

УДК 615.277.3; 577.323.23

Комплексообразование с альбумином как фактор фотодинамической активности новых производных бактериопурпуринимида

А. В. Акимова^{1*}, Г. Н. Рычков^{2,3}, М. А. Грин⁴, Н. А. Филиппова⁵, Г. В. Головина¹, Н. А. Дурандин¹, А. М. Виноградов¹, Т. А. Кокрашвили⁶, А. Ф. Миронов⁴, А. А. Штиль⁵, В. А. Кузьмин¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

²Петербургский институт ядерной физики, 188300, Ленинградская область, Гатчина, Орлова роща

³Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, 195251,

Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

⁴Московский государственный университет тонких химических технологий

им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86

⁵Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва,

Каширское ш., 24

⁶Грузинский технический университет, 0175, Грузия, Тбилиси, ул. Костава, 77

*E-mail: alexa_karpenko@mail.ru

Поступила в редакцию 21.02.2014

РЕФЕРАТ Оптимизация химической структуры противоопухолевых фотосенсибилизаторов (ФС) направлена на повышение аффинности к белку-транспортёру – альбумину, и на индукцию необратимых повреждений при освещении опухолевых клеток. Производные бактериопурпуринимида – перспективные ФС, поглощающие свет в ближней инфракрасной области спектра. Спектрофотометрически показано, что новые производные бактериопурпуринимида, отличающиеся заместителями при атомах азота в имидном экзоцикле и пиррольном кольце А, образуют нековалентные комплексы с сывороточным альбумином человека (ЧСА). Величина константы комплексообразования метилового эфира этилокси-ма N-этоксикарбиопурпуринимида (соединение 1) существенно выше, чем у метилового эфира окси-ма N-метоксикарбиопурпуринимида (соединение 2) (1.18×10^5 и $1.26 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ соответственно) (метод Бенеш-Хильдебрандта). Молекулярное моделирование комплексообразования с ЧСА выявило структурные особенности и энергии межмолекулярных взаимодействий 1 и 2 с аминокислотными остатками в сайте связывания гемоподобных молекул белка. Установлено, что этоксилильные группы стабилизируют расположение соединения 1 в этом сайте за счет гидрофобных взаимодействий с белком. Более высокая аффинность соединения 1 к ЧСА позволила использовать его в меньшей концентрации, чем соединения 2, для фотоповреждения культивируемых клеток рака толстой кишки. Фотоактивация 1 и 2 приводила к быстрому (в течение первых минут) некрозу опухолевых клеток. Этот механизм гибели может иметь практическое значение для элиминации опухолевых клеток, устойчивых к другим противоопухолевым воздействиям.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА альбумин, константа комплексообразования, некроз, рак, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ДМСО – диметилсульфоксид; ФБ – фосфатный буфер; ФДТ – фотодинамическая терапия; ФС – фотосенсибилизатор; ЧСА – сывороточный альбумин человека.

ВВЕДЕНИЕ

Биологическое действие экзогенных фотоактивируемых химических соединений в клетках про- и эукариот определяется формированием реакционноспособных частиц и индукцией многочисленных процессов, важнейший из которых – гибель клеток [1, 2]. Этот механизм используется в фотоди-

намической терапии (ФДТ) новообразований, неопухолевых и инфекционных заболеваний [3–5]. В качестве фотосенсибилизаторов (ФС) для ФДТ наиболее часто используются соединения, содержащие тетрапиррольные макроциклы: порфирины и их гидрированные аналоги – хлорины и бактериохлорины [3].

