

**АГРЕГАЦИЯ ГИДРОФОБНЫХ ХЛОРИНОВ С ФРАГМЕНТАМИ
АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ЭТАНОЛА И ТВИН 80****О.В. Шухто, И.С. Худяева, Д.В. Белых, Д.Б. Березин**

Ольга Владимировна Шухто *, Дмитрий Борисович Березин

НИИ макрогетероциклических соединений, Ивановский государственный химико-технологический университет, пр. Шереметевский 7, Иваново, Российская Федерация, 153000

E-mail: shukhto@isuct.ru *, berezin@isuct.ru

Ирина Степановна Худяева, Дмитрий Владимирович Белых

Лаборатория органического синтеза и химии природных соединений, Институт химии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения РАН, ул. Первомайская, 48, Сыктывкар, Республика Коми, Российская Федерация, 167000

E-mail: belykh-dv@mail.ru

Метод фотодинамической терапии, применяемый как для лечения онкологических заболеваний (ФДТ), так и в качестве альтернативы антибиотикотерапии резистентных бактериальных и грибковых инфекций (АФДТ), предполагает необходимость нахождения фотосенсибилизатора (ФС) в составе препарата в неагрегированной молекулярной форме. Агрегация ФС снижает квантовый выход активных форм кислорода (АФК), время циркуляции пигментов в кровотоке, их тропность к атипичным клеткам, а значит, и эффективность ФДТ. В данной работе проведено исследование агрегационного состояния потенциальных ФС на основе хлорина e_6 , содержащих фрагменты антибактериальных препаратов «Мирамистин» и «Диоксидин» в водных растворах этанола, а также биосовместимого мицеллярного ПАВ Твин 80. Наилучшим способом исследования агрегации макроциклов хлоринового ряда в водно-этанольных растворах является сочетание методов абсорбционной спектроскопии и динамического светорассеяния, что позволяет делать заключения об образовании в системе агрегированных форм разных типов. Предположительно введение дополнительных фрагментов антибактериальных препаратов в структуру потенциального фотосенсибилизатора оказывает положительное влияние на АФДТ, несмотря на то, что такого рода гидрофобные ФС в водных растворах этанола и Твин 80 агрегированы не только при концентрациях, необходимых для применения в ФДТ, но и в более разбавленных растворах. В работе спектрофотометрически определены константы связывания ФС-ПАВ, методом динамического тушения флуоресценции оценена вероятная глубина локализации ФС в мицелле, методом динамического светорассеяния определен размер их агрегатов в водных растворах. Сделано предположение о том, что даже при больших избытках ПАВ по отношению к ФС последний может находиться не только в составе образовавшейся мицеллы, но в свободной агрегированной форме. Показано, что применение Твин 80 позволяет добиться лишь частичной дезагрегации изученных гидрофобных макроциклических ФС.

Ключевые слова: хлориновый фотосенсибилизатор, агрегация, неионогенное поверхностно-активное вещество, молекулярный комплекс, тушение флуоресценции, динамическое рассеяние света

Для цитирования:

Шухто О.В., Худяева И.С., Белых Д.В., Березин Д.Б. Агрегация гидрофобных хлоринов с фрагментами антимикробных препаратов в водных растворах этанола и Твин 80. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2021. Т. 64. Вып. 11. С. 86–96

For citation:

Shukhto O.V., Khudyaeva I.S., Belykh D.V., Berezin D.B. Aggregation of hydrophobic chlorins with fragments of antimicrobial drugs in aqueous solutions of ethanol and Tween 80. *ChemChemTech [Изв. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2021. V. 64. N 11. P. 86–96

AGGREGATION OF HYDROPHOBIC CHLORINS WITH FRAGMENTS OF ANTIMICROBIAL DRUGS IN AQUEOUS SOLUTIONS OF ETHANOL AND TWEEN 80

O.V. Shukhto, I.S. Khudyaeva, D.V. Belykh, D.B. Berezin

Olga V. Shukhto, Dmitry B. Berezin

Research Institute of Macrocyclic Compounds, Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Sheremetevsky ave., 7, Ivanovo, 153000, Russia
E-mail: shukhto@isuct.ru *, berezin@isuct.ru

Irina S. Khudyaeva, Dmitry V. Belykh

Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemistry, Federal Research Center, Komi Scientific Center, Ural Branch of the RAS, Pervomayskaya st., 48, Syktyvkar, Republic of Komi, 167000, Russia
E-mail: belykh-dv@mail.ru

The method of photodynamic therapy (PDT), which is used both for the treatment of oncological diseases and as an alternative to antibiotic therapy of resistant bacterial and fungal infections, needs a photosensitizer (PS) in the drug dosage form in non-aggregated state. Aggregation of PS reduces the quantum yield of reactive oxygen species (ROS), the time of circulation of pigments in the bloodstream, their tropism to atypical cells, and, hence, the effectiveness of PDT. In this work, we studied the aggregation state of potential PSs based on chlorin e_6 containing fragments of antibacterial drugs Miramistin and Dioxidin in aqueous solutions of ethanol, as well as the biocompatible micellar surfactant Tween 80. The best way to study the aggregation of macrocycles of the chlorin series in aqueous ethanol solutions is a combination of absorption spectroscopy and dynamic light scattering methods, which makes it possible to draw conclusions about the formation of aggregated forms of different types in the system. Presumably, the introduction of additional fragments of antibacterial drugs into the structure of a potential photosensitizer bring a positive effect on APDT, despite the fact that such hydrophobic PSs in aqueous solutions of ethanol and Tween 80 are aggregated not only at therapeutic concentrations, but also in more dilute solutions. The binding constants of PS-surfactant were determined spectrophotometrically. The probable depth of PS localization in a micelle was estimated by the method of fluorescence quenching. The size of their aggregates in aqueous solutions was determined by the method of dynamic light scattering. It has been suggested that even with large excess of surfactants in relation to PS, the latter can be found not only inside of the micelle formed, but in a free aggregated form. It was shown that the use of Tween 80 makes it possible to achieve only partial disaggregation of the hydrophobic macrocyclic PSs studied.

Key words: chlorin photosensitizer, aggregation, non-ionic surfactant, molecular complex, fluorescence quenching, dynamic light scattering

ВВЕДЕНИЕ

Внедрение в практику метода фотодинамической терапии (ФДТ) как системного подхода к лечению онкологических заболеваний началось с работ [1-8] по исследованию гибели атипичных клеток под воздействием активных форм кислорода (АФК). Суть метода, а также одна из главных проблем его реализации, состоит в селективном накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в малигнизированной клетке с последующим его облучением, в результате чего молекулы кислорода, нахо-

дящиеся в тканях опухоли, переходят в возбужденное состояние и генерируют АФК, присутствие которых несовместимо с протеканием жизненных процессов [3, 9].

Впоследствии метод ФДТ был успешно применен и к лечению бактериальных инфекций [10-14], в том числе вызываемых штаммами антибиотикорезистентных микроорганизмов. Антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ) является сравнительно новым методом лечения [4, 8, 11]. АФДТ имеет незначительное количество побочных эффектов, так как ее действие лимитируется зоной

облучения поврежденной ткани, а патогенные микроорганизмы не имеют биологических механизмов выработки устойчивости к фотоинаktivации [8].

