

DOI: 10.6060/ivkkt.20216403.6355

УДК: [612.118.22: 576.314 :547.8]: 57.085.2

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ *IN VITRO* ЦИТОТОКСИЧНОСТИ РЯДА ЛЮМИНОФОРОВ
БОРДИПИРРИНОВОГО РЯДА, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ СЕНСОРОВ
БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ****Е.Л. Алексахина, О.А. Пахрова, И.К. Томилова, Д.А. Меркушев, Е.Е. Молчанов, С.Д. Усольцев,
О.С. Водянова, Ю.С. Марфин**

Елена Львовна Алексахина*

Кафедра химии, физики, математики, Ивановская государственная медицинская академия, Шереметевский пр., 8, Иваново, Российская Федерация, 153012

E-mail: alexakhina2013@yandex.ru*

Ольга Александровна Пахрова

Научно-исследовательский центр, Ивановская государственная медицинская академия, Шереметевский пр., 8, Иваново, Российская Федерация, 153012

E-mail: o.pahrova@mail.ru

Ирина Константиновна Томилова

Кафедра биохимии, Ивановская государственная медицинская академия, Шереметевский пр., 8, Иваново, Российская Федерация, 153012

E-mail: tomilovaivanovo@mail.ru

Дмитрий Александрович Меркушев, Евгений Евгеньевич Молчанов, Сергей Дмитриевич Усольцев, Ольга Степановна Водянова, Юрий Сергеевич Марфин

Кафедра неорганической химии, Ивановский государственный химико-технологический университет, Шереметевский пр., 7, Иваново, Российская Федерация, 153010

E-mail: merkushev@isuct.ru, evgenmolch@mail.ru, sergeyusoltsev@isuct.ru, osvodyanova@isuct.ru, marfin@isuct.ru

Бордипирриновые люминофоры (BODIPY) представляют значительный интерес в качестве перспективных компонентов оптически-активных молекулярных устройств для сенсорики, визуализации и тераностики биологических систем. Однако, токсическое действие бордипирриновых люминофоров различного строения до настоящего момента системно не исследовалась. В этой связи в рамках работы показаны спектральные характеристики основных групп BODIPY-люминофоров, отличающихся природой заместителей в структуре дипирринового лиганда, а также протяженностью ароматической системы, которые могут быть использованы для решения практических задач молекулярной сенсорики биосистем. Показано, что введение алифатических заместителей в дипирриновое ядро, переход от дипирринов к аза-аналогам, а также замена пиррольных единиц на нефтильные фрагменты приводят к батохромному смещению в спектрах поглощения от 500 до 750 нм при сохранении интенсивной флуоресценции. Оценена цитотоксичность соединений. В исследовании в рамках комплексного подхода использовали две группы методов, позволяющие изучить действие исследуемых соединений на клеточном уровне: оценка цитотоксического действия на морфологические характеристики клеток крови с использованием фазово-контрастной микроскопии с детекцией измененных клеток и интенсивности свободнорадикальных процессов деградации клеточных мембран. Результаты исследования изменений антиоксидантной системы образцов крови при инкубации со всеми красителями достоверных различий не выявили. Показано, что представленные BODIPY-люминофоры не оказывают

существенного влияния на морфофункциональные свойства клеток крови и процессы неферментативной деградации клеточных мембран в эксперименте in vitro, т.е. не проявляют цитотоксического эффекта. Установлено, что BODIPY обладают потенциальным мембрано-протективным действием, что было показано в рамках данного исследования впервые.

Ключевые слова: BODIPY, цитотоксичность, флуоресцентные сенсоры, маркеры

COMPARATIVE IN VITRO ANALYSIS OF CYTOTOXICITY OF BODIPY-LUMINOPHERS AS POTENTIAL FLUORESCENT SENSORS FOR BIOLOGICAL SYSTEMS

E.L. Aleksakhina, O.A. Pakhrova, I.K. Tomilova, D.A. Merkushev, E.E. Molchanov, S.D. Usoltsev, O.S. Vodyanova, Yu.S. Marfin

Elena L. Aleksakhina*

Department of Chemistry, Physics, Mathematics, Ivanovo State Medical Academy, Sheremetevsky ave., 8, Ivanovo, 153012, Russia
E-mail: alexakhina2013@yandex.ru*

Olga A. Pakhrova

Research Center, Ivanovo State Medical Academy, Sheremetevsky ave., 8, Ivanovo, 153012, Russia
E-mail: o.pakhrova@mail.ru

Irina K. Tomilova

Department of Biochemistry, Ivanovo State Medical Academy, Sheremetevsky ave., 8, Ivanovo, 153012, Russia
E-mail: tomilovaivanovo@mail.ru

Dmitry A. Merkushev, Evgeny E. Molchanov, Sergei D. Usoltsev, Olga S. Vodyanova, Yuriy S. Marfin

Department of Inorganic Chemistry, Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Sheremetevsky ave., 7, Ivanovo, 153000, Russia
E-mail: merkushev@isuct.ru, evgenmolch@mail.ru, sergeyusoltsev@isuct.ru, osvodyanova@isuct.ru, marfin@isuct.ru

Boron dipyrin (BODIPY) based luminophores are of considerable interest as promising components of optically active molecular devices for sensing, visualization, and theranostics of biological systems. However, the toxic effect of boron dipyrin based luminophores of various structure have not been systematically studied until now. In this regard, the work shows the spectral characteristics of the main groups of BODIPY luminophores, which differ in the nature of substituents in the structure of the dipyrine ligand, as well as in the length of the aromatic system, which can be used to solve practical problems of molecular sensorics of biosystems. The cytotoxicity of the compounds was evaluated. In the study within the framework of an integrated approach, two groups of methods were used to study the effect of the compounds under study at the cellular level: assessment of the cytotoxic effect on the morphological characteristics of blood cells using phase contrast microscopy with detection of altered cells and the intensity of free radical processes of cell membrane degradation. The results of the study of changes in the antioxidant system of blood samples during incubation with all dyes did not reveal significant differences. do not show cytotoxic effect. It was found that BODIPY has a potential membrane-protective effect, which was shown in this study for the first time.

Key words: BODIPY, cytotoxicity, fluorescent sensors, markers

Для цитирования:

Алексахина Е.Л., Пахрова О.А., Томилова И.К., Меркушев Д.А., Молчанов Е.Е., Усольцев С.Д., Водянова О.С., Марфин Ю.С. Сравнительный анализ *in vitro* цитотоксичности ряда люминофоров бордипирринового ряда, как потенциальных флуоресцентных сенсоров биологических систем. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2021. Т. 64. Вып. 3. С. 13–23

For citation:

Aleksakhina E.L., Pakhrova O.A., Tomilova I.K., Merkushev D.A., Molchanov E.E., Usoltsev S.D., Vodyanova O.S., Marfin Yu.S. Comparative *in vitro* analysis of cytotoxicity of BODIPY-luminophers as potential fluorescent sensors for biological systems. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [ChemChemTech]. 2021. V. 64. N 3. P. 13–23

ВВЕДЕНИЕ

Методы молекулярной сенсорики и маркирования приобретают все большую актуальность при исследовании биологических образцов и молекулярных систем. Среди прочих, наиболее эффективными являются соединения, реализующие флуоресцентный отклик на изменение параметров молекулярного окружения, ввиду высокой точности метода и разнообразия механизмов внутри- и межмолекулярных взаимодействий, отвечающих за флуоресцентный отклик. Среди широкого многообразия флуоресцентных сенсоров и маркеров выделяются люминофоры на основе дипириринов бора (BODIPY), отличающиеся интенсивными спектральными характеристиками, устойчивостью к действию агрессивных факторов среды, что позволяет использовать BODIPY для различных практических целей медицины, фармакологии, биологической и аналитической химии [1, 2]. При этом механизмы реализации флуоресцентного отклика могут быть связаны с различными процессами [3], такими как внутримолекулярный перенос заряда [4], внутримолекулярный перенос протонов возбужденного состояния [5], флуоресцентный резонансный перенос энергии [6], фотоиндуцированный перенос электрона [7, 8], перенос энергии относительно связи [9]. Введение в структуру BODIPY заместителей и функциональных групп, способных селективно реагировать с определенными ионами или молекулами, делает возможным получение на платформе дипириринов бора селективных флуоресцентных зондов для качественного и количественного определения различных молекул в растворах биологических жидкостей и клеточных культурах [10]. Ранее нами было показано, что BODIPY-люминофоры проявляют флуоресцентные отклики на изменение молекулярного окружения в образцах плазмы и сыворотки крови, что позволяет использовать их для контроля процессов коагуляции крови [11].

