотных остатков с молекулярной массой 66,4 кДа [68]. В плазме крови присутствует несколько транспортных белков, но только ЧСА способен обратимо связываться с большим разнообразием эндогенных и экзогенных лигандов [69-70]. ЧСА улучшает растворимость гидрофобных лекарств в плазме и доставляет их в специфические ткани и органы или выводит их если они токсичные [71]. Молекула ЧСА обладает экстраординарной способностью связывать маленькие молекулы, выступая в качестве химической «губки» и обеспечивая защиту от свободных радикалов и других вредных химических агентов [72]. Молекула ЧСА состоит из трех гомологичных спиральных доменов, каждый из которых подразделяется на два субдомена (А и В). Эти три домена состоят из 10 антипараллельных спиралей, при этом субдомен А включает 6 спиралей, субдомен В – 4 спирали (Рисунок 4). Белок связывает различные эндогенные лиганды, включая жирные кислоты, билирубин, гемин и тироксин [73], используя различные сайты связывания [74-78]. Многие широко используемые лекарства, такие как варфарин, диазепам, ибупрофен, также связываются с ЧСА, обычно по одному из двух сайтов связывания (1 или 2), которые находятся в субдоменах IА и IВ соответственно [79-82]. В то время как высокая степень связывания с альбумином может быть необходима для солубилизации плохо растворимого лекарства, слишком высокая степень связывания с альбумином (> 95%) приводит к увеличению дозировки препарата для достижения нужных значений концентраций *in vivo* [83-85]. Информация о структурных особенностях взаимодействия ЧСА с различными лигандами стала появляться относительно недавно [86-89]. Большинство исследований связывания лекарств с альбумином, основывались на рассмотрении взаимодействия лиганд-белок. Например, лиганды специфичные к определенным сайтам связывания (I или II) альбумина использовались для определения локализации исследуемого вещества на молекуле альбумина [90-94]. Например, известно, что сайт Судлоу I связывает дикарбоновые кислоты и объемные гетероциклические молекулы с отрицательным зарядом (например, варфарин), тогда как сайт Судлоу II

характеризуется связыванием с ароматическими карбоновыми кислотами с одной карбоксильной группой, разделенной гидрофобным центром (например, diazepam, ибупрофен)[67].

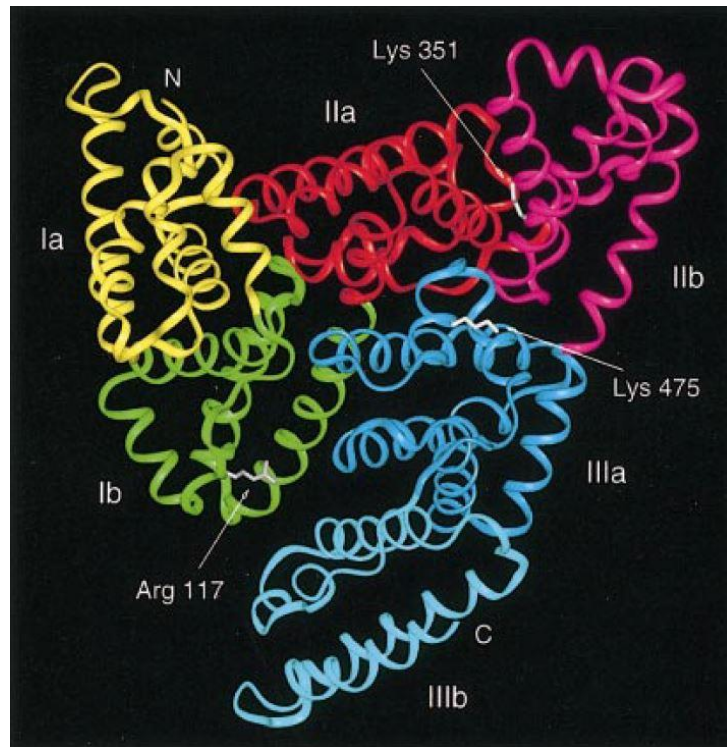


Рисунок 4 – Схематическое изображение молекулы ЧСА [95]. Каждый субдомен отмечен различным цветом (желтый - субдомен Ia, зеленый – Ib, красный – IIa, маджента – IIb, синий – IIIa, циан – IIIb). N- и C-концы отмечены буквами N и C соответственно, Arg117, Lys351 и Lys475, которые могут участвовать в связывании с длинными жирными кислотами, отмечены белым

ЧСА состоит из 35 остатков цистеина, которые формируют 17 дисульфидных мостиков, что позволяет стабилизировать конформацию глобулярной молекулы. ЧСА содержит только один остаток триптофана, который расположен вблизи гидрофобной впадины субдомена IIa [96-97]. По этой причине флуоресценция молекулы триптофана может изменяться при связывании с лигандами по данным сайтам [98]. Альбумин имеет способность накапливаться в воспаленных и злокачественных тканях, что можно использовать для доставки определенных лигандов в терапевтических целях [68].

1.6 Липопротеины низкой плотности (ЛПНП)

Показано что липопротеины низкой плотности (ЛПНП) могут участвовать в доставке молекул холестерина, таких липофильных антиоксидантов как α -токоферол (около 6 молекул на одну частицу ЛПНП), различных каретиноидов, оксикаретиноидов и убихинола -10 [99]. В среднем частицы ЛПНП имеют средний размер около 26 нм, внутренняя часть содержит около 170 молекул триглицеридов и около 1600 молекул эфира холестерина (Рисунок 5). Поверхностный монослой содержит около 700 молекул фосфолипидов и молекулу алипопротеина В100 [99]. Также частица ЛПНП содержит около 600 молекул холестерина, около трети из которых находятся внутри, а 2/3 на поверхности частицы ЛПНП [100]. Основной компонент фосфолипидного слоя это фосфатидил холин (около 450 молекул на частицу ЛПНП), и сфингомиелин (около 185 молекул на частицу ЛПНП). Также частица ЛПНП содержит лизофосфатидилхолин (около 80 молекул на частицу ЛПНП) [99], (около 10 молекул на частицу ЛПНП), Диацилглицерин (около 7 молекул на частицу ЛПНП) [101], керамиды (около 2 молекул на частицу ЛПНП), а также некоторое количество фосфатидилинозитола [102].

Аполипопротеин В-100 является самым большим известным мономерным белком (4536 остатков аминокислот) [104-105]. На поверхности алипопротеина В-100 (apoВ-100) было обнаружено несколько функциональных участков. Участок связывания с ЛПНП-рецептором находится между аминокислотными остатками 3359-3369 [106]. Исследования структуры белка apoВ-100 осложняется огромными размерами молекул и ее отсутствующей растворимостью.

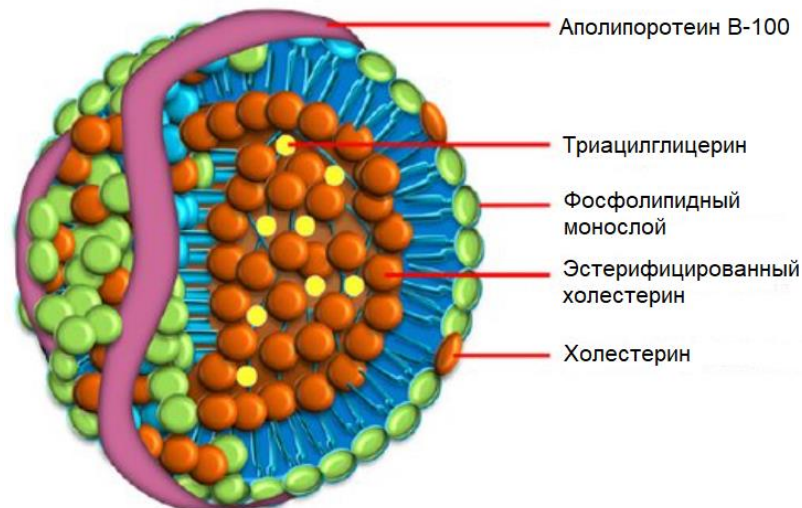


Рисунок 5 – Структура ЛПНП [103]

Предполагается, что повышенная экспрессия ЛПНП - рецепторов неопластическими клетками и включение фотосенсибилизаторов, связанных с ЛПНП, способствуют специфическому накоплению фотосенсибилизаторов в пролиферативных тканях [107-109]. Данная гипотеза подтверждалась экспериментами на моделях опухолей и клетках. Было показано преимущественное накопление комплексов ЛПНП - фотосенсибилизатор в опухоли фибросаркомы у мыши [110]. В тоже время было показано, что устойчивые к ФДТ опухолевые клетки проявляют пониженную активность ЛПНП-рецепторов [111]. При использовании очень гидрофобного фотосенсибилизатора, было установлено повышенное накопление его в клетках, а также чрезвычайно высокие константы связывания с ЛПНП [112]. Путь доставки и накопления в клетке фотосенсибилизатора через ЛПНП-рецептор не всегда является доминантным [113-114]. Способность к локализации в клетке для ряда фотосенсибилизаторов не зависит от средства к ЛПНП [115]. Это указывает на, что могут быть использованы другие механизмы доставки молекул ФС в клетку. Следует отметить, что структура ЛПНП может выступать в качестве субстрата в реакции фотоиндуцированного перекисного окисления, усиливая таким образом цитотоксичность фотосенсибилизатора [116].

1.7 Фотоинициаторы в процессах фотополимеризации и 3D-печати

В настоящее время процессы полимеризации являются одним из наиболее широко используемых в различных областях химической промышленности [117-118]. Один из самых быстро развивающихся способов получения полимеров – полимеризация с помощью света [119-122]. Способы преобразования растворов мономеров в твердые полимеры под действием света определенной длины волны широко развита и используется в производстве красок, не содержащих растворителей [123], лаков [124], клеев [125], в оптоэлектронике [126], в 3D-печати [127-132] и многих других областях. Многочисленные преимущества фотополимеризации, такие как полимеризация при комнатной температуре, отсутствие растворителей и чрезвычайно короткое время проведения процесса сделали фотополимеризацию, идеальным вариантом для биомедицинских применений [133-134].

Процессы фотополимеризации в биомедицинских целях можно разделить на несколько групп, в соответствии с областями применения. Основные сегменты: стоматология [135-138], инженерия тканей [139-144], биоимаджинг [145-146], и системы доставки лекарств [147-150]. В стоматологии фотохимически инициируемые процессы используются для пломбирования полостей твердых тканей зуба, которые заполняются фотоотверждаемыми полимерными композитами [151-154]. Другим применением процессов фотополимеризации является производство полимерных биоматериалов, которые сшиваются с помощью света, особенно основанных на полностью или частично разлагаемых материалах [155-159], а также таких материалов как каркасы для культуры тканей [160-164] и диагностические генетические или клеточные матриксы [165-172].

Учитывая различия в механизмах полимеризации, а также типах используемых мономеров и инициирующих систем, процессы полимеризации подразделяют на радикальную и катионную фотополимеризацию. Радикальная фотополимеризация представляет собой цепную реакцию, состоящую из трех основных стадий: инициация, распространение, рост цепи и обрыв цепи (может

сопровождаться побочными реакциями) [173]. Свободнорадикальная фотополимеризация в основном используется для акрилатных и метакрилатных мономеров. Фактор, который ограничивает применение радикальной фотополимеризации — это ингибирование кислородом, который присутствует в условиях проведения полимеризации. Негативное влияние кислорода на ход процесса полимеризации выражается в тушении возбужденных триплетных состояний молекул фотоинициатора (Уравнение 9), что, в свою очередь, влияет на эффективность всего процесса. В результате переноса энергии с триплетного состояния фотоинициатора на молекулярный кислород образуется синглетный кислород. Для устранения негативных эффектов, связанных с присутствием кислорода, можно использовать различные ловушки синглетного кислорода, которые химически связывают синглетный кислород [174].

Фотоинициаторы (ФИ), играют ключевую роль в процессах фотополимеризации [175-177]. Системы, используемые для инициирования процесса полимеризации, не только определяют механизм реакции, но и влияют на ее ход, скорость, и конечные свойства полимера, такие как твердость и вязкость. Выбор фотоинициатора влияет на достижение правильной скорости реакции фотополимеризации и желаемых свойств полимера (длина цепи, степень сшивки). Основными параметрами, определяющими выбор фотоинициатора, являются максимальная длина волны поглощения λ_{\max} и молярный коэффициент экстинкции ϵ . Эффективность фотоинициатора напрямую связана с его структурой, которая влияет на диапазон поглощения и квантовую эффективность фотохимических и фотофизических процессов возбужденных состояний [178]. Независимо от типа и механизма инициирования ФИ должен обладать следующими свойствами:

- 1) Совместимость между спектром поглощения молекул ФИ и спектральными характеристиками источника излучения
- 2) Высокий квантовый выход триплетного состояния ФИ
- 3) Хорошая растворимость в растворе мономера
- 4) Отсутствие цитотоксичности (для биомедицинских применений)
- 5) Не должен окрашивать конечный полимер

б) Термическая стабильность и долговечность

Другие факторы, которые необходимо учитывать при проведении реакции фотополимеризации, это строение и физико-химические свойства мономеров, ингибирование кислорода (в случае радикальной полимеризации), влияние стабилизаторов или других добавок, присутствующих в мономерах, тип и интенсивность источника света, а также вязкость полимеризационной композиции. В случае реакции фотополимеризации *in vivo* особенно важно уменьшить токсичность инициатора, особенно при воздействии света. Свободные радикалы, образующиеся во время инициации, могут реагировать с основными компонентами живых клеток, такими как белки и нуклеиновые кислоты, что может влиять на состояние и жизнеспособность клеток.

Свободнорадикальная фотополимеризация является примером классической фотохимической цепной реакции, состоящей из трех основных стадий: инициирование, рост и обрыв цепи, что приводит к образованию олигомеров или полимеров [179-180]. В зависимости от структуры радикального фотоинициатора свободные радикалы могут образовываться в процессе гомолитической фотодиссоциации молекулы фотоинициатора. Такие фотоинициаторы относятся к типу I. В эту группу ФИ входят пероксиды, перэфирсы, иминосульфоны или кетоны, где фоторасщепление проводят путем разрыва связи, например, O-O, S-S, S-N или C-C по α или β – атому углерода в карбонильной группе [181]. В случае фотоинициаторов II типа возбужденная молекула ФИ реагирует с соответствующим соинициатором, таким как донор или акцептор электронов, или донор атомов водорода для получения соответствующих радикалов или ион-радикалов [182]. Процесс фотоинициации с использованием инициаторов типа I или типа II представлен на Рисунке 6 и Рисунке 7. Фотоинициация по типу I протекает с участием одной молекулы, тогда как фотоинициация по типу II включает взаимодействие двух молекул. Второй тип обычно более медленный и менее эффективный из-за наличия конкурентных процессов, включающих взаимодействия с мономером, соинициатором и кислородом воздуха. Энергия фотонов в видимом диапазоне электромагнитного спектра обычно меньше, чем

энергия диссоциации отдельных связей органических соединений. Поэтому достаточно сложно получить высокоэффективный инициатор первого типа, работающий в видимом диапазоне. Из-за этой особенности часто используют системы II-типа.

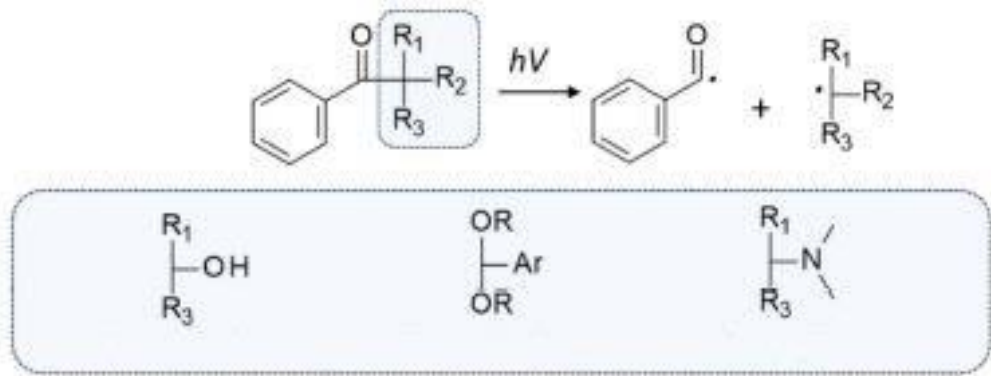


Рисунок 6 – Схема фотоинициации с ФИ типа I [212]

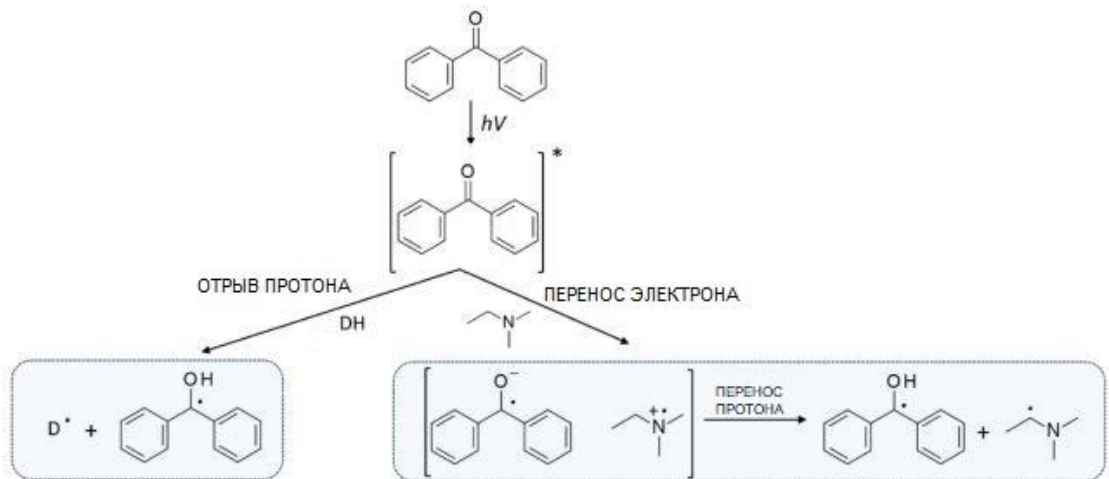


Рисунок 7 – Схема фотоинициации с ФИ типа II [212]

В настоящее время разработанные многокомпонентные системы фотоинициации, основанные на переносе электрона, и системы, основанные на отрыве атома водорода, являются перспективными для использования в аддитивных технологиях. Реакция переноса электрона основана на взаимодействии донора или акцептора электрона в возбужденном состоянии со вторым компонентом (акцептором электрона или донором соответственно) в основном

состоянии. Возбужденная молекула фотосенсибилизатора в полирадикальных системах, может выполнять двойную роль:

- 1) В случае, где ФИ выступает как донор электрона, перенос электрона на молекулу соинициатора приводит к образованию катион-радикала молекулы ФИ и анион-радикала молекулы соинициатора
- 2) В случае, где ФИ выступает как акцептор электрона, в результате фотопереноса электрона он восстанавливается с образованием анион радикала ФИ и катион радикала соинициатора

Двухфотонная полимеризация является мощным инструментом для создания различных 3D-матриц с микро- и нано-разрешением. Процесс полимеризации характеризуется большой глубиной проникновения и высокой пространственной селективностью. В этом случае можно использовать живые клетки для создания трехмерных структур благодаря использованию низкоэнергетических фотонов, которые безопасны для клеток [183-184]. ФИ должны быть чувствительны к поглощению, так как во время инициации они поглощают два фотона из ближней инфракрасной области. Кроме того, они характеризуются сопряженными системами и наличием донорно-акцепторных групп [185]. Процесс инициации происходит, предположительно после поглощения двух фотонов происходит внутримолекулярный перенос электрона от донорной группы на π - сопряженную систему. Далее перенос электрона на молекулу мономера приводит к образованию экзиплекса и радикалов, иницирующей полимеризацию [186] (Рисунок 8):

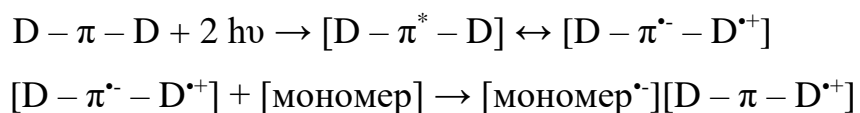


Рисунок 8 – Схема инициации полимеризации для двухфотонных ФИ

1.8 Фотоинициаторы на основе α,α' -бис (замещенных бензилиден)кетонов

Среди фотоинициаторов второго типа можно выделить класс α,α' -бис (замещенных бензилиден)кетонов. Они представляют собой систему D- π -A- π -D, где донорные (D) и акцепторные (A) группы соединены π -сопряженной цепочкой. За счет особенностей строения в молекуле наблюдается внутримолекулярный перенос заряда. Данные фотоинициаторы могут использоваться в качестве единственной составляющей в фотоиницирующих системах. В работе исследованы фотохимические процессы производных двух бисбенилиден циклопентанонов и их роль в процессах фотополимеризации.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Вещества и реактивы

Для исследования фотохимических свойств использовались карборанилпорфирины и карборанилхлорины, синтезированные в лаборатории тонкого органического синтеза ФГБУН ИНЭОС РАН (г. Москва). В качестве исходных соединений использовались 5,10,15,20-тетрафенилпорфирин или 5,10,15,20-тетракис(пентафторфенил)порфирин. Для получения конъюгатов использовали модифицированные β – аминзамещенные мезо-арилпорфирины, и различные меркаптокарбораны. Модификация β -аминогруппы порфиринов осуществлялась с помощью ацилирования с малеиновым ангидридом и последующей термической циклизацией. Полученный в β положении малеимидный цикл легко вступает в реакцию по ненасыщенной связи с такими S-нуклеофилами как меркаптокарбораны (реакция Михаэля). Целевое соединение выделялось методом колоночной хроматографии на силикагеле, в качестве элюента использовался дихлорметан (Рисунок 9).

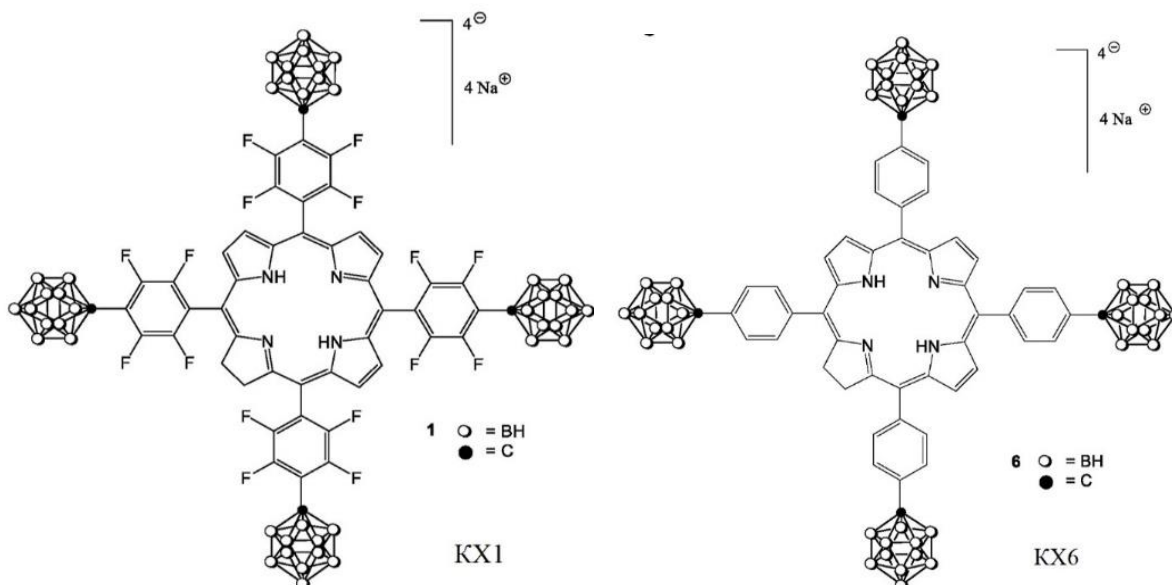


Рисунок 9 – Структурная формула красителей KX1 и KX6

Другим путем синтеза карборанилпорфиринов является создание конъюгатов с использованием реакции азид-алкильного присоединения. Исходные соединения 5,10,15,20-тетракис(пентафторфенил)порфирин или 5,10,15,20-тетракис(4-гидроксифенил)порфирин модифицировались с помощью введения в координационный центр молекулы таких металлов как Pd и Zn. В дальнейшем проводили введение пропаргильного остатка по *para* – положению фенильного или пентафторфенильного заместителя. После чего полученное пропаргильное производное порфирина вступало в реакцию циклоприсоединения с азидометилкарбораном с образованием триазольного гетероцикла. Выделение целевого вещества осуществлялось методами колоночной хроматографии. В качестве сорбента использовался силикагель, в качестве элюента - смесь хлороформа и метанола. В результате были синтезированы красители КП32, КП34 (Рисунок 10).

Получение карборанилхлоринов проводили в три стадии с использованием 5,10,15,20-тетракис(4-гидроксифенил)порфирина в качестве исходного вещества. На первой стадии проводили присоединение карборанового фрагмента по *para* положению пентафторфенильных заместителей. В дальнейшем проводили восстановление порфиринового гетероцикла в хлориновый с помощью *n*-толуолсульфонилгидразина. В дальнейшем проводили замещение катионов цезия на катионы натрия с помощью ионообменной смолы DOWEX. Для получения аналогичного соединения не содержащего атомы фтора в пентафторфенильных заместителях использовали цинковую соль 5,10,15,20-тетракис(4-иодифенил)порфирина, который реагировал с медным производным карборана и последующим восстановлением в хлорин с помощью *n*-толуолсульфонилгидразина. При необходимости проводили удаление атома цинка из молекулы для получения безметального производного. В результате были синтезированы красители КП8, КП9, КП10 (Рисунок 10).

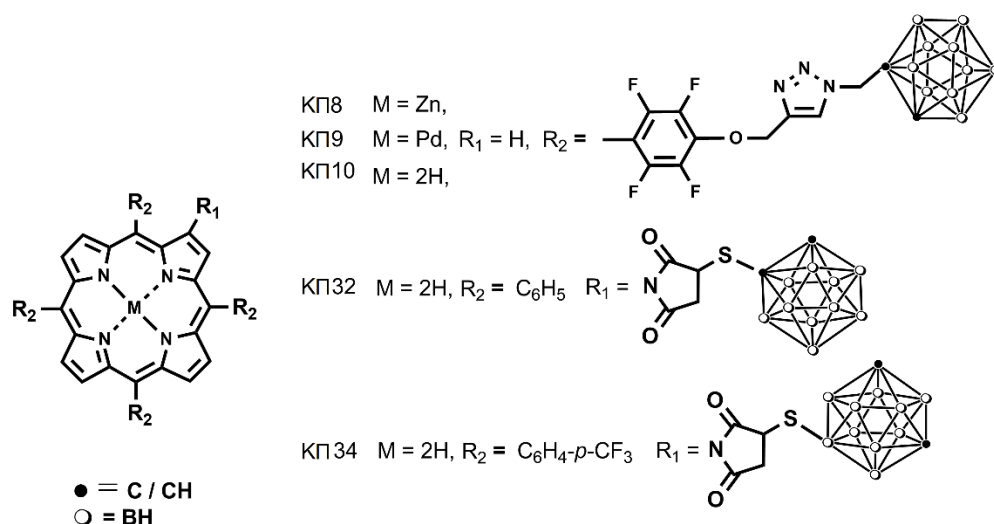


Рисунок 10 – Структурные формулы красителей КП8, КП9, КП10, КП32, КП34

Бискарбоцианиновые красители БКЦ1 и БКЦ2, синтезированные Михайленко Ф. А. в ИОХ НАН, были любезно предоставлены Шапиро Б. И. из коллекции красителей ГОСНИИХИМФОТОПРОЕКТ (Рисунок 11 и Рисунок 12).

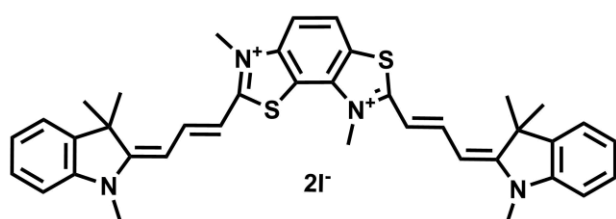


Рисунок 11 – Структурная формула красителя БКЦ1



Рисунок 12 – Структурная формула красителя БКЦ2

Кетоцианиновые красители КЦ1 и КЦ2 синтезированы в лаборатории фотополимеризации и полимерных материалов ФГБУН ИМХ РАН (г. Нижний Новгород). Проводили реакцию между (4-Формилфенил)азандиил)бис(этан-2,1-диил) дибензоатом и циклопентаном с образованием конъюгата - (2E,5E)-2,5-

бис(4-(бис(2-гидроксиэтил)амино)бензилиден) циклопентанона. В дальнейшем последний реагировал с метакрилоил хлоридом с образованием (((1E,1'E)-(2-оксоциклопентан-1,3-диилиден) бис(метанилиден)) бис(4,1-фенилен))бис(азантриил))тетракис(этан-2,1-диил)тетракис(2-метилакрилат) (КЦ2) (Рисунок 13).

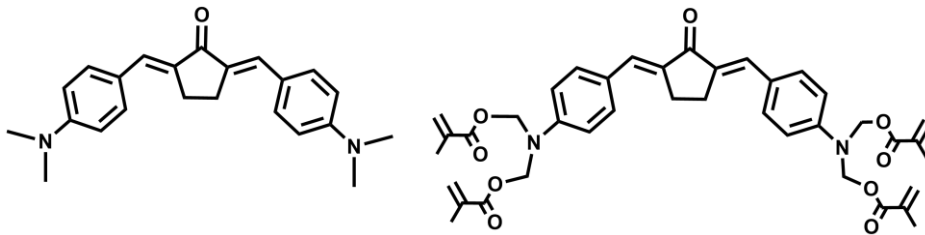


Рисунок 13 – Структурная формула красителей КЦ1 (слева) и КЦ2 (справа)

Использованные в работе альбумины: бычий сывороточный альбумин (БСА) (Sigma-Aldrich, Germany), человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) (Пан-Эко, Россия).

Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) (Sigma, Германия).

Все растворители, использованные в работе, соответствовали категории чистоты «для спектроскопии» (Компонент-Реактив, Россия).

Использованные натрия хлорид, натрия гидроксид, натрия дигидрофосфат, натрия гидрофосфат (Sigma-Aldrich, Германия), тетрафенилпорфирин (Sigma-Aldrich, Германия), аскорбиновая кислота (Компонент-Реактив, Россия), 4-гидрокси-ТЕМПО (Sigma-Aldrich, Германия).

2.2 Абсорбционная спектроскопия

Спектры УФ-видимого поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-3101 PC в диапазоне длин волн от 300 до 800 нм в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см при комнатной температуре.