Оптимизация структуры ФС, направленная на повышение их клинической эффективности, включает следующие направления. Во-первых, необходимо добиться фотоповреждения глубоких слоев ткани в очаге поражения. С этой целью используют, в частности, производные бактериохлорофилла *a*, поглощающие свет в длинноволновой области спектра (ближний инфракрасный диапазон) [6–9]. Во-вторых, ФС должен взаимодействовать с транспортными белками, главным образом с альбумином (сывороточный альбумин человека, ЧСА), для эффективной доставки в патологический очаг. Повышение аффинности такого взаимодействия может быть достигнуто введением в макроцикл катионов металлов и модификацией периферических заместителей [10–15]. Помимо транспортной функции, комплексы ЧСА с Pd-содержащим бактериохлорином выполняют функцию фотокаталитической оксидоредуктазы, существенно повышая выход активных форм кислорода и фотодинамический эффект [2].

Наконец, важна способность ФС вызывать обратимое фотоповреждение (гибель) клеток, устойчивых к другим терапевтическим воздействиям. Эта способность приобретает особое значение в ситуациях, когда нельзя использовать другие лечебные методы (невозможность радикального хирургического лечения, резидуальные опухоли после комбинированной терапии и др.). Фотоиндуцированная гибель клеток может протекать по механизму некроза; существенное отличие этого механизма – первичное необратимое повреждение плазматической мембраны и мембранных органелл [5].

Цель настоящей работы – исследование количественных параметров комплексообразования ЧСА с двумя производными бактериопурпуринимида, которые отличаются друг от друга периферическими заместителями. Эти параметры рассматриваются как фактор эффективности индукции фотонекроза опухолевых клеток.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследованы производные бактериопурпуринимида с различными заместителями при атоме азота в имидном экзоцикле (этокси **1**- и метокси **2**-группы) и пиррольном кольце А (N-этокси **1**- и N-гидрокси **2**-группы) (рис. 1). Соединения получали обработкой бактериопурпурина этоксиамином (**1**) [16] и гидроксиламином (**2**) с последующим метилированием diazometаном [17], растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО; «Марбиофарм», РФ) до концентрации 10 мМ и хранили при 4 °С. Концентрации **1** и **2** определяли по величине известных коэффициентов экстинкции в хлороформе [16, 17].

Для изучения комплексообразования ЧСА (Sigma Aldrich, США) растворяли в 20 мМ фосфатном буфере (ФБ), pH 7.0. Концентрации растворов **1** и **2** – 1×10^{-5} М, ЧСА – $0 - 5 \times 10^{-4}$ М. Соединения **1** и **2** добавляли в ФБ из исходного раствора в диметилсульфоксиде (ДМСО). Конечная концентрация ДМСО в экспериментальных растворах – 1%.

Спектры поглощения исследуемых растворов измеряли с использованием спектрофотометра Shimadzu UVVIS3101PC (Япония) в кварцевых кюветах (0.4 × 1.0 см), оптический путь составлял 1 см (спектральная ширина щели 1 нм). Спектры поглощения красителей в присутствии ЧСА регистрировали в диапазоне 380–950 нм.

Константу связывания **1** и **2** с ЧСА определяли по изменению оптической плотности в максимуме Q-полосы пигмента в комплексе с ЧСА при добавлении белка к раствору **1** или **2**. Искомые величины вычисляли из уравнения Бенеша–Хильдебрандта [18]:

$$\frac{1}{dD} = \frac{1}{\Delta\varepsilon[l]} + \frac{1}{K_c(\Delta\varepsilon[l])} \cdot \frac{1}{[HSA]}, \quad (1)$$

где dD – изменение оптической плотности раствора без и при добавлении ЧСА, измеренное в максимуме поглощения комплекса с белком; $\Delta\varepsilon$ – изменение значения молярного коэффициента экстинкции в отсутствие и присутствии ЧСА, K_c – константа связывания, $[l]$ – концентрация лигандов **1** или **2**, $[HSA]$ – концентрация ЧСА.