Вместе с тем, до настоящего времени в литературе отсутствуют системные сведения о действии BODIPY люминофоров на органические системы, в частности о цитотоксичности данной группы соединений. В этой связи в рамках данного исследования нами было оценено действие ряда люминофоров группы BODIPY (рис. 1) на формальные компоненты плазмы крови человека.

Использованные в работе BODIPY отличаются природой заместителей, а также строением и протяженностью π -электронной системы (см. рис. 1). BODIPY 1 относится к широкой группе бордипиринов на основе алкилированного дипириринового

лиганда, содержащего объемный ароматический фрагмент, данные соединения отличаются самой высокой устойчивостью к действию агрессивных факторов среды, проявляют умеренную сенсорную активность на изменение полярности молекулярного окружения [12]. BODIPY 2, содержащий фенильный фрагмент, способный к свободному вращению относительно дипириринового остова, является эффективным флуоресцентным молекулярным ротором, который может быть использован для оценки реологических характеристик микроокружения внутриклеточных жидкостей и структур [13-19]. BODIPY 3 и BODIPY 4 представляют интерес в связи с тем, что у данных соединений максимумы поглощения и испускания смещены в область «терапевтического окна прозрачности», что обуславливает возможность их применения в сенсорике биосистем [20, 21]. Таким образом, предложенный спектр соединений охватывает основные группы BODIPY люминофоров, исследуемые в настоящее время, как компоненты молекулярных сенсоров [22-26], флуоресцентные метки [27-30] и агенты для тераностики онкологических заболеваний [31-35].

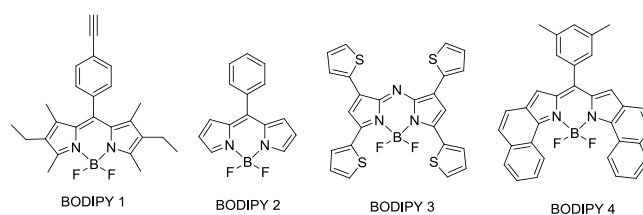


Рис. 1. Структурные формулы исследованных BODIPY-люминофоров. BODIPY 1 – 4,4-Дифторо-8-(4'-этинилфенил)-1,3,5,7-тетраметил-2,6-диэтил-4-бор-3а,4а-диаза-*s*-индацен; BODIPY 2 – 4,4-Дифторо-8-фенил-4-бор-3а,4а-диаза-*s*-индацен; BODIPY 3 – 4,4-Дифторо-1,3,5,7-тетратиенил-4-бор-3а,4а,8-триаза-*s*-индацен; BODIPY 4 – 4,4-Дифторо-8-(3,5-диметилфенил)-4-бор-3а,4а-диаза-динафто-[1,2b][1,2c]-*s*-индацен

Fig. 1. Structures of the investigated BODIPY dyes. BODIPY 1 – 4,4-Difluoro-8-(4'-ethynylphenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacene; BODIPY 2 – 4,4-Difluoro-8-phenyl-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacene; BODIPY 3 – 4,4-Difluoro-1,3,5,7-tetrathieryl-4-bora-3a,4a,8-triaza-*s*-indacene; BODIPY 4 – 4,4-Difluoro-8-(3,5-dimethylphenyl)-4-bora-3a,4a-diaza-dinaphtho-[1,2b][1,2c]-*s*-indacene

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для исследования токсического воздействия веществ на культуры клеток используют методы, позволяющие оценить степень повреждения тех или иных структур (мембран) и жизненно важных функций [36]. В нашем исследовании в рамках комплексного подхода мы использовали две группы методов, позволяющие изучить действие

исследуемых соединений на клеточном уровне: оценка цитотоксического действия на морфологические характеристики клеток крови с использованием фазово-контрастной микроскопии с детекцией измененных клеток [37] и интенсивности свободнорадикальных процессов деградации клеточных мембран [38].

Для проведения исследования использовали кровь практически здоровых добровольцев мужчин в возрасте 19-22 лет. Кровь в количестве 10 мл брали из вены самотеком в пластиковые пробирки, смоченные гепарином (20 ЕД на 1 мл крови). На первом этапе кровь 10 мл разделяли и помещали в отдельные пробирки по 0,9 мл, затем в 1-ую пробирку добавляли 0,1 мл PBS-буфера – контроль (разведение 1:9), во 2-ю и 3-ю пробирки добавляли по 0,1 мл раствора BODIPY 1 до достижения конечных концентраций $C = 1,11 \cdot 10^{-5}$ М и $1,11 \cdot 10^{-6}$ М, соответственно; в 4-ю и 5-ю пробирки добавляли по 0,1 мл раствора BODIPY 2 до достижения конечных концентраций $C = 0,28 \cdot 10^{-5}$ М и $0,28 \cdot 10^{-6}$ М, соответственно; в 6-ю и 7-ю пробирки добавляли по 0,1 мл раствора BODIPY 3 до достижения конечных концентраций $C = 1,02 \cdot 10^{-5}$ М и $1,02 \cdot 10^{-6}$ М, соответственно; в 8-ю и 9-ю пробирки добавляли по 0,1 мл раствора BODIPY 4 до достижения конечных концентраций $C = 1,17 \cdot 10^{-5}$ М и $1,17 \cdot 10^{-6}$ М, соответственно. Все пробирки инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 30 мин.

Для оценки влияния растворителя на исследуемые показатели ДМСО разводили PBS-буфером до концентраций 10%, 1% и 0,1%. Кровь по 0,9 мл помещали в отдельные пробирки, затем в 1-ю пробирку добавляли 0,1 мл 10 %, во 2-ю – 0,1 мл 1% и в 3-ю – 0,1 мл 0,1 % ДМСО. Все пробирки также инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 30 мин.

На втором этапе (ввиду цитотоксичности ДМСО в высокой концентрации) использовали растворы BODIPY в более низких концентрациях в интервале от $1,17 \cdot 10^{-6}$ М до $0,28 \cdot 10^{-7}$ М.