2.3 Люминесцентная спектроскопия

Измерения спектров флуоресценции и эксперименты по регистрации люминесценции синглетного кислорода проводили с помощью спектрофлуориметра FluoTime 300 (PicoQuant GmbH, Германия). Для регистрации кинетики гибели флуоресценции веществ использовали метод коррелированного по времени счета единичных фотонов (TCSPC). Функция отклика прибора (IRF) была получена с использованием светорассеивающей среды (LUDOX). В качестве источника возбуждения использовался лазер/ксеноновая лампа. Для регистрации люминесценции в диапазоне до 900 нм использовался фотоумножитель HCP 14-3500 NEG (FuG Electronic GmbH, Германия). Для экспериментов по определению квантового выхода флуоресценции использовали растворы соединений с равными значениями оптической плотности ($OD = 0,05$ на 1 см) на длине волны возбуждения. Квантовый выход флуоресценции рассчитывался согласно [187] по Уравнению 12:

$$Q = Q_r \times (I \times OD_r \times n^2 / I_r \times OD \times n_r^2) \quad (12)$$

где Q — квантовый выход, I — площадь под спектром флуоресценции, OD — оптическая плотность, n — показатель преломления растворителя. Индекс r относится к стандарту (стандарт — тетрафенилпорфирин) [187].

Для регистрации люминесценции синглетного кислорода использовали фотоумножитель H10300A-45 (Hamamatsu, Япония). Квантовый выход синглетного кислорода рассчитывался по Уравнению 13:

$$\Phi_{\Delta_s} = (A_r \times I_{\Delta_s} \times n_s^2 / A_s \times I_{\Delta_r} \times n_r^2) \times \Phi_{\Delta_r} \quad (13)$$

где A_s и A_r представляют собой значения оптической плотности, а I_{Δ_s} и I_{Δ_r} представляют собой интегральные интенсивности излучения синглетного кислорода в области 1230–1330 нм, n — показатель преломления растворителя для образца и стандарта соответственно. Φ_{Δ_r} — квантовый выход синглетного кислорода стандартного образца (стандарт — тетрафенилпорфирин ($\Phi_{\Delta} = 0.6$)) [188].

Измерения времени жизни флуоресценции проводились с помощью пикосекундного коррелированного по времени счета одиночных фотонов (TCSPC)

и импульсного лазерного источника света. Расчет кинетики процесса флуоресценции проводили в программе FluoFit, используя Уравнение 14:

$$I = \sum A_i \exp(-t/\tau_i) \quad (14)$$

где A_i – амплитуда, τ_i – время жизни i -компоненты, n – количество компонент.

Определение насколько предложенная кинетическая модель соответствует экспериментальному результату проводили с помощью показателя χ^2 , значения которого приближенные к 1,0 указывают на корректную кинетическую модель.

Для расчета доли связывания исследуемых красителей с такими биомакромолекулами как ЧСА и ЛПНП (отмечены как ВЮ) использовалось Уравнение 15:

$$\theta = \frac{K_b[BIO]}{1+K_b[BIO]} \quad (15)$$

где, $[BIO]$ – концентрация биомакромолекулы, $\theta = (F_i - F_0)/(F - F_0)$ – доля красителя, с связанного с биомакромолекулами, F_0 , F_i и F – интенсивность флуоресценции красителя при $C(BIO) = 0$, при промежуточной концентрации биомакромолекулы и при концентрации, соответствующей полному связыванию с красителем.

В случае если связывание с биомакромолекулами регистрировалось по спектрам поглощения, то для расчета константы связывания использовали Уравнение 16:

$$A = \frac{A_{max} \times [HSA]}{K_d + [1 + HSA]} \quad (16)$$

где, A , A_{max} – величина поглощения красителя при различных концентрациях биомакромолекул, и при максимальной концентрации, соответствующей полному связыванию с красителем, соответственно, K_d – константа диссоциации, которая равна $1/K_b$, где K_b – константа связывания.

2.4 Импульсный фотолиз

Для исследования спектрально-кинетических характеристик триплетных состояний и других интермедиатов использовался метод импульсного фотолиза. Подробное описание метода указано в работе [189]. На Рисунке 14 приведена принципиальная схема установки импульсного фотолиза.

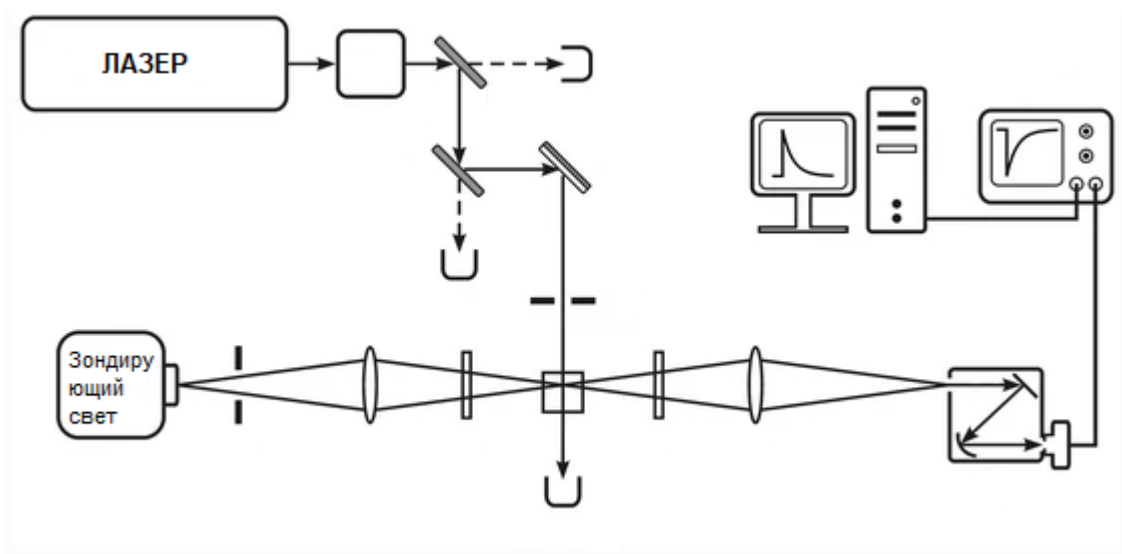


Рисунок 14 – Принципиальная схема установки лазерного импульсного фотолиза [189]

В типичном эксперименте сфокусированный луч света от зондирующей лампы лампы проходит через кювету с раствором вещества, далее попадает в монохроматор и на фотоумножитель/фотодиод. Осциллограф подключен к фотоумножителю/фотодиоду в режиме регистрации изменения напряжения на последнем. В дальнейшем данные с осциллографа обрабатываются с помощью специального программного обеспечения на персональном компьютере. С помощью импульсного источника света, в качестве которого может выступать лазер или ксеноновая лампа проводят фотовозбуждение раствора вещества в направлении перпендикулярном лучу зондирующей лампы. После вспышки в результате образования новых интермедиатов, происходит изменение оптической плотности на длинах волн поглощения вещества и образованных интермедиатов.

Изменение интенсивности проходящего через образец света приводит к изменению напряжения на фотоумножителе, что регистрируется на осциллографе.

В данной работе использовалась установка лазерного фотолиза LKS80 (Applied Photophysics, Великобритания). Для возбуждения использовалась третья гармоника Nd-YAG лазера (Quantel, Франция). Для настройки длины волны возбуждения в диапазоне 410-700 нм использовалась система нелинейных кристаллов MagicPrism (ОРОТЕК Inc., США). В качестве зондирующей лампы использовалась ксеноновая лампа. Регистрация проводилась с помощью фотоумножителя P928 (Hamamatsu, Япония) и осциллографа Agilent Infiniium 10 GS/s (Agilent, США). Обработка кинетических данных проводилась соответствующем программном обеспечении согласно Уравнению 17:

$$\Delta A_{\lambda} = \sum \Delta A_{\lambda i} \exp(-t/\tau_i) \quad (17)$$

где, где ΔA_{λ} — общее изменение поглощения на длине волны регистрации, $\Delta A_{\lambda i}$ - изменение поглощения i -й компоненты на длине волны регистрации, τ_i — время жизни i -й компоненты. Точность определения кинетических параметров — 15%.

В установке лампового импульсного фотолиза в качестве импульсного источника света использовалась ксеноновая лампа (ИПФ-5000) с мощностью вспышки 80 Дж и длительностью 50 мкс. В зависимости от спектра поглощения образца осуществлялся подбор стеклянных светофильтров, которые устанавливались между импульсной лампой и кюветой с раствором образца. Благодаря светофильтрам можно вырезать нужную часть электромагнитного спектра, соответствующую тем или иным полосам поглощения вещества. Для регистрации изменения поглощения использовался фотоумножитель ФЭУ-38 (ООО «МЭЛЗ», Москва, Россия), подключенный к цифровому осциллографу Bordo 210 (Аурус, Беларусь). Полученные данные записывались в программе «Осциллограф цифровой v. 2.1.0» (Аурус, Беларусь) и в дальнейшем переносились в программу Microsoft Excel 2021. Обработка кинетических данных производилась согласно Уравнению 17.

В качестве кюветы использовалась кварцевая кювета с длиной оптического пути 20 см. Вакумирование раствора в кювете осуществлялась с помощью масляного вакуумного насоса, оборудованного вакуумметром. Необходимость удаления кислорода из раствора вещества обусловлена тушением триплетных состояний вещества молекулярным кислородом.

2.5 Конфокальная микроскопия

Конфокальная микроскопия, метод запатентованный Марвином Мински в 1955 году, использует оптическую визуализацию для создания виртуального среза или плоскости глубиной в несколько микрометров, внутри исследуемого образца. Данный метод позволяет получить очень высокое качество изображения с мелкой детализацией и большой контрастностью, по сравнению с обычной микроскопией. Кроме того, путем комбинирования изображения различных слоев, можно получить трехмерное (3-D) виртуальное изображение всего образца [190]. При обычной микроскопии образец помещают на предметный столик микроскопа и все поле образца одновременно освещается светом и визуализируется. Самая высокая интенсивность света находится в фокусе объектива микроскопа, однако подсветка других частей образца также присутствует, что приводит к фоновому «шуму», который ухудшает качество изображения. Как обычная, так и конфокальная микроскопия может использовать отраженный свет или флуоресценцию для получения изображения образца. Однако при конфокальной микроскопии луч входящего света (пучок возбуждения) фокусируется через объектив микроскопа на маленькое пятно внутри образца, которое может быть почти такого же малого диаметра, как длина волны самого света — около 0,5 мкм. Тот же объектив собирает отраженный свет или флуоресценцию, идущую от образца, но в отличие от обычной световой микроскопии этот свет проецируется, а не просматривается напрямую. В обычной световой микроскопии, при небольшом освещении части образца, наблюдается ухудшение качества получаемого изображения за счет рассеянного света. Конфокальная микроскопия решает эту

проблему с помощью небольшой диафрагмы, установленной перед регистратором сигнала. За счет уменьшения отверстия в данной диафрагме возможно обеспечить пропускание света, соответствующего определенной фокальной плоскости. Рассеянный свет, соответствующий другим плоскостям, не пропускается. Для регистрации пропускаемого через диафрагму света используются фотоэлектронный умножитель. Для получения изображения образца, фокальная плоскость сканируется по X-Y координатам, результаты направляются в персональный компьютер, который «собирает» изображение по пикселям. В дальнейшем выбирается другая фокальная плоскость и процесс повторяется. Таким образом на выходе можно получить трехмерное изображение исследуемого образца. В данной работе для получения изображений клеток использовался сканирующий конфокальный микроскоп Leica-TSC SP5.

2.6 Квантово-химические расчеты

Квантово-химические расчеты красителя КЦ2 осуществлялись с помощью программного обеспечения ORCA 4.0.1.2 [191], с использованием графического интерфейса Avogadro v.1.2.0 [192]. Оптимизация геометрии молекулы проводилась методом теории функционала плотности (DFT), с гибридным функционалом B3LYP и базисом 6-31G(d).

2.7 Клеточные эксперименты

Темновая и световая цитотоксичности на опухолевых клетках была охарактеризована с помощью МТТ теста. Условия проведения МТТ теста описаны в [193-195].

С помощью конфокальной микроскопии проводили визуализацию АФК в клетках глиомы крысы С6 использовался дигидрорадамина123 (DHR123). Клетки помещали в чашки Петри со стеклами на 72 часа для распластывания и достижения 50% конфлюэнтности ко дню эксперимента. Далее их инкубировали в течении 4

часов с 5 мкМ раствором красителя. Для определения внутриклеточных АФК, клетки прокрашивались DHR123 в соответствии с рекомендациями производителя. Для определения гибели клеток использовался пропидий йодид или краситель SYTOX™.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Тетрапиррольные красители находят широкое применение в различных областях медицины [196], фотовольтаики [197] и других. Цианиновые красители также являются распространёнными молекулами в таких областях как молекулярная биология [198], аддитивные технологии [199] и другие [200].

3.1 Спектрально-кинетические характеристики карборанилтетрапирролов

Были исследованы фотохимические свойства новых карборанилтетрапирролов КХ1, КХ6, КП8, КП9, КП10, КП32 и КП34, являющихся модифицированными карборанами тетрафенилпорфиринами и мезо-тетраakis(пентафторфенил)порфиринами и их хлориновыми аналогами.

Полученные спектры поглощения соединений карборанилхлоринов КХ1 и КХ6 (Рисунок 15) характерны для тетрапиррольных красителей. В спектре поглощения можно наблюдать интенсивную полосу в области 400-425 нм (полоса *Soret*), и в более длинноволновом диапазоне электромагнитного спектра набор менее интенсивных *Q*-полос.

Введение атомов фтора в фенильные заместители в *мезо* положении приводит к увеличению интенсивности самой длинноволновой полосы поглощения. Также наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг полосы *Soret* и батохромный сдвиг *Q*-полосы (≈ 650 нм) для соединения КХ1. Спектры флуоресценции соединений КХ1 и КХ6 имеют сходный характер (Рисунок 16) с максимумами поглощения 658 нм для КХ1 и 654 нм для КХ6

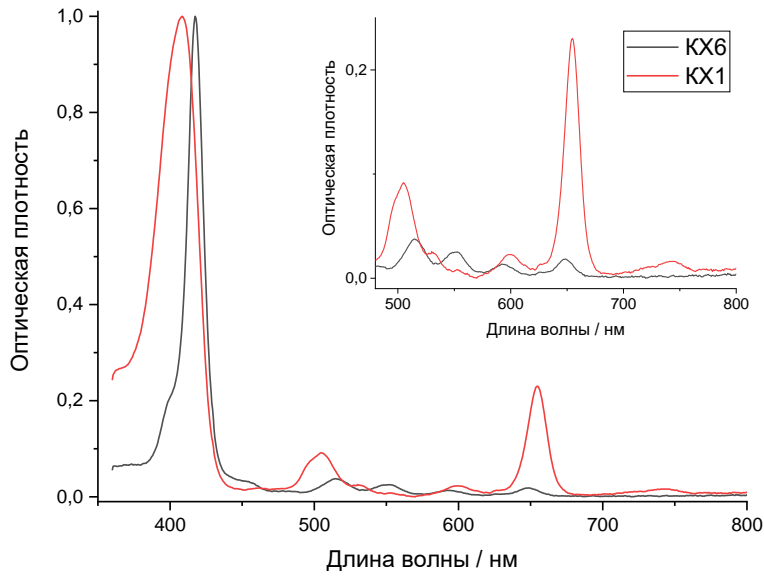


Рисунок 15 – Спектры поглощения карборанилхлоринов (KX1 и KX6) в этаноле

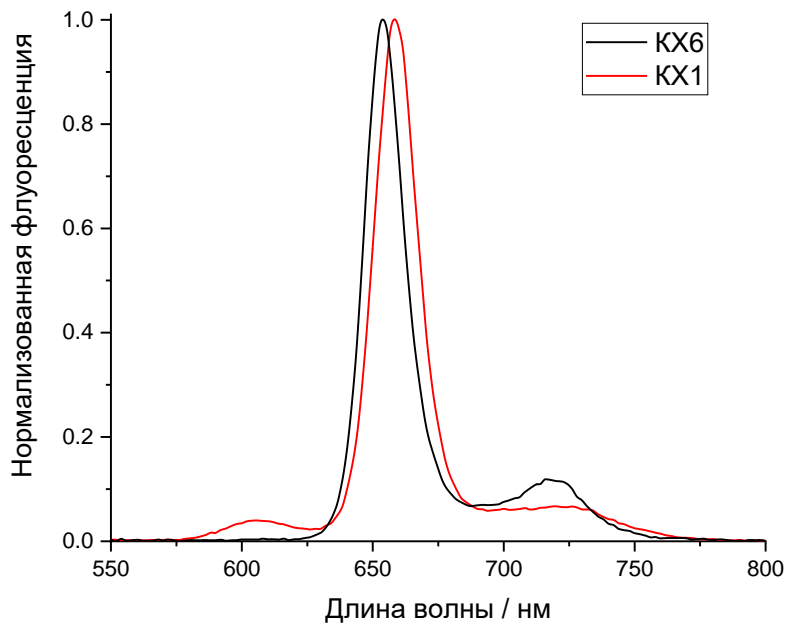


Рисунок 16 – Спектры флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 515 \text{ нм}$) карборанилхлоринов (KX1 и KX6) в этаноле

Положение максимумов полос поглощения красителей в этаноле и соответствующие им значения молекулярной экстинкции приведены в Таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики спектров поглощения соединений КХ1 и КХ6 в этаноле

Краситель	$\lambda_{\text{макс}}, \text{нм} / \varepsilon \times 10^{-3}, \text{M}^{-1} \text{см}^{-1}$				
	Полоса Соре	Q - полосы			
КХ1	410 (304,6)	506(27,3)	532(11,6)	598(12,2)	653(72,3)
КХ6	418 (319,6)	514(20,1)	550(16,2)	592(12,2)	648(13,7)

Для молекул, которые могут рассматриваться как потенциальные фотосенсибилизаторы важно иметь достаточно интенсивные полосы поглощения в красной – ближней ИК области. Это связано с так называемым терапевтическим окном (650 – 800 нм) – диапазоном спектра в котором поглощение биологических тканей снижено, в то время как глубина проникновения возбуждающего света увеличена [201].

Была исследована кинетика флуоресценции данных соединений (Рисунок 17). Результаты по временам жизни и квантовому выходу флуоресценции приведены в Таблице 2. Расчет квантового выхода флуоресценции производился с помощью формулы (12). В качестве стандарта для измерения квантового выхода флуоресценции использовался тетрафенилпорфирин ($\Phi_{\text{фл}} = 0,1$) [187].

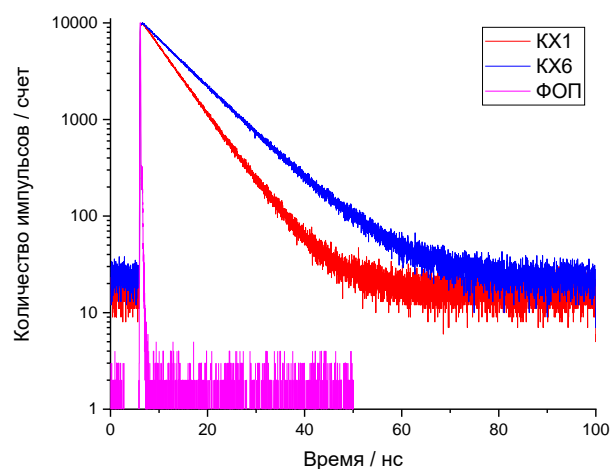


Рисунок 17 – Кинетика гибели флуоресценции соединений КХ1 и КХ6 в ацетонитриле ($\lambda_{\text{возб}} = 514 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{рег}} = 660 \text{ нм}$) и функция отклика прибора (ФОП)

Кинетика гибели флуоресценции данных соединений в ацетонитриле моноэкспоненциальна. Полученные значения квантового выхода флуоресценции близки к таковым для тетрафенилпорфирина [187].

Таблица 2 – Времена жизни и квантовый выход флуоресценции соединений КХ1 и КХ6. Растворитель – ацетонитрил

	τ / нс	$\Phi_{\text{фл}}$
КХ1	6,1	0,17
КХ6	8,9	0,12

Полученные данные по флуоресценции карборанилхлоринов, указывают на то, что введение 4-х карборановых заместителей не оказывает заметного влияния на флуоресцентные характеристики молекулы [202-203].

Были исследованы фотохимические свойства серии новых карборанилпорфиринов, функционализированных β -малеимидной группой, полученных путем ацилирования β -аминогруппы порфиринов с помощью малеинового ангидрида с последующей конденсацией моноамидов малеиновой кислоты. Была продемонстрирована селективная реакционная способность полученных порфиринов по отношению к тиолам, таким как 1-меркапто-*o*-карборан или 9-меркапто-*m*-карборан. В результате реакции нуклеофильного присоединения меркаптокарборанов был получен ряд новых карборанилпорфиринов КП32 и КП34. Были получены спектрально-кинетические характеристики данных соединений.

Спектры поглощения (Рисунок 18), соединений КП32 и КП34 имеют полосы поглощения характерные для безметалльных порфиринов с интенсивной полосой Soret около 420 нм и четырьмя Q - полосами меньшей интенсивности в более длинноволновой области. Основная Q полоса для всех соединений расположена при 516 нм.

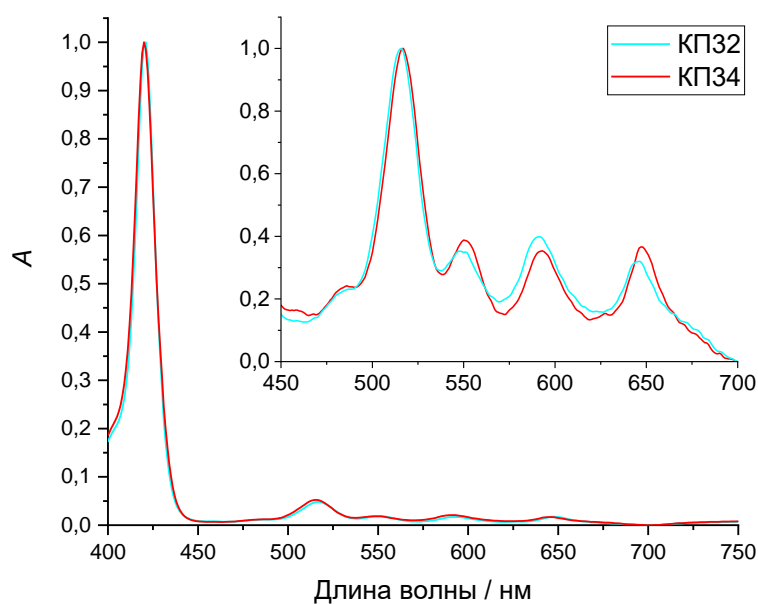


Рисунок 18 – Спектры поглощения и флуоресценции исследуемых порфиринов в ДМСО

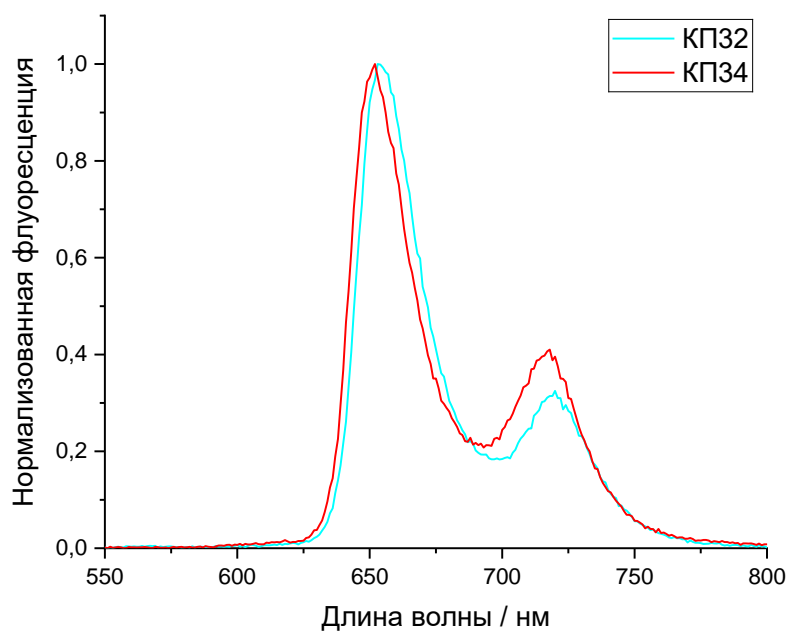


Рисунок 19 – Спектры поглощения и флуоресценции исследуемых порфиринов в ДМСО

Таблица 3 – Характеристики спектров поглощения и флуоресценции порфиринов в ДМСО

Соединение	$\lambda_{\text{max}} / \text{нм}$		
	Полоса Соре	Q-полосы	$\lambda_{\text{фл}}$
КП32	421	516,550,593,648	653,718
КП34	420	516,548,592,646	650,715

Введение CF_3 -группы в *пара*-положение мезо-фенильной группы практически не сказывается на спектре поглощения порфиринов, положения максимумов спектров поглощения и флуоресценции (Рисунок 19) показаны в Таблице 3. Все вещества продемонстрировали флуоресценцию, типичную для порфиринов [204-205].

Времена жизни флуоресценции данных порфиринов составляют 8,4 нс для КП32 и 9,1 нс для КП34 (Рисунок 20). Квантовые выходы для всех порфиринов были измерены в ДМСО (стандарт – Родамин 6G) [206]. Значения квантовых выходов флуоресценции лежат в диапазоне 0,03-0,04 для КП34 и КП32.

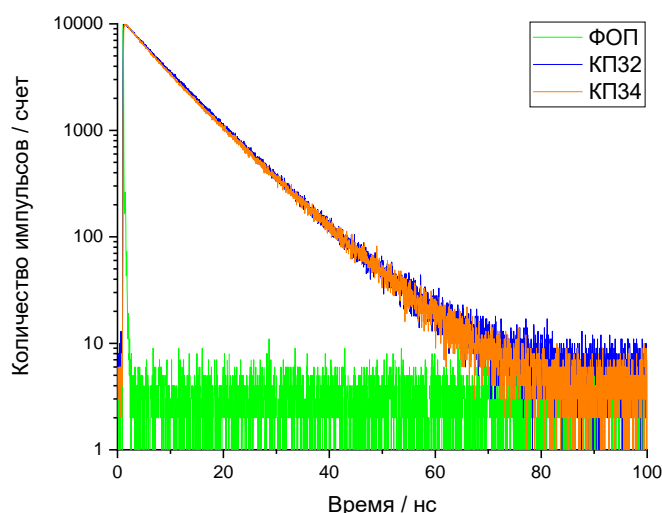


Рисунок 20 – Кинетика гибели флуоресценции исследуемых соединений в ДМСО. Для КП34 возбуждение проводили при 515 нм, регистрацию при 660 нм; для КП32 использовали 507 нм/645 нм. ФОП – функция отклика прибора

Установлено что флуоресценция зависит в основном от внутренней π -электронной системы макрогетероцикла и мало зависит от периферийных заместителей, которые не нарушают планарность молекулы.

Для ряда новых тетрапиррольных красителей на основе 5,10,15,20-тетракис(пентафторфенил)порфирина (КП8, КП9 и КП10), конъюгированных с меркаптокарборанами с образованием триазольного цикла были получены спектрально-кинетические данные фотоактивных молекул.

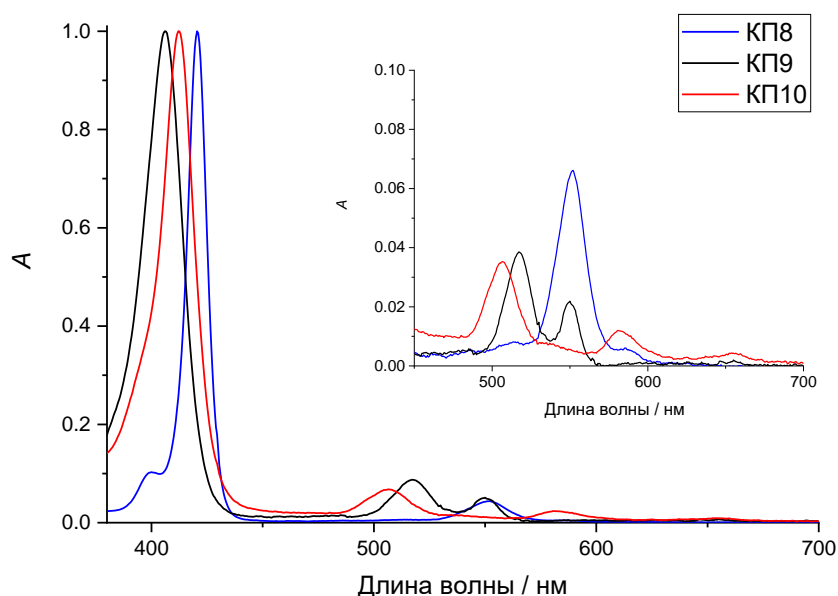


Рисунок 21 – Спектры поглощения соединений КП8, КП9 и КП10 в ацетонитриле.

Спектры поглощения порфиринов обладают характерными полосами поглощения, высокоинтенсивной полосой Core (S-band) в области около 400 нм, а также набором полос меньшей интенсивности (Q-band) в более длинноволновом диапазоне (500-650 нм) (Рисунок 21), (Рисунок 22). Введение цинка или палладия в центр тетрапиррольного фрагмента уменьшает количество Q - полос. В Таблице 4 приведены квантовые выходы и времена жизни флуоресценции данных соединений.

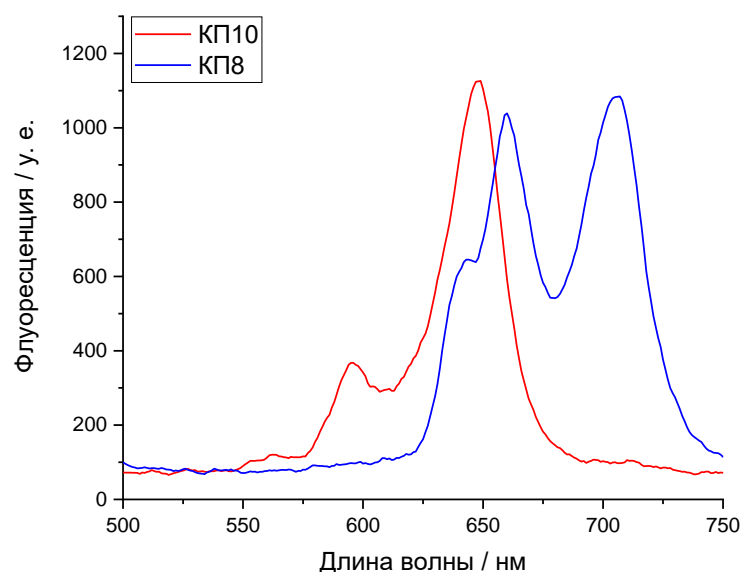


Рисунок 22 – Спектры флуоресценции соединений КП8, КП9 и КП10 в ацетонитриле.