ФС третьего поколения, повсеместно используемые в настоящее время на практике – это в основном производные порфириновых или хлориновых макрогетероциклов, связанных со средствами направленной (факторы роста, липопротеины, моноклональные антитела и т.д.) либо пассивной (полимеры, мицеллы, липосомы, и т.д.) доставки [4, 15-17]. При этом в АФДТ приветствуется применение в качестве ФС соединений, в структуре которых присутствуют, помимо макроцикла, еще и фрагменты антибактериальных препаратов, что позволяет совместить АФДТ с антимикробной химиотерапией, создавая препараты комбинированного действия [4, 17, 18]. Желательным условием применения ароматических тетрапирролов в ФДТ является их растворимость в воде или, по крайней мере, высокая гидрофильность, поскольку терапевтический процесс осуществляется в биосистемах, представляющих собой водные растворы [8, 14, 19]. Тетрапиррольные МГЦ на основе хлоринов, включая содержащие гидрофильные группы различной природы, остаются преимущественно гидрофобными соединениями, поэтому, в зависимости от условий среды, могут подвергаться ассоциации с возможностью дальнейшей агрегации более высокого порядка [20, 21].

Как правило, абсорбционные спектры (ЭСП) и спектры флуоресценции (Фл) хлориновых ФС демонстрируют образование ассоциатов в системе этанол – вода уже при концентрации МГЦ 10^{-5} - 10^{-6} моль/кг [22], тогда как зачастую в спектрах динамического светорассеяния (ДРС) наноразмерные агрегаты в этом концентрационном диапазоне не фиксируются [23, 24]. Это может означать, что в рассматриваемых условиях агрегаты ФС представляют собой структуры димерного или тримерного строения, диаметр которых ниже фиксируемого методом ДРС (< 1 нм) [23]. При более высоких концентрациях, близких к терапевтическим (10^{-3} моль/кг), эти МГЦ образуют в водных растворах наноагрегаты, фиксируемые методом ДРС [23].

Применение мицеллярных или полимерных ПАВ обычно приводит к частичной или полной дезагрегации ФС и образованию молекулярных комплексов ФС-ПАВ различного состава и устойчивости [22, 24-29].

Целью настоящей работы является исследование агрегации преимущественно гидрофобных конъюгатов хлорина e_6 с фрагментами препаратов антимикробного действия «Диоксидин» и

«Мирамистин» [14, 19], перспективных в качестве препаратов двойного действия, в водных растворах этанола и неионогенного ПАВ Твин 80. Известно [6], что степень гидрофобности ФС определяет механизм его поглощения атипичной клеткой и особенности внутриклеточной локализации [4, 30]. Считается, что гидрофобные ФС, вводимые с помощью солюбилизирующего носителя, в основном, локализуются в слое липопротеинов низкой плотности, что благоприятствует их проникновению в митохондрии атипичных клеток и в ходе ФДТ позволяет запустить апоптоз, как наиболее желательный механизм клеточной гибели [4, 31].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Синтез и характеристика объектов исследования, растворителей и реагентов

Исследуемые хлорины **1-4** (рис. 1), перспективные ФС для АФДТ, были получены по описанным ранее методикам [13, 14, 19]. Структура всех синтезированных соединений подтверждена методами ^1H ЯМР-спектроскопии (Bruker 500 MHz Avance III, США) и масс-спектрометрии (MALDI-TOF Shimadzu Axima Confidence, Япония).

Воду непосредственно перед экспериментом подвергали бидистилляции, этанол кипятили с магнием, сушили над молекулярными ситами 4 \AA и перегоняли [32]. Твин 80 (Tween 80, Sigma-Aldrich) и йодид калия («х.ч.», Sigma-Aldrich, ACS Reagent) использовали без дополнительной очистки.

Электронная абсорбционная спектроскопия

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Drawell G9 (КНР).

Спектрофотометрическое исследование ассоциации ФС в системе этанол – вода

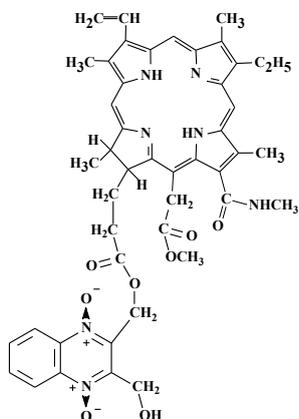
Серию растворов ФС с различным соотношением компонентов в системе $\text{EtOH} - \text{H}_2\text{O}$ с постоянной концентрацией окрашенного вещества ($7,3 \cdot 10^{-6}$ моль/кг) готовили с использованием этанольного раствора пигмента ($7,3 \cdot 10^{-5}$ моль/кг), определяя массовый процент каждого компонента смеси. Измерение ЭСП проводили в стандартной кварцевой кювете ($l = 10$ мм) после термостатирования пробы при 298 К. Агрегационные кривые ФС **1-3** приведены на рис. 2.

Спектрофотометрическое титрование водных растворов ФС растворами полиоксэтилированного моноолеата сорбитана (Твин 80)

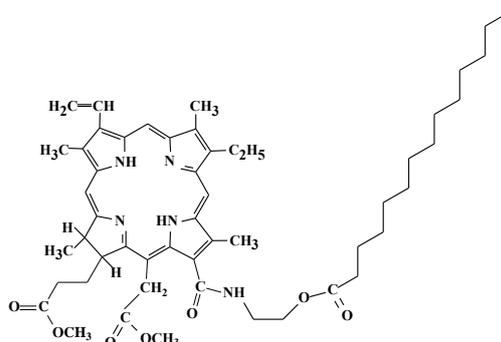
Поскольку исследуемые соединения **1** и **3** малорастворимы в воде, раствор ФС с концентрацией $7,3 \cdot 10^{-5}$ моль/кг готовили путем растворения навески пигмента в небольшом количестве этанола с последующим добавлением 90 масс. % воды.

Водный раствор Твин 80 ($7,3 \cdot 10^{-3}$ моль/кг) разбавляли в различных соотношениях, прибавляли к раствору ФС до достижения постоянной концен-

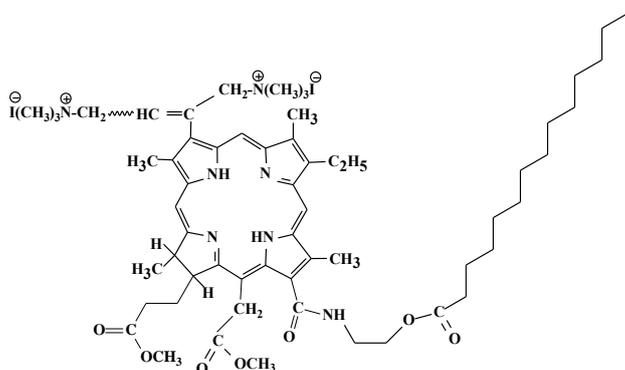
трации ФС ($7,3 \cdot 10^{-6}$ моль/кг) и мольным соотношением ФС/ПАВ от 1/10 до 1/300. После термостатирования при 25 °С регистрировали ЭСП серии полученных растворов.