После инкубации в исследуемых образцах проводили морфометрические и биохимические методы исследования. Производили подсчет концентрации эритроцитов и оценивали поверхностную цитоархитектонику эритроцитов с целью определения числа разрушенных и поврежденных клеток. Подсчет эритроцитов производили стандартным методом в камере Горяева. Для исследования цитоархитектоники клеток кровь фиксировали в 1%-ом растворе глутарового альдегида («Fluka», Switzerland). Затем, после 24-часовой

фиксации при температуре +4 °С готовили препарат «раздавленная капля». Подсчет клеток производился в процентах на 200 эритроцитов с использованием фазово-контрастного устройства светового микроскопа под иммерсией. Использовалась классификация, предложенная Г.И. Козинцом [39]. Согласно этой классификации, эритроциты подразделяли на десять классов: 1) дискоцит; 2) дискоцит с одним выростом; 3) дискоцит с гребнем; 4) дискоцит с множественными выростами (эхиноцит); 5) эритроцит в виде «тутовой ягоды»; 6) куполообразный эритроцит (стоматоцит); 7) сфероцит с гладкой поверхностью; 8) сфероцит с шипиками на поверхности; 9) эритроцит в виде «спущенного мяча»; 10) дегенеративные формы эритроцитов. Первые четыре класса эритроцитов (с признаками эхиноцитарной трансформации) принято считать обратимо деформированными (% ОД), так как эти клетки способны спонтанно восстанавливать форму. Остальные классы эритроцитов относятся к группе необратимо деформированных или предгемолитических форм (% НОД). Для более детальной оценки морфологии эритроцитов рассчитывали индекс обратимости (ИО): $ИО = \%ОД/\%НОД$.

Процессы свободнорадикальной деградации мембран клеток крови исследовали по интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности ксантиноксидазы (КО) в плазме крови. Интенсивность ПОЛ определяли методом индуцированной хемилюминесценции с измерением на приборе БХЛ-07 ("ИМБИО" Нижний Новгород). Стандартная компьютерная обработка сигнала включала в себя расчет следующих показателей: I_{\max} – значение максимальной интенсивности за все время измерения, размерность – мВ, S – светосумма за 30 с, размерность – мВ·с, $tg2$, со знаком (-), размерность – мВ/с. Величина I_{\max} пропорциональна уровню ПОЛ. Величина S обратно пропорциональна антиоксидантной активности, $tg2$ – тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности, характеризующий скорость реакций обрыва свободнорадикальных процессов и являющийся показателем активности антиоксидантной системы, чем выше значение $tg2$, тем напряженней антиокислительная защита [40]. Активность ксантиноксидазы оценивали спектрофотометрически по модифицированному методу Nashimoto [41] по образованию мочевиной кислоты из ксантина.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы Statistica10. Достоверность различия оценивали по U-критерию Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярная структура исследуемых BODIPY определяет положение максимумов поглощения и испускания соединений (рис. 2). Наиболее коротковолновые пики в спектрах наблюдали для BODIPY 2. Введение алкильных групп в α - и β -положения дипириринового лиганда приводит к батохромному смещению полос при сохранении общей структуры спектров. Наличие этинильной группировки в *para*-положении фенильного заместителя не оказывает значительного влияния на спектральные свойства вследствие отсутствия сопряжения между электронной системой лиганда и заместителя. Замена атома углерода на азот в *мезо*-спейсере, а также введение в α - и β -положения дипиририна тиофеновых фрагментов приводит к значительному батохромному смещению в спектрах BODIPY 3. Аналогичный эффект наблюдается для BODIPY 4 с расширенной электронной системой лиганда.

Показано, что исследуемые BODIPY охватывают широкий спектральный диапазон, проявляя особенности в структуре и интенсивности отдельных полос в электронных спектрах поглощения, а также спектрах испускания.

В ходе проведенного исследования *in vitro* выявлено, что инкубация крови в течение 30 мин с самой высокой концентрацией всех исследуемых соединений ($C = 1 \cdot 10^{-5}$ М) вызывала существенное снижение количества эритроцитов (на 83-92%) в сравнении с исходной их концентрацией. Сохраненные клетки приобретали сфероцитарную форму. Достижение высоких концентраций люминофоров в системе возможно только при использовании органических соразтворителей, в частности, ДМСО. Известно, что данный растворитель также может оказывать угнетающее действие на клетки крови человека [42]. Поэтому нами было прове-

дено исследование цитотоксических свойств растворителя диметилсульфоксида (ДМСО) без исследуемых соединений. При инкубации крови в течение 30 мин с растворителем (ДМСО) в отсутствие красителей в концентрации 10% было выявлено, что гемолизу подвергалось более 90% эритроцитов. Практически все оставшиеся клетки (95%) имели необратимые изменения формы (сфероциты и «тени» эритроцитов). Инкубация в 1% растворе ДМСО приводила к снижению числа эритроцитов на 20% по сравнению с контролем, и лишь 22% клеток приобретали измененную форму, а 0,1% раствор ДМСО не оказывал существенного воздействия на мембраны эритроцитов, что подтверждается отсутствием существенных потерь клеток (табл. 1).

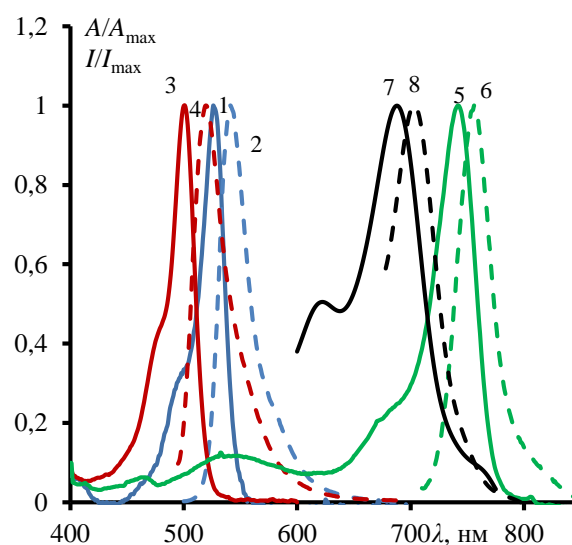


Рис. 2. Электронные спектры поглощения и спектры флуоресценции растворов BODIPY 1-4 в дихлорметане: BODIPY 1 – 3 и 4, BODIPY 2 – 1 и 2, BODIPY 3 – 5 и 6, BODIPY 4 – 7 и 8

Fig. 2. Electron adsorption spectra and fluorescence spectra of investigated BODIPY dyes 1-4 in dichloromethane: BODIPY 1 – 1 and 2, BODIPY 2 – 3 and 4, BODIPY 3 – 5 and 6, BODIPY 4 – 7 and 8

Таблица 1

Изменение концентрации эритроцитов и показателей поверхностной цитоархитектоники при инкубации крови в присутствии ДМСО разной концентрации (без исследуемых соединений)
Table 1. Changes in the concentration of erythrocytes and indicators of surface cytoarchitectonics during incubation of blood in the presence of DMSO of different concentrations (without the test compounds)

Показатель	Контроль	ДМСО 10 %	ДМСО 1%	ДМСО 0,1%
Концентр. Эр, $10^{12}/л$	4,48	0,5	3,74	4,17
Дискоциты, %	91	5	77	89
ОД, %	3	1	3	5
НОД, %	6	94	20	6
ИО, отн. ед	0,500	0,011	0,150	0,833

Данный эффект может быть следствием как прямого воздействия ДМСО на клеточную мембрану (токсичность), так и результатом осмотических эффектов данного растворителя. Известно,

что ДМСО способен проникать внутрь эритроцитов как через гидрофильные белковые аквапориновые каналы, так и через липидный бислой плазма-

тических мембран, вызывая их деструкцию (благодаря способности создавать водородные связи [43]. Также известно, что при высоких концентрациях ДМСО вызывает денатурацию белка, а при низких – действует как их стабилизатор [44]. Добавление низких концентраций ДМСО оказывает незначительное действие на гемолиз эритроцитов [45].

Таким образом, в дальнейших экспериментах, чтобы полностью аннулировать токсическое воздействие ДМСО, уменьшали его концентрацию путем разведения в PBS 1:10 и 1:100 (рН = 7,4) и дальнейшие исследования проводили с рабочими концентрациями соединений в интервале $1,17 \cdot 10^{-6}$ М до $0,28 \cdot 10^{-7}$ М. Большие концентрации BODIPY соответствуют насыщенным растворам соединений в бинарной смеси PBS-ДМСО при условии концентрации последнего не выше 0,1% по массе.