Таблица 4 – Времена жизни флуоресценции и квантовый выход флуоресценции

Соединение	$\lambda_{\text{max}} / \text{нм}$			ϕ_{fl}	$\tau_{\text{fl}} / \text{нс}$
	Полоса Соре	Q-полосы	$\lambda_{\text{фл}}$		
КП8 (Zn)	419	550,585	662, 710	0,019	1,7
КП9 (Pd)	407	518,550,595	-	0,003	-
КП10	412	506,584,657	648	0,03	8,4

Как видно из таблицы, введение атомов цинка и палладия приводит к ускорению процессов интеркомбинационной конверсии и сопутствующему уменьшению флуоресценции. Данный эффект тяжелого атома более характерен для палладия ($M_w = 106$ г/моль), нежели цинка ($M_w = 65$ г/моль) в связи с большим молекулярным весом. Наблюдается уменьшение квантового выхода флуоресценции в 10 раз при введении атома Pd.

3.2 Спектрально-кинетические характеристики возбужденных состояний комплексов карборанилтетрапирролов с ЧСА и ЛПНП

Для оценки возможности доставки в клетки было проведено исследование комплексообразование красителей с такими биомакромолекулами как альбумин и липопротеины низкой плотности. Проводили исследования комплексообразования соединений КХ1 и КХ6 с такими биомакромолекулами как ЧСА и ЛПНП. Связывание с молекулами-транспортерами важно для оценки доставки молекулы ФС в клетку. Альбумин – самый распространённый белок плазмы крови, который также является молекулой-транспортёром [207]. Жирные кислоты, также, как и многие другие лиганды связываются с альбумином в семи различных участках (FA1-FA7). Сайт связывания FA7 может увеличиваться в сторону участка FA2 для того, чтобы вместить более объёмные лиганды [208]. В результате образуется участок связывания Судлоу 1. Схожим образом два участка связывания FA3 и FA4 могут видоизменяться с образованием участка связывания Судлоу 2. Для изучения возможности доставки молекул фотосенсибилизатора в клетки представляется важным определение параметров комплексообразования в системе ФС-белок. Структура сайтов связывания молекулы ЧСА известна [209]. Во время комплексообразования молекулы хлорина в основном связываются с сайтом связывания FA1 в молекуле ЧСА, который находится в субдомене IV. В результате комплексообразования происходит увеличение жесткости молекулярной структуры и сопутствующий ему рост интенсивности флуоресценции [209-210]. В экспериментах по связыванию соединений КХ1 и КХ6 с молекулами ЧСА, наблюдался рост флуоресценции красителя при повышении концентрации альбумина (Рисунок 23, Рисунок 24). При увеличении концентрации ЧСА ($\approx 1 \times 10^{-4}$ М) практически не наблюдалось дальнейшего роста флуоресценции, что указывает на полное связывание красителя с белком.

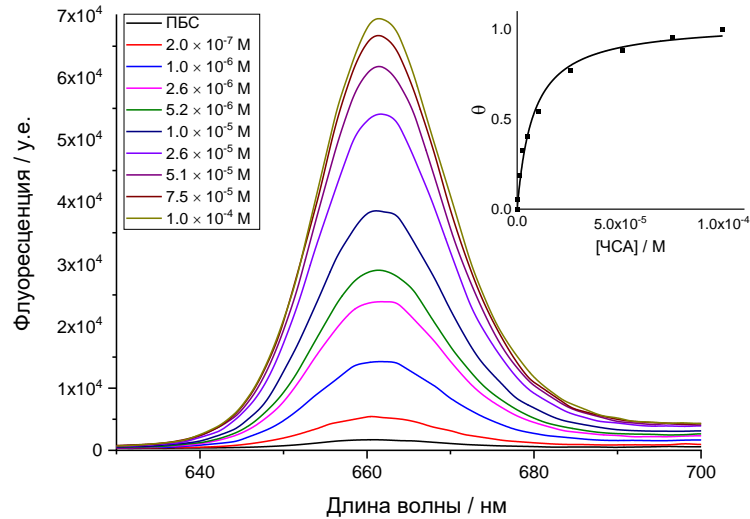


Рисунок 23 – Спектры флуоресценции соединения КХ1 ($\lambda_{\text{возб}} = 430$ нм) при различной концентрации ЧСА ($0 - 1 \times 10^{-4}$ М). Измерения проводили в фосфатно-солевом буфере, рН = 7,4. Вставка: зависимость степени связывания лиганда θ от концентрации белка ($\lambda_{\text{рег}} = 660$ нм)

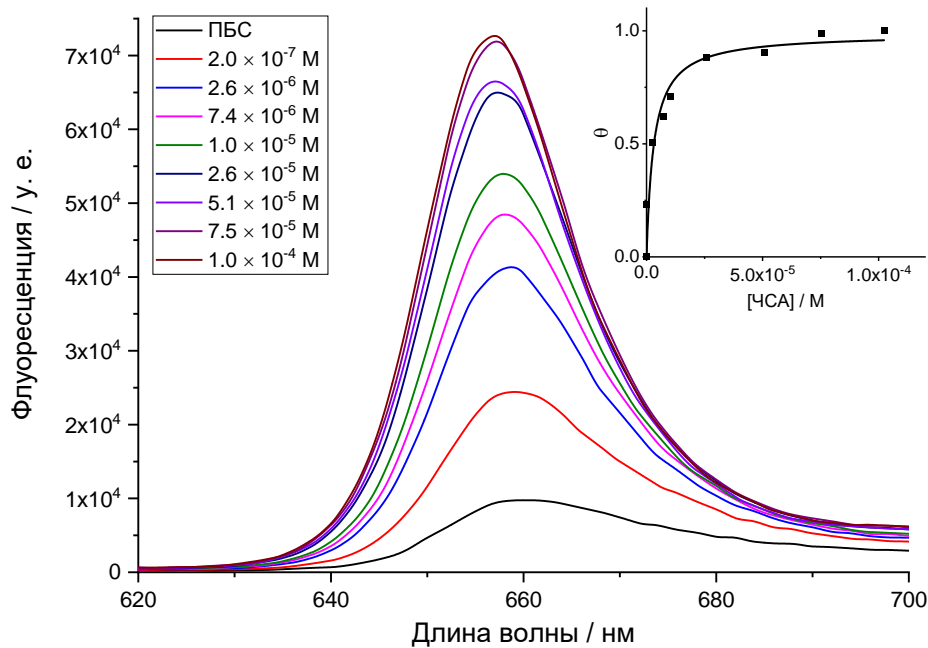


Рисунок 24 – Спектры флуоресценции соединения КХ6 ($\lambda_{\text{возб}} = 430$ нм) при различной концентрации ЧСА ($0 - 1 \times 10^{-4}$ М). Измерения проводили в фосфатно-солевом буфере, рН = 7,4. Вставка: зависимость степени связывания лиганда θ от концентрации белка ($\lambda_{\text{рег}} = 660$ нм)

В результате по формуле (15) была получена константа связывания, рассчитанная из спектров флуоресценции соединений КХ1 и КХ6 в присутствии различных концентраций альбумина, которая равна $K_b = 1,3 \pm 0,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ для соединения КХ1 и $K_b = 3,2 \pm 1,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ для соединения КХ6.

Для определения специфичности связывания соединения КХ1 и молекулы альбумина были проведены эксперименты по определению сайт-специфичности связывания. Для этого использовались пробы, которые избирательно связываются с молекулой альбумина на участке связывания Судлоу 1 (фенилбутазон) и Судлоу 2 (ибупрофен). При возникновении конкурирующих реакций связывания с альбумином между молекулами КХ1 и одной из сайт-специфических проб, константа комплексообразования КХ1-альбумин должно уменьшаться. Проводили эксперименты по измерению флуоресценции альбумина (она определяется флуоресценцией аминокислот тирозина и триптофана) в присутствии сайт-специфических проб (ибупрофен и фенилбутазон) при различных концентрациях КХ1. В дальнейшем по полученным данным определялись константы комплексообразования КХ1-ЧСА в присутствии и в отсутствии сайт-специфических проб. Оказалось, что присутствие ибупрофена и фенилбутазона не оказывает заметного влияния на комплексообразование КХ1 и альбумина и значения констант связывания изменяются незначительно ($\pm 30\%$). Полученные результаты подтверждают предположение что связывание идет по сайту IV. Была исследована кинетика гибели флуоресценции соединения КХ1 в комплексе с ЧСА (Рисунок 25).

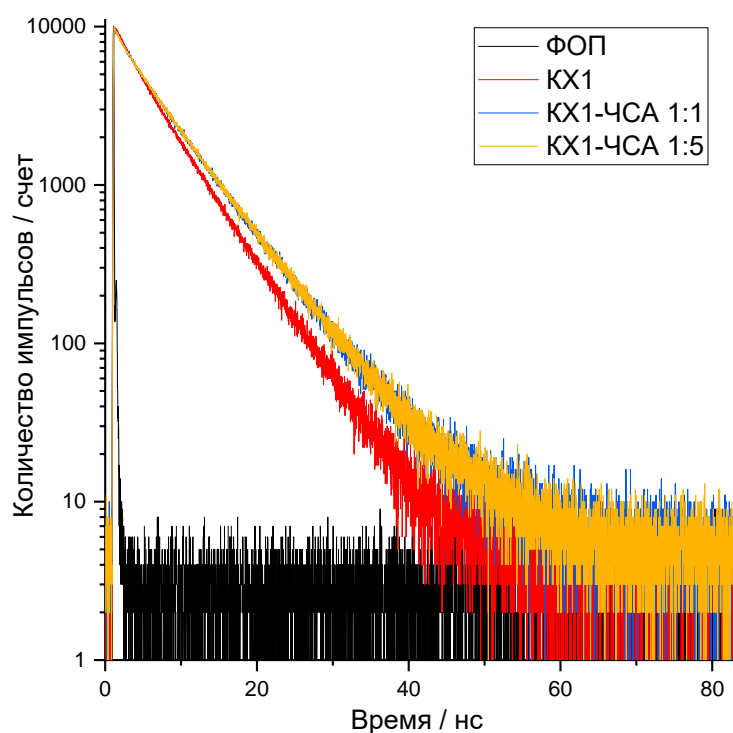


Рисунок 25 – Кинетика гибели флуоресценции КХ1 ($1,8 \times 10^{-6}$ М) при различных концентрациях ЧСА (0; $1,8 \times 10^{-6}$, $1,8 \times 10^{-5}$) в фосфатно-солевом буфере. ФОР – функция отклика прибора

При добавлении альбумина происходит незначительное увеличение времени жизни флуоресценции соединения КХ1, которое не возрастает при дальнейшем увеличении концентрации ЧСА. Наблюдаемое увеличение времени жизни флуоресценции - 5,9 нс при концентрации альбумина 0 М и 6,9 нс при концентрации альбумина $1,8 \times 10^{-5}$ М. Столь незначительное увеличение времени жизни флуоресценции (+15%) соединения КХ1 указывает на достаточно большую жесткость исходного тетрапиррольного флуорофора.

Проводили исследование процессов комплексообразования КХ1, КХ6 и ЛПНП. ЛПНП являются средством доставки гидрофобных молекул в клетки [213]. Способность соединения КХ1 образовывать комплексы с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) также важно для доставки молекул фотосенсибилизатора в клетки. Для получения константы связывания соединений КХ1 и КХ6 с ЛПНП изучалось изменение флуоресценции красителей с увеличением концентрации

ЛПНП (Рисунок 26). Полученная константа связывания $K_b = (3,4 \pm 1,1) \times 10^8 \text{ M}^{-1}$, рассчитанная (по Уравнению 15) из спектров флуоресценции молекулы КХ1 в присутствии различных концентраций ЛПНП формально оказалась заметно выше, чем константа связывания с альбумином.

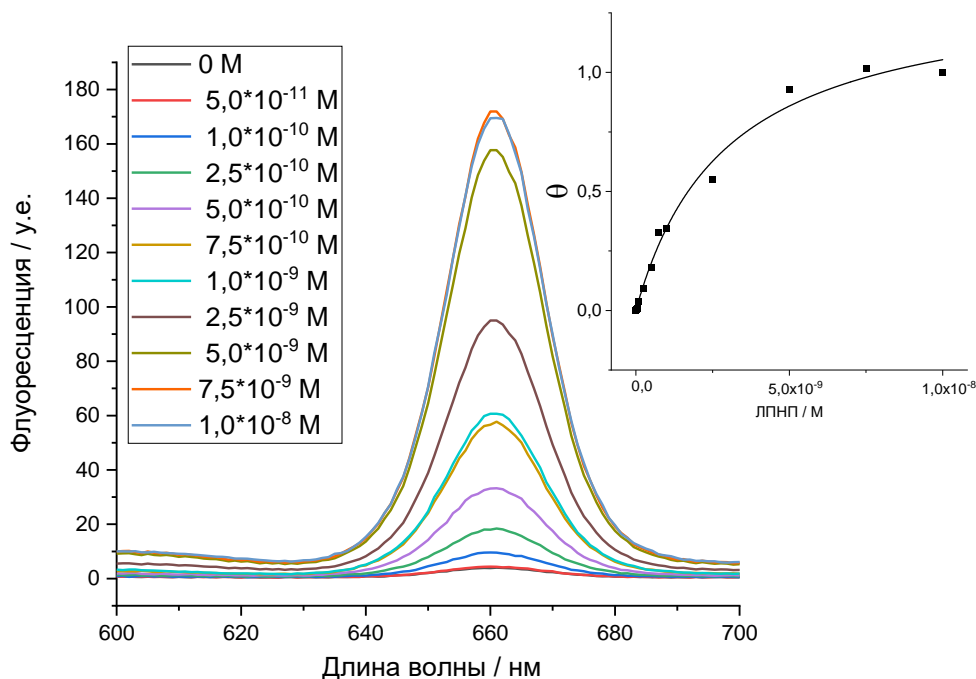


Рисунок 26 – Спектры флуоресценции соединения КХ1 ($\lambda_{\text{возб}} = 410 \text{ нм}$) при различных концентрациях ЛПНП ($0 - 1 \times 10^{-8} \text{ M}$). Измерения проводили в фосфатно-солевом буфер, $\text{pH} = 7,4$. Вставка: зависимость степени связывания красителя КХ1 θ от концентрации ЛПНП ($\lambda_{\text{рег}} = 660 \text{ нм}$)

Механизм взаимодействия КХ1 с альбумином значительно отличается от взаимодействия с ЛПНП. Связывание хлорина с альбумином происходит в определенном сайте связывания на молекуле белка, тогда как в случае с ЛПНП взаимодействие осуществляется при переходе молекулы хлорина из водной фазы в везикулы, образованные ЛПНП. Расчет константы связывания хлорина с ЛПНП по спектрам флуоресценции в случае неспецифического связывания КХ1 с липидной фазой ЛПНП дает очень высокую константу. Полученные результаты соответствуют данным в [214]. Поскольку везикулы состоят в среднем из 800 единиц фосфолипидов, необходимо внести корректировку в значение константы

связывания с ЛПНП. Таким образом, пересчитанное значение константы с ЛПНП составляет $K_b = (4,2 \pm 1,4) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ для соединения КХ1 и $K_b = (5,5 \pm 1,8) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ для соединения КХ6 [193].

Было проведено исследование комплексообразования карборанилпорфиринов с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА). В результате комплексообразования, жесткость структуры порфирина увеличивается, и квантовый выход флуоресценции молекулы возрастает (Рисунок 27). Формирование комплексов между соединением КП8 и ЧСА меняют спектральные характеристики красителя, полученная константа связывания, (рассчитанная по Уравнению 15) оценивается как $K_b = 3,3 \pm 1,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$.

В комплексах порфирина с альбумином молекула красителя приобретает более жесткую структуру при этом релаксация возбужденного синглетного состояния порфирина в основное состояние затруднена. Из-за стабилизации синглетно-возбужденного состояния порфирина в комплексе с ЧСА, время жизни флуоресценции порфирина в комплексе с ЧСА увеличивается. Измеренное время жизни флуоресценции соединения КП8 в пропаноле-1 составляет 1,6 нс. При этом в комплексе с альбумином оно увеличивается до 3,2 нс.

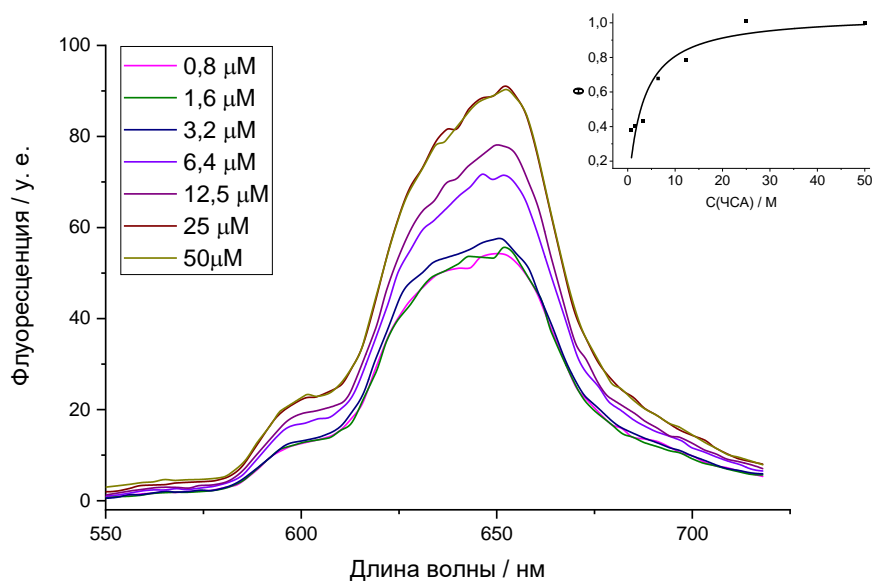


Рисунок 27 – Спектр флуоресценции соединения КП8 в присутствии различных концентраций ЧСА ($0,8 - 50 \times 10^{-6} \text{ M}$)

При исследовании комплексообразования с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП), также наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции красителя при увеличении концентрации ЛПНП. Из спектров флуоресценции были получены константы связывания для соединений КП8, КП9 и КП10, ($K_b = 4,0 \times 10^8$, $4,7 \times 10^8$ и $7,4 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ соответственно). Константы связывания для ЛПНП значительно больше, чем в случае с альбумином. Механизмы взаимодействия фторфенилборированных мезо-арилпорфиринов с альбумином и ЛПНП существенно отличаются. Для альбумина взаимодействие внутри сайта связывания порфирина характерно для соединений с малой молекулярной массой, тогда как комплексообразование с ЛПНП происходит, когда порфирин переходит из водной фазы в органическую внутри везикул, образованных молекулами ЛПНП. Это неспецифическое связывание порфирина с липидной фазой ЛПНП характеризуется очень высокой константой. После проведенной корректировки значений констант комплексообразования, были получены $K_b = 5,0 \pm 1,1 \times 10^5$, $5,9 \pm 2,0 \times 10^5$ и $9,2 \pm 3,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, для соединений КП8, КП9 и КП10 соответственно [194].

Значения констант связывания исследуемых соединений с ЧСА и ЛПНП указаны в Таблице 5.

Таблица 5 – Значения констант связывания тетрапиррольных красителей с ЧСА и ЛПНП

Соединение	ЧСА	ЛПНП
	$K_b \times 10^{-5} / \text{M}^{-1}$	
КП32	3,0	-
КП34	5,4	-
КП8	3,3	5,0
КП9	-	5,9
КП10	-	9,2

Все соединения продемонстрировали достаточно высокие значения констант связывания с ЧСА и ЛПНП ($\approx 10^5 \text{ M}^{-1}$) [195].

3.3 Триpletные состояния карборанилтетрапиррольных красителей.

Методом импульсного фотолиза получены спектрально-кинетические характеристики триплетных состояний панели новых порфиринов. Фотовозбуждение обескислороженного раствора красителя осуществлялось в Q - полосе поглощения вещества. На дифференциальном спектре поглощения (Рисунок 28-30) зарегистрировано выцветание синглетного состояния в S/Q полосах, и поглощение триплетного состояния при 440-500 нм и 530-800 нм. Константы скорости гибели триплетных состояний в отсутствие кислорода (k_T) (Уравнение 19), приведены в Таблице 6.



где k_T — константа скорости гибели триплетного состояния в отсутствие тушителей.

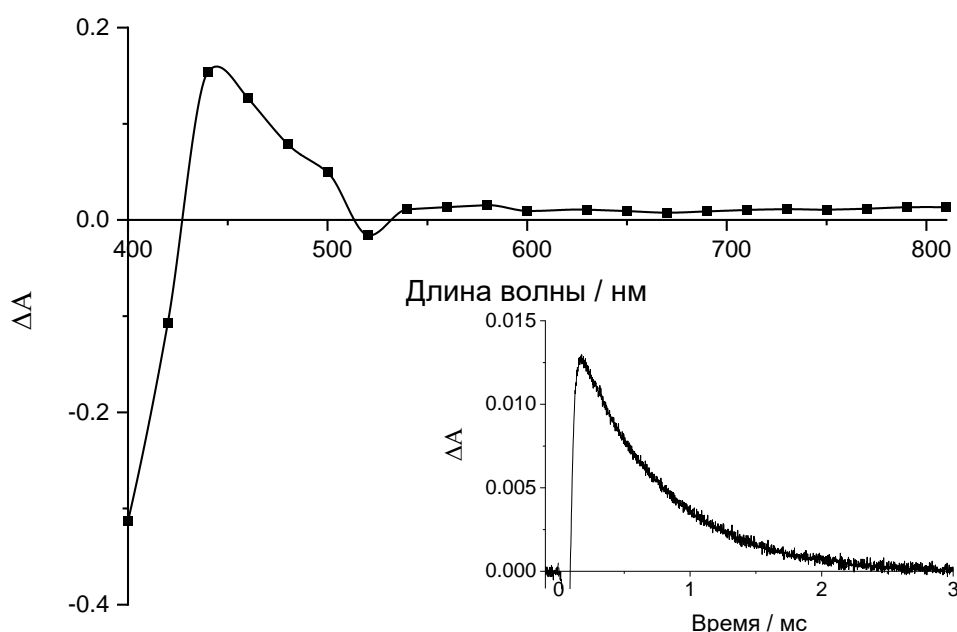


Рисунок 28 – Дифференциальные триплет-триплетные спектры поглощения соединения КП9 (10^{-7} М) в пропанол-1 (200 мкс после вспышки). Вставка: кинетика гибели триплетного состояния при 710 нм

Таблица 6 – Константы скорости k_T гибели триплетных состояний порфиринов и хлоринов в пропанол-1

Константы скорости гибели триплетного состояния	КП8	КП9	КП10	КП32	КХ1
$k_T / \text{с}^{-1}$	$1,2 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	$0,9 \times 10^3$

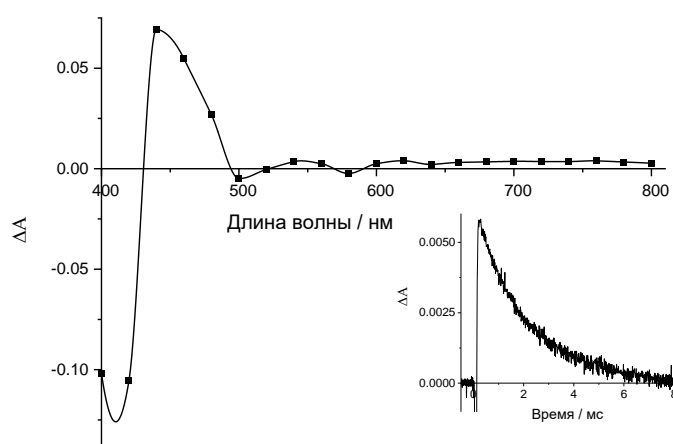


Рисунок 29 – Дифференциальные триплет-триплетные спектры поглощения соединения КП10 (10^{-7} М) в пропанол-1 (200 мкс после вспышки). Вставка: кинетика гибели триплетного состояния при 710 нм

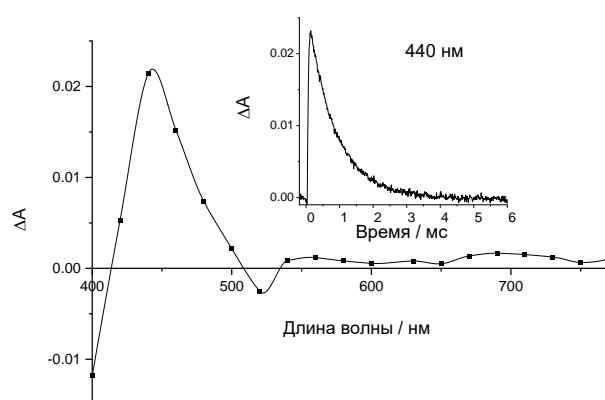


Рисунок 30 – Дифференциальный триплет-триплетный спектр поглощения соединения КП32 (2×10^{-6} М) в пропанол-1 (200 мкс после вспышки). На вставке показана кинетика гибели триплетного состояния соединения КП32 при 440 нм

Возбуждение обескислороженных растворов хлоринов КХ1 и КХ6 проводили в Q-полосу (≈ 650 нм). Дифференциальный триплет-триплетный спектр поглощения соединения КХ1 представлен на Рисунке 31. На спектре наблюдается выцветания синглетных полос при 435 нм и 640 нм, а также поглощение триплетного состояния при 450 нм, 560нм, и в области 700-750 нм. Время жизни триплетного состояния соединения КХ1 составило 1 мс.

Проводились эксперименты по тушению триплетного состояния молекулярным кислородом. В результате переноса энергии с триплетного состояния красителя на кислород происходит тушение триплетного состояния (Уравнение 20)



где, k_q — константа скорости тушения кислородом триплетного состояния.

Константа тушения триплетного состояния кислородом составила для соединений КП9 и КП10 составила $k_q = 2,0 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ что характерно для константы скорости тушения триплетного состояния и близко к диффузионной константе с учетом спин-статистического фактора (1/9)[215].

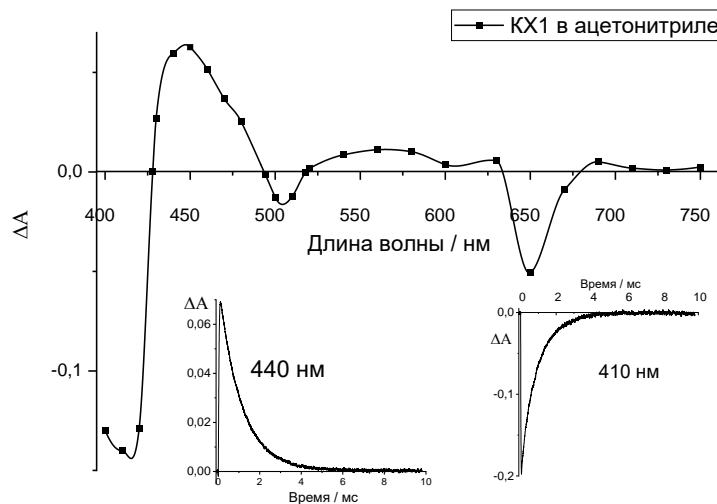


Рисунок 31 – Дифференциальный триплет-триплетный спектр поглощения соединения КХ1 ($3 \times 10^{-7} \text{ M}$) в ацетонитриле (200 мкс после вспышки). Вставка: кинетика гибели триплетного состояния соединения КХ1 при 440 нм ($k_T = 0,9 \times 10^3 \text{ c}^{-1}$) и кинетика выцветания синглетного состояния КХ1 при 410 нм ($k = 1,1 \times 10^3 \text{ c}^{-1}$)

Для оценки реакционной способности триплетного состояния были проведены эксперименты по тушения стабильным нитроксильным радикалом. Взаимодействие молекул фотосенсибилизаторов со стабильными радикалами представляет интерес из-за усиления интеркомбинационной конверсии в результате действия парамагнитной частицы (нитроксильного радикала). Было изучено взаимодействие триплетного состояния карборанилпорфирина КП32 с нитроксильным радикалом (ТЕМПОЛ) (Рисунок 32).

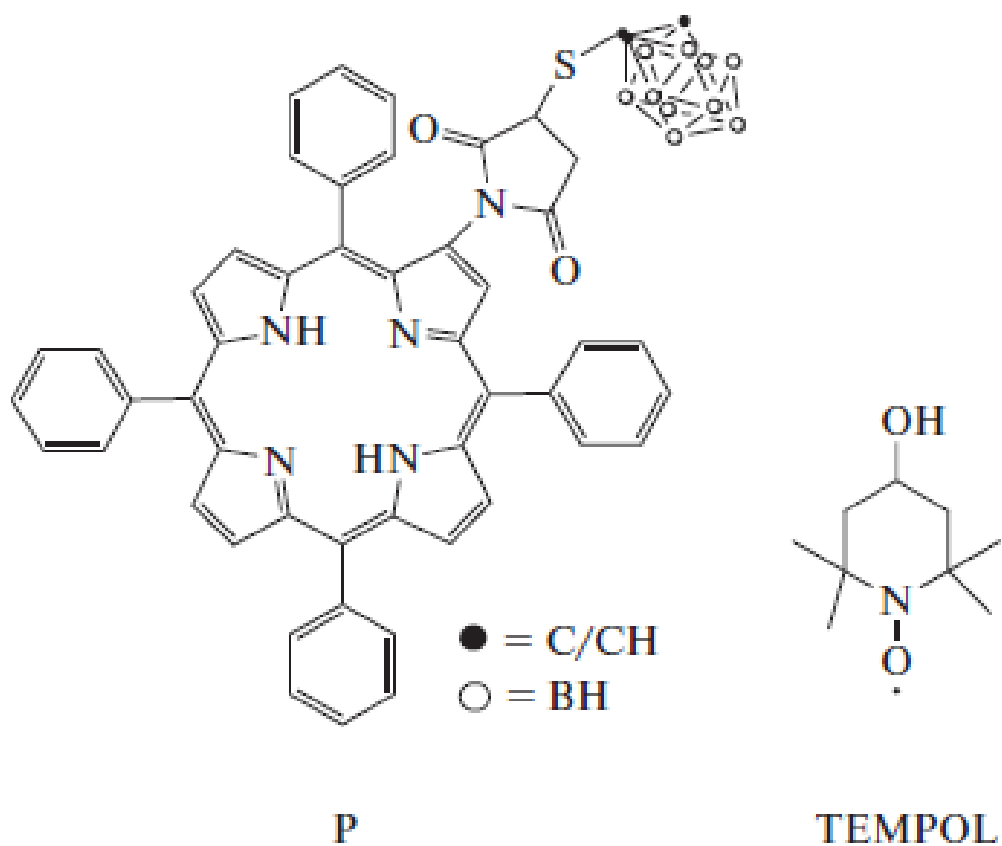


Рисунок 32 – Структурная формула порфирина КП32 и нитроксильного радикала ТЕМПОЛ.