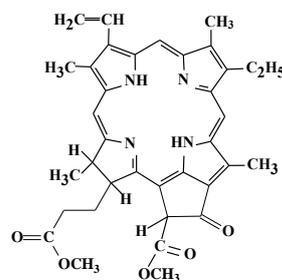
13(1)-N-метиламид-17(3)-(2,3-дигидроксиметил-1,4-хиноксалин-N,N'-диоксид)-15(2)-диметиловый эфир хлорина e_6 (1)



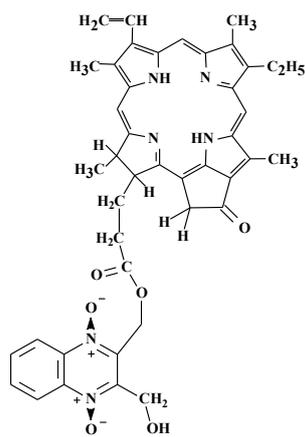
13(1)-N-(2-миристоксиэтил)-амид-15(2),17(3)-диметиловый эфир хлорина e_6 (2)



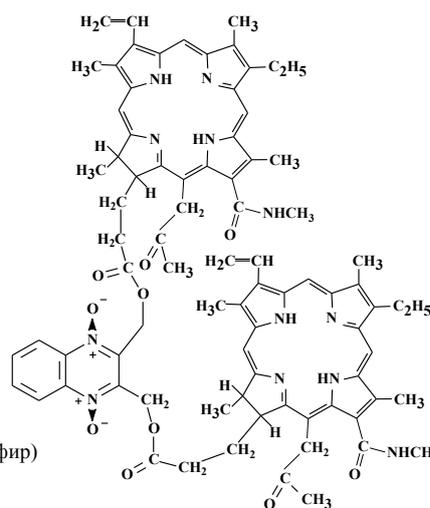
3(1),3(2)-бис-(N''N'''-триметиламинометил иодид)-13(1)-N-(2-миристоксиэтил)-амид-15(2),17(3)-диметиловый эфир хлорина e_6 (3)



феофорбид *a* 17(3)-метилловый эфир (4)



17(3)-(2,3-Дигидроксиметил-1,4-хиноксалиновый эфир) пиреофорбида *a* (5)



Хлорин-хлориновый димер 2,3-дигидроксиметил-1,4-хиноксалина (6)

Рис. 1. Структурные формулы исследуемых соединений
Fig. 1. Structure of the compounds studied

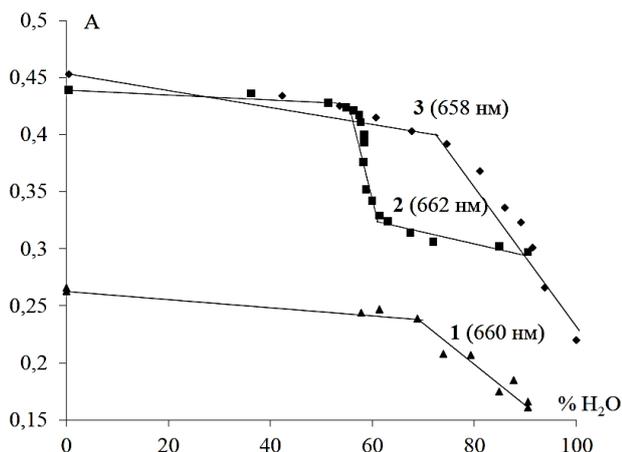


Рис. 2. Зависимость оптической плотности растворов хлоринов 1 – 3 ($7,3 \cdot 10^{-6}$ моль/кг) от соотношения компонентов в системе этанол – вода, 298К

Fig. 2. The dependence of the absorption of solutions of chlorins 1 - 3 ($7,3 \cdot 10^{-6}$ mol/kg) on the ratio of components in the ethanol – water system, 298K

Константы взаимодействия ФС с компонентами мицеллы Твин 80 рассчитывали на основе математической модели (1) [24], полученной из уравнения закона действующих масс (2).

$$\lg \left[\frac{\left(\frac{A - A_0}{A_{max} - A_0} \right)}{\left(1 - \frac{A - A_0}{A_{max} - A_0} \right)} \right] = \lg K_b + n * \lg \left[m_T^m - n \left(m_{ФС} \frac{A - A_0}{A_{max} - A_0} \right) \right] \quad (1)$$

В уравнении (1) $m_{ФС}$ – концентрация ФС; $m_T^m = (m_T - \text{ККМ})$ – концентрация мицеллярного Твин 80, которая оценивается как разница между его аналитической концентрацией и критической концентрацией мицеллообразования (ККМ = $1,5 \cdot 10^{-5}$ М); n – количество молекул ПАВ, которые находятся в тесном контакте с ФС в мицелле; A_0 и A_{max} – оптические плотности растворов ФС в воде и водном растворе Твин 80, где экспериментальная кривая $A = f(m_T)$ достигает плато.



В уравнении (2) $[ФС]$, $[T]$ и $[ФС \cdot T_n]$ – равновесные концентрации ФС, Твин 80 и их молекулярного комплекса.

Параметры K_b и n для исследуемых фотосенсибилизаторов были получены с помощью стандартной процедуры итерации.

Флуоресцентная спектроскопия

Стационарные спектры флуоресценции ФС регистрировали на спектрофлуориметре Solar CM 2203 (Беларусь).

Относительное расположение ФС в мицелле Твин 80 (глубину проникновения) определяли путем проведения экспериментов по динамическому тушению флуоресценции водных растворов пигментов йодидом калия и анализу констант Штерна-Вольмера (K_{SV}).

Для этого раствор исследуемых ФС ($1,1 \cdot 10^{-6}$ моль/кг) в 200-кратном мольном избытке Твин 80 титровали свежеприготовленным 3М раствором иодистого калия. Значение K_{SV} определяли по наклону линейной зависимости тушения флуоресценции (рис. 3), полученной из уравнения Штерна-Вольмера (3):

$$F_0/F = 1 + K_{SV} \cdot [I] \quad (3),$$

где F_0 и F – интенсивности флуоресценции ФС в водном растворе Твин 80 без тушителя и в растворе, содержащем КИ, соответственно; $[I]$ – молярность тушителя.

Фотонная корреляционная спектроскопия

Определение размера агрегатов молекул ФС и изучение их распределения по размерам в водных растворах выполняли методом динамического светорассеяния (ДРС) с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS ZEN3600 (Malvern Instruments, Великобритания), оснащенного лазером с длиной волны 633 нм и технологией неинвазивного обратного рассеяния (NIBS). Детектор рассеянного света располагался под углом 173° к падающему излучению. В качестве коэффициентов динамической вязкости и преломления дисперсионной среды принимали соответствующие данные для системы 10% EtOH – H₂O [33]. Растворы ФС для проведения исследований готовили весовым методом, фильтровали с помощью одноразового целлюлозного фильтра (Jetbiofil, размер пор 0,22 мкм) и хранили в защищенном от света месте. Исследование водных растворов соединений 1-3 методом ДРС проводили через несколько дней после приготовления, по завершении формирования структуры агрегатов ФС.

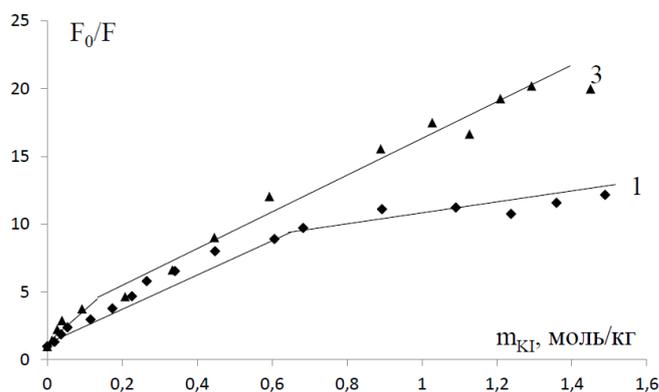


Рис. 3. Зависимости Штерна-Вольмера для титрования хлоринов 1 ($\lambda = 670$ нм) и 3 ($\lambda = 663$ нм) КИ в водном растворе Твин 80, содержащем 200-кратный молярный избыток ПАВ по отношению к ФС

Fig. 3. Stern-Volmer dependences for titration of chlorins 1 ($\lambda = 670$ nm) and 3 ($\lambda = 663$ nm) with KI in an aqueous solution of Tween 80 containing a 200-fold molar excess of surfactant relative to PS

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Агрегация гидрофобных хлориновых ФС в водных растворах

Ранее в работе [22] было показано, что неионогенные, катионные и цвиттер-ионные хлорины различной степени гидрофильности в системе этанол – вода начинают образовывать ассоциаты/агрегаты в интервале концентраций воды от 44 до 80 массовых процентов. Согласно наблюдаемым изменениям ЭСП [22] наиболее склонными к ассоциации оказались диоксидин-форбиновое производное **5** (44% H₂O), диоксидин-хлориновый димер **6** (49% H₂O) и неионогенное миристиновое производное хлорина e₆ **2** (57% H₂O), а наиболее гидрофильными – диэтиленгликолевые производные хлорина e₆ (> 72% H₂O) [22, 34, 35].