В ходе исследования установлено (табл. 2), что образцы BODIPY 1 и 3 в концентрации 10^{-6} М после 30 мин инкубации вызвали достоверное снижение концентрации эритроцитов на 12,7% и 10,7%, соответственно ($p < 0,05$). Однако меньшая концентрация этих веществ существенного разрушения клеток не вызывала. BODIPY 2 и 4 оказывали значительно меньшее повреждающее действие в обеих рабочих концентрациях.

Исследуя влияние бордипириновых красителей на поверхностную цитоархитектонику эритроцитов обнаружено, что количество дискоцитов снижалось лишь при инкубации крови с образцами 1 и 3 в наибольшей концентрации на 11 и 13,3% соответственно ($p < 0,05$). При этом трансформация клеток шла по стоматоцитарному пути. Исследуемые соединения в низкой концентрации (10^{-7} М) не оказывали цитотоксического действия.

Инкубация крови с образцами 2 и 4 в большей концентрации не приводила к снижению числа и изменению формы эритроцитов. Меньшая концентрация этих веществ вызывала небольшой рост двояковогнутых эритроцитов за счет снижения деформированных клеток. По всей видимости, эти соединения обладают защитным цитопротективным эффектом в отношении повреждающего действия на клетки растворителя (ДМСО), индуцирующего их гемолиз и структурные повреждения мембран.

При исследовании интенсивности неферментативной дегградации клеточных мембран биохимическими методами были получены следующие результаты (табл. 3, рис. 3).

Таблица 2

Изменение концентрации эритроцитов и показателей поверхностной цитоархитектоники при инкубации крови в присутствии исследуемых соединений разной концентрации (данные представлены в виде Me [Q1;Q3], где Me – медиана, Q1 – первый квартиль, Q3 – третий квартиль)
Table 2. Changes in the concentration of erythrocytes and indicators of surface cytoarchitectonics during incubation of blood in the presence of the studied compounds of different concentrations (data are presented as Me [Q1; Q3], where Me - median, Q1- first quartile, Q3- third quartile)

Вещество / Показатель	Контроль	BODIPY 1	BODIPY 2	BODIPY 3	BODIPY 4
Концентрированные растворы ($C \approx 1 \cdot 10^{-6}$ М)					
Конц. Эр, $10^{12}/л$	4,73 [4,68;4,88]	4,00 [4,00;4,58]*	4,48 [4,04;4,54]	4,22 [4,11;4,32]*	4,63 [4,51;4,65]
Дискоциты, %	88,0 [87,0;90,0]	80,0 [80,0;81,0]*	84,0 [81,0;86,0]	76,0 [75,0;83,0]*	84,0 [81,0;87,0]
ОД, %	4,0 [3,0;4,0]	6,0 [5,0;8,0]	7,0 [6,0;8,0]	5,0 [5,0;8,0]	6,0 [5,0;8,0]
НОД, %	8,0 [6,0;9,0]	14,0 [12,0;14,0]*	10,0 [9,0;11,0]	20,0 [14,0;21,0]*	10,0 [8,0;11,0]
ИО, отн. ед	0,600 [0,444;0,667]	0,429 [0,360;0,444]	0,600 [0,464;0,727]	0,333 [0,250;0,417]	0,600 [0,428;0,625]
Разбавленные растворы ($C \approx 1 \cdot 10^{-7}$ М)					
Конц. Эр, $10^{12}/л$		4,49 [4,31;4,78]	4,64 [4,49;4,81]	4,34 [4,29;4,57]	4,66 [4,58;4,74]
Дискоциты %		88,0 [84,0;92,0]	91,0 [89,8;91,3]	86,5 [82,3;91,5]	91,5 [88,5;94,4]
ОД, %		3,5 [1,75;5,5]	3,0 [2,0;4,5]	3,5 [2,75;4,5]	2,5 [2,0; 3,5]
НОД, %		8,0 [6,5;9,3]	6,5 [5,75;7,25]	8,5 [6,5;10,3]	5,5 [4,0;7,25]
ИО, отн. ед		0,542 [0,414;0,650]	0,542 [0,421;0,667]	0,484 [0,384;0,645]	0,515 [0,399;0,645]

Примечание: * – достоверные отличия по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$)

Note: * – significant differences compared to control values ($p < 0.05$)

Таблица 3

Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов плазмы крови при инкубации с красителями в различных концентрациях (данные представлены в виде Me [Q1;Q3], где Me – медиана, Q1 – первый квартиль, Q3 – третий квартиль)

Table 3. Indices of the intensity of free radical processes in blood plasma during incubation with dyes in various concentrations (data are presented as Me [Q1; Q3], where Me - median, Q1- first quartile, Q3 - third quartile)

Группа	Параметры	Активность ксантиноксидазы	I_{max}	S	tg2
Контроль		0,011 [0,010;0,012]	113,5 [103,0;118,0]	1069,0 [928,0;1178,0]	-27,0[-33,0;-22,5]
BODIPY 1 10^{-6}		0,011 [0,010;0,015]	92,5 [83,0;102,0]	1036,0 [884,0;1144,0]	-20,25[-26,0;-16,5]
BODIPY 1 10^{-7}		0,010 [0,007;0,010]*#	103,5 [98,0;108,0]*	974,0 [920,0;1012,0]	-23,25[-25,0;-22,5]
BODIPY 2 10^{-6}		0,013 [0,012;0,015]	99,0 [91,0;115,0]	1122,0 [1069,0;1179,0]	-23,25[-25,5;-19,5]
BODIPY 2 10^{-7}		0,011 [0,010;0,012]	99,0 [92,0;104,0]	1023,0 [973,0;1109,0]	-25,5[-26,0;-21,0]
BODIPY 3 10^{-6}		0,013 [0,011;0,014]	104,0 [99,0;115,0]	1025,0 [890,0;1176,0]	-24,0[-27,0;-22,5]
BODIPY 3 10^{-7}		0,010 [0,0086;0,010] #	103,5 [96,0;115,0]	958,0 [912,0;11043,0]	-23,75[-29,5;-21,5]
BODIPY 4 10^{-6}		0,010 [0,009;0,012]	89,0 [79,0;96,0]*	991,0 [886,0;1098,0]	-20,25[-22,5;-16,5]
BODIPY 4 10^{-7}		0,012 [0,008;0,015]	89,0 [79,0;99,0]*	870,0 [803,0;935,0]	-21,75[-25,5;-19,5]

Примечание: * – достоверные отличия по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$), # – достоверные отличия между разными концентрациями одного люминофора ($p < 0,05$)

Note: * – significant differences in comparison with control values ($p < 0.05$), # - significant differences between different concentrations of one phosphor ($p < 0.05$)