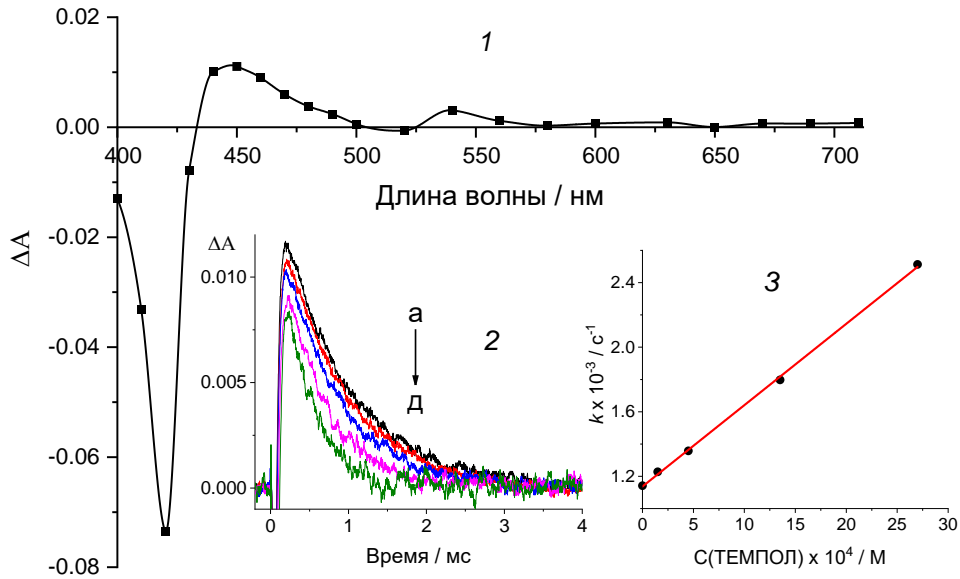


Рисунок 33 – (1) Дифференциальный спектр триплетного состояния КП32 в этаноле (1×10^{-7} М), 300 мкс после вспышки. (2) Кинетика гибели триплетного состояния КП32 (на 440 нм) при различных концентрациях ТЕМПОЛ $\times 10^4$ М: а – 0, б – 1,5, в – 4,5, г – 13,5, д – 27,0. (3) Зависимость константы скорости гибели триплетного состояния КП32 от концентрации ТЕМПОЛ

При прямом фотовозбуждении раствора соединения КП32 (1×10^{-7} М) в этаноле наблюдается уменьшение поглощения в области 420 нм, соответствующее выцветанию синглетного состояния в полосе *Sore*. Поглощение триплетного состояния КП32 (^3P) наблюдается в области 440–500 нм и 540 нм (Рисунок 33, 1). Гибель триплетного состояния происходит по реакции первого порядка $k_T = (1,15 \pm 0,1) \times 10^3 \text{ с}^{-1}$. Добавление ТЕМПОЛ (^2R) в концентрациях ($1,5\text{--}27,0 \times 10^{-4}$ М) приводит к тушению триплетного состояния ^3P (Рисунок 33, 2). Константа тушения $k_q = (5,0 \pm 0,5) \times 10^5 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$ была рассчитана из графика зависимости константы псевдо-первого порядка скорости гибели триплетного состояния КП32 $k = k_T + k_q [^2\text{R}]$ от концентрации ^2R (Рисунок 33, 3):



Одним из путей деактивации триплетного состояния соединения КП32 является перенос энергии на молекулу нитроксильного радикала. Ранее было показано, что для эффективного переноса энергии на радикал, необходимо чтобы энергия триплетного T_1 уровня донора была больше 18000 см^{-1} [216]. Для тетраарилпорфиринов энергия триплетного T_1 уровня как правило ниже T_1 уровня антрацена ($E_T < 14700 \text{ см}^{-1}$) [217]. Ввиду большой разницы между энергетическими уровнями возбужденных состояний КП32 и ТЕМПОЛ, перенос энергии между ними представляется маловероятным. Вторым путем деактивации триплетного состояния является реакция переноса электрона с участием молекулы нитроксильного радикала как донора электрона. На примере взаимодействия нитроксильного радикала и триплетного состояния бискарбацианинового красителя был доказан перенос электрона, который приводит к разрушению хромофорной системы последнего [218]. В процессах переноса электрона, константа тушения триплетного состояния определяется сродством к электрону молекулы красителя, энергией триплетного состояния и зависит от диэлектрической постоянной растворителя [219]. Для оценки роли данного механизма тушения триплетного состояния порфирина, была получена константа его тушения в низкополярном растворителе – толуоле $k_q = (2,8 \pm 0,3) \times 10^5 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$. Значение экспериментально полученных констант тушения k_q триплетных состояний молекул КП32 нитроксильным радикалом примерно на 4 порядка меньше диффузионной константы скорости в этаноле при комнатной температуре ($k_{diff} = 5,5 \times 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$). Сопоставимые значения констант тушения в этаноле ($\epsilon = 24,5$) и толуоле ($\epsilon = 2,38$) показывают, что процесс переноса электрона, как путь деактивации триплетного состояния молекулы порфирина, не играет заметной роли. Полученные результаты согласуются с работой [219], где было показано слабое влияние эффекта растворителя для молекул с низким положением T_1 уровня. Для ароматических углеводородов было показано [216], что доминантным путем деактивации триплетных состояний при взаимодействии с нитроксильным радикалом в случае низких значений ($E_T < 14700 \text{ см}^{-1}$) энергии триплетных уровней молекул донора является ускорение интеркомбинационного перехода в результате

обменного взаимодействия. Ускорение ИКК при взаимодействии триплетного состояния по всей видимости связано с обменом спинами электронов триплетного и дублетного состояний [220-222].

Образование синглетного кислорода в процессах фотосенсибилизации играет важную роль поскольку синглетный кислород является одним из цитотоксических интермедиатов [223]. В результате переноса энергии между триплетным состоянием фотосенсибилизатора (Уравнение 20) и молекулярным кислородом, происходит образование синглетного кислорода. Регистрацию синглетного кислорода можно проводить по его люминесценции в ближней ИК области ($\lambda_{\max} \sim 1275$ нм), (Рисунок 34). (Уравнение 22)



Определение квантового выхода синглетного кислорода для порфиринов и хлоринов рассчитывали по Уравнению 13, с использованием тетрафенилпорфирина, (ТФП) как стандартного вещества ($\Phi_{\Delta} = 0,6$). Полученные значения 0,59 для соединения КХ1 и 0,54 для соединения КХ6 указывают на эффективность переноса энергии на молекулярный кислород.

Полученные значения квантового выхода синглетного кислорода ($> 0,5$) (Таблица 7) указывают на эффективность процесса переноса энергии. Для Pd (КП9) и Zn (КП8) содержащих порфиринов получены более высокие значения квантового выхода синглетного кислорода по сравнению с безметальным аналогом (КП10), что связано ускорением интеркомбинационной конверсии из-за внутримолекулярного эффекта тяжелого атома.

Таблица 7 – Квантовые выходы синглетного кислорода Φ_{Δ} (${}^1\text{O}_2$) для порфиринов в насыщенных воздухом растворах ацетонитрила и ДМСО(*), [193-195]

Соединение	КП8	КП9	КП10	КХ1	КХ6	КП32*
Φ_{Δ}	0,75	0,80	0,66	0,59	0,54	0,81

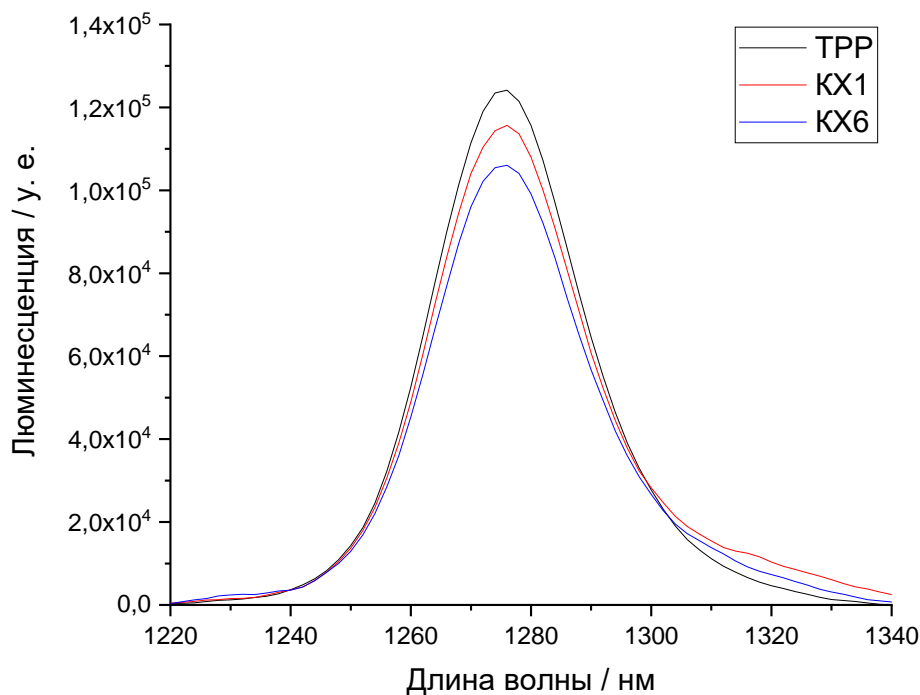


Рисунок 34 – Спектры люминесценции синглетного кислорода для исследуемых соединений вместе со стандартным веществом (ТФП) в насыщенных воздухом растворах ацетонитрила

Введение атомов фтора в *мезо*-фенильную группу тетраарилпорфиринов или тетраарилхлоринов не оказывает влияния на эффективность образования синглетного кислорода. Карборановые заместители также не влияют на процессы ИКК и переноса энергии на молекулярный кислород. Полученные значения квантовых выходов синглетного кислорода сравнимы с коммерческими аналогами, [224-225].

Для соединения KX1 было проведено исследование триплетных состояний в комплексе с ЧСА.

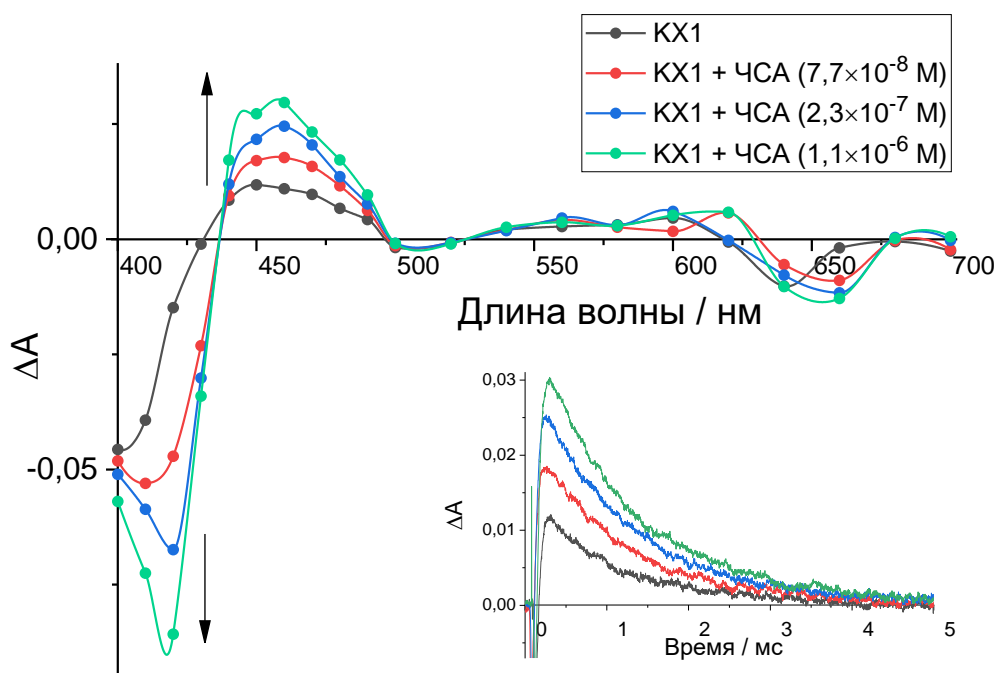


Рисунок 35 – Дифференциальные триплет-триплетные спектры (200 мкс после вспышки) КХ1 при различных концентрациях ЧСА ($0 - 1,1 \times 10^{-6}$ M) в фосфатно-солевом буфере, рН 7,4. На врезке показана кинетика гибели триплетного состояния КХ1 при 440 нм и различной концентрации ЧСА

Как видно из Рисунка 35 при добавлении альбумина к раствору КХ1 происходит процесс комплексообразования, в результате которого возрастает интенсивность триплетного поглощения соединения КХ1. При этом времена жизни триплетного состояния меняются незначительно ($\pm 15\%$). Для оценки степени экранированности триплетного состояния молекулой альбумина были проведены эксперименты по определению константы тушения триплетного состояния кислородом. Оказалось, что в результате процесса связывания лиганда с молекулой белка возникают стерические затруднения, которые влияют на константу тушения триплетного состояния молекулярным кислородом (Рисунок 36), Таблица 8.

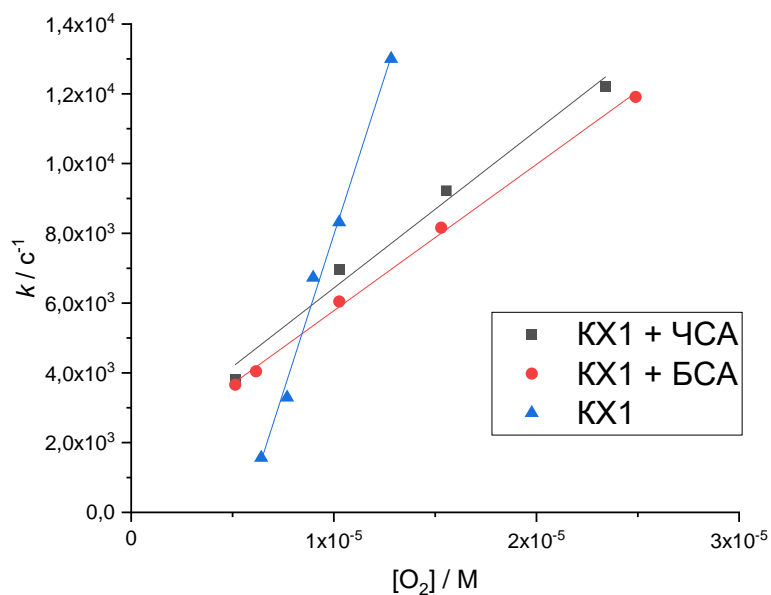


Рисунок 36 – Зависимость константы скорости гибели триплетного состояния соединения КХ1 от концентрации кислорода $[\text{O}_2]$ при отсутствии и в присутствии альбумина (ЧСА, БСА). Фосфатно-солевой буфер (0,01 М), рН 7,4

Таблица 8 – Значения констант тушения триплетного состояния соединения КХ1 молекулярным кислородом в различных условиях.

	ПБС	ЧСА	БСА
$k_q / \text{М}^{-1} \text{с}^{-1}$	$1,8 \times 10^9$	$4,5 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$

При тушении триплетных состояний кислородом в растворе, константа тушения обычно равна диффузионной константе скорости с учетом спин-статистического фактора $1/9$ [215]. Для водных растворов при комнатной температуре $1/9 k_{\text{diff}}$ равна примерно $1 \times 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$. Как видно из Таблицы 8, в фосфатно-солевом буфере (ПБС) константа тушения примерно в 4 раз больше по сравнению с раствором ЧСА или БСА. Концентрации белков, используемые в экспериментах, не превышали $1 \times 10^5 \text{ М}$, так что увеличением вязкости, связанным с присутствием белка в растворе, можно пренебречь. Уменьшение константы тушения триплетного состояния кислородом в присутствии альбумина объясняется возникающими стерическими препятствиями при взаимодействии молекулярного

кислорода и встроенного в структуру альбумина триплетного состояния красителя. Близкие значения констант тушения кислородом триплетного состояния КХ1 в комплексах с ЧСА и БСА обусловлено высоким сходством данных белков.

В экспериментах с опухолевыми клетками глиомы С6 было показано образование АФК при освещении клеток, нагруженных КХ1. Установленная темновая цитотоксичность КХ1 и КХ6 на раковых клетках равна $IC_{50} > 44$ мкМ после 72 часов инкубирования.

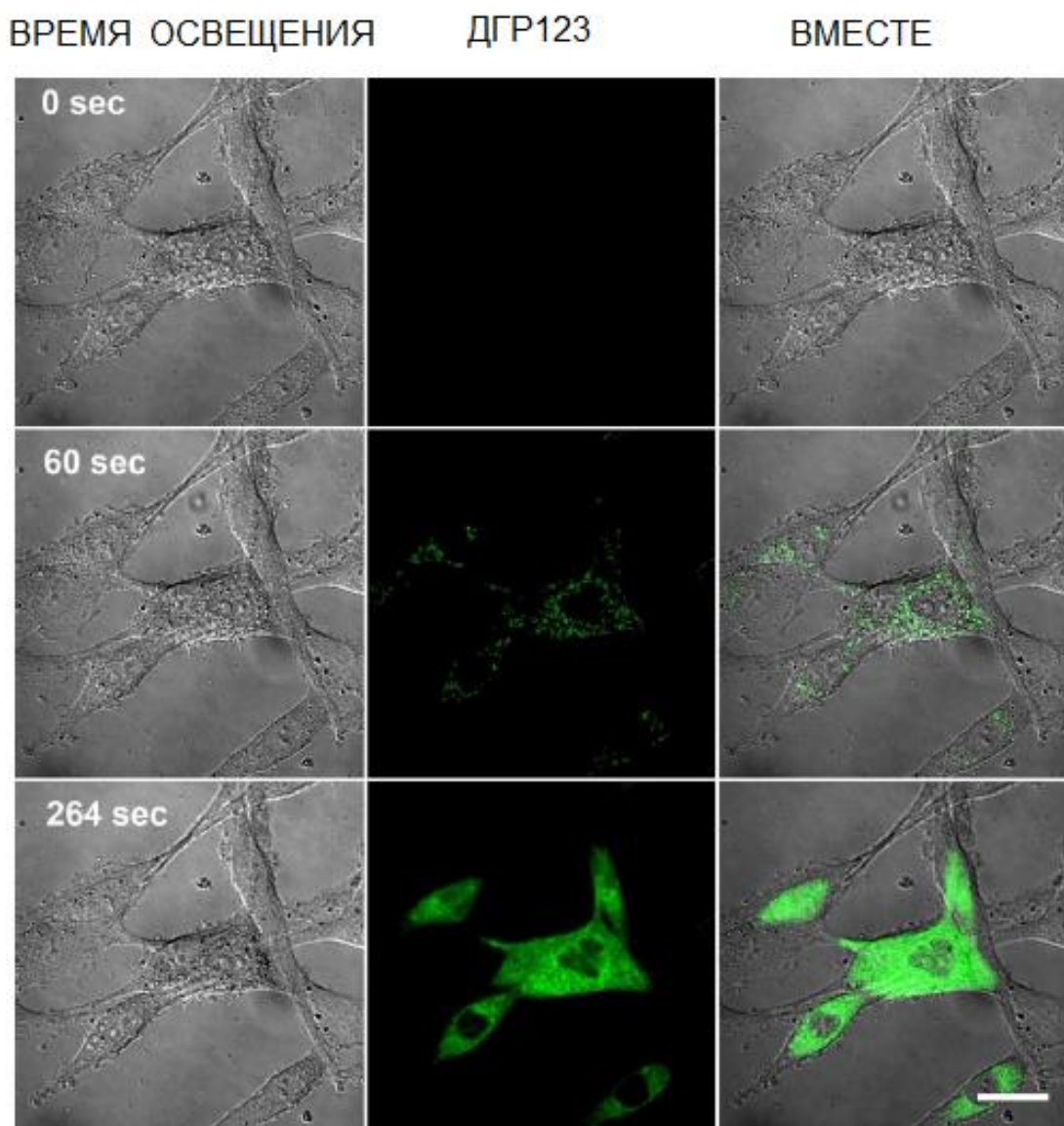


Рисунок 37 – Генерация АФК в раковых клетках С6 при фотоактивации соединения КХ1. Масштаб – 20 мкм.

В сочетании со световой обработкой концентрация 5 мкМ вызывает 100% гибель клеток. При этом уже через 1 минуту в клетках повышается уровень АФК. Через несколько минут вся цитоплазма клеток ярко окрашивается DHR 123 (индикатор АФК) (Рисунок 37). Через 10 минут после фотоактивации клетки прокрашиваются иодистым пропидием или SYTOX™, что указывает на потерю барьерной функции мембран. Полученные значения цитотоксичности соединений КХ1 и КХ6 на клетках глиомы С6 оказались сравнимыми с аналогичным результатами, полученными в экспериментах с коммерческим препаратом Foscan [226].

Исследование темновой цитотоксичности красителей на клетках НСТ116 показало, отсутствие наблюдаемого ингибирования роста клеток после 72 часов инкубации в опухолевых клетках красителя.

Таблица 9 – Значения IC_{50} тетрапиррольных красителей для клеток НСТ116

Соединение	IC_{50} , мкМ
КП32	1,1
КП8	3,9
КП9	1,2
КП10	12,9

Световая цитотоксичность определялась при освещении клеток, нагруженных ФС лазером. Оценку выживаемости клеток проводили с помощью МТТ-теста через 2 часа после освещения.

Результаты по цитотоксичности тетрапиррольных красителей на клетках НСТ116 (Таблица 9), (Рисунок 38) указывают на то, что данные фотосенсибилизаторы оказывают выраженное цитотоксическое действие на опухолевые клетки уже к микромолярных концентрациях. Показатели цитотоксичности соединений КП9 и КП32 кратно превышают цитотоксичность такого коммерчески доступного препарата как Photofrin [227].

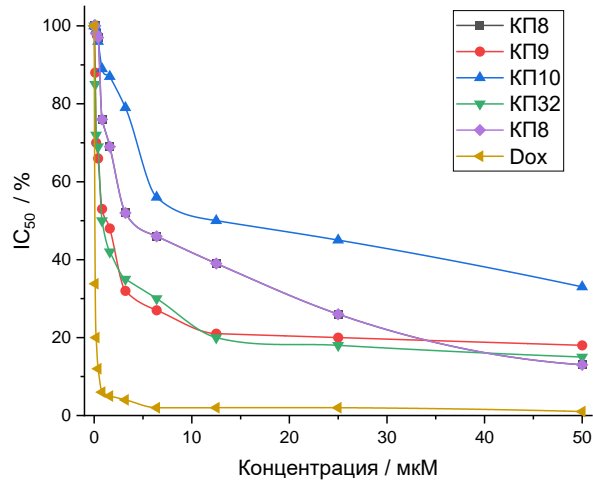


Рисунок 38 – Фотоиндуцированная цитотоксичность исследуемых красителей (Dox – доксорубин)

Были получены спектрально-кинетические характеристики новых карборан-замещенных тетрапирролов. Показано, что введение карборановых заместителей не оказывает заметного влияния на флуоресцентные свойства тетрапиррольных красителей. Для оценки возможности доставки фотосенсибилизаторов в клетки было исследовано связывание с такими транспортными биомолекулами как ЧСА и ЛПНП. Было установлено, что новые карборан замещенные тетрапирролы образуют нековалентные комплексы с такими биомолекулами как ЧСА и ЛПНП с константой ($K_b \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$). Полученные значения квантового выхода синглетного кислорода ($\Phi_{\Delta} > 0,5$) для данных красителей указывает на высокую фотосенсибилизирующую способность соединений, не уступающую коммерчески доступным препаратам. С помощью флуоресцентного АФК сенсора, показано образование активных форм кислорода при фотоактивации клеток, нагруженных фотосенсибилизаторами. В экспериментах на опухолевых клетках HCT116 установлена более высокая фотоцитотоксичность ряда карборанилтетрапирролов, по сравнению с препаратом Photofrin. Таким образом были получены новые бифункциональные фотоактивные молекулы, которые могут действовать не только как традиционные фотосенсибилизаторы, но и как агенты для использования в борнейтронозахватной терапии.

3.4 Фотоиндуцированный перенос электрона от донора электрона на триплетные состояния бискарбоцианиновых красителей, комплексообразование с ЧСА

Благодаря своим характеристикам бискарбоцианиновые красители (БКЦ1 и БКЦ2) являются перспективными фотосенсибилизаторами, так как обладают интенсивной полосой поглощения в красной области спектра, а также имеют высокий квантовый выход триплетного состояния, которое участвует в реакциях переноса электрона, обеспечивая эффективную генерацию АФК. Ранее уже было показано цитотоксическое действие бискарбоцианинового красителя на клетки меланомы и полученные значения фоточитотоксичности оказались более высокими по сравнению с препаратом Фотогем [228]. Для определения возможности действия данного фотосенсибилизатора по механизму I-го типа с переносом электрона была создана модельная система с донором электрона. Образование супероксидного радикала под действием фотосенсибилизатора может проходить в несколько стадий. Первая стадия заключается в переносе электрона с донора на молекулы фотосенсибилизатора в триплетном состоянии, с образованием анион радикала фотосенсибилизатора (Уравнение 7). На второй стадии (Уравнение 8) происходит перенос электрона с анион радикала ФС на молекулярный кислород с образованием супероксидного радикала. Были исследованы спектральные и кинетические свойства промежуточных продуктов реакции фотопереноса электрона, образованного из 2,7-бис [3- (1,3-дигидро-1,3,3-триметил-2Н-индол-2-илиден) -1-пропен-1-ил] -3,8-диметилбензо [1,2-d:3,4-d']бистиазолий йодида (Рисунок 11), бихромофорный цианиновый красителя (БКЦ1) и 2,6-бис-(3,7-ди-N-этил-бензо [1,2-d:4,3-d']бистиазол-)-[N-метил-3,3'-диметил-индокарбоцианин] перхлората (БКЦ2) (Рисунок 12) в результате переноса электрона от аскорбиновой кислоты (АК) на молекулу красителя в возбужденном триплетном состоянии.

При импульсном фотовозбуждении 3×10^{-7} М раствора БКЦ1 формируется триплетное состояние БКЦ1, характеризующееся дифференциальным спектром

поглощения (Рисунок 39 (а)). В отсутствие кислорода кинетика гибели триплетного состояния БКЦ1 моноэкспоненциальна со временем жизни 350 мкс. Триплетное состояние тушится кислородом ($k_{qO_2} = 2,0 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) и аскорбиновой кислотой ($k_{qAA} = 2,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Взаимодействие с аскорбиновой кислотой сопровождается изменением дифференциального спектра поглощения (Рисунок 39, (а)), который связан с переносом электрона от АК к молекуле БКЦ1 в триплетном состоянии и образованием анион-радикала красителя (Уравнения 23).

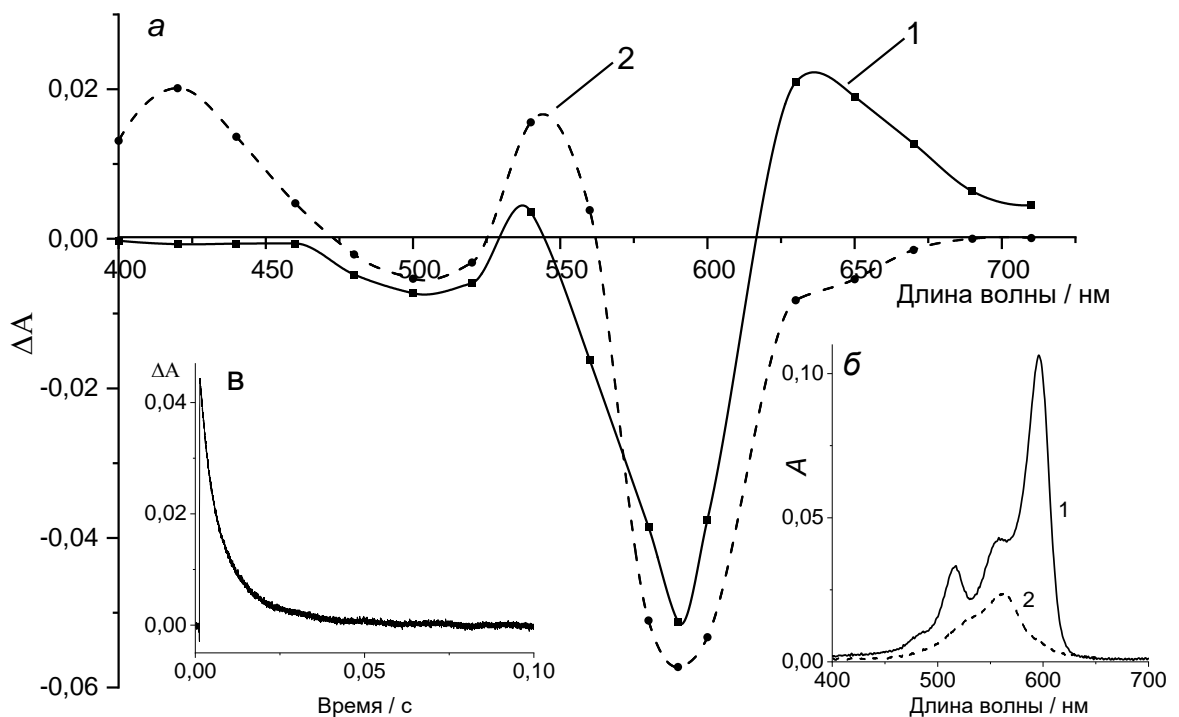


Рисунок 39 – (а) Дифференциальные триплет-триплетные спектры поглощения раствора БКЦ1 в пропан-1-оле ($3 \times 10^{-7} \text{ M}$) через 200 мкс после фотовозбуждения в отсутствие (1) и в присутствии $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ аскорбиновой кислоты (2). На вставке показана кинетика гибели катиона-радикала БКЦ⁺ при 420 нм в растворе БКЦ1 ($6 \times 10^{-7} \text{ M}$) в присутствии $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ аскорбиновой кислоты. (б) Спектры поглощения раствора БКЦ1 в пропан-1-оле ($4 \times 10^{-7} \text{ M}$) после фотолиза (1) в отсутствие и (2) в присутствии аскорбиновой кислоты

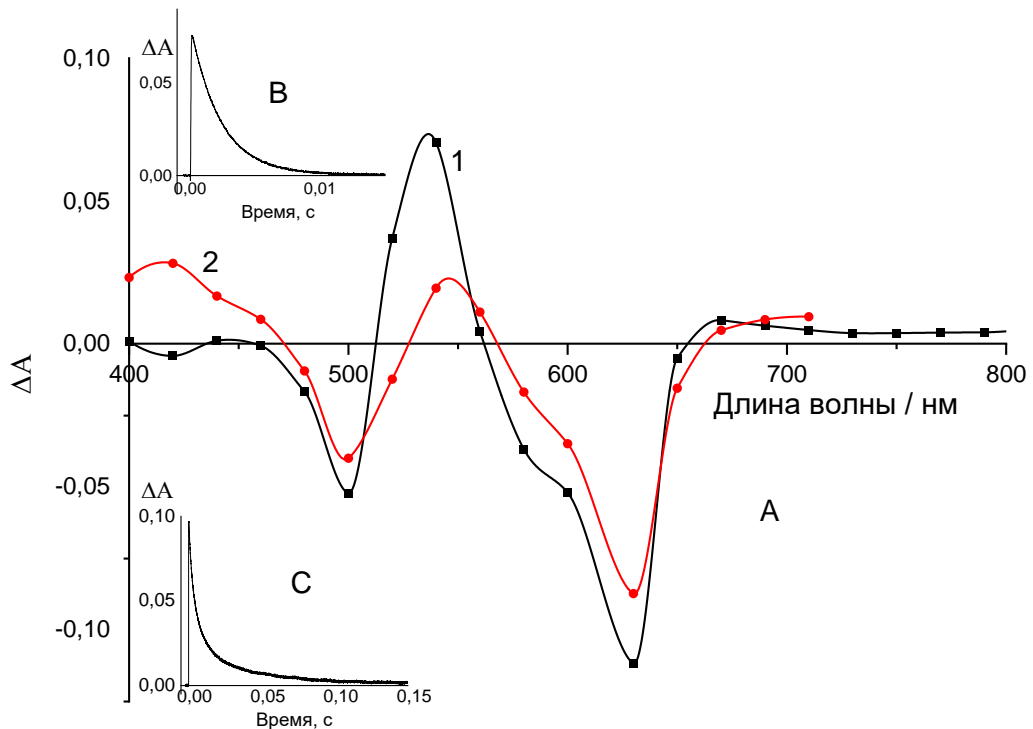


Рисунок 40 – (а) Дифференциальные триплет-триплетные спектры поглощения раствора БКЦ2 в пропан-1-оле (6×10^{-7} М) через 300 мкс после фотовозбуждения в отсутствие (1) и в присутствии 1×10^{-2} М аскорбиновой кислоты (2). На вставке С показана кинетика гибели катиона-радикала БКЦ^{•+} при 420 нм в растворе БКЦ1 (6×10^{-7} М) в присутствии 1×10^{-2} М аскорбиновой кислоты ($2k = 2,1 \times 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$). (б) На вставке В показана кинетика гибели триплетного состояния БКЦ2 при 540 нм, ($k = 430 \text{ с}^{-1}$), ($k_{qAA} = 1,8 \times 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$)

Фотовозбуждение БКЦ1 в присутствии АК изменяет спектр поглощения БКЦ1. Возникающий спектр поглощения при высоких концентрациях АК совпадает со спектром монохроматорного цианинового красителя (ЦД) с длиной хромофора равной длине одного хромофора БКЦ1 (Рисунок 39, б).