Переход от диоксидин-форбинового конъюгата **5** к диоксидин-хлорину **1** практически не приводит к смещению начала агрегации в системе этанол – вода (60% H₂O → 61% H₂O), тогда как введение в винильную группу конъюгата хлорина e₆ с миристиновой кислотой **2** дикатионного бис-аминометильного фрагмента в соед. **3** существенно сдвигает точку начала ассоциации с 57 до 70% H₂O при концентрации пигмента 7·10⁻⁶ моль/кг [22]. Спектральные (ЭСП) изменения в ходе агрегации во всех изученных случаях характеризуются небольшими (5-10 нм) батохромными смещениями длинноволновой Q_x-полосы электронного спектра, что может указывать на образование ассоциатов J-типа [21, 22].

Однако, как оказалось, электронная спектроскопия, в отличие от спектроскопии динамического светорассеяния (ДРС), не может дать прямого ответа на вопрос о состоянии и размерах частиц агрегированного ФС или его молекулярных форм, инкапсулированных в мицеллы ПАВ. Так, по данным ДРС, соед. **1** и **3**, растворенные в 10% водном растворе этанола, поскольку являются малорастворимыми в воде, при концентрации МГЦ ~10⁻⁵ моль/кг демонстрируют агрегаты размером, соответственно, 500 нм (мономодальное распределение) и 250 + 4000 нм (бимодальное распределение, рис. 4(1)).

Добавка неионогенного мицеллярного ПАВ Твин 80 в эквимолярном соотношении с хлорином практически не влияет на процессы дезагрегации (300 нм и 300 + 3000 нм, соответственно, рис. 4(2)), тогда как в случае катионных хлоринов [14, 23, 24] даже при концентрации 10⁻³ моль/кг такая добавка полимерного ПАВ поливинилпирролидона (ПВП) приводила к полному разрушению агрегатов. Только добавки 200-кратного, а, гарантированно, 600- и 6000-кратного молярного избытков Твин 80 приводят к практически полному исчезновению агрегатов в 10% водном растворе этанола как для

соед. **1**, так и МГЦ **3** (рис. 4(3,4)). Следует отметить негативное влияние спирта на процессы формирования мицелл Твин 80 в рассматриваемой системе: мицеллы ПАВ размером от 9 до 14 нм видны только при больших (200 и более) избытках носителя (рис. 4).

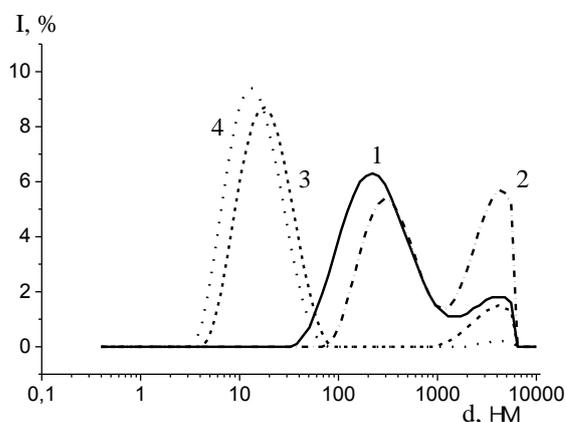


Рис. 4. Распределение агрегатов ФС 3 по размерам в 10% водном растворе этанола (1), а также в растворе Твин 80 при молярных соотношениях ФС/Твин 80: 1/1 (2), 1/200 (3) и 1/600 (4)
Fig. 4. Size distribution of PS 3 aggregates in a 10% aqueous solution of ethanol (1), in a solution of Tween 80 at molar ratios of PS / Tween 80: 1/1 (2), 1/200 (3), and 1/600 (4)

Таким образом, изучение агрегации как водорастворимых катионных [13], так и гидрофобных хлоринов путем комбинации методов ЭСП и ДРС показывает, что данные по изменению спектров поглощения не позволяют различить образование в растворе ассоциатов ФС, небольших агрегатов ниже наноразмерного уровня или крупных наноагрегатов, а для получения информации о размерах агрегатов метод абсорбционной спектроскопии должен применяться в сочетании с результатами фотонной корреляционной спектроскопии.

Дезагрегация ФС в водных растворах ПАВ и взаимодействие с носителями

Добавки неионогенного ПАВ способны разрушить агрегаты ФС в водном растворе не во всех случаях, а положительный результат зависит от степени гидрофобности пигмента. Как показали наши исследования, хлорины, начинающие агрегировать в системе этанол – вода при массовом содержании последней менее 60% [22], не подвергаются заметной дезагрегации даже при 500- и 1000-кратном молярном избытке Твин 80 (рис. 5а, **2**), по крайней мере, без дополнительной, например, энергичной ультразвуковой обработки. При этом даже такие достаточно гидрофобные пигменты как метилфеофорбид **а 4**, обладающий высоким коэффициентом распределения в системе 1-октанол – фосфатный буфер (P = 210 при 298 К) [19, 26, 36-39], частично дезагрегируют в этих условиях (рис. 5б).

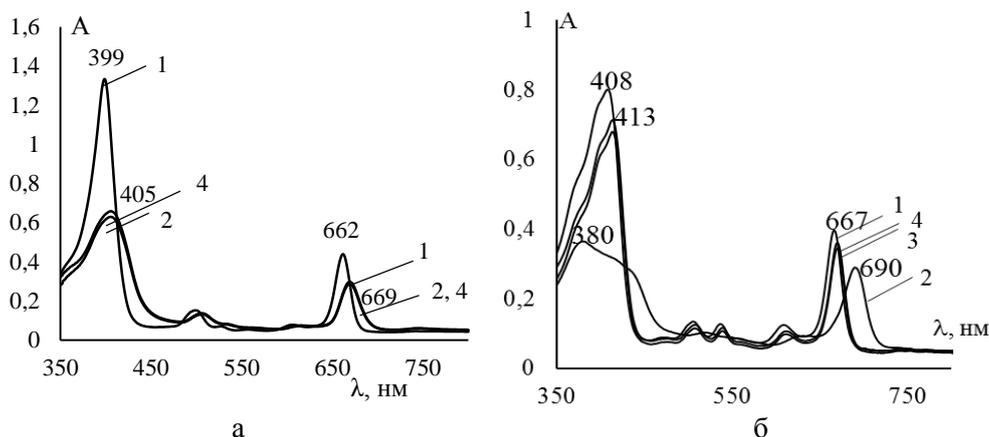


Рис. 5. ЭСП хлоринов 2 (а) и 4 (б) в этаноле (1), системе 1% EtOH – H₂O (2) и водном растворе Твин 80 в мольном соотношении ФС/Твин 80: 1/500 (3) и 1/1000 (4)