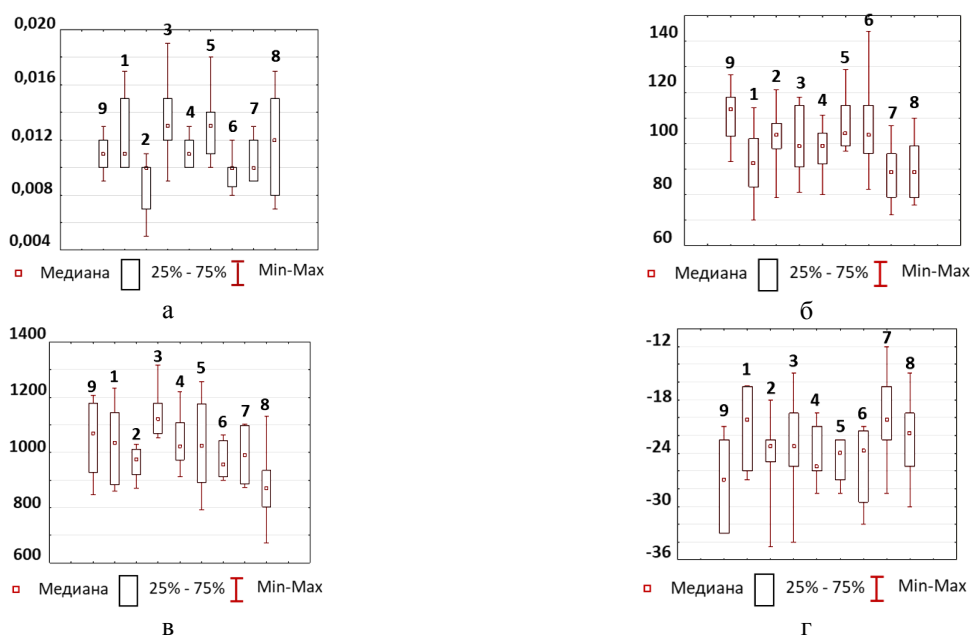


Рис 3. Показатели изменения интенсивности свободнорадикальных процессов при инкубации с BODIPY 1-4 в концентрациях 10^{-6} и 10^{-7} , соответственно: BODIPY 1 – (1) и (2); BODIPY 2 – (3) и (4); BODIPY 3 – (5) и (6); BODIPY 4 – (7) и (8); (9) – контроль. а – активность ксантиноксидазы крови (КО, ME/мл); б – максимальная интенсивность хемилюминесценции плазмы крови за все время измерения I_{max} (мВ); в – светосумма S хемилюминесценции плазмы крови (мВ × с); г – тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности хемилюминесценции плазмы крови tg2 со знаком «-» (мВ/с)

Fig 3. Indicators of changes in the intensity of free radical processes during incubation with BODIPY 1-4 at concentrations of 10^{-6} and 10^{-7} , respectively: BODIPY 1 – (1) and (2); BODIPY 2 – (3) and (4); BODIPY 3 – (5) and (6); BODIPY 4 – (7) and (8); (9) – control. а – activity of blood xanthine oxidase (KO, IU/ml); б – maximum intensity of blood plasma chemiluminescence for the entire time of measurement I_{max} (mV); в – light sum S of blood plasma chemiluminescence (mV×s); г – tangent of the angle of decay of the signal after reaching the maximum intensity of blood plasma chemiluminescence tg2 with a "-" sign (mV/s)

Активность КО при инкубации крови с BODIPY 1 в большем разведении (10^{-7}) достоверно ниже ($p < 0,05$), чем при инкубации крови с ним же в меньшем разведении (10^{-6}). Также выявлено достоверное снижение активности КО в случае BODIPY 3 в меньшей концентрации. В остальных группах достоверных различий не выявлено. При инкубации крови с BODIPY 1 в меньшем разведении максимальная интенсивность хемилюминесценции была достоверно ниже по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Также I_{\max} достоверно ниже при инкубации крови с красителем 4 в обоих разведениях по сравнению с контролем ($p < 0,05$ и $p < 0,05$, соответственно). Результаты исследования изменений антиоксидантной системы (показатель S и tg2) образцов крови при инкубации со всеми красителями достоверных различий не выявили.

ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты исследования показали, что представленные BODIPY-люминофоры не оказывают существенного влияния на морфофункциональные свойства клеток крови и процессы неферментативной деградации клеточных мембран в эксперименте *in vitro*, т.е. не проявляют цитотоксического эффекта. Полученные результаты свидетельствуют о возможности практического применения BODIPY всех исследованных групп в качестве компонентов молекулярных сенсоров, маркеров и агентов для тераностики. Различие в положениях полос поглощения и испускания вместе с интенсивной флуоресценцией исследованных BODIPY обуславливает и дополнительно

расширяет возможности их применения вместе с флуоресцентными красителями других химических групп за счет возможности выбора целевого спектрального диапазона. Более того, BODIPY обладают потенциальным мембранопротективным действием, что было показано в рамках данного исследования впервые. Механизм выявленных изменений требует дальнейшего изучения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 19-73-10107) в части набора представленных BODIPY люминофоров, а также их спектральных и флуоресцентных характеристик, и государственного задания РФ (проект «Исследование биомедицинских эффектов макрогетероциклических соединений с противоопухолевой активностью для разработки новых лекарственных средств») в части изучения механизмов токсического действия соединений на биологические системы.

The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project 19-73-10107) in terms of the set of luminophores presented by BODIPY, as well as their spectral and fluorescent characteristics, and the state task of the Russian Federation (the project "Investigation of the biomedical effects of macroheterocyclic compounds with antitumor activity for the development of new medicinal means") in terms of studying the mechanisms of the toxic effect of compounds on biological systems.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sun W, Li M, Fan J, Peng X. Activity-Based Sensing and Theranostic Probes Based on Photoinduced Electron Transfer. *Acc. Chem. Res.* 2019. V. 52. P. 2818. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00340.
2. Marfin Y.S., Solomonov A.V., Timin A.S., Rummyantsev E.V. Recent Advances of Individual BODIPY and BODIPY-Based Functional Materials in Medical Diagnostics and Treatment. *Curr. Med. Chem.* 2017. V. 24. P. 2745. DOI: 10.2174/0929867324666170601092327.
3. Lee M.H., Kim J.S., Sessler J.L., Sicking W., Piantanida I., Yi T. Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. *Chem. Soc. Rev.* 2015. V. 44. P. 4185. DOI: 10.1039/c4cs00280f.
4. Bhat H.R., Jha P.C. Cyanide anion sensing mechanism of 1,3,5,7-tetratolyl aza-BODIPY: Intramolecular charge transfer and partial configuration change. *Chem. Phys. Lett.* 2017. V. 669. P. 9–16. DOI: 10.1016/j.cplett.2016.12.025.
5. Mallah R., Sreenath M.C., Chitrabalam S., Joe I.H., Sekar N. Excitation energy transfer processes in BODIPY based donor-acceptor system - Synthesis, photophysics, NLO and DFT study. *Opt. Mater. (Amst).* 2018. V. 84. P. 795–806. DOI: 10.1016/j.optmat.2018.08.007.

REFERENCES

1. Sun W, Li M, Fan J, Peng X. Activity-Based Sensing and Theranostic Probes Based on Photoinduced Electron Transfer. *Acc. Chem. Res.* 2019. V. 52. P. 2818. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00340.
2. Marfin Y.S., Solomonov A.V., Timin A.S., Rummyantsev E.V. Recent Advances of Individual BODIPY and BODIPY-Based Functional Materials in Medical Diagnostics and Treatment. *Curr. Med. Chem.* 2017. V. 24. P. 2745. DOI: 10.2174/0929867324666170601092327.
3. Lee M.H., Kim J.S., Sessler J.L., Sicking W., Piantanida I., Yi T. Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. *Chem. Soc. Rev.* 2015. V. 44. P. 4185. DOI: 10.1039/c4cs00280f.
4. Bhat H.R., Jha P.C. Cyanide anion sensing mechanism of 1,3,5,7-tetratolyl aza-BODIPY: Intramolecular charge transfer and partial configuration change. *Chem. Phys. Lett.* 2017. V. 669. P. 9–16. DOI: 10.1016/j.cplett.2016.12.025.
5. Mallah R., Sreenath M.C., Chitrabalam S., Joe I.H., Sekar N. Excitation energy transfer processes in BODIPY based donor-acceptor system - Synthesis, photophysics, NLO and DFT study. *Opt. Mater. (Amst).* 2018. V. 84. P. 795–806. DOI: 10.1016/j.optmat.2018.08.007.