Аналогичный эффект наблюдали при фотопревращении БКЦ в присутствии молекулярного кислорода, где разрыв в цепи р-конъюгации хромофора был вызван реакцией с синглетным кислородом, образующимся за счет передачи энергии от молекулы БЦК в триплетном состоянии к молекулярному кислороду. В данной работе кислород удаляли из раствора, поэтому наблюдаемый эффект может быть связан только с реакцией между катион-радикалами БКЦ^{•+}. Коэффициенты молярного поглощения для триплетного состояния БКЦ²⁺ ($\epsilon_{630} = 9,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) и катион-радикала БКЦ^{•+} ($\epsilon_{420} = 7,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) рассчитывали, как пределы при максимальном выцветании основного состояния с учетом того, что для синглет-синглетного поглощения ϵ_{590} составляет $2,5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Кинетика распада БКЦ^{•+} соответствует второму порядку (Рисунок 39, в). Этот процесс не может быть вызван только обратным переносом электрона между образовавшимися радикалами БКЦ^{•+} и АА^{•+} (Уравнение 24). При обратной рекомбинации эквимолекулярных количеств радикалов происходит полное восстановление исходных молекул красителя и донора (спектр поглощения красителя остаётся неизменным). Небольшие изменения спектра оптического поглощения (неполное восстановление полосы поглощения красителя) свидетельствует о существовании еще одного механизма кинетики гибели БКЦ^{•+} в дополнение к обратному переносу электрона. Молекула БКЦ²⁺ несет два положительных заряда, а ее катион-радикал обладает зарядом +1 и может принимать один электрон. Поэтому можно предположить, что реакция между двумя радикалами БКЦ^{•+} сопровождается образованием только одной молекулы красителя в основном состоянии и необратимым разрушением хромофора другой молекулы красителя (Уравнение 25). Однако нельзя исключить некоторые другие процессы, которые могут быть ответственными за распад радикала БКЦ^{•+}. Среди них следует упомянуть димеризацию красителя. Этот процесс, описанный для монохромофорных цианиновых красителей, приводит к разрыву хромофорной цепи конъюгации обоих радикалов, которые участвуют в реакции. Более того, расстояние между этими хромофорами должно быть достаточно большим, что уменьшает диполь-дипольное взаимодействие между

ними. Следовательно, в случае бихромофорных красителей спектр поглощения димера, образующегося при радикальной димеризации должен быть близок к спектру индивидуального хромофора. Константа рекомбинации $2k$ для БКЦ^{•+} равна $1,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Константа скорости диффузии для пропан-1-ола при комнатной температуре составляет $3,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Результаты показывают, что кинетика распада БКЦ^{•+} практически контролируется диффузией, что свидетельствует о его высокой эффективности. Аналогичные результаты были получены для красителя БКЦ2 (Рисунок 40). Взаимодействие катион-радикала с молекулярным кислородом может привести к образованию цитотоксического супероксидного радикала. Способность молекулы БКЦ²⁺ действовать как ФС по механизму переноса электрона может иметь важное значение для последующего исследования механизмов ФДТ [229-230]. Однако экспериментально доказать взаимодействие кислорода с анион-радикалом красителя представляет трудную задачу так как кислород эффективно взаимодействует также и с триплетным состоянием.

Для оценки возможной доставки молекул БКЦ1 в клетки было проведено исследование комплексообразования красителя БКЦ1 с ЧСА. С помощью времяразрешенной флуоресцентной спектроскопии было установлено образование комплекса между молекулами БКЦ1 и альбумина. При взаимодействии БКЦ1 и альбумина, увеличивается жесткость структуры красителя что приводит к снижению роли колебательной релаксации как пути деактивации возбужденной молекулы БКЦ1, тем самым увеличивается квантовый выход и времена жизни флуоресценции (Рисунок 41). При увеличении концентрации альбумина наблюдается разгорание флуоресценции, что можно наблюдать на спектрах флуоресценции БКЦ1.

В фосфатном буфере, наблюдается моноэкспоненциальная гибель флуоресценции БКЦ со временем жизни около 0,2 нс. При добавлении альбумина, появляются новые долгоживущие компоненты ($\tau_1 = 0,5 \text{ нс}$ и $\tau_2 = 1,5 \text{ нс}$). При последующем увеличении концентрации альбумина, короткоживущая компонента, соответствующая времени жизни, возбужденного синглетного состояния свободной молекулы БКЦ1 исчезает.

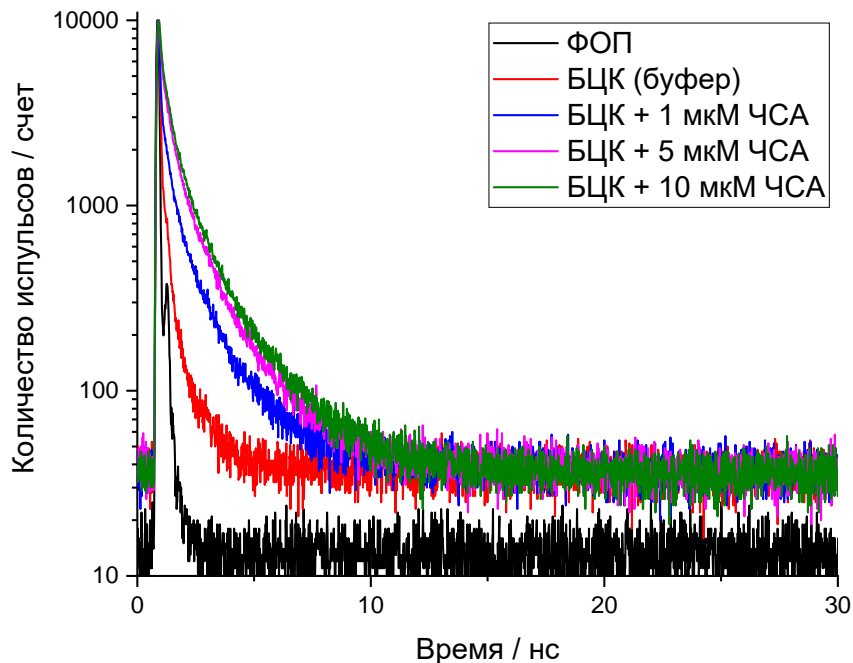


Рисунок 41 – Кинетика гибели флуоресценции БКЦ1 (4×10^{-7} М) при различных концентрациях БСА ($0 - 1,0 \times 10^{-5}$ М). ($\lambda_{возб} = 590$ нм, $\lambda_{рег} = 660$ нм)

Появление двух новых компонент в кинетике гибели флуоресценции вероятно соответствуют образованию двух комплексов красителя с альбумином. Один из комплексов БКЦ с ЧСА, который имеет короткое время жизни флуоресценции ($\tau_1 = 0,5$ нс) предположительно соответствует поверхностному связыванию БКЦ с ЧСА. Более стабильный комплекс ($\tau_2 = 1,5$ нс) соответствует связыванию красителя с ЧСА между субдоменами IIА и IIIА, в широком умеренно полярном, гидрофобном кармане, при этом один концевой индоленин расположен в глубине кармана, в то время как второй ориентирован в сторону внешней поверхности белка. Константа связывания БКЦ1 с ЧСА составила $K_b = 1 \times 10^5$ М⁻¹. Методами импульсного фотолиза было показано образование триплетного состояния красителя БКЦ1 в комплексе с ЧСА. Константа скорости гибели триплетного состояния красителя в комплексе с ЧСА составила $k_T = 1500$ с⁻¹ для БКЦ1 и $k_T = 1650$ с⁻¹ для БКЦ2.

Для оценки возможности доставки молекул БКЦ в клетки-мишени был охарактеризован процесс комплексообразования с ЧСА. Показано образование нековалентного комплекса красителя с альбумином, сопровождающееся увеличением флуоресценции молекулы БКЦ. Было установлено образование анион радикала красителя БКЦ в результате переноса электрона от молекулы донора. Установленный процесс фотопереноса электрона свидетельствует о возможности образования супероксидного радикала в результате реакции, образовавшегося из триплетного состояния анион радикала БКЦ с молекулярным кислородом.

3.5 Фотохимические свойства кетоцианиновых красителей на основе α,α' -бис (замещенных бензилиден) циклопентанонов

Фотоинициаторы на основе бис-бензилиденкетонных являются перспективными для приготовления фотокомпозиций для использования в фотополимеризации [231]. Данный фотоинициатор является примером системы D- π -A- π -D, в которой доноры электронов и акцепторные группы соединены мостиками с π -сопряженной цепью. Изменяя длину π -сопряженной цепи красителя, можно смещать спектр поглощения, изменяя тем самым глубину проникновения света и обеспечивая процесс полимеризации при облучении видимым светом. Эта особенность, наряду с высокими значениями коэффициента молярной экстинкции (до $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), делает эти красители универсальными для использования в аддитивных технологиях. Бисбензилиденкетонные красители обладают способностью инициировать фотополимеризацию как при однофотонном, так и двухфотонном возбуждении [31]. Двухфотонное возбуждение бисбензилиденкетонных красителей может быть осуществлено также при использовании этих красителей в качестве фотосенсибилизаторов в ФДТ с целью увеличения дистанции проникновения фотовозбуждающего импульса вглубь тканей с использованием фототерапевтического окна.

Фотоинициаторы на основе бисбензилиденкетонных красителей в процессе фотополимеризации подвергаются выцветанию [232]. Эта особенность может

оказаться полезной, так как не происходит снижения скорости процесса фотополимеризации за счет поглощения красителя. Простой процесс синтеза этих соединений является еще одним преимуществом, данного класса фотоинициаторов. Также они могут использоваться в качестве однокомпонентной смеси для инициации процессов полимеризации, что значительно упрощают пробоподготовку. В данной работе рассмотрена фотохимия двух бис-бензилиденкетонов:(((1E,1'E)-(2-оксоциклопентан-1,3-диилиден)бис(метанилиден)) бис(4,1-фенилен)) бис (азантриил)) тетракис (этан-2,1-диил) тетракис (2-метилакрилат) бис-(диметиламиноарилиден)циклопентанона (КЦ2), и (2E,5E) - 2,5- Бис[4-(диметиламино)бензилиден]циклопентанона (КЦ1) (Рисунок 13).

Введение карбонильной группы в молекулу цианинового красителя приводит к появлению триплетного состояния (n, π^*) типа, локализованного на атоме карбонильной группы. Данные триплетные состояния отличаются высокой реакционной способностью в реакциях переноса протона и электрона. Выраженная ИКК и способность генерировать радикальные интермедиаты позволяет рассматривать данные соединения не только как потенциальные ФС, но как ФИ для использования в процессах фотополимеризации.

Наличие электронодонорной (диметиланилин) и электроноакцепторной карбонильной группы приводит к внутримолекулярному переносу заряда в молекулах КЦ1 и КЦ2. Из-за внутримолекулярного переноса заряда в возбужденном состоянии можно наблюдать значительный положительный сольватохромизм (Рисунок 42, Таблица 10). С увеличением полярности растворителя происходит батохромный сдвиг как спектров поглощения, так и спектров флуоресценции, что подтверждает принадлежность S_1 состояния к (π, π^*) типу [233].

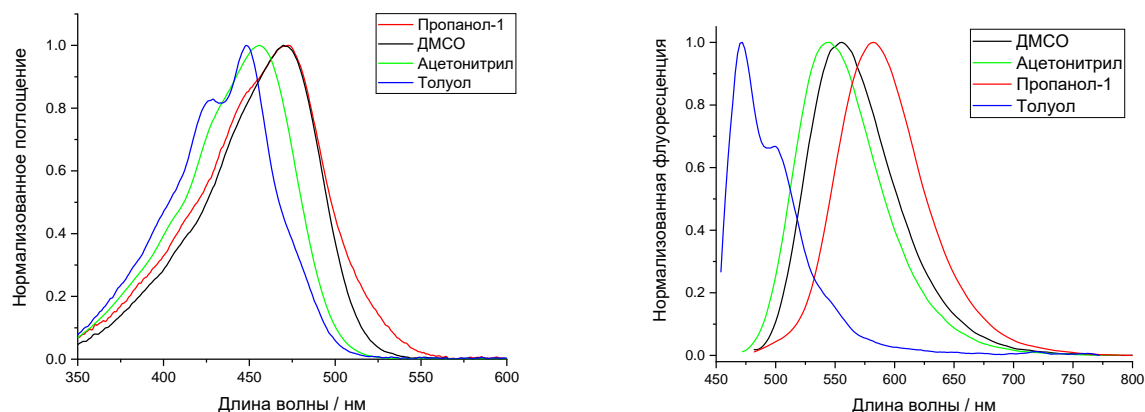


Рисунок 42 – Нормализованные спектры поглощения (слева) и флуоресценции (справа) красителя КЦ2 в различных растворителях

Таблица 10 – Характеристики спектров поглощения и флуоресценции КЦ2 в различных растворителях ($\Delta\nu$ – Стоксов сдвиг, F – параметр полярности растворителя)

Растворитель	$\lambda_{\text{погл}} / \text{нм}$	$\lambda_{\text{фл}} / \text{нм}$	$\Delta\nu / \text{см}^{-1}$	F
Толуол	448	472	1135	0,029
ДМСО	474	558	3176	0,841
Пропанол-1	473	584	4063	0,779
Ацетонитрил	459	544	3404	0,860
ДХМ	456	528	2990	0,592
Этил ацетат	448	514	2866	0,489
Ацетон	454	539	3473	0,790

В неполярных апротонных растворителях, таких как толуол, квантовый выход флуоресценции кетоцианинового красителя КЦ2 снижается при введении метакрилатных групп (Таблица 11). Причиной этого является частичное нарушение планарности молекулы и ускорение процессов колебательной релаксации. В протонном полярном растворителе, таком как пропанол-1, краситель в возбужденном состоянии стабилизируется как за счет водородных связей, так и за счет диполь-дипольного взаимодействия. Батохромный сдвиг как в спектрах

поглощения, так и в спектрах флуоресценции наиболее выражен в пропанол-1, несмотря на относительно низкую диэлектрическую проницаемость по сравнению с ДМСО. Это связано со снижением положения энергетических уровней возбужденных состояний красителя в комплексе с молекулами растворителя за счет образования водородных связей.

Таблица 11 – Флуоресцентные характеристики исследуемых соединений в различных растворителях

Растворитель	Соединение	$\Phi_{\text{фл}}$	$\tau_{\text{фл}} / \text{нс}$
Ацетонитрил	КЦ1	0,10	0,67
	КЦ2	0,11	0,71
Толуол	КЦ1	0,08	0,30
	КЦ2	0,05	0,24
Пропанол-1	КЦ1	0,15	0,46
	КЦ2	0,35	1,16
ДМСО	КЦ1	0,17	0,78
	КЦ2	0,20	0,84

Электронные взаимодействия между полярными молекулами растворителя и растворенного вещества играют важную роль в стабилизации возбужденного состояния. В случае протонных растворителей имеет место образование водородных связей. Эти эффекты можно наблюдать при изучении времен жизни флуоресценции (Таблица 11). Наиболее короткоживущая флуоресценция КЦ1 и КЦ2 имеет место в толуоле (в высокополярном ацетонитриле она почти в три раза больше). Интересное наблюдение было получено при использовании пропанола-1 в качестве растворителя. Тогда как времена жизни флуоресценции КЦ1 и КЦ2 незначительно отличаются для апротонных растворителей, в пропанол-1 разница достигает 2,5 раз (0,46 нс против 1,16 нс) (Рисунок 43) [234].

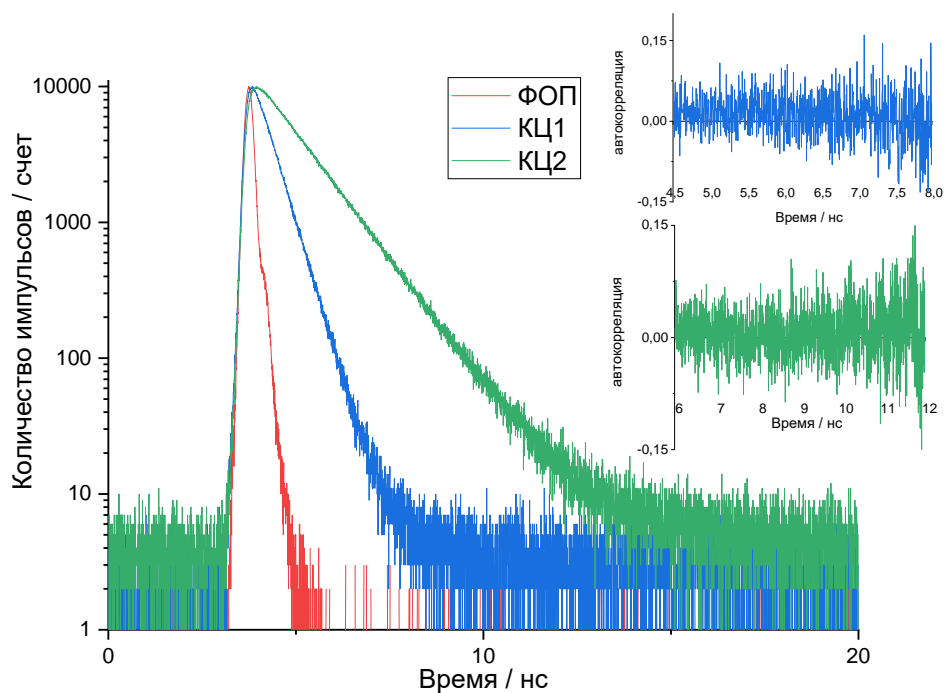


Рисунок 43 – Кинетика гибели флуоресценции КЦ1 (синий) и КЦ2 (зеленый) в пропанол-1; $\lambda_{\text{возб}} = 475 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{рег}} = 600 \text{ нм}$. ФОП – функция отклика прибора

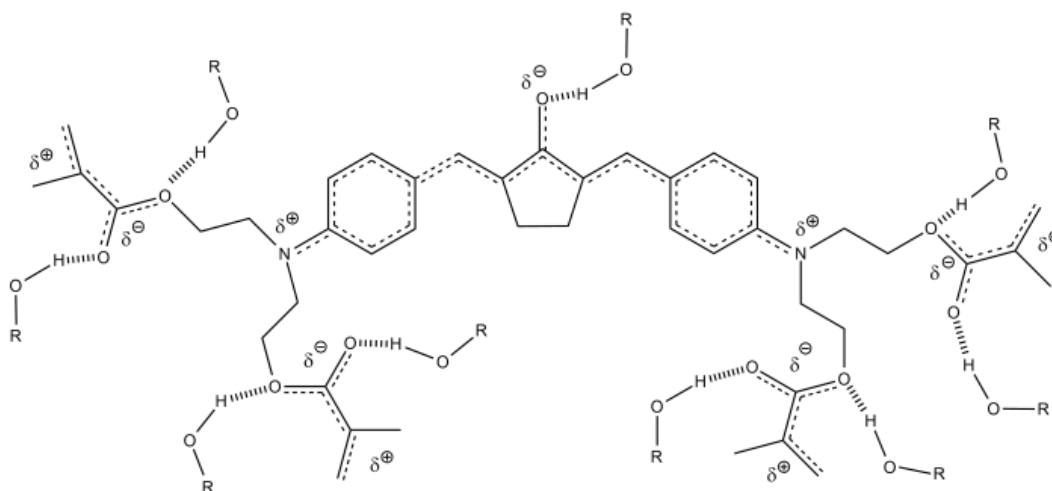


Рисунок 44 – Предполагаемое образование водородных связей между молекулами спирта и КЦ2

Ранее была установлена способность спиртов образовывать водородные связи с карбонильной группой кетоцианинового красителя [235]. КЦ2 обладает не только центральной карбонильной группой, но и четырьмя периферийными группами. Все они способны образовывать водородные связи с молекулами спирта (Рисунок 44). Таким образом, увеличение числа водородных связей в случае КЦ2

приводит к повышенной стабилизации флуорофора и увеличению времени жизни флуоресценции.

Спектральные сдвиги связанные с увеличением полярности растворителя более сильно выражены для спектров флуоресценции, нежели для спектров поглощения. Это указывает на то, что дипольный момент возбужденного состояния больше, чем основного состояния.

Установлено что КЦ2 образует комплекс с ЧСА с константой комплексообразования $K_b = 6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

Для оценки вклада внутримолекулярного переноса электрона в синглетно-возбужденном состоянии был проведен расчет дипольного момента возбужденного состояния молекулы КЦ2. Внутримолекулярный перенос заряда приводит к переориентации молекул растворителя, окружающих растворенное вещество [236]. Дипольный момент в возбужденном состоянии рассчитывался по формуле Бахшиева [237]:

$$v_a - v_f = \frac{2\Delta\mu^2}{a_0^3 hc} F \quad (26)$$

где,

$$F = \left(\frac{D-1}{D+2} - \frac{n^2-1}{n^2+2} \right) \cdot \frac{(2n^2+1)}{(n^2+2)} \quad (27)$$

где, $\Delta\mu^2 = (\mu_e - \mu_g)^2$, v_a и v_f – волновые числа максимумов поглощения и излучения, μ_e и μ_g – дипольный момент возбужденного и основного синглетного состояний соответственно, a_0 – радиус растворенной молекулы в приближении, что она является сферой, h – постоянная Планка, c – скорость света, а D и n — относительная диэлектрическая проницаемость и показатель преломления растворителя соответственно. Из зависимости Стоксового сдвига от F (Рисунок 45) можно рассчитать μ_e :

$$\text{Slope} = \frac{2(\mu_e - \mu_g)^2}{a_0^3 hc} \quad (28)$$

Протонные и неполярные растворители были исключены, поскольку имеет место разный характер взаимодействия с растворенным веществом.

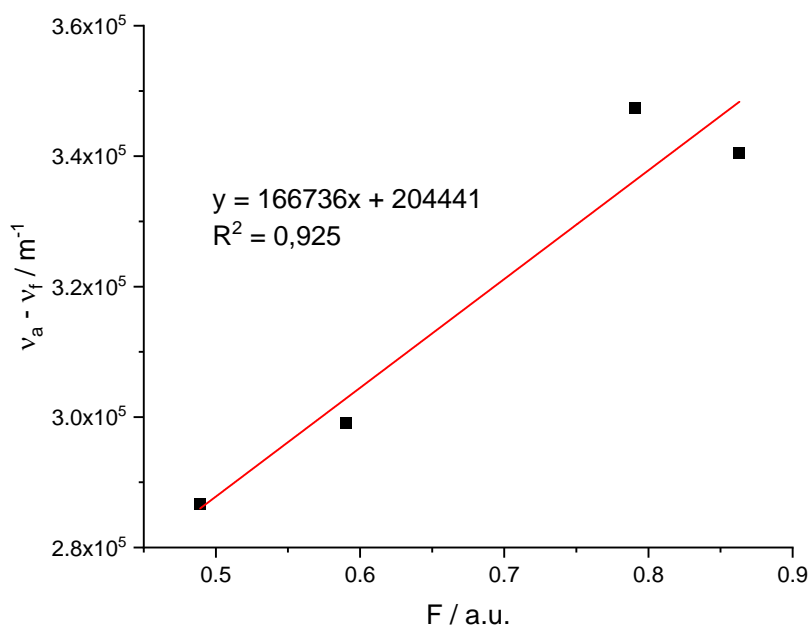


Рисунок 45 – График зависимости между сдвигами спектров соединения КЦ2 и параметром растворителей F для КЦ2

Радиус молекулы для КЦ2 оценивали согласно [238] с использованием плотности бензофенона. Дипольный момент основного состояния рассчитывали с помощью программы Hyperchem 8.0. Полуэмпирические расчеты с использованием метода INDO для оптимизации молекулярной геометрии дали значения 4,2 D и 4,5 D для молекул КЦ2 и КЦ1 соответственно, что согласуется с результатами других работ [239-240]. Дипольный момент возбужденного состояния был оценен в 10,8 D для КЦ2, а для незамещенного КЦ1 он был ранее оценен 10,4 D [239]. Результаты показывают отсутствие существенного изменения дипольного момента возбужденного состояния при введении четырех

метакрилатных групп, что объясняется близкой электронодонорной способностью данных заместителей.

Квантово-химический расчет молекулы КЦ2 был выполнен с использованием программы ORCA 4.0.1.2. Оптимизация геометрии осуществлялась методом теории функционала плотности (DFT) с функционалом V3LYP. Структура КЦ2 имеет планарную геометрию, за исключением периферийных метакрилатных заместителей (Рисунок 46).

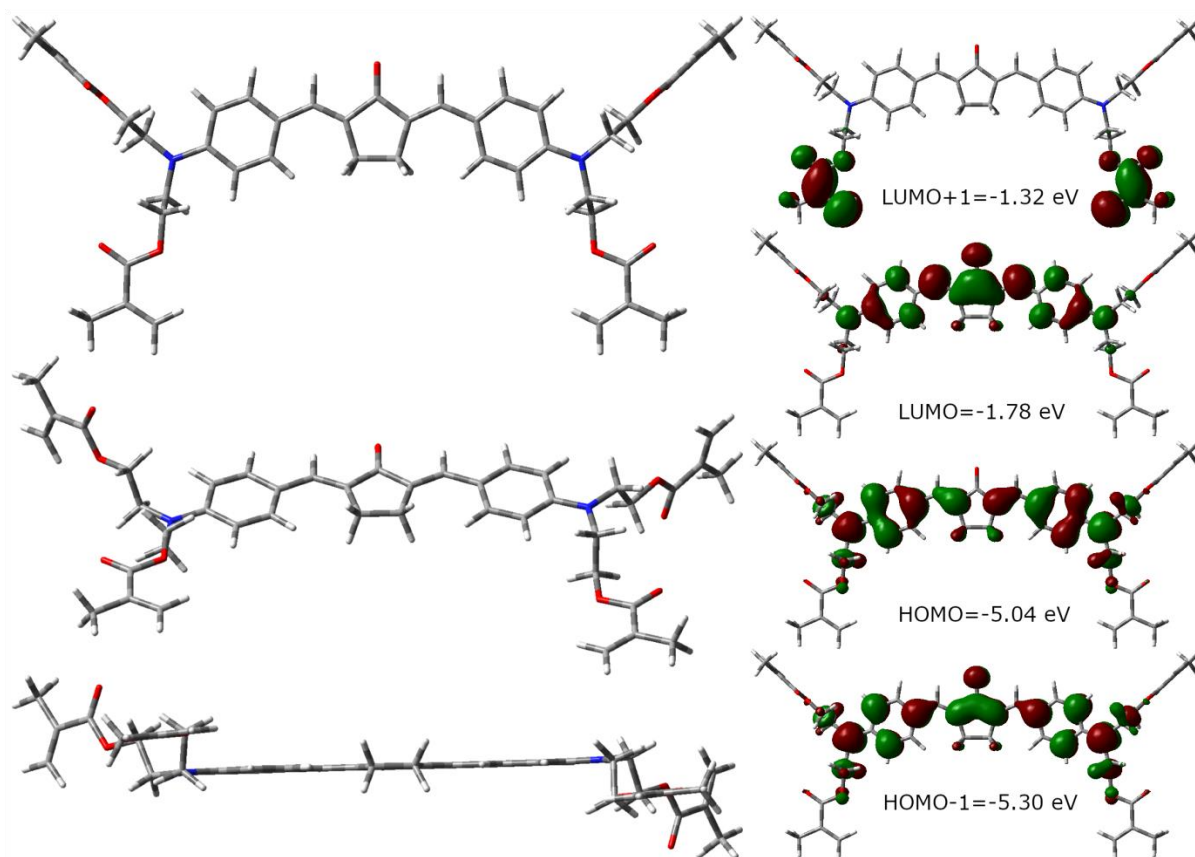


Рисунок 46 – Оптимизированная структура и молекулярные орбитали красителя КЦ2

На орбиталях ВЗМО и ВЗМО-1 электронная плотность распределена по всей сопряженной π -системе. В случае ВЗМО - π -электрон на карбонильной группе не участвует в сопряжении молекулы. На НВМО электронная плотность смещена на карбонильную и циклопентаноновую группы. Полученные распределения

электронной плотности на различных МО указывают на то, что переходы ВЗМО \rightarrow НВМО включают межмолекулярный перенос заряда.