Fig. 5. a) UV-VIS spectra of chlorins 2 (a) and 4 (б) in ethanol (1), 1% EtOH – H₂O system (2), and an aqueous solution of Tween 80 in a molar ratio of PS / Tween 80: 1/500 (3) and 1 / 1000 (4)

Таблица

Параметры уравнений (1) и (3)

Table. Parameters of eqs (1, 3)

			Ур-е (1)			
ФС	m_{PS} , моль/кг	m_T , моль/кг	lgK_b^{***}	n	R^2	s_f
1	$7,15 \cdot 10^{-6}$	$(1,50-7,83) \cdot 10^{-5}$	$6,75 \pm 0,58$	$1,52 \pm 0,12$	0,96	0,09
3	$7,30 \cdot 10^{-6}$	$(1,50-73,0) \cdot 10^{-5}$	$5,55 \pm 0,26$	$1,23 \pm 0,07$	0,98	0,02
			Ур-е (3)			
ФС			m_{K1} , моль/кг	K_{SV} (кг·моль ⁻¹)		
1	$1,10 \cdot 10^{-6}$	$2,14 \cdot 10^{-4}$	0,02-0,68 0,89-1,49	17,42±2,75 8,78±1,26		
3	$1,00 \cdot 10^{-6}$	$2,07 \cdot 10^{-4}$	0,01-0,10 0,20-1,45	39,67±7,93 16,05±1,11		

Примечания: *Отклонение значений lgK_b и K_{SV} представлено в виде стандартных погрешностей;

**Условная (оценочная) величина

Notes: * Deviation of lgK_b and K_{SV} values is presented as standard errors

** Conditional (estimated) value

Поскольку изученные в настоящей работе гидрофобные ФС (1, 3) агрегированы в водных растворах, содержащих Твин 80 в количествах, меньше 200-кратного мольного избытка ПАВ, рассчитанные нами по уравнению (1) константы K_b взаимодействия ФС-Твин 80 можно рассматривать лишь как условные величины (таблица). Тем не менее, полученные для хлоринов 1 и 3 значения lgK_b достаточно велики и близки, например, к величине, известной для водорастворимого монокатионного хлорина ($lgK_b = 4,57$) [24], хотя, в отличие от последнего, исследуемые МГЦ в рассматриваемых условиях агрегированы, а необходимость предшествующей молекулярному комплексообразованию стадии дезагрегации ФС должна бы привести к снижению константы взаимодействия. В случае обоих ФС во взаимодействии с молекулой пигмента в составе мицеллы участвует одна молекула Твин 80 ($n = 1$, таблица).

Локализация пигментов в мицелле Твин 80

Особенностью процесса динамического тушения флуоресценции йодистым калием в случае гидрофобных хлоринов 1 и 3 является его двухстадийность (таблица, рис. 3). Мы полагаем, что причина этого состоит в том, что гидрофобные ФС присутствуют в водном растворе Твин 80 в двух формах – свободной (или агрегированной) и мицеллярной. Наличие свободной формы обусловлено остаточной агрегацией ФС при 200-кратном мольном избытке Твин 80 (рис. 4). Это объяснение согласуется с высокими величинами констант Штерна-Вольмера на первом этапе тушения (рис. 3), превышающими ранее полученное значение для монокатионного хлорина в водном растворе в отсутствие мицелл Твин 80 ($K_{SV} = 9,24$) [24]. Таким образом, рассчитанные нами значения K_{SV} для первого этапа тушения не могут принадлежать мицеллярной форме ФС. Для ФС, связанных в мицелле

Твин 80 (второй этап тушения), величины K_{SV} вдвое ниже (таблица), но все еще высоки, что свидетельствует о поверхностном расположении пигмента в составе носителя [24-27]. Содержание в системе не связанного в мицеллах ФС в случае более гидрофильного соед. **3** существенно ниже по сравнению с МГЦ **1**. При этом константа тушения его флуоресценции K_{SV} выше, что согласуется с более низкой константой связывания ФС-Твин 80 (K_b).

ВЫВОДЫ

Таким образом, гидрофобные ФС хлоринового ряда, содержащие фрагменты антимикробных препаратов «Диоксидин» и «Мирамистин», агрегированы в водных растворах этанола и Твин 80 не только при терапевтических концентрациях пигментов ($> 10^{-3}$ моль/кг), применяемых в ФДТ, но и в разбавленных (10^{-5} моль/кг) растворах, о чем свидетельствуют данные ЭСП и ДРС. Показано, что данные абсорбционной спектроскопии без привлечения результатов динамического светорассеяния не позволяют различить образование в водных растворах хлоринов небольших ассоциатов и наноагрегированных форм ФС. Хлориновые ФС, агрегирующие согласно данным ЭСП в системе этанол – вода при содержании воды менее 60 массовых процентов, дезагрегации в растворах Твин 80 даже при 500-1000-кратных молярных избытках ПАВ относительно ФС не подвергаются. Исследованные в работе относительно гидрофобные хлорины **1** и **3**, агрегирующие в этаноле при 61 и 70% H_2O , соот-

ветственно, в водных растворах Твин 80 в присутствии молярных избытков ПАВ ниже 200-600-кратных подвергаются лишь частичной дезагрегации, о чем свидетельствуют данные ДРС, а также наличие на зависимостях Штерна-Вольмера двух линейных участков, относящихся к свободной и мицеллярной формам пигмента.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-13-00398, <https://rscf.ru/project/21-13-00398/> с использованием ресурсов Центра коллективного пользования научным оборудованием ИГХТУ (при поддержке Минобрнауки России, соглашение № 075-15-2021-671).

Авторы выражают благодарность д.х.н. Батову Д.В. и к.х.н. Кручину С.О. (ИХР РАН) за помощь в регистрации спектров ДРС.

The study was carried out at the expense of the Russian Science Foundation grant No. 21-13-00398, <https://rscf.ru/project/21-13-00398/> using the resources of the Center for Shared Use of Scientific Equipment of ISUCT (with the support of the Ministry of Science and Higher Education of Russia, grant No. 075-15-2021-671).

The authors are grateful to D.Sc. Batov D.V. and Ph.D. Kruchin S.O. (ICS of the RAS) for help in registering the DLS spectra.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dougherty T.J., Kaufman J.E., Goldfarb A., Weishaupt K.R., Boyle D., Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* 1978. V. 38. N 8. P. 2628-2635.
2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Johan Moan, Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J. Clin.* 2011. V. 61. N 4. P. 250-281. DOI: 10.3322/caac.20114.
3. Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy. Amsterdam: Gordon Breach Sci. Publ. 2000. 305 p. DOI: 10.1201/9781482296952.
4. Кустов А.В., Березин Д.Б., Стрельников А.И., Лапочкина Н.П. Противоопухолевая и антимикробная фотодинамическая терапия: механизмы, мишени, клинико-лабораторные исследования. М.: Ларго. 2020. 108 с.
5. Dabrowski J.M., Arnaut L.G. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from a local to a systemic treatment. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2015. V. 14. N 10. P. 1765 – 1780. DOI: 1039/C5PP00132C.
6. Van Straten D., Mashayekhi V., De Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions. *Cancers.* 2017. V. 9. N 19. P. 1-54. DOI: 10.3390/cancers9020019.