Фотосенсибилизирующую активность **1** и **2** изучали на клетках линии НСТ116 (рак толстой кишки человека). Клетки культивировали в модифицированной Дульбекко среде. Игла с добавлением 5% эмбриональной сыворотки теленка, 2 мМ L-глутамина, 100 мкг/мл стрептомицина и 100 ЕД/мл пенициллина

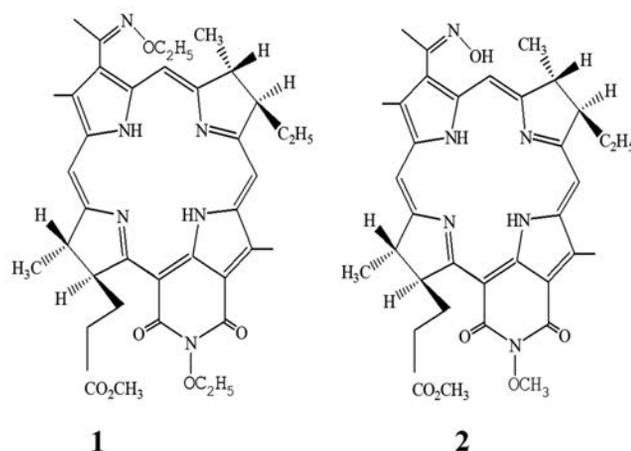


Рис. 1. Производные бактериопурпуринимида **1** и **2**

(«ПанЭко», Россия) при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO₂. Клетки высевали в 35-мм чашки Петри (2 × 10⁴ клеток в 3 мл культуральной среды). Через 16 ч вносили соединения **1** или **2** (конечные концентрации указаны в разделе «Результаты») и инкубировали в течение 30 мин при 37°C. Культуральную среду удаляли, монослой клеток промывали ФБ и освещали красным светом через водный фильтр (насыщенный водный раствор NaNO₂) толщиной 1 см. В качестве источника излучения использовали лампу накаливания. Длительность освещения – до 20 мин. Контролем служили культуры, освещенные в отсутствие **1** или **2**, а также клетки, нагруженные этими соединениями, но не подвергнутые освещению (темновое воздействие). Целостность клеток оценивали в тесте исключения трипанового синего.

Для проведения электронной микроскопии клетки линии НСТ116 высевали в 60-мм чашки Петри (10⁵ клеток в 5 мл культуральной среды). Добавление **1** или **2** и освещение клеток проводили по вышеописанному методу. После окончания воздействий клетки открепляли от подложки с помощью версена и трипсина и фиксировали 1% раствором глутарового альдегида в ФБ. Препараты анализировали на электронном микроскопе Shimadzu (Япония).

Грубые пространственные модели молекул **1** и **2** были построены с использованием программ Molsoft ICM версии 3.7 [19] и Avogadro [20], на основе структуры пурпурина *a*, взятой из базы данных ChemSpider (www.chemspider.com) (номер записи 16736724 на 15.08.2013). Оптимизация их структуры проведена в программе Gamess US [21]. Мультиплетность электронного состояния молекул выбрана равной 1, зарядовое состояние – нейтральным. Структуру оптимизировали по стандартному протоколу методом квадратичной аппроксимации в MINI базисе Хузинаги [22]. Волновые функции самосогласованного поля рассчитывали ограниченным методом Хартри–Фока (RHF – Restricted Hartree Fock) [23].

Моделью ЧСА послужила пространственная структура 1N5U [24] из банка данных Protein Data Bank. Перед проведением процедуры «гибкого» докинга молекулы миристиновой кислоты, протопорфирина IX и воды удаляли из структуры ЧСА, а каждому атому **1** и **2** присваивали заряд, рассчитанный *ab initio* по результатам оптимизации геометрии. Процедуру «гибкого» докинга проводили в пакете Molsoft ICM Pro 3.7 по протоколу, подробно описанному авторами программы [19, 25, 26]. Докинг запускали трижды из различных начальных положений и конформаций **1** и **2** и ЧСА. Полученный ансамбль конформаций использовали для вычисления средней свободной энергии связывания (E_C) по формуле Гиббса–Больцмана:

$$E_C = \sum_n E_n \frac{e^{-\frac{E_n}{kT}}}{Z}, \quad (2)$$

где Z – статистическая сумма по свободным энергиям связывания E_n лигандов из ансамбля при температуре $T = 300$ К. При расчете свободной энергии связывания учитывали только вклад электростатической и гидрофобной составляющих, а также энтропийный вклад боковых цепей аминокислот белка. Электростатическую составляющую рассчитывали методом REBEL [27]. Константа диэлектрической проницаемости ЧСА, **1**, **2** и комплексов в соответствии с рекомендациями разработчиков программы была установлена равной 12.7; константа диэлектрической проницаемости водной среды, представленной непрерывной моделью, – 78.5. Гидрофобную составляющую каждого атома ЧСА оценивали на основе предположения о ее линейной пропорциональности поверхности атома, доступной растворителю. Коэффициент поверхностного натяжения выбран равным 0.012 ккал/(моль × Å²). Потеря конфигурационной энтропии боковых цепей аминокислот белка при связывании с **1** или **2** проводилась на основе табулированных данных о ее максимально возможных величинах для каждого аминокислотного остатка [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Спектрофотометрия

На рис. 2 показаны спектры поглощения производных бактериопурпуринимида **1** и **2** в отсутствие и в присутствии ЧСА. В ФБ полосы поглощения **1** соответствуют 539 и 899 нм. Отсутствие полосы при 899 нм в этиловом спирте и хлороформе (данные не приведены) указывает на то, что эта полоса соответствует J-агрегату [28]. Соединение **2** в ФБ характеризуется полосами поглощения при 421, 550 и 800 нм. Отсутствие дополнительных полос относительно этилового спирта и хлороформа указывает на то, что соединение **2** не образует J-агрегатов в ФБ.

При добавлении ЧСА наблюдали трансформацию основных полос поглощения обоих соединений. Для **1** это выражалось в уменьшении интенсивности полосы 899 нм, увеличении интенсивности полосы 539 нм и появлении полос 419 и 802 нм; последняя, вероятно, соответствует мономеру **1** (рис. 2А). Эти результаты свидетельствуют об образовании комплексов молекул **1** с ЧСА. Спектральные кривые проходят через изобестическую точку, что указывает на равновесие в системе мономер–агрегат. Таким образом, при увеличении концентрации белка происходит смещение равновесия мономер–агрегат в сторону мономера. Полученный результат согласуется с данными о раз-

рушении агрегатов при комплексообразовании производных порфиринов с альбумином [29].

На *рис. 2Б* приведены спектры поглощения **2** в присутствии ЧСА. При увеличении концентрации белка увеличивается значение оптической плотности пиков, соответствующих 422, 545 и 808 нм. Наблюдается гипсохромный сдвиг длинноволнового максимума на 10 нм. Полоса с максимумом в 545 нм претерпевает батохромный сдвиг на 3.5 нм к 548.5 нм. Изменения спектров поглощения при добавлении ЧСА указывают на комплексообразование с **2**, а наличие изобестической точки в районе 835 нм – на одно равновесие мономер–комплекс с альбумином и образование стабильного комплекса мономера **2** и ЧСА.

Графики Бенеси–Хильдебрандта для **1** и **2** и ЧСА представлены на *рис. 2В*. Величина константы комплексообразования соединения **1** и ЧСА составила $1.18 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, тогда как у **2** этот показатель значительно меньше – $1.26 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, т.е. сродство к ЧСА соединения **1** на порядок выше, чем комплексов **2** с ЧСА.