3.6 Триpletные состояния метакрилатного производного кетоцианинового красителя

Триpletное состояние играет ключевую роль в процессах фотополимеризации и 3D печати [241]. В случае α, α' -бис (замещенных бензилиден)кетон^{ов} из триpletного состояния в результате внутри/межмолекулярного переноса электрона и последующего переноса протона происходит образование радикалов. В дальнейшем данные радикальные интермедиаты участвуют в процессе полимеризации присоединяя молекулы мономера [242]. Для исследования спектрально-кинетических характеристик использовали метод импульсного фотолиза. Эксперименты по лазерному импульсному фотолизу проводились с красителем КЦ2 в различных растворителях. Полученные триplet-триpletные спектры поглощения включают выцветание синглетного состояния, положение которого соответствует спектру поглощения КЦ2 (Рисунок 42). В более длинноволновой области наблюдается триplet-триpletное поглощение, которое постепенно увеличивается вплоть до 650 нм (Рисунок 47, Рисунок 48).

Для оценки эффективности генерации триpletных состояний красителя КЦ2 в различных растворителях были приготовлены растворы КЦ2 с одинаковой оптической плотностью на длине волны возбуждения. Полученные максимумы триpletного поглощения сравнивали в толуоле, ацетонитриле и пропаноле-1. Способность генерировать триpletное состояние наиболее выражена в ацетонитриле, несколько меньше в толуоле и в случае пропанола-1 примерно в 2,5 раза меньше по сравнению с ацетонитрилом. Эти результаты согласуются с экспериментами по определению квантового выхода триpletного состояния для производного КЦ1 [240].

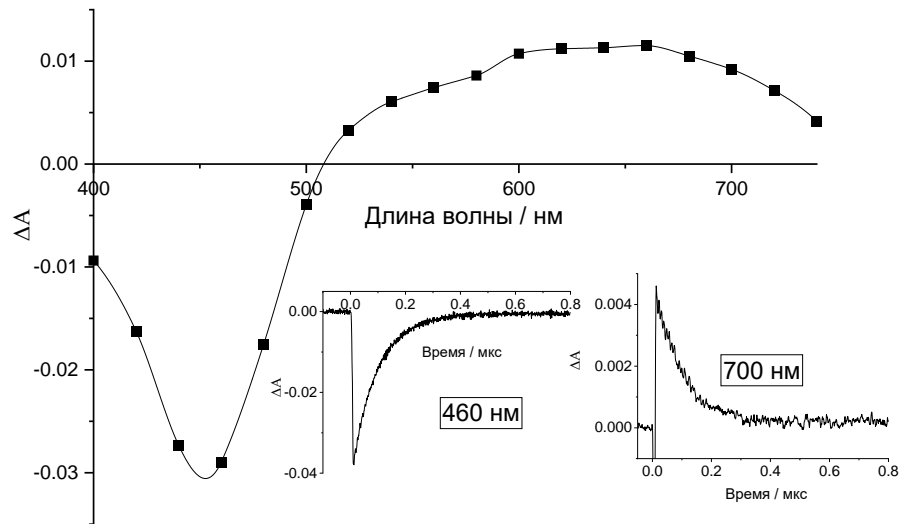


Рисунок 47 – Дифференциальный триплет-триплетный спектр поглощения для КЦ2 ($8,0 \times 10^{-6}$ М) в ацетонитриле (в присутствии кислорода) через 35 нс после вспышки. Возбуждение при 455 нм. Вставки показывают выцветание синглетного состояния при 460 нм и гибель триплетного состояния КЦ2 при 700 нм ($k = 1,1 \times 10^7$ с $^{-1}$)

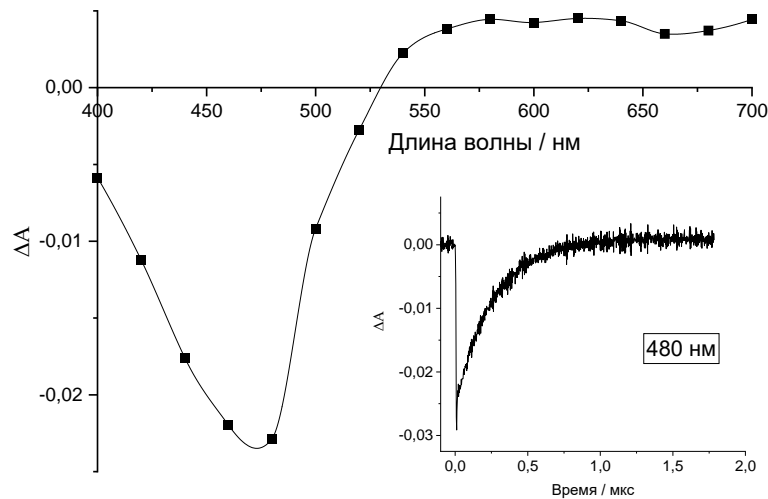


Рисунок 48 – Дифференциальный триплет-триплетный спектр поглощения для КЦ2 ($8,0 \times 10^{-6}$ М) в пропанол-1 (без удаления кислорода) через 50 нс после вспышки. Возбуждение при 475 нм. На вставке показано выцветание синглетного состояния КЦ2 при 480 нм ($k = 3,8 \times 10^6$ с $^{-1}$)

Наличие карбонильных групп вводит уровни (n , π^*) типа в систему энергетических уровней молекулы. Правило Эль-Сайеда гласит [243], что скорость интеркомбинационной конверсии между возбужденными состояниями разных типов превышает ту же скорость для возбужденных состояний одного и того же типа. Установлено что положение энергетического уровня возбужденного состояния зависит от растворителя. Для аналогичного кетоцианинового красителя показано, что в неполярных растворителях (циклогексан, толуол) энергетический уровень $^1(\pi, \pi^*)$ лежит выше как энергетического уровня $^3(n, \pi^*)$, так и ^3CT (состояние с переносом заряда). В случае полярных растворителей $^1(\pi, \pi^*)$ лежит выше ^3CT , но ниже энергетического уровня $^3(n, \pi^*)$ [233; 240]. Было установлено, что для близкородственного кетоцианинового красителя состояние с переносом заряда является низшим синглетным состоянием [240; 244]. В неполярных растворителях, таких как толуол, уровень ^1CT лежит выше нежели $^3(n, \pi^*)$ и ^3CT , что согласно правилу Эль-Сайеда, приводит к ИКК в $^3(n, \pi^*)$, а затем идет процесс ВК на самый низкий уровень ^3CT . Однако, из-за относительно близкого расположения уровней $^3(n, \pi^*)$ и ^3CT происходит термическое заселение уровня $^3(n, \pi^*)$. Это объясняет высокую активность образования радикалов в толуоле. В пропанол-1 состояние ^1CT лежит выше ^3CT , но ниже $^3(n, \pi^*)$. Поскольку ИКК между ^1CT и $^3(n, \pi^*)$ имеет дело с увеличением энергии, она неэффективна. Более того, переход между ^1CT и ^3CT затруднен, так как задействованы возбужденные состояния одного и того же типа. Разница между энергиями уровней ^3CT и $^3(n, \pi^*)$ увеличена, поэтому роль теплового заселения уменьшается. Это объясняет как пониженное образование триплетных состояний, так и пониженную реакционную способность по отношению к образованию радикалов. Поскольку порядок расположения энергетических уровней одинаков и в ацетонитриле, и в пропанол-1, то вероятным объяснением высокой эффективности генерации триплетов в случае ацетонитрила является расположение этих уровней: $^3(n, \pi^*)$ находится намного ближе к уровню ^3CT , что облегчает термическое заселение $^3(n, \pi^*)$. Из-за природы триплетного состояния КЦ2 в пропанол оно легко стабилизируется молекулами протонного растворителя. В случае ацетонитрила триплетное

состояние относится к $^3(n, \pi^*)$ типу и менее подвержено влиянию молекул растворителя. Значения констант скорости тушения триплетного состояния кислородом приведены в Таблице 12. Расчет константы скорости диффузии проводили по вязкости растворителя согласно [245].

Таблица 12 – Характеристики триплетного состояния КЦ2 при различных условиях

Растворитель	$k_T / \text{с}^{-1}$ продувка Ar	$k_q / \text{с}^{-1}$ продувка O ₂	$k_{\text{дифф}} /$ $\text{M}^{-1}\text{с}^{-1}$	$1/9 k_{\text{дифф}}$ $/\text{M}^{-1}\text{с}^{-1}$	$k_q / \text{M}^{-1}\text{с}^{-1}$
Ацетонитрил	$8,0 \times 10^6$	$4,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^{10}$	$2,1 \times 10^9$	$3,1 \times 10^9$
Пропанол-1	$5,2 \times 10^5$	$2,0 \times 10^7$	$3,4 \times 10^9$	$3,7 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$

Значения концентрации кислорода для различных растворителей были получены согласно [246-247]. Значения константы тушения триплетного состояния кислородом k_q , полученные для ацетонитрила и пропанола, были близки к $k_{\text{дифф}}$, с учетом спин-статистического фактора 1/9 приведены в Таблице 12. Эти результаты аналогичны результатам, полученным в [240].

Для оценки фотосенсибилизирующей способности красителей КЦ1 и КЦ2 были проведены эксперименты по определению квантового выхода синглетного кислорода. Синглетный кислород образуется в результате переноса энергии с триплетного состояния молекулы фотоинициатора на молекулярный кислород (Уравнение 20). Люминесценция синглетного кислорода регистрировалась при ~ 1275 нм (Рисунок 49).

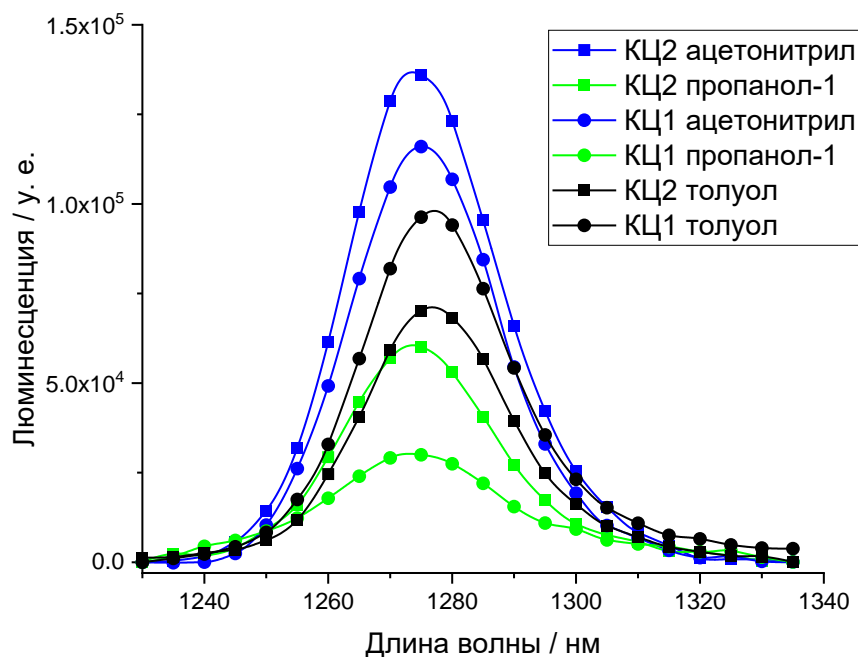


Рисунок 49 – Спектры люминесценции синглетного кислорода красителя КЦ2 ($6,0 \times 10^{-6}$ М) (-■-) и КЦ1 ($6,0 \times 10^{-6}$ М) (-●-) в различных растворителях.

Возбуждение при 438–470 нм с использованием ксеноновой лампы

Молекулярное окружение растворенного флуорофора влияет на эффективность генерации синглетного кислорода (Таблица 13). В полярном апротонном растворителе, таком как ацетонитрил, КЦ2 демонстрирует 20-процентное увеличение образования синглетного кислорода по сравнению с КЦ1. В пропанол-1 это увеличение достигает почти 40% (Таблица 13). Это связано со стабилизацией триплетного состояния с переносом заряда (^3CT) водородными связями протонного растворителя.

Таблица 13 – Значения квантового выхода синглетного кислорода (Φ_{Δ}) для КЦ1 и КЦ2 в различных растворителях.

Соединение	Ацетонитрил	Толуол	Пропанол-1
КЦ1	0,14	0,16	0,05
КЦ2	0,17	0,11	0,08

Противоположная ситуация наблюдается в случае неполярных растворителей, таких как толуол. В отсутствие эффекта стабилизации растворителя роль колебательной релаксации для КЦ2 возрастает (из-за наличия метакрилатных заместителей), а роль интеркомбинационной конверсии и флуоресценции уменьшается. Образование синглетного кислорода в процессе тушения триплетных состояний бисбензиден кетоновых красителей свидетельствует о том, что они могут быть рекомендованы к использованию в качестве фотосенсибилизаторов для их применения в ФДТ.

Для инициации процесса полимеризации необходимо образование радикальных частиц с участием молекул фотоинициатора. Был предложен механизм образования исходных радикальных интермедиатов из молекулы фотоинициатора в триплетном состоянии. Он заключается в быстром переносе электрона и следующего за ним переноса протона. В результате образуются кетильный и аминоалкильный радикалы (Рисунок 50) [248].

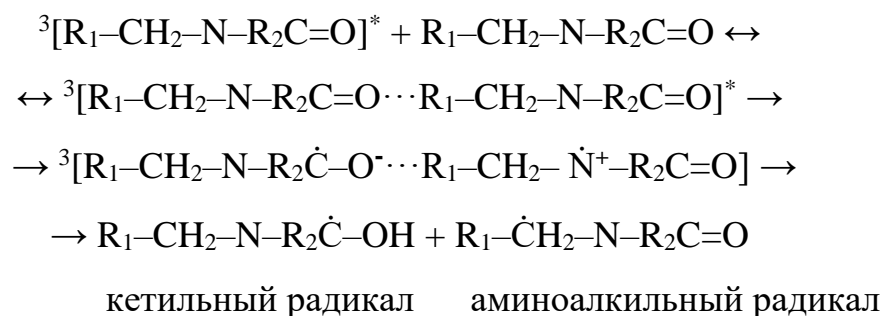


Рисунок 50 – Предложенный механизм образования радикалов при фотовозбуждении КЦ2

В отличие от аминоалкильных радикалов кетильные радикалы практически не иницируют процесс полимеризации [249]. Чтобы оценить способность генерировать радикалы для КЦ2 и КЦ1, была проведена серия экспериментов по фотолизу с использованием конвенциональной установки для импульсного фотолиза. Зарегистрировано выцветание синглетного состояния в области 400–460 нм и поглощение радикалов в более длинноволновой области (480–540 нм) (Рисунок 51).

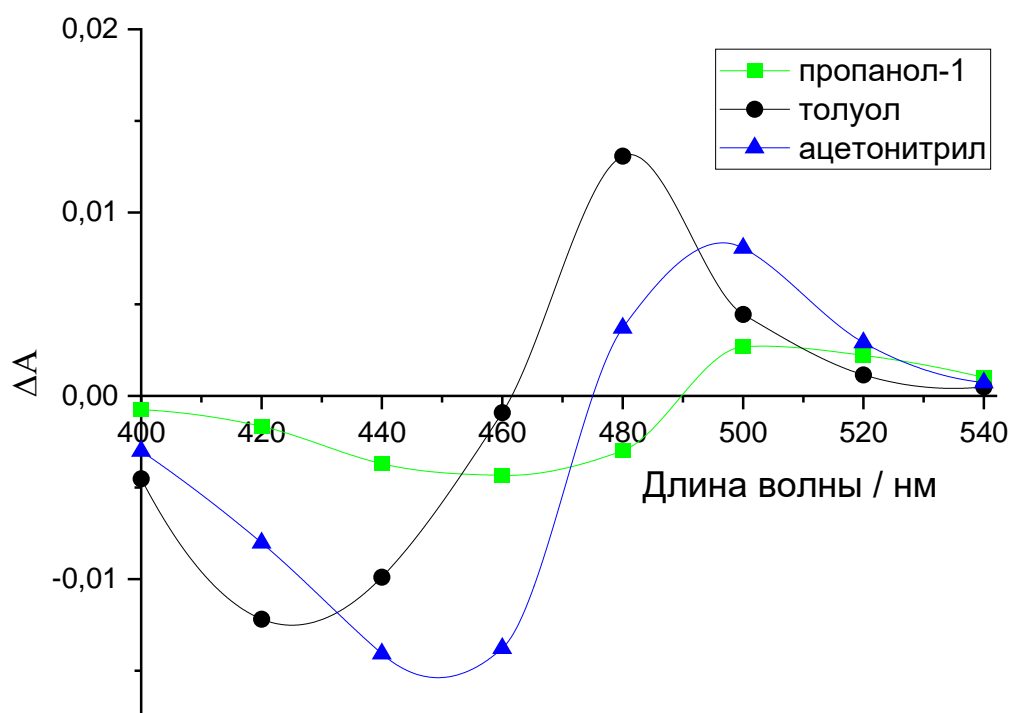


Рисунок 51 – Дифференциальный временной спектр поглощения соединения КЦ2 (7×10^{-7} М) в растворе, насыщенном воздухом. (зеленый – пропанол-1, черный – толуол, голубой – ацетонитрил) 100 мс после вспышки

Интенсивность поглощения радикальных интермедиатов оказалась различной в различных растворителях. Более интенсивное образование радикалов зафиксировано в толуоле и ацетонитриле, где наиболее высокий квантовый выход триплетного состояния КЦ2. КЦ2 в пропанол-1 показал наименьшую генерацию радикалов из-за низкого квантового выхода триплета. Аналогичные результаты были получены для растворов КЦ1. Удаление кислорода из раствора соединения КЦ2 привела к увеличению интенсивности сигнала только в случае пропанола-1 (Рисунок 52), незначительно изменяясь в случае ацетонитрила и толуола.

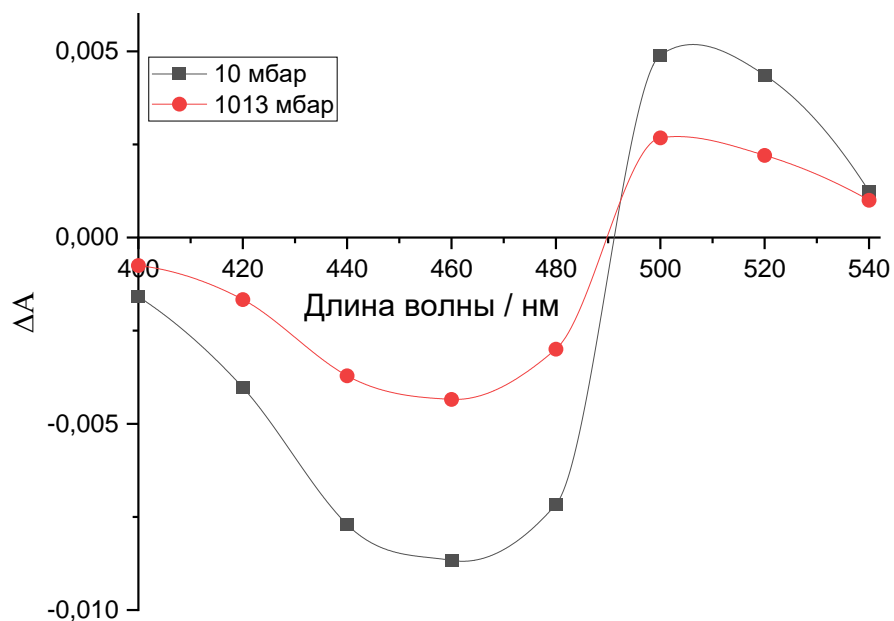


Рисунок 52 – Дифференциальный временной спектр поглощения соединения КЦ2 (7×10^{-7} М) в пропанол-1, 100 мс после вспышки

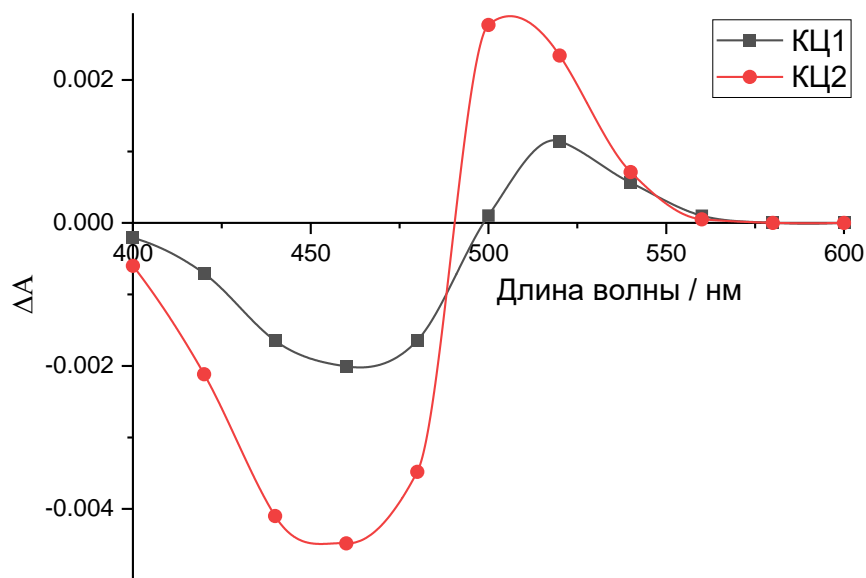


Рисунок 53 – Дифференциальный временной спектр поглощения соединения КЦ1 (1×10^{-6} М) и КЦ2 (1×10^{-6} М) в пропанол-1, 50 мс после вспышки

Сравнивая КЦ1 и КЦ2 по способности генерировать радикалы, следует отметить, что в пропанол-1 поглощение радикалов КЦ2 было значительно более интенсивное, чем поглощение радикалов КЦ1 (Рисунок 53), что соответствует

ранее полученным результатам по квантовому выходу синглетного кислорода. Полимеризация проводилась в растворе мономера триакрилат пентаэритрита (РЕТА), который является полярным и протонным растворителем. В аналогичных условиях, используя в качестве растворителя пропанол-1 было установлено увеличение квантового выхода синглетного кислорода и усиление способности генерировать радикальные интермедиаты для соединения КЦ2, по сравнению с КЦ1 [234]. Способность триплетных состояний красителей КЦ1 и КЦ2 образовывать радикалы как при однофотонном, так и при двухфотонном облучении имеет важное значение, как для инициирования процессов фотополимеризации.

Для исследованных кетоцианинов было показано, что введение метакрилатных заместителей приводит к стабилизации возбужденных состояний за счет образования водородных связей с молекулами протонных растворителей, с соответствующим увеличением квантовых выходов флуоресценции (+55%) и синглетного кислорода (+40%). В качестве мономера в процессе полимеризации использовался триакрилат пентаэритрита, который является полярной и протонной молекулой, также способной стабилизировать возбужденные состояния молекулы фотоинициатора. Показано увеличение генерации радикальных интермедиатов для нового метакрилатного производного, что указывает на улучшенные свойства данного фотоинициатора. Методом DLW-фотолитографии с использованием данного фотоинициатора были созданы различные микроструктуры с минимальным размером элемента, достигающим 45 нм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках представленной диссертационной работы были охарактеризованы фотохимические свойства ряда новых карборанилтетрапиррольных, бискарбоцианиновых и кетоцианиновых красителей и их комплексов с биомакромолекулами (альбумин, ЛПНП). Методами импульсного фотолиза было показано ключевое значение триплетных состояний красителей в процессах фотосенсибилизации. Введение карборановых заместителей в тетрапиррольные красители позволяет сохранить как флуоресцентные свойства красителей, так и выраженную фотосенсибилизирующую способность ($\Phi_{\Delta} > 0,5$), сравнимую с коммерческими препаратами для ФДТ. Создание конъюгатов карборанов и тетрапирролов позволяет получить бифункциональные терапевтические агенты, которые могут использоваться как в ФДТ, так и в бор-нейтронозахватной терапии. Сохранение флуоресцентных свойств карборан-замещенных красителей также позволяет осуществлять флуоресцентную визуализацию бора в биологических тканях. Для оценки возможности доставки фотосенсибилизаторов в клетки было проведено исследование процесса комплексообразования с такими молекулами-транспортерами как альбумин и ЛПНП. Установлено что исследуемые карборанилтетрапирролы и бискарбоцианины образуют нековалентные комплексы с данными биомакромолекулами, что сопровождается усилением флуоресценции красителей. В комплексах с белками и ЛПНП происходит стабилизация синглетно-возбужденных состояний красителей за счет увеличения жесткости структуры красителя при встраивании его в биомакромолекулу. Для бискарбоцианиновых красителей показана возможность фотосенсибилизирующего действия по механизму I-го типа (перенос электрона), с образованием анион радикала красителя. Полученный анион-радикал красителя вступая в реакцию с молекулярным кислородом может приводить к образованию цитотоксического супероксидного радикала. Разработка фотосенсибилизаторов I-го типа является перспективным направлением для терапии опухолей с выраженной гипоксией. Для кетоцианиновых красителей установлено, что новое метакрилатное производное

КЦ2 имеет более высокий квантовый выход синглетного кислорода (+40%) по сравнению с незамещенной молекулой (КЦ1) в условиях аналогичных условиям проведения фотополимеризации. Показана более высокая эффективность генерации радикальных интермедиатов для соединения КЦ2. Данные фотохимических исследований позволяют говорить о том, что новое метакрилатное производное КЦ2 является более эффективным фотоинициатором для применения в аддитивных технологиях.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что введение карборанов в тетрапиррольные красители позволяет сохранить высокие значения квантового выхода синглетного кислорода ($\Phi_{\Delta} > 0,5$), которая сравнима с коммерческими препаратами для ФДТ. При этом наличие карборановых заместителей позволяет рассматривать данные фотоактивные молекулы в качестве агентов для бор-нейтронзахватной терапии.
2. Исследованные карборанилтетрапирролы и бискарбодцианиновые красители образуют комплексы с молекулами ЧСА и ЛППП с константой связывания $K_b \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$. В процессе комплексообразования наблюдается усиление флуоресценции, как результат увеличения жесткости молекулярной структуры красителя.
3. Получены спектрально-кинетические характеристики продуктов переноса электрона на триплетное состояние красителей БКЦ1 и БКЦ2. Полученный в результате переноса электрона анион-радикал красителя в реакциях с молекулярным кислородом может образовывать супероксидный радикал. Установлено, что красители БКЦ1 и БКЦ2 могут выступать как фотосенсибилизаторы I-го типа.
4. Установлено, что введение в молекулу фотосенсибилизатора метакрилатного заместителя (КЦ2) существенно (+40%) увеличивает эффективность генерации синглетного кислорода, в условиях аналогичных условиям проведения полимеризации. Новое производное является более эффективным фотоинициатором в процессах полимеризации, применяемых в аддитивных технологиях.
5. Показано цитотоксическое влияние тетрапиррольных красителей на опухолевые клетки НСТ116 *in vitro*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ФС	фотосенсибилизатор
ФДТ	фотодинамическая терапия
АФК	активные формы кислорода
ИКК	интеркомбинационная конверсия
БКЦ	бискарбоцианиновый краситель
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ЧСА	человеческий сывороточный альбумин
БСА	бычий сывороточный альбумин
РЕТА	тетраакрилат пентаэритрита
ТФП	тетрафенилпорфирин
ТЕМПОЛ	4-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил
НСТ116	линия клеток аденокарциномы толстой кишки
BCD	бискарбоцианиновый краситель
CD	цианиновый краситель
ИК	инфракрасный
ПБС	фосфатно–солевой буфер
DMCO	диметилсульфоксид
АК	аскорбиновая кислота
НОМО (ВЗМО)	высшая занятая молекулярная орбиталь
LUMO (НВМО)	низшая вакантная молекулярная орбиталь
DHR123	Дигидрородамин 123
IC ₅₀	концентрация полумаксимального ингибирования
ДХМ	дихлорметан
DFT	теория функционала плотности

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Algorri, J.F. Photodynamic Therapy: A Compendium of Latest Reviews / Algorri J.F., Ochoa M., Roldán-Varona P., Rodríguez-Cobo L., Miguel López-Higuera J. // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – № 3. – P. 4447.
2. Fan, W. Overcoming the Achilles' heel of photodynamic therapy // *Chem. Soc. Rev.* – 2016. – Vol. 45. – № 23. – P. 6488–6519.
3. Sharma, D. Mechanisms of photodynamic / Singh S., Kumar P., Jain G. K., Aggarwal G., Almalki W. H., Kesharwani, P. // *Nanomaterials for Photodynamic Therapy*. – 2023. – P. 41–54.
4. Kou, J. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications / J. Kou, D. Dou, L. Yang // *Oncotarget*. – 2017.– Vol. 8. – № 46. – P. 81591–81603.
5. Huang, H. Emerging applications of porphyrins in photomedicine / Huang H., Song W., Rieffel J., Lovell J.F. // *Frontiers in physics*. – 2015. – Vol. 3. – P. 23.
6. Janas, K. Porphyrin and phthalocyanine photosensitizers designed for targeted photodynamic therapy of colorectal cancer / Janas K., Boniewska-Bernacka E., Dyrda G., Słota R. // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 30. – P. 115926.
7. Tsolekile, N. Porphyrin as diagnostic and therapeutic agent // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – № 14. – P. 2669.
8. Josefsen, L.B. Unique diagnostic and therapeutic roles of porphyrins and phthalocyanines in photodynamic therapy, imaging and theranostics / Josefsen L.B., Boyle R.W. // *Theranostics*. – 2012. – Vol. 2. – № 9. – P. 916–966.
9. Li, D.H. Sterically Shielded Heptamethine Cyanine Dyes for Bioconjugation and High Performance Near-Infrared Fluorescence Imaging / Li D.H., Schreiber C.L., Smith B.D. // *Angewandte Chemie – International Edition*. – 2020. – Vol. 59. – № 29. – P. 12154–12161.
10. Yang, X. Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging / Yang X., Shi C., Tong R., Qian W., Zhau H.E., Wang R., Zhu G., Cheng J., Yang V.W., Cheng T., Henary M., Streckowski L., Chung L.W.K. // *Clinical Cancer Research*. – 2010. – Vol. 16. – № 10. – P. 2833–2844.