REFERENCES

1. Dougherty T.J., Kaufman J.E., Goldfarb A., Weishaupt K.R., Boyle D., Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* 1978. V. 38. N 8. P. 2628-2635.
2. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Johan Moan, Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J. Clin.* 2011. V. 61. N 4. P. 250-281. DOI: 10.3322/caac.20114.
3. Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy. Amsterdam: Gordon Breach Sci. Publ. 2000. 305 p. DOI: 10.1201/9781482296952.
4. Kustov A.V., Berezin D.B., Strelnikov A.I., Lapochkina N.P. Antitumor and antimicrobial photodynamic therapy: mechanisms, targets, clinical and laboratory studies. M.: Largo. 2020. 108 p. (in Russian).
5. Dabrowski J.M., Arnaut L.G. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from a local to a systemic treatment. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2015. V. 14. N 10. P. 1765 – 1780. DOI: 1039/C5PP00132C.
6. Van Straten D., Mashayekhi V., De Bruijn H.S., Oliveira S., Robinson D.J. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions. *Cancers.* 2017. V. 9. N 19. P. 1-54. DOI: 10.3390/cancers9020019.

7. **Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В.** Клинические аспекты фотодинамической терапии. Калуга: Изд. науч. лит. 2009. 204 с.
8. **Койфман О.И., Агеева Т.А., Белецкая И.П., Аверин А.Д., Якушев А.А., Томилова Л.Г., Дубинина Т.В., Цивадзе А.Ю., Горбунова Ю.Г., Мартынов А.Г., Конарев Д.В., Хасанов С.С., Любовская Р.Н., Ломова Т.Н., Королев В.В., Зенькевич Э.И., Блаудек Т., фон Борцисковский К., Дитрих Л., Цан Д.Р.Т., Миронов А.Ф., Брагина Н.А., Ежов А.В., Жданова К.А., Стужин П.А., Пахомов Г.Л., Русакова Н.В., Семенишин Н.Н., Смола С.С., Парфенюк В.И., Вашурин А.С., Макаров С.В., Деревенков И.А., Мамардашвили Н.Ж., Куртикий Т.С., Мартиросян Г.Г., Бурмистров В.А., Александрийский В.В., Новиков И.В., Притымов Д.А., Грин М.А., Суворов Н.В., Цыганков А.А., Фёдоров А.Ю., Кузьмина Н.С., Нючев А.В., Отвагин В.Ф., Кустов А.В., Белых Д.В., Березин Д.Б., Соловьёва А.Б., Тимашев П.С., Милаева Е.Р., Грачёва Ю.А., Додохова М.А., Сафроненко А.В., Шпакковский Д.Б., Сырбу С.А., Губарев Ю.А., Киселёв А.Н., Койфман М.О., Лебедева Н.Ш., Юрина Е.С.** Макрогетероциклические соединения – ключевое звено в создании новых функциональных материалов и молекулярных устройств. *Макрогетероциклы*. 2020. 13(4). С. 311-467. DOI: 10.6060/mhc200814k.
9. **Dabrowski J.M.** Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation. *Adv. Inorg. Chem.* 2017. V. 70. P. 343-394. DOI: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002.
10. **Liu Y., Qin R., Zaat S.A.J., Breukink E., Heger M.** Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *J. Clin. Translat. Res.* 2015. V. 1. N 3. P. 140-167. DOI:10.18053/jctres.201503.002.
11. **Hamblin M.** Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* 2016. V. 33. P. 67-73. DOI: 10.1016/j.mib.2016.06.008.
12. **Pereira M.A., Faustino M.A., Tome J.P., Neves M.G., Tomé A.C., Cavaleiro J.A., Cunha A., Almeida A.** Influence of external bacterial structures on the efficiency of photodynamic inactivation by a cationic porphyrin. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2014. V. 13. P. 680-690. DOI: 10.1039/C3PP50408E.
13. **Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Venediktov E.A., Kudayarova T.V., Kruchin S.O., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Synthesis and investigation of water-soluble chlorophyll pigments for antimicrobial photodynamic therapy. *Dyes Pigm.* 2018. V. 149. P. 553-559. DOI: 10.1016/j.dyepig.2017.09.073.
14. **Kustov A.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Synthesis and investigation of novel chlorin sensitizers containing the myristic acid residue for antimicrobial photodynamic therapy. *Dyes Pigm.* 2020. V. 173. P. 107948. DOI: 10.1016/j.dyepig.2019.107948.
15. **Tiwari G., Tiwari R., Sriwastawa B., Bhati L., Pandey S., Pandey P., Bannerjee S.K.** Drug delivery systems: an updated review. *Intern. J. Pharm. Invest.* 2012. V. 2. N 1. P. 2-11. DOI: 10.4103/2230-973X.96920.
16. **Lucky S.S., Soo Kh. S., Zhang Y.** Nanoparticles in photodynamic therapy. *Chem. Rev.* 2015. V. 115. P. 1990-2042. DOI: 10.1021/cr5004198.
17. **Миронов А.Ф., Жданова К.А., Брагина Н.А.** Наноразмерные средства доставки фотосенсибилизаторов для диагностики и фотодинамической терапии в онкологии. *Усп. химии*. 2018. Т. 87. № 9. С. 859-881. DOI: 10.1070/RCR4811.
18. **Bai R.G., Muthoosamy K., Manickam S.** Nanomedicine in theranostics. In: Nanotechnology applications for tissue engineering. Ed. by Sabu Thomas, Yves Grohens, Neethu Ninan. William Andrew Publ. 2015. P. 195-213. DOI: 10.1016/B978-0-323-32889-0.00012-1.
7. **Tsyb A.F., Kaplan M.A., Romanko Yu.S., Popuchiev V.V.** Clinical aspects of photodynamic therapy. Kaluga: Scient. Lit. Publ. 2009. 204 p. (in Russian).
8. **Koifman O.I., Ageeva T.A., Beletskaya I.P., Awerin A.D., Yakushev A.A., Tomilova L.G., Dubinina T.V., Tsivadze A.Yu., Gorbunova Yu.G., Martynov A.G., Konarev D.V., Khasanov S.S., Lyubovskaya R.N., Lomova T.N., Korolev V.V., Zenkevich E.I., Blaudeck Th., von Borczyskowski Ch., Dietrich I, Zahn R.T., Mironov A.F., Bragina N.A., Ezhov A.V., Zhdanova K.A., Stuzhin P.A., Pakhomov G.L., Rusakova N.V., Semenishyn N.N., Smola S.S., Parfenyuk V.I., Vashurin A.S., Makarov S.V., Dereven'kov I.A., Mamardashvili N.Zh., Kurtikyan T.S., Martirosyan G.G., Burmistrov V.A., Aleksandriiskii V.V., Novikov I.V., Pritmiv D.A., Grin M.A., Suvorov N.V., Tsigankov A.A., Fedorov A.Yu., Kuzmina N.S., Nyuchev A.V., Otvagiv V.F., Kustov A.V., Belykh D.V., Berezin D.B., Solovieva A.B., Timashev P.S., Milaeva E.R., Gracheva Yu.A., Dodokhova M.A., Safronenko A.V., Shpakovsky D.B., Syrbu S.A., Gubarev Yu.A., Kiselev A.N., Koifman M.O., Lebedeva N.Sh., Yurina E.S.** Macroheterocyclic compounds – a key building block in new functional materials and molecular devices. *Macroheterocycles*. 2020. V. 13. N 4. P. 311-467. DOI: 10.6060/mhc200814k.
9. **Dabrowski J.M.** Reactive oxygen species in photodynamic therapy: mechanisms of their generation and potentiation. *Adv. Inorg. Chem.* 2017. V. 70. P. 343-394. DOI: 10.1016/bs.adioch.2017.03.002.
10. **Liu Y., Qin R., Zaat S.A.J., Breukink E., Heger M.** Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *J. Clin. Translat. Res.* 2015. V. 1. N 3. P. 140-167. DOI:10.18053/jctres.201503.002.
11. **Hamblin M.** Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* 2016. V. 33. P. 67-73. DOI: 10.1016/j.mib.2016.06.008.
12. **Pereira M.A., Faustino M.A., Tome J.P., Neves M.G., Tomé A.C., Cavaleiro J.A., Cunha A., Almeida A.** Influence of external bacterial structures on the efficiency of photodynamic inactivation by a cationic porphyrin. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2014. V. 13. P. 680-690. DOI: 10.1039/C3PP50408E.
13. **Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Venediktov E.A., Kudayarova T.V., Kruchin S.O., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Synthesis and investigation of water-soluble chlorophyll pigments for antimicrobial photodynamic therapy. *Dyes Pigm.* 2018. V. 149. P. 553-559. DOI: 10.1016/j.dyepig.2017.09.073.
14. **Kustov A.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Synthesis and investigation of novel chlorin sensitizers containing the myristic acid residue for antimicrobial photodynamic therapy. *Dyes Pigm.* 2020. V. 173. P. 107948. DOI: 10.1016/j.dyepig.2019.107948.
15. **Tiwari G., Tiwari R., Sriwastawa B., Bhati L., Pandey S., Pandey P., Bannerjee S.K.** Drug delivery systems: an updated review. *Intern. J. Pharm. Invest.* 2012. V. 2. N 1. P. 2-11. DOI: 10.4103/2230-973X.96920.
16. **Lucky S.S., Soo Kh. S., Zhang Y.** Nanoparticles in photodynamic therapy. *Chem. Rev.* 2015. V. 115. P. 1990-2042. DOI: 10.1021/cr5004198.
17. **Mironov A.F., Zhdanova K.A., Bragina N.A.** Nanosized vehicles for delivery of photosensitizers in photodynamic diagnosis and therapy of cancer. *Usp. Khim.* 2018. V. 87. N 9. P. 859-881 (in Russian). DOI: 10.1070/RCR4811.