6. **Maity P., Gayathri T., Singh S.P., Ghosh H.N.** Impact of FRET between Molecular Aggregates and Quantum Dots. *Chem. - An Asian J.* 2019. V. 14. P. 597–605. DOI: 10.1002/asia.201801688.
7. **Sevinc G., Ozgur M., Kucukoz B., Karatay A., Aslan H., Yilmaz H.** Synthesis and spectroscopic properties of a novel “turn off” fluorescent probe: Thienyl-pyridine substituted BODIPY. *J. Lumin.* 2019. V. 211. P. 334. DOI: 10.1016/J.JLUMIN.2019.03.058.
8. **Marfin Y.S., Shipalova M.V., Kurzin V.O., Ksenofontova K.V., Solomonov A.V., Rumyantsev E.V.** Fluorescent Properties of BODIPY Sensors Based on Photoinduced Electron Transfer. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 2105. DOI: 10.1007/s10895-016-1905-1.
9. **Huang C., Qian Y.** CT-BODIPY with Donor-Acceptor Architecture: Red-AIE Property and Selective Interaction with BSA. *Chemistry Select.* 2019. V. 4. P. 2205. DOI: 10.1002/slct.201803843.
10. **Solomonov A.V., Marfin Y.S., Rumyantsev E.V.** Design and applications of dipyrin-based fluorescent dyes and related organic luminophores: From individual compounds to supramolecular self-assembled systems. *Dye. Pigment.* 2019. V. 62. P. 517-542. DOI: 10.1016/j.dyepig.2018.10.042.
11. **Marfin Y.S., Aleksakhina E.L., Merkushev D.A., Rumyantsev E.V., Tomilova I.K.** Interaction of BODIPY Dyes with the Blood Plasma Proteins. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 255. DOI: 10.1007/s10895-015-1707-x.
12. **Marfin Y.S., Vodyanova O.S., Merkushev D.A., Usoltsev S.D., Kurzin V.O., Rumyantsev E.V.** Effect of Pi-Extended Substituents on Photophysical Properties of BODIPY Dyes in Solutions. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 1–11. DOI: 10.1007/s10895-016-1891-3.
13. **Haidekker M.A., Theodorakis E.A.** Ratiometric mechanosensitive fluorescent dyes: Design and applications. *J. Mater. Chem. C.* 2016. V. 4. P. 2707. DOI: 10.1039/c5tc03504j.
14. **Raut S., Kimball J.D., Fudala R., Bora I., Chib R., Jaafari H.** Triazine-based BODIPY trimer as a molecular viscometer. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. P. 4535. DOI: 10.1039/C5CP07214J.
15. **Chambers J.E., Kubankova M., Huber R.G., Lopez-Duarte I., Avezov E., Bond P.J.** An Optical Technique for Mapping Microviscosity Dynamics in Cellular Organelles. *ACS Nano.* 2018. V. 12. P. 4398. DOI: 10.1021/acsnano.8b00177.
16. **Benniston A.C., Harriman A., Whittle V.L., Zelzer M.** Molecular rotors based on the boron dipyrromethene fluorophore. *European J. Org. Chem.* 2010. V. 2010. N 3. P. 523. DOI: 10.1002/ejoc.200901135.
17. **Levitt J.A., Kuimova M.K., Yahioglu G., Chung P.H., Suhling K., Phillips D.** Membrane-bound molecular rotors measure viscosity in live cells via fluorescence lifetime imaging. *J. Phys. Chem. C.* 2009. V. 113. P. 11634. DOI: 10.1021/jp9013493.
18. **Marfin Y.S., Merkushev D.A., Usoltsev S.D., Shipalova M.V., Rumyantsev E.V.** Fluorescent properties of 8-substituted BODIPY dyes: influence of solvent effects. *J. Fluoresc.* 2015. V. 25. P. 1517. DOI: 10.1007/s10895-015-1643-9.
19. **Bobrov A.V., Usoltsev S.D., Marfin Y.S., Rumyantsev E.V.** Spectral Properties and Possibilities of meso-Substituted BODIPY Usage in Sol–Gel Process and Materials. *J. Fluoresc.* 2018. 28. P. 277–284. DOI: 10.1007/s10895-017-2190-3.
6. **Maity P., Gayathri T., Singh S.P., Ghosh H.N.** Impact of FRET between Molecular Aggregates and Quantum Dots. *Chem. - An Asian J.* 2019. V. 14. P. 597–605. DOI: 10.1002/asia.201801688.
7. **Sevinc G., Ozgur M., Kucukoz B., Karatay A., Aslan H., Yilmaz H.** Synthesis and spectroscopic properties of a novel “turn off” fluorescent probe: Thienyl-pyridine substituted BODIPY. *J. Lumin.* 2019. V. 211. P. 334. DOI: 10.1016/J.JLUMIN.2019.03.058.
8. **Marfin Y.S., Shipalova M.V., Kurzin V.O., Ksenofontova K.V., Solomonov A.V., Rumyantsev E.V.** Fluorescent Properties of BODIPY Sensors Based on Photoinduced Electron Transfer. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 2105. DOI: 10.1007/s10895-016-1905-1.
9. **Huang C., Qian Y.** CT-BODIPY with Donor-Acceptor Architecture: Red-AIE Property and Selective Interaction with BSA. *Chemistry Select.* 2019. V. 4. P. 2205. DOI: 10.1002/slct.201803843.
10. **Solomonov A.V., Marfin Y.S., Rumyantsev E.V.** Design and applications of dipyrin-based fluorescent dyes and related organic luminophores: From individual compounds to supramolecular self-assembled systems. *Dye. Pigment.* 2019. V. 162. P. 517-542. DOI: 10.1016/j.dyepig.2018.10.042.
11. **Marfin Y.S., Aleksakhina E.L., Merkushev D.A., Rumyantsev E.V., Tomilova I.K.** Interaction of BODIPY Dyes with the Blood Plasma Proteins. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 255. DOI: 10.1007/s10895-015-1707-x.
12. **Marfin Y.S., Vodyanova O.S., Merkushev D.A., Usoltsev S.D., Kurzin V.O., Rumyantsev E.V.** Effect of Pi-Extended Substituents on Photophysical Properties of BODIPY Dyes in Solutions. *J. Fluoresc.* 2016. V. 26. P. 1–11. DOI: 10.1007/s10895-016-1891-3.
13. **Haidekker M.A., Theodorakis E.A.** Ratiometric mechanosensitive fluorescent dyes: Design and applications. *J. Mater. Chem. C.* 2016. V. 4. P. 2707. DOI: 10.1039/c5tc03504j.
14. **Raut S., Kimball J.D., Fudala R., Bora I., Chib R., Jaafari H.** Triazine-based BODIPY trimer as a molecular viscometer. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016. V. 18. P. 4535. DOI: 10.1039/C5CP07214J.
15. **Chambers J.E., Kubankova M., Huber R.G., Lopez-Duarte I., Avezov E., Bond P.J.** An Optical Technique for Mapping Microviscosity Dynamics in Cellular Organelles. *ACS Nano.* 2018. V. 12. P. 4398. DOI: 10.1021/acsnano.8b00177.
16. **Benniston A.C., Harriman A., Whittle V.L., Zelzer M.** Molecular rotors based on the boron dipyrromethene fluorophore. *European J. Org. Chem.* 2010. V. 2010. N 3. P. 523. DOI: 10.1002/ejoc.200901135.
17. **Levitt J.A., Kuimova M.K., Yahioglu G., Chung P.H., Suhling K., Phillips D.** Membrane-bound molecular rotors measure viscosity in live cells via fluorescence lifetime imaging. *J. Phys. Chem. C.* 2009. V. 113. P. 11634. DOI: 10.1021/jp9013493.
18. **Marfin Y.S., Merkushev D.A., Usoltsev S.D., Shipalova M.V., Rumyantsev E.V.** Fluorescent properties of 8-substituted BODIPY dyes: influence of solvent effects. *J. Fluoresc.* 2015. V. 25. P. 1517. DOI: 10.1007/s10895-015-1643-9.
19. **Bobrov A.V., Usoltsev S.D., Marfin Y.S., Rumyantsev E.V.** Spectral Properties and Possibilities of meso-Substituted BODIPY Usage in Sol–Gel Process and Materials. *J. Fluoresc.* 2018. 28. P. 277–284. DOI: 10.1007/s10895-017-2190-3.