11. Vitzthum, F. A Quantitative Fluorescence-Based Microplate Assay for the Determination of Double-Stranded DNA Using SYBR Green I and a Standard Ultraviolet Transilluminator Gel Imaging System / F. Vitzthum, G. Geiger, H. Bisswanger, H. Brunner, J. Bernhagen // *Anal. Biochemistry*. – 1999. – Vol. 276. – № 1. – P. 59–64.
12. Boni, L. Clinical applications of indocyanine green (ICG) enhanced fluorescence in laparoscopic surgery / Boni L., David G., Mangano A., Dionigi G., Rausei S., Spampatti S., Cassinotti E., Fingerhut A. // *Surgical Endoscopy*. – 2015. – Vol. 29. – № 7. – P. 2046–2055.
13. Jdrzejewska, B. Phenyltrialkylborates as co-initiators with cyanine dyes in visible light polymerization of acrylates / Jdrzejewska B., Pietrzak M., Rafiński Z. // *Polymer*. – 2011. – Vol. 52. – № 10. – P. 2110–2119.
14. Sun, K. Organic dye-based photoinitiating systems for visible-light-induced photopolymerization // *J. Polym. Sci.* – 2021. – Vol. 59. – № 13. – P. 1338–1389.
15. Schaberle, F.A. Computational study of steric and spectroscopic characteristics of bi-chromophoric cyanine dyes: Comparison with experimental data / Schaberle F.A., Galembeck S.E., Borissevitch I.E. // *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2009. – Vol. 72. – № 4. – P. 863–867.
16. Dereje, D.M. Polymethine dyes for PDT: recent advances and perspectives to drive future applications // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2022. – Vol. 21. – № 3. – P. 397–419.
17. Ciubini, B. Design and synthesis of symmetrical pentamethine cyanine dyes as NIR photosensitizers for PDT / Ciubini B., Visentin S., Serpe L., Canaparo R., Fin A., Barbero N. // *Dyes and Pigments*. – 2019. – Vol. 160 – P. 806–813.
18. Cao, J. Iodinated Cyanine Dyes for Fast Near-Infrared-Guided Deep Tissue Synergistic Phototherapy / Cao J., Chi J., Xia J., Zhang Y., Han S., Sun Y. // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2019. – Vol. 11. – № 29. – P. 25720–25729.
19. Jiao, L. A near-infrared heptamethine aminocyanine dye with a long-lived excited triplet state for photodynamic therapy / Jiao L., Song F., Cui J., Peng X. // *Chemical Communications*. – 2018. – Vol. 54. – № 66. – P. 9198–9201.

20. Usama, S.M. On the Mechanisms of Uptake of Tumor-Seeking Cyanine Dyes / Usama S.M., Lin C.M., Burgess K. // *Bioconjugate Chemistry*. – 2018. – Vol. 29 – № 11. – P. 3886–3895.
21. Lange, N. Potential of cyanine derived dyes in photodynamic therapy // *Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 13. – № 6. – P. 818.
22. Shi, C. Review on near-infrared heptamethine cyanine dyes as theranostic agents for tumor imaging, targeting, and photodynamic therapy / Shi C., Wu J.B., Pan D. // *Journal of Biomedical Optics*. – 2016. – Vol. 21. – № 5. – P. 050901.
23. Yang, X. The investigation of unique water-soluble heptamethine cyanine dye for use as NIR photosensitizer in photodynamic therapy of cancer cells / Yang X., Bai J., Qian Y. // *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2020. – Vol. 228. – P. 117702.
24. Dumur, F. Recent advances on benzylidene cyclopentanones as visible light photoinitiators of polymerization. // *Eur. Polym. J.* – 2022. – Vol. 181. – P. 111639.
25. Zhiganshina, E.R. Tetramethacrylic benzylidene cyclopentanone dye for one- and two-photon photopolymerization / Zhiganshina E.R., Arsenyev M. V., Chubich D.A., Kolymagin D.A., Pisarenko A. V., Burkatovsky D.S., Baranov E. V., Vitukhnovsky A.G., Lobanov A.N., Matital R.P., Aleynik D.Y., Chesnokov S.A. // *European Polymer Journal*. – 2022. – Vol. 162. – № 5. – P. 110917.
26. Paunović, N. Digital light 3D printing of customized bioresorbable airway stents with elastomeric properties / N. Paunović, Y. Bao, F. Brian Coulter, K. Masania, A. Karoline Geks, K. Klein, A. Rafsanjani, J. Cadalbert, P. W. Kronen, N. Kleger, A. Karol, Z. Luo, F. Rüber, D. Brambilla, B. von Rechenberg, D. Franzen, A. R. Studart, J.-C. Leroux // *Sci. Adv.* – 2021. – Vol. 7. – № 6. – P. – eabe9499.
27. Maity, N. A Personalized Multifunctional 3D Printed Shape Memory-Displaying, Drug Releasing Tracheal Stent / Maity N., Mansour N., Chakraborty P., Bychenko D., Gazit E., Cohn D. // *Advanced Functional Materials*. – 2021. – Vol. 31. – № 50. – P. 2108436.
28. Bona, A. Della 3D printing restorative materials using a stereolithographic technique: a systematic review // *Dent. Mater.* – 2021. – Vol. 37. – № 2. – P. 336–350.

29. Xu, X. Vat photopolymerization 3D printing for advanced drug delivery and medical device applications // *J. Control. Release.* – 2021. – Vol. 329. – P. 743–757.
30. Xiao, P. Visible light sensitive photoinitiating systems: Recent progress in cationic and radical photopolymerization reactions under soft conditions // *Prog. Polym. Sci.* – 2015. – Vol. 41. – № 5. – P. 32–66.
31. Dumur, F. Recent advances on benzylidene ketones as photoinitiators of polymerization // *Eur. Polym. J.* – 2022. – Vol. 178. – P. 1115200.
32. Uzdensky, A.B. The biophysical aspects of photodynamic therapy / Uzdensky A.B. // *Biophysic.* – 2016. – Vol. 61 – № 3. – P. 461–469.
33. Luo, G.F. A Self-Transformable pH-Driven Membrane-Anchoring Photosensitizer for Effective Photodynamic Therapy to Inhibit Tumor Growth and Metastasis / Luo G.F., Chen W.H., Hong S., Cheng Q., Qiu W.X., Zhang X.Z. // *Advanced Functional Materials.* – 2017. – Vol. 27. – № 36. – P. 1702122.
34. Hatz, S. Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: Addressing the issue of cell viability / Hatz S., Lambert J.D.C., Ogilby P.R. // *Photochemical and Photobiological Sciences.* – 2007. – Vol. 6. – № 10. – P. 1106–1116.
35. Spiller, W. Singlet Oxygen Quantum Yields of Different Photo-sensitizers in Polar Solvents and Micellar Solutions / W. Spiller, H. Kliesch, D. Wohrle, W. Wohrle, S. Hackbarth, B. Roder, R. Roder, G. Schnurpfeil // *J. Porph. Phtal.* – 1998.– Vol. 2. – № 2. – P. 145-158.
36. Aiken, J.D. A review of modern transition-metal nanoclusters: their synthesis, characterization, and applications in catalysis / Aiken, J.D., R. Finke // *Journal of Molecular Catalysis A-chemical.* – 1999. – Vol. 145. – P. 1–44.
37. Toshima, N. Bimetallic nanoparticles - Novel materials for chemical and physical applications / Toshima N., Yonezawa T. // *New Journal of Chemistry.* – 1998. – Vol. 22. – № 11. – P. 1179–1201.
38. Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol. 82. – № 1. – P. 47–95.

39. Manda, G. Reactive Oxygen Species, Cancer and Anti-Cancer Therapies / G. Manda, M. T. Nechifor, T.-M. Neagu // *Current Chemical Biology*. – 2009. – Vol. 3. – № 1. – P. 22-46.
40. Taverne, Y.J.H.J. Reactive oxygen species and the cardiovascular system // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 862423.
41. Montezano, A.C. Reactive oxygen species and endothelial function - Role of nitric oxide synthase uncoupling and nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2012. – Vol. 110. – № 1. – P. 87–94.
42. Duračková, Z. Free radicals and antioxidants for non-experts // Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014. – P. 3–38.
43. Sies, H. Role of metabolic H₂O₂ generation: Redox signaling and oxidative stress // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289. – № 13. – P. 8735–8741.
44. Park, J. 2-Cys peroxiredoxins: Emerging hubs determining redox dependency of mammalian signaling networks / J. Park, S. Lee, S. Lee, S. W. Kang // *Int. J. Cell Biol.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 715867.
45. Halliwell, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life // *Plant Physiol.* – 2006. – Vol. 141. – № 2. – P. 312–322.
46. Halliwell, B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? // *J. Neurochem.* – 2006. – Vol. 97. – № 6. – P. 1634–1658.
47. Young, I.S. Antioxidants in health and disease / I. S. Young, J. V Woodside // *Journal of Clinical Pathology* – 2001.– Vol. 54. – P. 176–186.
48. Sies, H. Strategies of antioxidant defense / H. Sies // *European Journal of Biochemistry*. – 1993. – Vol. 215. – № 2. – P. 213–219.
49. Pushpan, S.K. Porphyrins in Photodynamic Therapy-A Search for Ideal Photosensitizers / S. K. Pushpan, S. Venkatraman, V. G. Anand, J. Sankar, D. Parmeswaran, S. Ganesan, T. K. Chandrashekar // *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*. – 2002.– Vol. 2. – № 2. – P. 187-207.
50. Alzeibak, R. Targeting immunogenic cancer cell death by photodynamic therapy: Past, present and future // *J. Immunother. Cancer*. – 2021. – Vol. 9. – № 1. – P. e001926

51. Turubanova, V.D. Immunogenic cell death induced by a new photodynamic therapy based on photosens and photodithazine / Turubanova V.D., Balalaeva I. V., Mishchenko T.A., Catanzaro E., Alzeibak R., Peskova N.N., Efimova I., Bachert C., Mitroshina E. V., Krysko O., Vedunova M. V., Krysko D. V. // *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. – 2019. – Vol. 7 – № 350.
52. Chen, J. Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges // *Biomaterials*. – 2020. – Vol. 237. – P. 119827.
53. Chizenga, E.P. Nanotechnology in modern photodynamic therapy of cancer: A review of cellular resistance patterns affecting the therapeutic response // *Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 12. – № 7. – P. 1–21.
54. Kano, A. Tumor delivery of Photofrin® by PLL-g-PEG for photodynamic therapy / Kano A., Taniwaki Y., Nakamura I., Shimada N., Moriyama K., Maruyama A. // *Journal of Controlled Release*. – 2013. – Vol. 167. – № 3. – P. 315–321.
55. Dognini, P. Peptide-tetrapyrrole supramolecular self-assemblies: State of the art // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 3. – P. 693.
56. Dudek-Perić, A.M. Antitumor immunity triggered by melphalan is potentiated by melanoma cell surface-associated calreticulin / Dudek-Perić A.M., Ferreira G.B., Muchowicz A., Wouters J., Prada N., Martin S., Kiviluoto S., Winiarska M., Boon L., Mathieu C., Oord J. Van Den, Stas M., Gougeon M.L., Golab J., Garg A.D., Agostinis P. // *Cancer Research*. – 2015. – Vol. 75. – № 8. – P. 1603–1614.
57. Mccaughan, J.S. Photodynamic Therapy A Review / J. S. Mccaughan // *Drugs & Aging*. – 1999. – Vol. 15. – P. 49–68.
58. Kumari, P. Development of chlorin e6-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide) nanoparticles for photodynamic therapy / Kumari P., Rompicharla S.V.K., Bhatt H., Ghosh B., Biswas S. // *Nanomedicine*. – 2019. – Vol. 14. – № 7. – P. 819–834.
59. Weijer, R. Enhancing photodynamic therapy of refractory solid cancers: Combining second-generation photosensitizers with multi-targeted liposomal delivery / R. Weijer, M. Broekgaarden, M. Kos // *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. – 2015. – Vol. 23. – P. 103-131.

60. Mfouo-Tynga, I.S. Features of third generation photosensitizers used in anticancer photodynamic therapy: Review // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* – 2021. – Vol. 34. – P. 102091.
61. Plekhova, N. Development of Novel Tetrapyrrole Structure Photosensitizers for Cancer Photodynamic Therapy / Plekhova N., Shevchenko O., Korshunova O., Stepanyugina A., Tananaev I., Apanasevich V. // *Bioengineering.* – 2022. – Vol. 9. – № 2. – P. 82.
62. Борисевич, Ю.Е. Влияние π -электронного сопряжения хромофоров на реакционную способность триплетных состояний красителей с двумя хромофорами в реакциях переноса электрона / Борисевич Ю.Е., Кузьмин В.А., Ренге И.В. // *Известия академии наук СССР. Серия Химическая* – 1981. – Т. 8 – С. 1796.
63. Schaberle, F.A. Computational study of steric and spectroscopic characteristics of bi-chromophoric cyanine dyes: Comparison with experimental data / Schaberle F.A., Galembeck S.E., Borissevitch I.E. // *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2009. – Vol. 72. – № 4. – P. 863–867.
64. Давыдов, А.С. Теория молекулярных экситонов / А. С. Давыдов – Наука. – 1968.
65. Kim, J.S. A study of intramolecular H-complexes of novel bis (heptamethine cyanine) dyes / Kim J.S., Kodagahally R., Strekowski L., Patonay G. // *Talanta.* – 2005. – Vol. 67. – № 5. – P. 947–954.
66. Schaberle, F.A. Spectroscopic studies of the interaction of bichromophoric cyanine dyes with DNA. Effect of ionic strength / Schaberle F.A., Kuz'min V.A., Borissevitch I.E. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.* – 2003. – Vol. 1621. – № 2. – P. 183–191.
67. Hoogenboezem, E.N. Harnessing albumin as a carrier for cancer therapies / Hoogenboezem E.N., Duvall C.L. // *Advanced drug delivery reviews.* – 2018. – Vol. 130. – P. 73–89.
68. Sleep, D. Albumin and its application in drug delivery // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2015. – Vol. 12. – № 5. – P. 793–812.

69. Rabbani, G. Binding of erucic acid with human serum albumin using a spectroscopic and molecular docking study / Rabbani G., Baig M.H., Jan A.T., Ju Lee E., Khan M.V., Zaman M., Farouk A.E.A., Khan R.H., Choi I. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2017. – Vol. 105. – P. 1572–1580.
70. Rabbani, G. Binding of Tolperisone Hydrochloride with Human Serum Albumin: Effects on the Conformation, Thermodynamics, and Activity of HSA / Rabbani G., Lee E.J., Ahmad K., Baig M.H., Choi I. // *Molecular Pharmaceutics*. – 2018. – Vol. 15. – № 4. – P. 1445–1456.
71. Arroyo, V. Human serum albumin, systemic inflammation, and cirrhosis / Arroyo V., García-Martínez R., Salvatella X. // *Journal of Hepatology*. – 2014. – Vol. 61. – № 2. – P. 396–407.
72. Taverna, M. Specific antioxidant properties of human serum albumin / Taverna M., Marie A.L., Mira J.P., Guidet B. // *Annals of Intensive Care*. – 2013. – Vol. 3. – № 1. – P. 1–7.
73. Peters, Jr, T. All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications // Academic press. – 1995.
74. Fasano, M. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin / Fasano M., Curry S., Terreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., Ascenzi P. // *IUBMB Life*. – 2005. – Vol. 57. – № 12. – P. 787–796.
75. Petitpas, I. Crystal structures of human serum albumin complexed with monounsaturated and polyunsaturated fatty acids / Petitpas I., Grüne T., Bhattacharya A.A., Curry S. // *Journal of Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 314. – № 5. – P. 955–960.
76. Petitpas, I. Structural basis of albumin-thyroxine interactions and familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia / Petitpas I., Petersen C.E., Ha C.E., Bhattacharya A.A., Zunszain P.A., Ghuman J., Bhagavan N. V., Curry S. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2003. – Vol. 100. – № 11. – P. 6440–6445.

77. Bal, W. Binding of transition metal ions to albumin: Sites, affinities and rates / Bal W., Sokołowska M., Kurowska E., Faller P. // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. – 2013. – Vol. 1830. – № 12. – P. 5444–5455.
78. Han, X. Le Spectroscopic, structural and thermodynamic properties of chlorpyrifos bound to serum albumin: A comparative study between BSA and HSA / Han X. Le, Tian F.F., Ge Y.S., Jiang F.L., Lai L., Li D.W., Yu Q.L., Wang J., Lin C., Liu Y. // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2012. – Vol. 109. – P. 1–11.
79. Abou-Zied, O.K. Exploring the Drug-Binding Site Sudlow I of Human Serum Albumin: The Role of Water and Trp214 in Molecular Recognition and Ligand Binding / Abou-Zied O.K., Al-Lawatia N. // *ChemPhysChem*. – 2011. – Vol. 12. – № 2. – P. 270–274.
80. Zsila, F. Subdomain IB is the third major drug binding region of human serum albumin: Toward the three-sites model / Zsila F. // *Molecular Pharmaceutics*. – 2013. – Vol. 10. – № 5. – P. 1668–1682.
81. Chao, X. A fluorescent sensor recognized by the FA1 site for highly sensitive detection of HSA / Chao X., Yao D., Qi Y., Yuan C., Huang D. // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – Vol. 1188. – P. 339201.
82. Ganorkar, K. Stabilization of a potential anticancer thiosemicarbazone derivative in Sudlow site I of human serum albumin: In vitro spectroscopy coupled with molecular dynamics simulation / Ganorkar K., Mukherjee S., Singh P., Ghosh S.K. // *Biophysical Chemistry*. – 2021. – Vol. 269 – P. 106509.
83. Smith, D.A. The effect of plasma protein binding on in vivo efficacy: Misconceptions in drug discovery / Smith D.A., Di L., Kerns E.H. // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2010. – Vol. 9. – № 12. – P. 929–939.
84. Psimadas, D. Molecular Nanomedicine Towards Cancer: / Psimadas D., Georgoulas P., Valotassiou V., Loudos G. // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2012. – Vol. 101. – № 7. – P. 2271–2280.
85. Cho, H. Emerging albumin-binding anticancer drugs for tumor-targeted drug delivery: Current understandings and clinical translation / H. Cho, S. I. Jeon, C.-H. Ahn // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14. – № 4. – P. 728.

86. Rogóż, W. Comparison of Losartan and Furosemide Interaction with HSA and Their Influence on HSA Antioxidant Potential / Rogóż W., Pożycka J., Owczarzy A., Kulig K., Maciążek-Jurczyk M. // *Pharmaceuticals*. – 2022. – Vol. 15. – № 5. – P. 499.
87. Hall, M.L. Automated ligand-and structure-based protocol for in silico prediction of human serum albumin binding / Hall M.L., Jorgensen W.L., Whitehead L. // *Journal of Chemical Information and Modeling*. – 2013. – Vol. 53. – № 4. – P. 907–922.
88. Zsila, F. Circular dichroism spectroscopic detection of ligand binding induced subdomain IB specific structural adjustment of human serum albumin / Zsila F. // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2013. – Vol. 117. – № 37. – P. 10798–10806.
89. Deeb, O. Exploration of human serum albumin binding sites by docking and molecular dynamics flexible ligand - Protein interactions / Deeb O., Rosales-Hernández M.C., Gómez-Castro C., Garduño-Juárez R., Correa-Basurto J. // *Biopolymers*. – 2010. – Vol. 93. – № 2. – P. 161–170.
90. Fasano, M. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin / Fasano M., Curry S., Terreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., Ascenzi P. // *IUBMB Life*. – 2005. – Vol. 57. – № 12. – P. 787–796.
91. Divsalar, A. Probing the binding site of a new synthesized anti-cancer compound to HSA via competitive ligand binding method / Divsalar A., Khodabakhshian S. // *Journal of Molecular Liquids*. – 2015. – Vol. 206. – P. 82–88.
92. Poór, M. Quantitation of species differences in albumin-ligand interactions for bovine, human and rat serum albumins using fluorescence spectroscopy: A test case with some Sudlow's site I ligands / Poór M., Li Y., Matisz G., Kiss L., Kunsági-Máté S., Koszegi T. // *Journal of Luminescence*. – 2014. – Vol. 145. – P. 767–773.
93. Fan, J. A fluorescent probe for site I binding and sensitive discrimination of HSA from BSA / Fan J., Sun W., Wang Z., Peng X., Li Y., Cao J. // *Chemical Communications*. – 2014. – Vol. 50. – № 67. – P. 9573–9576.
94. Chugh, H. Interaction of nescapine with human serum albumin (HSA): A spectroscopic and molecular modelling approach / Chugh H., Kumar P., Tomar V., Kaur N., Sood D., Chandra R. // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2019. – Vol. 372 – P. 168–176.

95. Sugio, S. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution / Sugio S., Kashima A., Mochizuki S., Noda M., Kobayashi K. // *Protein Engineering*. – 1999. – Vol. 12. – № 6. – P. 439–446.
96. Wenskowsky, L. Identification and Characterization of a Single High-Affinity Fatty Acid Binding Site in Human Serum Albumin / Wenskowsky L., Schreuder H., Derdau V., Matter H., Volkmar J., Nazaré M., Opatz T., Petry S. // *Angewandte Chemie*. – 2018. – Vol. 130. – № 4. – P. 1056–1060.
97. Fujiwara, S.I. Fatty acid binding to serum albumin: Molecular simulation approaches / Fujiwara S.I., Amisaki T. // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. – 2013. – Vol. 1830. – № 12. – P. 5427–5434.
98. Ding, F. Determining the binding affinity and binding site of bensulfuron-methyl to human serum albumin by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence / Ding F., Liu W., Li Y., Zhang L., Sun Y. // *Journal of Luminescence*. – 2010. – Vol. 130. – № 11. – P. 2013–2021.
99. Esterbauer, H. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL / Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jürgens G. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1992. – Vol. 13. – № 4. – P. 341–390.
100. Lund-Katz, S. Packing of Cholesterol Molecules in Human Low-Density Lipoprotein / Lund-Katz S., Phillips M.C. // *Biochemistry*. – 1986. – Vol. 25. – № 7. – P. 1562–1568.
101. Lalanne, F. Distribution of diacylglycerols among plasma lipoproteins in control subjects and in patients with non-insulin-dependent diabetes / Lalanne F., Pruneta V., Bernard S., Ponsin G. // *European Journal of Clinical Investigation*. – 1999. – Vol. 29 – № 2. – P. 139–144.
102. Ravandi, A. Uptake of Low-Density Lipoprotein and Accumulation of Cholesteryl Esters and Triacylglycerols / Ravandi A., Kuksis A., Shaikh N.A. // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274. – № 23. – P. 16494–16500.
103. Chávez-Sánchez, L. The Innate Immune Response Mediated by TLRs in Atherosclerosis / Chávez-Sánchez L., Chávez-Rueda K., Legorreta-Haquet M.V.,

- Montoya-Díaz E., Blanco-Favela F. // Inflammation, chronic diseases and cancer—cell and molecular biology, immunology and clinical bases – 2012. – P. 53.
104. Knott, T. J. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B / T. J. Knott, R. J. Pease, L. M. Powell // *Nature*. – 1986. – Vol. 323. – № 6090. – P. 734-738.
105. Schumaker, V.N. Apolipoprotein B and low-density lipoprotein structure: Implications for biosynthesis of triglyceride-rich lipoproteins / Schumaker V.N., Phillips M.L., Chatterton J.E. // *Advances in Protein Chemistry*. – 1994. – Vol. 45. – № 5. – P. 205–248.
106. Flood, C. Molecular Mechanism for Changes in Proteoglycan Binding on Compositional Changes of the Core and the Surface of Low-Density Lipoprotein-Containing Human Apolipoprotein B100 / Flood C., Gustafsson M., Pitas R.E., Arnaboldi L., Walzem R.L., Borén J. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2004. – Vol. 24. – № 3. – P. 564–570.
107. Jori, G. Evidence for a major role of plasma lipoproteins as hematoporphyrin carriers in vivo / Jori G., Beltramini M., Reddi E., Salvato B., Pagnan A., Ziron L., Tomio L., Tsanov T. // *Cancer Letters*. – 1984. – Vol. 24. – № 3. – P. 291–297.
108. Reyftmann, J.P. Interaction of Human Serum Low Density Lipoproteins With Porphyrins: a Spectroscopic and Photochemical Study / Reyftmann J.P., Morliere P., Goldstein S., Santus R., Dubertret L., Lagrange D. // *Photochemistry and Photobiology*. – 1984. – Vol. 40. – № 6. – P. 721–730.
109. Kessel, D. Porphyrin-lipoprotein association as a factor in porphyrin localization / Kessel D. // *Cancer Letters*. – 1986. – Vol. 33. – № 2. – P. 183–188.
110. Barel, A. Role of high-, low- and very low-density lipoproteins in the transport and tumor-delivery of hematoporphyrin in vivo / Barel A., Jori G., Perin A., Romandini P., Pagnan A., Biffanti S. // *Cancer Letters*. – 1986. – Vol. 32. – № 2. – P. 145–150.
111. Luna, M.C. Decreased Expression and Function of α -2 Macroglobulin Receptor/Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein in Photodynamic Therapy-resistant Mouse Tumor Cells / M. C. Luna, A. Ferrario, N. Rucker, C. J. Corner // *Cancer*. – Vol. 55. – № 9. – P. 1203–1823.

112. Sokcin, M. Unusually high affinity of Zn(II)-tetradibenzobarrelenooctabutoxy-phthalocyanine for low-density lipoproteins in a tumor-bearing mouse / M. Sokcin, L. Polo, E. Reddii, G. Jori, B. D. Rihter, M. E. Kenney, M. A. J Rodgers // *Photochem. Photobiol.* – 1995. – Vol. 61. – № 3. – P. 310-312.
113. Korbelik, M. Cellular delivery and retention of photofrin: the effects of interaction with human plasma proteins / M. Korbelik, J. Hung // *Photochem. Photobiol.* – 1991. – Vol. 53. – № 4. – P. 501–510.
114. Korbelik, M. Low density lipoprotein receptor pathway in the delivery of Photofrin: how much is it relevant for selective accumulation of the photosensitizer in tumors? / M. Korbelik // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 1992. – Vol. 12. – № 1. – P. 107–109.
115. Kongshaug, M. The distribution of porphyrins with different tumour localising ability among human plasma proteins / M. Kongshaug, J. Moan, S. B. Brown // *Br J Cancer.* – 1989. – Vol. 59. – P. 184–188.
116. Martins, J. Photoactivation of phthalocyanine-loaded low density lipoproteins induces a local oxidative stress that propagates to human erythrocytes: Protection by caffeic acid / J. Martins, V. Madeira, L. Almeida, J. Laranjinha // *Free Radical Research.* – 2002. – Vol. 36. – № 3. – P. 319-328.
117. Yagci, Y. Photoinitiated polymerization: Advances, challenges, and opportunities // *Macromolecules.* – 2010. – Vol. 43. – № 15. – P. 6245–6260.
118. Chatani, S. The power of light in polymer science: Photochemical processes to manipulate polymer formation, structure, and properties // *Polym. Chem.* – 2014. – Vol. 5. – № 7. – P. 2187–2201.
119. Kamińska, I. Mechanism of interaction of coumarin-based fluorescent molecular probes with polymerizing medium during free radical polymerization of a monomer / Kamińska I., Ortyl J., Popielarz R. // *Polymer Testing.* – 2016. – Vol. 55. – P. 310–317.
120. Nowak, D. Photopolymerization of hybrid monomers: Part I: Comparison of the performance of selected photoinitiators in cationic and free-radical polymerization of hybrid monomers / Nowak D., Ortyl J., Kamińska-Borek I., Kukuła K., Topa M., Popielarz R. // *Polymer Testing.* – 2017. – Vol. 64. – P. 313–320.

121. Nowak, D. Photopolymerization of hybrid monomers, Part II: Determination of relative quantum efficiency of selected photoinitiators in cationic and free-radical polymerization of hybrid monomers / Nowak D., Ortyl J., Kamińska-Borek I., Kukuła K., Topa M., Popielarz R. // *Polymer Testing*. – 2018. – Vol. 67. – P. 144–150.
122. Kostrzewska, K. Squarylium dye and onium salts as highly sensitive photoradical generators for blue light / Kostrzewska K., Ortyl J., Dobosz R., Kabatc J. // *Polymer Chemistry*. – 2017. – Vol. 8. – № 22. – P. 3464–3474.
123. Glöckner, P. Radiation Curing: Coating and Printing Inks-Technical basics, Applications & Trouble shooting / Glöckner P., Jung T., Struck S., Studer K. // *European Coating Tech Files, Vincentz Network GmbH & Co. KG, Hannover*. – 2008.
124. Green, W.A. Industrial photoinitiators: a technical guide / W. A. Green // *CRC Press*. – 2010.
125. Czech, Z. Acrylic Pressure-Sensitive Adhesives Containing SiO Nanoparticles / Czech Z., Kowalczyk A., Ortyl J., Świdarska J. // *Polish Journal of Chemical Technology*. – 2013. – Vol. 15. – № 1. – P. 12–14.
126. Chen, R.T. Photopolymer-based waveguide holograms for optoelectronic interconnect applications // *SPIE Polymers in Optics: Physics, Chemistry, and Applications*. – 1996. – P. 48–66.
127. Bagheri, A. Photopolymerization in 3D Printing // *ACS Appl. Polym. Mater.* – 2019. – Vol. 1. – № 4. – P. 593–611.
128. Tomal, W. Development of new high-performance biphenyl and terphenyl derivatives as versatile photoredox photoinitiating systems and their applications in 3D printing photopolymerization processes / Tomal W., Pilch M., Chachaj-Brekiesz A., Ortyl J. // *Catalysts*. – 2019. – Vol. 9. – № 10. – P. 827.
129. Liska, R. Photopolymers for rapid prototyping / Liska R., Schuster M., Inführ R., Turecek C., Fritscher C., Seidl B., Schmidt V., Kuna L., Haase A., Varga F., Lichtenegger H., Stampfl J. // *Journal of Coatings Technology and Research*. – 2007. – Vol. 4. – № 4. – P. 505–510.
130. Hola, E. New, highly versatile bimolecular photoinitiating systems for free-radical, cationic and thiol-ene photopolymerization processes under low light intensity UV and

visible LEDs for 3D printing application / Hola E., Topa M., Chachaj-Brekiesz A., Pilch M., Fiedor P., Galek M., Ortyl J. // *RSC Advances*. – 2020. – Vol. 10. – № 13. – P. 7509–7522.

131. Fiedor, P. Photochemical study of a new bimolecular photoinitiating system for vat photopolymerization 3D printing techniques under visible light / Fiedor P., Pilch M., Szymaszek P., Chachaj-Brekiesz A., Galek M., Ortyl J. // *Catalysts*. – 2020. – Vol. 10 – № 3. – P. 84.

132. Zhang, J. 3D printing of photopolymers // *Polym. Chem.* – 2018. – Vol. 9. – № 13. – P. 1530–1540.

133. Baroli, B. Photopolymerization of biomaterials: Issues and potentialities in drug delivery, tissue engineering, and cell encapsulation applications // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 81. – № 4. – P. 491–499.

134. Fisher, J.P. Photoinitiated polymerization of biomaterials / J. P. Fisher, D. Dean, P. S. Engel, A. G. Mikos // *Annual review of materials research*. – 2001. – Vol. 31 – № 1. – P. 171–181.

135. Stansbury, J.W. Curing Dental Resins and Composites by Photopolymerization / J. W. Stansbury // *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. – 2000. – Vol. 12. – P. 300-308.

136. Khosroshahi, M.E. Photopolymerization of dental resin as restorative material using an argon laser / Khosroshahi M.E., Atai M., Nourbakhsh M.S. // *Lasers in Medical Science*. – 2008. – Vol. 23. – № 4. – P. 399–406.