19. **Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Partition of methylpheophorbide a, dioxidine and their conjugate in the 1-octanol/phosphate saline buffer biphasic system. *J. Chem. Thermodyn.* 2017. V. 115. P. 302-306. DOI: 10.1016/j.jct.2017.07.031.
20. **Крук Н.Н.** Строение и оптические свойства тетрапиррольных соединений. Минск: БГТУ. 2019. 214 с.
21. **Giovannetti R.** The use of spectrophotometry UV-Vis for the study of porphyrins. In: Nanotechnology and nanomaterials. Micro to nano spectroscopy. Ed. by J. Uddin. Shanghai: In Tech. 2012. P. 87-108. DOI: 10.5772/38797.
22. **Березин Д.Б., Солодухин Т.Н., Шухто О.В., Белых Д.В., Старцева О.М., Худяева И.С., Кустов А.В.** Ассоциация гидрофильных производных хлорофилла а в системе этанол – вода и этанол – вода – солюбилизатор. *Изв. АН. Сер. химич.* 2018. Т. 67. №7. С. 1273-1279.
23. **Батов Д.В., Кустов А.В., Кручин С.О., Макаров В.В., Березин Д.Б.** Агрегация катионных производных хлорина e_6 в воде и водных растворах поливинилпирролидона. *Журн. структурн. химии.* 2019. Т. 60. № 3. С. 461-466. DOI: 10.26902/JSC_id39509.
24. **Berezin D.B., Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Batov D.V., Kukushkina N.V., Shukhto O.V.** The behavior of monocationic chlorin in water and aqueous solutions of non-ionic surfactant Tween 80 and potassium iodide. *J. Mol. Liq.* 2019. V. 283. P. 532-536. DOI: 10.1016/j.molliq.2019.03.091.
25. **Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Kruchin S.O., Shukhto O.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Koifman M.O., Razgovorov P.B., Berezin D.B.** Interaction of cationic chlorin photosensitizers with non-ionic surfactant Tween 80. *Mend. Commun.* 2021. V. 31. N 1. P. 65-67. DOI: 10.1016/j.mencom.2021.01.019.
26. **Gerola A.P., Tsubone T.M., Santana A., de Oliveira H.P.M., Hioka N., Caetano W.** Properties of chlorophyll and derivatives in homogeneous and microheterogeneous systems. *J. Phys. Chem. B.* 2011. V. 115. N 22. P. 7364-7373. DOI: 10.1021/jp201278b.
27. **Berezin D.B., Makarov V.V., Znoyko S.A., Mayzlish V.E., Kustov A.V.** Aggregation water soluble octaanionic phthalocyanines behavior and their photoinactivation antimicrobial effect in vitro. *Mend. Commun.* 2020. V. 30. N 5. P. 621-623. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.09.023.
28. **Соловьёва А.Б., Аксенова Н.А., Глаголев Н.Н., Мелик-Нубаров Н.С., Иванов А.В., Волков В.И., Черняк А.В.** Амфифильные полимеры в фотодинамической терапии. *Химич. физика.* 2012. Т. 31. № 6. С. 72-80. DOI: 10.1134/S1990793112060061.
29. **Клименко И.В., Лобанов А.В.** Биосовместимые супрамолекулярные системы на основе хлорина e_6 : получение, фотофизические свойства. *Макрогетероциклы.* 2020. Т. 13. № 2. С. 142-146. DOI: 10.6060/mhc200390k.
30. **Yakavets I., Millard M., Zorin V., Lassalle H.-P., Bezdetnaya L.** Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies. *J. Contr. Release.* 2019. V. 304. P. 268-287. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.05.035.
31. **Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R.** Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer. *Cancers.* 2011. N 3. P. 2516-2539. DOI: 10.3390/cancers3022516.
32. **Бургер К.** Сольватация, ионные реакции и комплексообразование в неводных средах. М.: Мир. 1984. 256 с.
33. **Кикоин И.К.** Таблицы физических величин. Справочник. М.: Атомиздат. 1976. 1008 с.
18. **Bai R.G., Muthoosamy K., Manickam S.** Nanomedicine in theranostics. In: Nanotechnology applications for tissue engineering. Ed. by Sabu Thomas, Yves Grohens, Neethu Ninan. William Andrew Publ. 2015. P. 195-213. DOI: 10.1016/B978-0-323-32889-0.00012-1.
19. **Kustov A.V., Belykh D.V., Smirnova N.L., Khudyaeva I.S., Berezin D.B.** Partition of methylpheophorbide a, dioxidine and their conjugate in the 1-octanol/phosphate saline buffer biphasic system. *J. Chem. Thermodyn.* 2017. V. 115. P. 302-306. DOI: 10.1016/j.jct.2017.07.031.
20. **Kruk N.N.** Structure and optical properties of tetrapyrrole compounds. Минск: BSTU. 2019. 214 p. (in Russian).
21. **Giovannetti R.** The use of spectrophotometry UV-Vis for the study of porphyrins. In: Nanotechnology and nanomaterials. Micro to nano spectroscopy. Ed. by J. Uddin. Shanghai: In Tech. 2012. P. 87-108. DOI: 10.5772/38797.
22. **Berezin D.B., Solodukhin T.N., Shukhto O.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Khudyaeva I.S., Kustov A.V.** Association of hydrophilic derivatives of chlorophyll a in ethanol – water and ethanol – water – solubilizer systems. *Izv. AN Ser.Khim.* 2018. V. 67. N 7. P. 1273-1279 (in Russian). DOI: 10.1007/s11172-018-2212-6.
23. **Batov D.V., Kustov A.V., Kruchin S.O., Makarov V.V., Berezin D.B.** Aggregation of cationic chlorin e_6 derivatives in water and aqueous solutions of polyvinylpyrrolidone. *J. Struct. Chem.* 2019. V. 60. N 3. P. 443-448. DOI: 10.1134/S0022476619030120.
24. **Berezin D.B., Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Batov D.V., Kukushkina N.V., Shukhto O.V.** The behavior of monocationic chlorin in water and aqueous solutions of non-ionic surfactant Tween 80 and potassium iodide. *J. Mol. Liq.* 2019. V. 283. P. 532-536. DOI: 10.1016/j.molliq.2019.03.091.
25. **Kustov A.V., Krestyaninov M.A., Kruchin S.O., Shukhto O.V., Kustova T.V., Belykh D.V., Khudyaeva I.S., Koifman M.O., Razgovorov P.B., Berezin D.B.** Interaction of cationic chlorin photosensitizers with non-ionic surfactant Tween 80. *Mend. Commun.* 2021. V. 31. N 1. P. 65-67. DOI: 10.1016/j.mencom.2021.01.019.
26. **Gerola A.P., Tsubone T.M., Santana A., de Oliveira H.P.M., Hioka N., Caetano W.** Properties of chlorophyll and derivatives in homogeneous and microheterogeneous systems. *J. Phys. Chem. B.* 2011. V. 115. N 22. P. 7364-7373. DOI: 10.1021/jp201278b.
27. **Berezin D.B., Makarov V.V., Znoyko S.A., Mayzlish V.E., Kustov A.V.** Aggregation water soluble octaanionic phthalocyanines behavior and their photoinactivation antimicrobial effect in vitro. *Mend. Commun.* 2020. V. 30. N 5. P. 621-623. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.09.023.
28. **Solovieva A.B., Aksenova N.A., Glagolev N.N., Melik-Nubarov N.S., Ivanov A.V., Volkov V.I., Chernyak A.V.** Amphiphilic polymers in photodynamic therapy. *Khim. Fiz.* 2012. V. 31. N 6. P. 72-80 (in Russian). DOI: 10.1134/S1990793112060061.
29. **Klimenko I.V., Lobanov A.V.** Biocompatible supramolecular systems based on chlorin e_6 : preparation, photophysical properties. *Macroheterocycles.* 2020. V. 13. N 2. P. 142-146. DOI: 10.6060/mhc200390k.
30. **Yakavets I., Millard M., Zorin V., Lassalle H.-P., Bezdetnaya L.** Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies. *J. Contr. Release.* 2019. V. 304. P. 268-287. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.05.035.
31. **Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R.** Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer. *Cancers.* 2011. N 3. P. 2516-2539. DOI: 10.3390/cancers3022516.