20. **Molchanov E.E., Marfin Y.S., Ksenofontov A.A., Rummyantsev E.V.** Synthesis and spectral properties of bodipy luminophore with extended π -electronic system. *Izv Vyssh Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. P. 13. DOI: 10.6060/ivkkt.20196212.6017.
21. **Pogonin A.E., Shagurin A.Y., Marfin Y.S., Vashurin A.S.** Quantum Chemical Study Aimed at Modeling Efficient Aza-BODIPY NIR Dyes: Molecular and Electronic Structure, Absorption, and Emission Spectra. *Molecules.* 2020. V. 25. P. 5361. DOI: 10.3390/molecules25225361.
22. **Johnson I.** Fluorescent probes for living cells. *Histochem. J.* 1998. V. 30. P. 123. DOI: 10.1023/A:1003287101868.
23. **Licha K., Resch-Genger U.** Fluorescent Reporters and Optical Probes. In: *Compr. Biomed. Phys.* Ed. by A. Brahme. Elsevier. 2014. P. 85–109. DOI: 10.1016/B978-0-444-53632-7.00402-0.
24. **Ooyama Y., Hato M., Enoki T., Aoyama S., Furue K., Tsunoji N.** A BODIPY sensor for water based on a photo-induced electron transfer method with fluorescence enhancement and attenuation systems. *New J. Chem.* 2016. V. 40. P. 7278. DOI: 10.1039/C6NJ01467D.
25. **Zhao X., Gao C., Li N., Liu F., Huo S., Li J.** BODIPY based fluorescent turn-on sensor for highly selective detection of HNO and the application in living cells. *Tetrahedron Lett.* 2019. V. 60. P. 1452. DOI: 10.1016/J.TETLET.2019.04.049.
26. **Strobl M., Rappitsch T., Borisov S.M., Mayr T., Klimant I.** NIR-emitting aza-BODIPY dyes - new building blocks for broad-range optical pH sensors. *Analyst.* 2015. V. 140. P. 7150. DOI: 10.1039/c5an01389e.
27. **Collot M., Fam T.K., Ashokkumar P., Faklaris O., Galli T., Danglot L.** Ultrabright and Fluorogenic Probes for Multicolor Imaging and Tracking of Lipid Droplets in Cells and Tissues. *J. Am. Chem. Soc.* 2018. V. 140. P. 5401. DOI: 10.1021/jacs.7b12817.
28. **Kiyose K., Kojima H., Nagano T.** Functional near-infrared fluorescent probes. *Chem. - An Asian J.* 2008. V. 3. P. 506. DOI: 10.1002/asia.200700267.
29. **Yang X., Zhang X.F., Lu X., Yu C., Jiao L.** Red fluorescent monobenzo-BODIPY dyes: Solvent effects on spectra and efficient fluorescence quenching by quinones and phenols. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2015. V. 297. P. 39–44. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2014.10.013.
30. **Vodyanova O.S., Kochergin B.A., Usoltsev S.D., Marfin Y.S., Rummyantsev E.V., Aleksakhina E.L.** BODIPY dyes in bio environment: Spectral characteristics and possibilities for practical application. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2018. V. 350. P. 44–51. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2017.09.049.
31. **Lim S.H., Thivierge C., Nowak-Sliwinska P., Han J., Van Den Bergh H., Wagnières G.** In vitro and in vivo photocytotoxicity of boron dipyrromethene derivatives for photodynamic therapy. *J. Med. Chem.* 2010. V. 53. P. 2865. DOI: 10.1021/jm901823u.
32. **Marfin Y.S., Solomonov A.V., Timin A.S., Rummyantsev E.V.** Recent advances of individual BODIPY and BODIPY-based functional materials in medical diagnostics and treatment. *Curr. Med. Chem.* 2017. V. 24. P. 2745. DOI: 10.2174/0929867324666170601092327.
33. **Goncharenko A.A., Tarasyuk I.A., Marfin Y.S., Grzhegorzhevskii K.V., Muslimov A.R., Bondarenko A.B.** DDAO controlled synthesis of organo-modified silica nanoparticles with encapsulated fluorescent boron dipyrins and study of their uptake by cancerous cells. *Molecules.* 2020. 25(17). P. 3802. DOI: 10.3390/molecules25173802.
20. **Molchanov E.E., Marfin Y.S., Ksenofontov A.A., Rummyantsev E.V.** Synthesis and spectral properties of bodipy luminophore with extended π -electronic system. *Izv Vyssh Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [ChemChemTech]. 2019. V. 62. P. 13. DOI: 10.6060/ivkkt.20196212.6017.
21. **Pogonin A.E., Shagurin A.Y., Marfin Y.S., Vashurin A.S.** Quantum Chemical Study Aimed at Modeling Efficient Aza-BODIPY NIR Dyes: Molecular and Electronic Structure, Absorption, and Emission Spectra. *Molecules.* 2020. V. 25. P. 5361. DOI: 10.3390/molecules25225361.
22. **Johnson I.** Fluorescent probes for living cells. *Histochem. J.* 1998. V. 30. P. 123. DOI: 10.1023/A:1003287101868.
23. **Licha K., Resch-Genger U.** Fluorescent Reporters and Optical Probes. In: *Compr. Biomed. Phys.* Ed. by A. Brahme. Elsevier. 2014. P. 85–109. DOI: 10.1016/B978-0-444-53632-7.00402-0.
24. **Ooyama Y., Hato M., Enoki T., Aoyama S., Furue K., Tsunoji N.** A BODIPY sensor for water based on a photo-induced electron transfer method with fluorescence enhancement and attenuation systems. *New J. Chem.* 2016. V. 40. P. 7278. DOI: 10.1039/C6NJ01467D.
25. **Zhao X., Gao C., Li N., Liu F., Huo S., Li J.** BODIPY based fluorescent turn-on sensor for highly selective detection of HNO and the application in living cells. *Tetrahedron Lett.* 2019. V. 60. P. 1452. DOI: 10.1016/J.TETLET.2019.04.049.
26. **Strobl M., Rappitsch T., Borisov S.M., Mayr T., Klimant I.** NIR-emitting aza-BODIPY dyes - new building blocks for broad-range optical pH sensors. *Analyst.* 2015. V. 140. P. 7150. DOI: 10.1039/c5an01389e.
27. **Collot M., Fam T.K., Ashokkumar P., Faklaris O., Galli T., Danglot L.** Ultrabright and Fluorogenic Probes for Multicolor Imaging and Tracking of Lipid Droplets in Cells and Tissues. *J. Am. Chem. Soc.* 2018. V. 140. P. 5401. DOI: 10.1021/jacs.7b12817.
28. **Kiyose K., Kojima H., Nagano T.** Functional near-infrared fluorescent probes. *Chem. - An Asian J.* 2008. V. 3. P. 506. DOI: 10.1002/asia.200700267.
29. **Yang X., Zhang X.F., Lu X., Yu C., Jiao L.** Red fluorescent monobenzo-BODIPY dyes: Solvent effects on spectra and efficient fluorescence quenching by quinones and phenols. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2015. V. 297. P. 39–44. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2014.10.013.
30. **Vodyanova O.S., Kochergin B.A., Usoltsev S.D., Marfin Y.S., Rummyantsev E.V., Aleksakhina E.L.** BODIPY dyes in bio environment: Spectral characteristics and possibilities for practical application. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 2018. V. 350. P. 44–51. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2017.09.049.
31. **Lim S.H., Thivierge C., Nowak-Sliwinska P., Han J., Van Den Bergh H., Wagnières G.** In vitro and in vivo photocytotoxicity of boron dipyrromethene derivatives for photodynamic therapy. *J. Med. Chem.* 2010. V. 53. P. 2865. DOI: 10.1021/jm901823u.
32. **Marfin Y.S., Solomonov A.V., Timin A.S., Rummyantsev E.V.** Recent advances of individual BODIPY and BODIPY-based functional materials in medical diagnostics and treatment. *Curr. Med. Chem.* 2017. V. 24. P. 2745. DOI: 10.2174/0929867324666170601092327.
33. **Goncharenko A.A., Tarasyuk I.A., Marfin Y.S., Grzhegorzhevskii K.V., Muslimov A.R., Bondarenko A.B.** DDAO controlled synthesis of organo-modified silica nanoparticles with encapsulated fluorescent boron dipyrins and study of their uptake by cancerous cells. *Molecules.* 2020. P. 3802. DOI: 10.3390/molecules25173802.