137. Maffezzoli, A. Photopolymerization of dental composite matrices / A. Maffezzoli, A. Della Pietra, S. Rengo, L. Nicolais, G. Valletta. // *Biomaterials*. – 1994. – Vol. 15. – № 15. – P. 1221-1228.

138. Dickens, S.H. Photopolymerization kinetics of methacrylate dental resins / Dickens S.H., Stansbury J.W., Choi K.M., Floyd C.J.E. // *Macromolecules*. – 2003. – Vol. 36. – № 16. – P. 6043–6053.

139. Peppas, N.A. Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology // *Adv. Mater.* – 2006. – Vol. 18. – № 11. – P. 1345–1360.

140. Ifkovits, J.L. Review: Photopolymerizable and degradable biomaterials for tissue engineering applications // *Tissue Eng.* – 2007. – Vol. 13. – № 10. – P. 2369–2385.
141. Censi, R. A printable photopolymerizable thermosensitive p(HPMAM-lactate)-PEG hydrogel for tissue engineering / Censi R., Schuurman W., Malda J., Dato G. Di, Burgisser P.E., Dhert W.J.A., Nostrum C.F. Van, Martino P. Di, Vermonden T., Hennink W.E. // *Advanced Functional Materials.* – 2011. – Vol. 21. – № 10. – P. 1833–1842.
142. Gonen-Wadmany, M. Protein-polymer conjugates for forming photopolymerizable biomimetic hydrogels for tissue engineering / Gonen-Wadmany M., Oss-Ronen L., Seliktar D. // *Biomaterials.* – 2007. – Vol. 28. – № 26. – P. 3876–3886.
143. Leach, J.B. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: Natural, biodegradable tissue engineering scaffolds / Leach J.B., Bivens K.A., Patrick C.W., Schmidt C.E. // *Biotechnology and Bioengineering.* – 2003. – Vol. 82. – № 5. – P. 578–589.
144. Quick, D.J. Gene Delivery in Tissue Engineering: A Photopolymer Platform to Coencapsulate Cells and Plasmid DNA / D. J. Quick, K. S. // *Pharmaceutical Research.* – 2003. – Vol. 20. – P. 1730-1737.
145. Herr, A.E. Photopolymerized cross-linked polycrylamide gels for on-chip protein sizing / Herr A.E., Singh A.K. // *Analytical Chemistry.* – 2004. – Vol. 76. – № 16. – P. 4727–4733.
146. Cao, Q. Visible-light induced emulsion photopolymerization with carbon nitride as a stabilizer and photoinitiator / Cao Q., Heil T., Kumru B., Antonietti M., Schmidt B.V.K.J. // *Polymer Chemistry.* – 2019. – Vol. 10. – № 39. – P. 5315–5323.
147. Pereira, R.F. Photopolymerizable hydrogels in regenerative medicine and drug delivery // *Future Medicine.* – 2014. – P. 6–28.
148. Censi, R. Photopolymerized thermosensitive hydrogels for tailorable diffusion-controlled protein delivery / Censi R., Vermonden T., Steenbergen M.J. van, Deschout H., Braeckmans K., Smedt S.C. De, Nostrum C.F. van, Martino P. di, Hennink W.E. // *Journal of Controlled Release.* – 2009. – Vol. 140. – № 3. – P. 230–236.

149. Elisseeff, J. Transdermal photopolymerization for minimally invasive implantation / J. Elisseeff, K. Anseth, D. Sims, W. McIntosh, M. Randolph, R. Langer // PNAS. – 1999. – Vol. 96. – № 6. – P. 3104–3107.
150. Lu, S. Photopolymerization of multilaminated poly(HEMA) hydrogels for controlled release / S. Lu, K. S. Anseth // J. Contr. Release. – 1999. – Vol. 27. – № 36. – P. 291–300.
151. Ye, Q. Effect of photoinitiators on the in vitro performance of a dentin adhesive exposed to simulated oral environment / Ye Q., Park J., Topp E., Spencer P. // Dental Materials. – 2009. – Vol. 25. – № 4. – P. 452–458.
152. Kunio, I. A review of the development of radical photopolymerization initiators used for designing light-curing dental adhesives and resin composites // Dent. Mater. J. – 2010. – Vol. 29. – № 5. – P. 481–501.
153. Salgado, V.E. Photoinitiator system and water effects on C=C conversion and solubility of experimental etch-and-rinse dental adhesives / Salgado V.E., Cavassoni D., Gonçalves A.P.R., Pfeifer C., Moraes R.R., Schneider L.F. // International Journal of Adhesion and Adhesives. – 2017. – Vol. 72 – P. 6–9.
154. Albuquerque, P.P.A.C. Color stability, conversion, water sorption and solubility of dental composites formulated with different photoinitiator systems / Albuquerque P.P.A.C., Moreira A.D.L., Moraes R.R., Cavalcante L.M., Schneider L.F.J. // Journal of Dentistry. – 2013. – Vol. 41 – № 3. – P. e67–e72.
155. Clapper, J.D. Development and characterization of photopolymerizable biodegradable materials from PEG-PLA-PEG block macromonomers / Clapper J.D., Skeie J.M., Mullins R.F., Guymon C.A. // Polymer. – 2007. – Vol. 48. – № 22. – P. 6554–6564.
156. Wang, K. Preparation and properties of cyclic acetal based biodegradable gel by thiol-ene photopolymerization / Wang K., Lu J., Yin R., Chen L., Du S., Jiang Y., Yu Q. // Materials Science and Engineering C. – 2013. – Vol. 33. – № 3. – P. 1261–1266.
157. Kim, B.S. Biodegradable photo-crosslinked poly(ether-ester) networks for lubricious coatings / B. S. Kim, J. S. Hrkach, R. Langer // Biomedicine. – 2000. – Vol. 21. – № 3. – P. 259–265.

158. Claeysens, F. Three-dimensional biodegradable structures fabricated by two-photon polymerization / Claeysens F., Hasan E.A., Gaidukeviciute A., Achilleos D.S., Ranella A., Reinhardt C., Ovsianikov A., Shizhou X., Fotakis C., Vamvakaki M., Chichkov B.N., Farsari M. // *Langmuir*. – 2009. – Vol. 25. – № 5. – P. 3219–3223.
159. Hiemstra, C. Rapidly in situ forming biodegradable robust hydrogels by combining stereocomplexation and photopolymerization / Hiemstra C., Zhou W., Zhong Z., Wouters M., Feijen J. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2007. – Vol. 129. – № 32. – P. 9918–9926.
160. Elisseeff, J. Controlled-release of IGF-I and TGF- β 1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering / J. Elisseeff, W. Mcintosh, K. Fu, T. Blunk, R. Langer // *J. Orthop. Res.* – 2001. – Vol. 19. – № 6. – P. 1098–1099.
161. Mann, B.K. Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains: synthetic ECM analogs for tissue engineering / B. K. Mann, A. S. Gobin, A. T. Tsai, R. H. Schmedlen, J. L. West // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22. – № 22. – P. 3045-3051.
162. Bryant, S.J. Designing 3D photopolymer hydrogels to regulate biomechanical cues and tissue growth for cartilage tissue engineering / Bryant S.J., Nicodemus G.D., Villanueva I. // *Pharmaceutical Research*. – 2008. – Vol. 25. – № 10. – P. 2379–2386.
163. Shapira-Schweitzer, K. A photopolymerizable hydrogel for 3-D culture of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes and rat neonatal cardiac cells / Shapira-Schweitzer K., Habib M., Gepstein L., Seliktar D. // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* – 2009. – Vol. 46. – № 2. – P. 213–224.
164. Wang, H. Fabrication of PU/PEGMA crosslinked hybrid scaffolds by in situ UV photopolymerization favoring human endothelial cells growth for vascular tissue engineering / Wang H., Feng Y., An B., Zhang W., Sun M., Fang Z., Yuan W., Khan M. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2012. – Vol. 23. – № 6. – P. 1499–1510.
165. Skardal, A. Photocrosslinkable hyaluronan-gelatin hydrogels for two-step bioprinting / Skardal A., Zhang J., McCoard L., Xu X., Oottamasathien S., Prestwich G.D. // *Tissue Engineering - Part A*. – 2010. – Vol. 16. – № 8. – P. 2675–2685.

166. Tytgat, L. *Photopolymerizable Materials for Cell Encapsulation* Springer International Publishing. – 2018. – P. 353–396.
167. Younes, H.M. *Photopolymerization of Polymeric Composites in Drug Delivery, Tissue Engineering, and Other Biomedical Applications* // Springer. – 2019. – P. 271–297.
168. Zhong, C. Synthesis, characterization and cytotoxicity of photo-crosslinked maleic chitosan-polyethylene glycol diacrylate hybrid hydrogels / Zhong C., Wu J., Reinhart-King C.A., Chu C.C. // *Acta Biomaterialia*. – 2010. – Vol. 6. – № 10. – P. 3908–3918.
169. West, J.L. Comparison of covalently and physically cross-linked polyethylene glycol-based hydrogels for the prevention of postoperative adhesions in a rat model / J. L. West, J. A. Hubbell // *Biomaterial*. – 1995. – Vol. 16. – № 15. – P. 1153–1156.
170. Paepe, I. De Novel hydrogels based on methacrylate-modified agarose / Paepe I. De, Declercq H., Cornelissen M., Schacht E. // *Polymer International*. – 2002. – Vol. 51. – № 10. – P. 867–870.
171. Nieuwenhove, I. Van Photo-crosslinkable biopolymers targeting stem cell adhesion and proliferation: the case study of gelatin and starch-based IPNs / Nieuwenhove I. Van, Vlierberghe S. Van, Salamon A., Peters K., Thienpont H., Dubruel P. // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2015. – Vol. 26. – № 104.
172. Fedorovich, N.E. The effect of photopolymerization on stem cells embedded in hydrogels / Fedorovich N.E., Oudshoorn M.H., Geemen D. van, Hennink W.E., Alblas J., Dhert W.J.A. // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30. – № 3. – P. 344–353.
173. Moad, G. *The chemistry of radical polymerization* / G. Moad, D. H. Solomon // Elsevier – 2006.
174. Gou, L. Consumption of the molecular oxygen in polymerization systems using photosensitized oxidation of dimethylantracene / Gou L., Opheim B., Coretsopoulos C.N., Scranton A.B. // *Chemical Engineering Communications*. – 2006. – Vol. 193. – № 5. – P. 620–627.
175. Dumur, F. Recent advances on carbazole-based photoinitiators of polymerization // *Eur. Polym. J.* – 2020. – Vol. 125. – P. 109503.

176. Zhou, J. Progress in the development of polymeric and multifunctional photoinitiators // *Prog. Polym. Sci.* – 2019. – Vol. 99. – P. 101165.
177. Wei, X. Theoretical Investigation of Ru (II) Complexes with Long Lifetime and a Large Two-Photon Absorption Cross-Section in Photodynamic Therapy / Cui W.B., Qin G.Y., Zhang X.E., Sun F.Y., Li H., Guo J.F., Ren A.M. // 2023. *Journal of Medicinal Chemistry* – 2023.– Vol. 66. – №6. – P. 66.
178. Eibel, A. Choosing the ideal photoinitiator for free radical photopolymerizations: Predictions based on simulations using established data / Eibel A., Fast D.E., Gescheidt G. // *Polymer Chemistry.* – 2018. – Vol. 9. – № 41. – P. 5107–5115.
179. Ciuciu, A.I. Two-photon polymerization of hydrogels-versatile solutions to fabricate well-defined 3D structures // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4. – № 85. – P. 45504–45516.
180. Liao, W. Photobleachable cinnamoyl dyes for radical visible photoinitiators / Liao W., Xu C., Wu X., Liao Q., Xiong Y., Li Z., Tang H. // *Dyes and Pigments.* – 2020. – Vol. 178. – P. 108350
181. Nguyen, K.T. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications / K. T. Nguyen, J. L. West // *Biomaterials.* – 2002. – Vol. 23. – № 22. – P. 4307–4314.
182. Allushi, A. Conventional Type II photoinitiators as activators for photoinduced metal-free atom transfer radical polymerization / Allushi A., Kutahya C., Aydogan C., Kreutzer J., Yilmaz G., Yagci Y. // *Polymer Chemistry.* – 2017. – Vol. 8. – № 12. – P. 1972–1977.
183. Weiß, T. Two-photon polymerization for microfabrication of three-dimensional scaffolds for tissue engineering application / T. Weiß, G. Hildebrand, R. Schade, K. Liefelth // *Engineering in Life Sciences.* – 2009. – Vol. 9. – № 5. – P. 384-390.
184. Tromayer, M. A biocompatible diazosulfonate initiator for direct encapsulation of human stem cells : Via two-photon polymerization / Tromayer M., Dobos A., Gruber P., Ajami A., Dedic R., Ovsianikov A., Liska R. // *Polymer Chemistry.* – 2018. – Vol. 9. – № 22. – P. 3108–3117.
185. Woo, H.Y. Water-soluble [2.2]-paracyclophane chromophores with large two-photon action cross sections / Woo H.Y., Hong J.W., Liu B., Mikhailovsky A.,

- Korystov D., Bazan G.C. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – Vol. 127. – № 3. – P. 820–821.
186. Wrzyszczyński, A. Dwufotonowe inicjatory polimeryzacji / Wrzyszczyński A. // *Polimery*. – 2010. – Vol. 55. – № 3. – P. 167-171.
187. Taniguchi, M. Comprehensive review of photophysical parameters (ϵ , Φ_f , τ_s) of tetraphenylporphyrin (H₂TPP) and zinc tetraphenylporphyrin (ZnTPP) – Critical benchmark molecules in photochemistry and photosynthesis // *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* – 2021. – Vol. 46. – P. 100401.
188. Reinhard, S. Effect of solvent on the phosphorescence rate constant of singlet molecular oxygen / Reinhard S., Ebrahim A. // *Journal of Physical Chemistry*. – 1990. – Vol. 94. – № 10. – P. 4377–4378.
189. Orzeł, L. New trends in the application of laser flash photolysis-case studies // *J. Coord. Chem.* – 2010. – Vol. 63. – № 14. – P. 2695–2714.
190. St Croix, C.M. Confocal microscopy: comparisons, applications, and problems. / St Croix C.M., Shand S.H., Watkins S.C. // *BioTechniques*. – 2005. – Vol. 39. – № 65.
191. Neese, F. The ORCA program system / Neese F. // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* – 2012. – Vol. 2. – № 1. – P. 73–78.
192. Hanwell, M.D. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform / Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R. // *Journal of cheminformatics*. – 2012. – Vol. 4. – № 1. – P. 1–17.
193. Ol'shevskaya, V.A. The synthetic fluorinated tetracarboranylchlorin as a versatile antitumor photoradiosensitizer / Ol'shevskaya V.A., Zaitsev A. V., Petrova A.S., Arkhipova A.Y., Moisenovich M.M., Kostyukov A.A., Egorov A.E., Koroleva O.A., Golovina G. V., Volodina Y.L., Kalinina E. V., Kuzmin V.A., Sakurai Y., Tanaka H., Miyoshi N., Shtil A.A. // *Dyes and Pigments*. – 2021. – Vol. 186. – P. 108993.
194. Ol'shevskaya, V.A. Synthesis of boronated meso-arylporphyrins via copper-catalyzed 1, 3-dipolar cycloaddition reaction and their binding ability towards albumin and low density lipoproteins / Ol'shevskaya V.A., Zaitsev A. V, Makarenkov A. V, Kononova, E.G., Markova A.A., Kostyukov A.A., Egorov A.E., Klimovich M.A.,

- Koroleva O.A., Kuzmin V.A. // *Journal of Organometallic Chemistry*. – 2020. – Vol. 916. – P. 121248.
195. Ol'shevskaya, V.A. β -Maleimide substituted meso-arylporphyrins: Synthesis, transformations, physico-chemical and antitumor properties / Ol'shevskaya V.A., Alpatova V.M., Radchenko A.S., Ramonova A.A., Petrova A.S., Tatarskiy V. V., Zaitsev A. V., Kononova E.G., Ikonnikov N.S., Kostyukov A.A., Egorov A.E., Moisenovich M.M., Kuzmin V.A., Bragina N.A., Shtil A.A. // *Dyes and Pigments*. – 2019. – Vol. 171. – P. 107760.
196. Huang, H. Emerging applications of porphyrins in photomedicine / Huang H., Song W., Rieffel J., Lovell J.F. // *Frontiers in physics*. – 2015. – Vol. 3. – P. 23.
197. Ilatovskij, V.A. Photovoltaic activity of films prepared from extracoordinated tetrapyrrole compounds / Ilatovskij V.A., Shaposhnikov G.P., Dmitriev I.B., Rudakov V.M., Komissarov G.G. // *Zhurnal Fizicheskoy Khimii*. – 1999. – Vol. 73. – № 11. – P. 2058–2061.
198. Ma, X. Recent advances in bioprobes and biolabels based on cyanine dyes / Ma X., Shi L., Zhang B., Liu L., Fu Y., Zhang X. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2022. – Vol. 414. – № 16. – P. 4551–4573.
199. Stevens, L.M. “Invisible” Digital Light Processing 3D Printing with Near Infrared Light / Stevens L.M., Tagnon C., Page Z.A. // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2022. – Vol. 14. – № 20. – P. 22912–22920.
200. Shindy, H.A. Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review / Shindy H.A. // *Dyes and Pigments*. – 2017. – Vol. 145. – P. 505–513.
201. Morville, C. Photolytical reactions for light induced biological effectors release: on the road to the phototherapeutic window / Morville C., Chaud J., Bolze F., Specht A. // *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. – 2021. – Vol. 101. – № 3. – P. 291–304.
202. Aravindu, K. Synthesis and photophysical properties of chlorins bearing 0-4 distinct meso-substituents / Aravindu K., Kim H. J., Taniguchi M., Dilbeck P. L., Diers J. R., Bocian D. F., Holten D., Lindsey J. S. // *Photochemical and Photobiological Sciences*. – 2013. – Vol. 12. – № 12. – P. 2089–2109.

203. Bonnett, R. Photophysical properties of 5,10,15,20-tetrakis(m-hydroxyphenyl)-porphyrin (m-THPP), 5,10,15,20-tetrakis(m-hydroxyphenyl)chlorin (m-THPC) and 5,10,15,20-tetrakis(m-hydroxyphenyl)bacteriochlorin (m-THPBC): A comparative study / Bonnett R., Charlesworth P., Djelal B., Foley S., Mcgarvey D., Truscott T. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* – 1999. – P. 325–328.
204. Gouterman, M. Porphyrins. Excited states and dynamics / Gouterman M., Rentzepis P. M., Straub K. D. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1987. – Vol. 109 – 109. – №11.
205. Gouterman, M. Optical spectra and electronic structure of porphyrins and related rings / Gouterman M. // *The porphyrins 3.* – 1978.
206. Brouwer, A.M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report) / Brouwer A.M. // *Pure and Applied Chemistry.* – 2011. – Vol. 83. – № 12. – P. 2213–2228.
207. Moman, R.N. Physiology, albumin / Moman R.N., Gupta N., Varacallo M. // *StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)* – 2022.
208. Evoli, S. Multiple binding modes of ibuprofen in human serum albumin identified by absolute binding free energy calculations / Evoli S., Mobley D.L., Guzzi R., Rizzuti B. // *Physical Chemistry Chemical Physics.* – 2016. – Vol. 18. – № 47. – P. 32358–32368.
209. Bujacz, A. Structures of bovine, equine and leporine serum albumin / Bujacz A. // *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography.* – 2012. – Vol. 68. – № 10. – P. 1278–1289.
210. Akimova, A. V Interaction with serum albumin as a factor of the photodynamic efficacy of novel bacteriopurpurinimide derivatives / Akimova A. V, Rychkov G.N., Filippova, N.A., Golovina G. V, Durandin N.A., Vinogradov A.M., Kokrashvili T.A. // *Acta Naturae.* – 2015. – Vol. 7. – № 1. – P. 109–116.
211. Ascenzi, P. Serum heme-albumin: an allosteric protein / Ascenzi P., Fasano M. // *IUBMB life.* – 2009. – Vol. 61. – № 12. – P. 1118–1122.
212. Tomal, W. Water-soluble photoinitiators in biomedical applications / Tomal W., Ortyl J. // *Polymers.* – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. 1073.

213. Yang, N. Modeling of low-density lipoprotein (LDL) transport in the artery—effects of hypertension / Yang N., Vafai K. // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2006. – Vol. 49. – № 5. – P. 850–867.
214. Mojzisova, H. The pH-dependent distribution of the photosensitizer chlorin e6 among plasma proteins and membranes: A physico-chemical approach / Mojzisova H., Bonneau S., Vever-Bizet C., Brault D. // *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*. – 2007. – Vol. 1768. – № 2. – P. 366–374.
215. Saltiel, J. Spin-statistical factors in diffusion-controlled reactions / Saltiel J., Atwater B.W. // *Advances in Photochemistry*. – 2009. – Vol. 14. – P. 1–90.
216. Kuzmin, V.A. Energy transfer in the course of triplet state quenching of aromatic hydrocarbons by nitroxyl radicals / Kuzmin V.A., Tatikolov A.S. // *Chemical Physics Letters*. – 1978. – Vol. 53. – № 3. – P. 606–610.
217. Harriman, A. Luminescence of porphyrins and metalloporphyrins. Part 3. - Heavy-atom effects / Harriman A. // *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*. – 1981. – Vol. 77. – № 7. – P. 1281–1291.
218. Костюков, А.А. Взаимодействие триплетного состояния бискарбоцианинового красителя с нитроксильным радикалом / Костюков А.А., Некипелова Т.Д., Борисевич Ю. Е., Кузьмин В. А. // *Химия Высоких Энергий*. – 2019. – Т. 53. – №1. – С. 76–78.
219. Gijzeman, O.L.J. Quenching of aromatic triplet states in solution by nitric oxide and other free radicals / Gijzeman O.L.J., Kaufman F., Porter G. // *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*. – 1973. – Vol. 69. – P. 727–737.
220. Егоров, А.Е. Взаимодействие триплетного состояния модифицированного порфиринового красителя с нитроксильным радикалом / Егоров А.Е., Костюков А.А., Алпатова В.М., Ольшевская В.А., Кузьмин В.А. // *Химия высоких энергий*. – 2021. – Т. 55. – № 1. – С. 98–100.
221. Colvin, M.T. Ultrafast intersystem crossing and spin dynamics of zinc meso-tetraphenylporphyrin covalently bound to stable radicals / Colvin M.T., Smeigh A.L.,

- Giacobbe E.M., Conron S.M.M., Ricks A.B., Wasielewski M.R. // *The Journal of Physical Chemistry A*. – 2011. – Vol. 115. – № 26. – P. 7538–7549.
222. Jenks, W.S. Exchange effects and CIDEP / Jenks W.S., Turro N.J. // *Research on chemical intermediates*. – 1990. – Vol. 13 – P. 237–300.
223. DeRosa, M.C. Photosensitized singlet oxygen and its applications / DeRosa M.C., Crutchley R.J. // *Coordination Chemistry Reviews*. – 2002. – Vol. 233. – P. 351–371.
224. Mojzisoval, H. Photosensitizing properties of chlorins in solution and in membrane-mimicking systems / Mojzisoval H., Bonneau S., Maillard P., Berg K., Brault D. // *Photochemical and Photobiological Sciences*. – 2009. – Vol. 8. – № 6. – P. 778-787.
225. Hak, A. Chlorin e6: A Promising Photosensitizer in Photo-Based Cancer Nanomedicine / Hak A., Ali M. S., Sankaranarayanan S. A., Shinde V. R., Rengan A. K. // *ACS Appl Bio Mater*. – 2023. – Vol. 6. – № 2. – P. 349-364.
226. Bœuf-Muraille, G. Evaluation of mTHPC-loaded PLGA nanoparticles for in vitro photodynamic therapy on C6 glioma cell line / Bœuf-Muraille G., Rigaux G., Callewaert M., Zambrano N., Van Gulick L., Roullin V. G., Terryn C., Andry M. C., Chuburu F., Dukic S., Molinari M. // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2019. – Vol. 25. – P. 448-455.
227. Banfi, S. Photodynamic effects of porphyrin and chlorin photosensitizers in human colon adenocarcinoma cells / Banfi S., Caruso E., Caprioli S., Mazzagatti L., Canti G., Ravizza R., Gariboldi M., Monti E. // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. – 2004. – Vol. 12. – № 18. – P. 4853-4860.
228. Murakami, L. S. Photocytotoxicity of a cyanine dye with two chromophores toward melanoma and normal cells / Murakami L. S., Ferreira L. P., Santos J. S., da Silva R. S., Nomizo A., Kuz'min V. A., Borissevitch I. E. // *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. – 2015. – Vol. 1850. – № 6. – P. 1150-1157.
229. Egorov, A.E. Photoinduced electron transfer from electron donor to bis-carbocyanine dye in excited triplet state / Egorov A.E., Kostyukov A.A., Borissevitch I.E., Kuzmin V.A. // *Mendeleev Communications*. – 2021. – Vol. 31. – № 1. – P. 68–69.

230. Егоров, А.Е. Фотовосстановление триплетного состояния бискарбонианинового красителя / Егоров А.Е., Костюков А.А., Некипелова Т.Д., Радченко А.Ш., Шибаета А.В., Климович М.А., Борисевич Ю.Е., Кузьмин В.А. // *Химия высоких энергий*. – 2020. – Т. 54. – № 2. – С. 155–157.
231. Zhang, F. Multi-branched benzylidene ketone based photoinitiators for multiphoton fabrication / Zhang F., Hu Q., Castañon A., He Y., Liu Y., Paul B.T., Tuck C.J., Hague R.J., Wildman R.D. // *Additive Manufacturing*. – 2017. – Vol. 16. – P. 206–212.
232. Fu, H. Photopolymerization of acrylate resin and ceramic suspensions with benzylidene ketones under blue/green LED / Fu H., Qiu Y., You J., Hao T., Fan B., Nie J., Wang T. // *Polymer*. – 2019. – Vol. 184. – P. 121841.
233. Li, Z. A straightforward synthesis and structure-activity relationship of highly efficient initiators for two-photon polymerization / Li Z., Pucher N., Cicha K., Torgersen J., Ligon S.C., Ajami A., Husinsky W., Rosspeintner A., Vauthey E., Naumov S., Scherzer T., Stampfl J., Liska R. // *Macromolecules*. – 2013. – Vol. 46. – № 2. – P. 352–361.
234. Egorov, A.E. Benzylidene Cyclopentanone Derivative Photoinitiator for Two-Photon Photopolymerization-Photochemistry and 3D Structures Fabrication for X-ray Application / Egorov A.E., Kostyukov A.A., Shcherbakov D.A., Kolymagin D.A., Chubich D.A., Matital R.P., Arsenyev M. V, Burtsev I.D., Mestergazi M.G., Zhiganshina E.R. // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15. – № 1. – P. 71.
235. Pivovarenko, V.G. Bands separation in fluorescence spectra of ketocyanine dyes: Evidence for their complex formation with monohydric alcohols / Pivovarenko V.G., Klueva A. V., Doroshenko A.O., Demchenko A.P. // *Chemical Physics Letters*. – 2000. – Vol. 325. – № 4. – P. 389–398.
236. Parkanyi, C. Dipole moments of indoles in their ground and the first excited singlet states / C. Parkanyi, S. Rao Oruganti, V. Szentpaly, B. Ngom, J. Aaron / *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. – 1986. – Vol. 51. – P. 105–116.
237. Belay, A. Effects of solvent polarity on the absorption and fluorescence spectra of chlorogenic acid and caffeic acid compounds: Determination of the dipole moments /

Belay A., Libnedengel E., Kim H.K., Hwang Y.H. // *Luminescence*. – 2016. – Vol. 31 – № 1. – P. 118–126.

238. Aaron, J.J. Quantitative treatment of the solvent effects on the electronic absorption and fluorescence spectra of acridines and phenazines. The ground and first excited singlet-state dipole moments / Aaron J.J., Maafi M., Párkányi C., Boniface C. // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*. – 1995. – Vol. 51. – № 4. – P. 603–615.

239. Marcotte, N. Influence of a second donor and of rotational isomers on the solvatochromic properties of ketocyanine fluorophores / Marcotte N., Fery-Forgues S. // *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions*. – 2000. – № 8. – P. 1711–1716.

240. Barnabas, M. V Solvent effects on the photochemistry of a ketocyanine dye and its functional analog. Michler's ketone / Barnabas M. V, Liu A.D., Trifunac A.D., Krongauz V. V, Chang C.T. // *The Journal of Physical Chemistry*. – 1992. – Vol. 96. – № 1. – P. 212–217.

241. Limberg, D.K. Triplet-Triplet Annihilation Photopolymerization for High-Resolution 3D Printing / Limberg D.K., Kang J.H., Hayward R.C. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2022. – Vol. 144. – № 12. – P. 5226–5232.

242. Huang, X. Study on a polymerizable visible light initiator for fabrication of biosafety materials / Huang X., Zhang Y.Y., Shi M., Zhang Y.Y., Zhao Y. // *Polymer Chemistry*. – 2019. – Vol. 10 – № 18. – P. 2273–2281.

243. El-Sayed, M.A. Spin-orbit coupling and the radiationless processes in nitrogen heterocyclics / El-Sayed M.A. // *The Journal of Chemical Physics*. – 1963. – Vol. 38. – № 12. – P. 2834–2838.

244. Brown, R.G. Photochemistry of Michler's Ketone in Cyclohexane and Alcohol Solvents / R. G. Brown, G. Porter // *J. Chem. Soc., Faraday Trans*. – 1977. – Vol. 73. – P. 1569–1573.

245. Reynolds, E.W. Viscosity and temperature effects on the rate of oxygen quenching of tris-(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) / Reynolds E.W., Demas J.N., Degraff B.A. // *Journal of Fluorescence*. – 2013. – Vol. 23. – № 2. – P. 237–241.

246. Sato, T. Solubility of oxygen in organic solvents and calculation of the Hansen solubility parameters of oxygen / Sato T., Hamada Y., Sumikawa M., Araki S., Yamamoto H. // *Industrial and Engineering Chemistry Research*. – 2014. – Vol. 53. – № 49. – P. 19331–19337.
247. Franco, C. Photochemical determination of the solubility of oxygen in various media / C. Franco, J. Olmsted // *Talanta*. – 1990.– Vol. 37. – №9. – P. 905–909.
248. Huang, X. Study on a polymerizable visible light initiator for fabrication of biosafety materials / Huang X., Zhang Y.Y., Shi M., Zhang Y.Y., Zhao Y. // *Polymer Chemistry*. – 2019. – Vol. 10 – № 18. – P. 2273–2281.
249. Christmann, J. The role of ketyl radicals in free radical photopolymerization: New experimental and theoretical insights / Christmann J., Allonas X., Ley C., Croutxé-Barghorn C. // *Polymer Chemistry*. – 2019. – Vol. 10. – № 9. – P. 1099–1109.