34. **Kustov A.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Kruchin S.O., Venediktov E.A., Berezin D.B.** New photosensitizers developed on a methylpheophorbide a platform for photodynamic therapy: synthesis, singlet oxygen generation and modeling of passive membrane transport. *Pharm. Anal. Acta.* 2016. V. 7. N 5. P. 480-484. DOI: 10.4172/2153-2435.1000480.
35. **Berezin D.B., Belykh D.V., Startseva O.M., Manin N.G., Krest'yaninov M.A., Kustov A.V.** Solid state physico-chemical study of chlorophyll a derivatives and their glycol conjugates. *Macroheterocycles.* 2017. V. 10. N 1. P. 72-76. DOI: 10.6060/mhc160963c
36. **Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin M.B.** Standard enthalpies and heat capacities of ethyl acetate and deuteroporphyrin dimethylester solution in N,N-dimethylformamide at 298–318 K. *Thermochim. Acta.* 2011. V. 521. N 1-2. P. 224–226. DOI: 10.1016/j.tca.2011.02.020.
37. **Kustov A.V.** The aromatic amino acid behavior in aqueous amide solutions. The temperature dependence of the L-phenylalanine-urea interaction. *J. Thermal. Anal. Calorim.* 2007. V. 89. N 3. P. 841-846. DOI: 10.1007/s10973-007-8464-2.
38. **Smith D.A., Van de Waterbeemd H., Walker D.K., Mannhold R., Kubinyi H., Timmerman H.** Pharmacokinetics and metabolism on drug design. In: Methods and principles in medicinal chemistry. Ed. by R. Mannhold, H. Kubinyi, H. Timmerman. Weinheim: Wiley–VCH Verlag. 2001. 141 p. DOI: 10.1002/3527600213.
39. **Кобаяши Н.** Спектроскопически и/или структурно интригующие фталоцианины и родственные соединения. Часть 1. Мономерные системы. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2019. Т. 62. Вып. 4. С. 4-46. DOI: 10.6060/ivkkt.20196206.5913_1.
32. **Burger K.** Solvation, ionic reactions and complexation in non-aqueous media. M.: Mir. 1984. 256 p. (in Russian).
33. **Kikoin I.K.** Tables of physical quantities. M.: Atomizdat. 1976. 1008 p. (in Russian).
34. **Kustov A.V., Belykh D.V., Startseva O.M., Kruchin S.O., Venediktov E.A., Berezin D.B.** New photosensitizers developed on a methylpheophorbide a platform for photodynamic therapy: synthesis, singlet oxygen generation and modeling of passive membrane transport. *Pharm. Anal. Acta.* 2016. V. 7. N 5. P. 480-484. DOI: 10.4172/2153-2435.1000480.
35. **Berezin D.B., Belykh D.V., Startseva O.M., Manin N.G., Krest'yaninov M.A., Kustov A.V.** Solid state physico-chemical study of chlorophyll a derivatives and their glycol conjugates. *Macroheterocycles.* 2017. V. 10. N 1. P. 72-76. DOI: 10.6060/mhc160963c
36. **Kustov A.V., Smirnova N.L., Berezin M.B.** Standard enthalpies and heat capacities of ethyl acetate and deuteroporphyrin dimethylester solution in N,N-dimethylformamide at 298–318 K. *Thermochim. Acta.* 2011. V. 521. N 1-2. P. 224–226. DOI: 10.1016/j.tca.2011.02.020.
37. **Kustov A.V.** The aromatic amino acid behavior in aqueous amide solutions. The temperature dependence of the L-phenylalanine-urea interaction. *J. Thermal. Anal. Calorim.* 2007. V. 89. N 3. P. 841-846. DOI: 10.1007/s10973-007-8464-2.
38. **Smith D.A., Van de Waterbeemd H., Walker D.K., Mannhold R., Kubinyi H., Timmerman H.** Pharmacokinetics and metabolism on drug design. In: Methods and principles in medicinal chemistry. Ed. by R. Mannhold, H. Kubinyi, H. Timmerman. Weinheim: Wiley–VCH Verlag. 2001. 141 p. DOI: 10.1002/3527600213.
39. **Kobayashi N.** Spectroscopically and/or structurally intriguing phthalocyanines and related compounds. Part 1. Monomeric systems. *ChemChemTech.. [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.].* 2019. V. 62. N 4. P. 4-46. DOI: 10.6060/ivkkt.20196206.5913_1.

Поступила в редакцию 21.05.2021
Принята к опубликованию 11.06.2021

Received 21.05.2021
Accepted 11.06.2021