34. **Zhang Q., Cai Y., Wang X.-J., Xu J.-L., Ye Z., Wang S.** Targeted Photodynamic Killing of Breast Cancer Cells Employing Heptamannosylated β -Cyclodextrin-Mediated Nanoparticle Formation of an Adamantane-Functionalized BODIPY Photosensitizer. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2016. 8. 49. P. 33405–33411. DOI: 10.1021/acsami.6b13612.
35. **Wang Z., Hong X., Zong S., Tang C., Cui Y., Zheng Q.** BODIPY-doped silica nanoparticles with reduced dye leakage and enhanced singlet oxygen generation. *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 12602. DOI: 10.1038/srep12602.
36. **Синегубова Е.О., Дубровина И.А., Мясников В.А.** Комплексный подход к оценке цитотоксичности рибосом-инактивирующих белков на клеточной модели *in vitro*. *Медицина экстремал. ситуаций*. 2019. Т. 21. N 1. С. 163-172.
37. **Криштоп В.В., Пахрова О.А., Кустов А.В., Худяева И.С., Белых Д.В.** Исследование цитотоксических свойств химически модифицированных производных хлорофилла α в отношении клеток крови. *Усп. современ. естествозн.* 2017. Т. 3. С. 20-29.
38. **Терехина Н.А., Петрович Ю.А.** Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система. Пермь. 2005. 57 с.
39. **Козинец Г.И., Макаров В.А.** Исследование системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х. 1997. 480 с.
40. **Цапок П.И., Галкин А.А.** Хемилуминесцентный метод определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови. Информ. листок № 175-98 Кировского ЦНТИ. Киров. 1998. 3 с.
41. **Крупницкая Л.И., Цейликман В.Э., Попова А.С., Синицкий А.И., Голощапова Т.Н.** Ксантинооксидаза как показатель адаптации новорожденных. *Клинич. лаборатор. диагностика*. 2008. Т. 12. С. 16-17.
42. **Костяев А.А., Мартусевич А.К., Андреев А.А.** Токсичность криопротекторов и криоконсервантов на их основе для компонентов крови и костного мозга (обзорная статья). *Науч. обозрение. Мед. науки*. 2016. Т. 6. С. 54-74.
43. **Корниенко Е.М.** Исследование кинетики детергентного гемолиза эритроцитов модифицированных ДМСО. *CRYOBIOLOGY*. 2012. Т. 15. N 1008. С. 171-176.
44. **Григорян К.Р.** Влияние диметилсульфоксида и диэтилсульфоксида на термическую денатурацию человеческого сывороточного альбумина. *Пробл. криобиологии*. 2009. Т. 19. № 4. С. 33-37.
45. **Ермакова Е.Д., Люшина Г.А.** Оценка мембраностабилизирующего действия органических соединений. *Вестн. ПНИПУ. Хим. технол. и биотехнол.* 2017. Т. 3. С. 45-53. DOI: 10.15593/2224-9400/2017.3.04.
34. **Zhang Q., Cai Y., Wang X.-J., Xu J.-L., Ye Z., Wang S.** Targeted Photodynamic Killing of Breast Cancer Cells Employing Heptamannosylated β -Cyclodextrin-Mediated Nanoparticle Formation of an Adamantane-Functionalized BODIPY Photosensitizer. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2016. 8. 49. P. 33405–33411. DOI: 10.1021/acsami.6b13612.
35. **Wang Z., Hong X., Zong S., Tang C., Cui Y., Zheng Q.** BODIPY-doped silica nanoparticles with reduced dye leakage and enhanced singlet oxygen generation. *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 12602. DOI: 10.1038/srep12602.
36. **Sinegubova E.O., Dubrovina I.A., Myasnikov V.A.** An integrated approach to assessing the cytotoxicity of ribosome-inactivating proteins in an *in vitro* cell model. *Meditsina ekstremal. situatsiy*. 2019. V. 21. N 1. P. 163-172 (in Russian).
37. **Krishtop V.V., Pakhrova O.A., Kustov A.V., Khudyaeva I.S., Belykh D.V.** Study of the cytotoxic properties of chemically modified derivatives of chlorophyll α in relation to blood cells. *Usp. Sovremen. Estestvozn.* 2017. V. 3. P. 20-29 (in Russian).
38. **Terekhina N.A., Petrovich Yu.A.** Free radical oxidation and antioxidant system. Perm. 2005. 57 p. (in Russian).
39. **Kozinets G.I., Makarov V.A.** Investigation of the blood system in clinical practice. M.: Triada-H. 1997. 480 p. (in Russian).
40. **Tsapok P.I., Galkin A.A.** Chemiluminescent method for determining the products of lipid peroxidation in blood serum. Inform. leaflet No. 175-98 of the Kirov Center for Science and Technology. Kirov. 1998. 3 p. (in Russian).
41. **Krupitskaya L.I., Tseilikman V.E., Popova A.S., Sinitskiy A.I., Goloshchapova T.N.** Xanthine oxidase as an indicator of newborn adaptation. *Klinich. Laborator. Diagnostika*. 2008. V. 12. P. 16-17 (in Russian).
42. **Kostyaev A.A., Martusevich A.K., Andreev A.A.** Toxicity of cryoprotectants and cryopreservatives based on them for blood and bone marrow components (review article). *Nauch. obozrenie. Med. Nauki*. 2016. V. 6. P. 54-74 (in Russian).
43. **Kornienko E.M.** Study of the kinetics of detergent hemolysis of erythrocytes modified with DMSO. *CRYOBIOLOGY*. 2012. V. 15. N 1008. P.171-176 (in Russian).
44. **Grigoryan K.R.** Effect of dimethyl sulfoxide and diethyl sulfoxide on thermal denaturation of human serum albumin. *Probl. Kriobiol.* 2009. V. 19. N 4. P. 33-37 (in Russian).
45. **Ermakova E.D., Lyushina G.A.** Assessment of the membrane stabilizing action of organic compounds. *Vestn. PNIPU. Khim. Tekhnol. Biotekhnol.* 2017. V. 3. P. 45-53 (in Russian). DOI: 10.15593/2224-9400/2017.3.04.

Поступила в редакцию 21.12.2020
Принята к опубликованию 20.01.2021

Received 21.12.2020
Accepted 20.01.2021