Молекулярное моделирование

В ЧСА сайт связывания гемоподобных молекул (FA1) представляет собой узкую и достаточно глубокую «впадину» на поверхности субдомена IV, сформированную в основном гидрофобными остатками аминокислот [30]. Позиции соединений **1** и **2**, найденные по результатам «гибкого» докинга, находятся внутри сайта FA1 в положениях, сходных с положением протопорфирина IX в кристаллической структуре с кодом 1N5U (Protein Data Bank) (*рис. 3А*). Именно у таких позиций наиболее низкая свободная энергия связывания E_c , поэтому эти позиции наиболее вероятны. Макроцикл обоих соединений эффективно «прячет» поверхность своих гидрофобных групп внутри впадины. Гидроксильная группа Tyr161 располагается вблизи центра макроцикла, однако, в сравнении с протопорфирином IX макроцикл сдвинут в сторону входа в сайт связывания примерно на 1 Å. Результаты молекулярного моделирования показывают, что у **2** многообразие конформаций в сайте связывания FA1 ЧСА шире, чем у **1**. Однако конформации обоих соединений с наибольшей величиной оценочной функции практически совпадали в пространстве (*рис. 3Б*).

Важно отметить, что в указанной конформации гидроксильная группа пиррольного кольца А соединения **2** оказывается в гидрофобном окружении, образованном остатками Leu135, Leu139, Ala168 и алифатической частью Tyr161, внутри сайта связывания (*рис. 4Б*), теряя энергетически выгодную водородную связь. Поэтому маловероятно, что такая конформа-

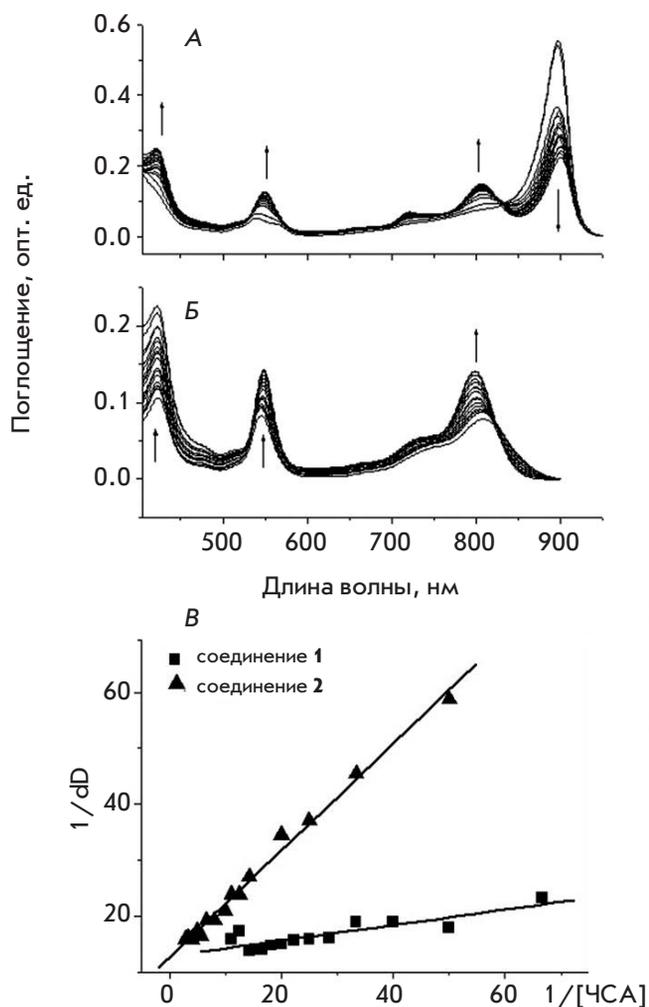


Рис. 2. Спектры поглощения соединений **1** (А) и **2** (Б) (20 мМ ФБ, рН 7.0) в присутствии и в отсутствие ЧСА и графики зависимости Бенеси–Хильдебрандта для **1** и **2** в комплексах с ЧСА (В). Стрелками показаны направления изменения спектров **1** и **2** при увеличении концентрации ЧСА

ция будет реализовываться при взаимодействии **2** с ЧСА. В свою очередь, этокси-группа пиррольного кольца **1** образует в этом месте плотный гидрофобный контакт с ЧСА (*рис. 4А*), что энергетически выгодно. Средняя свободная энергия связывания с ЧСА составила -10.5 ккал/моль для соединения **1** и -9.3 ккал/моль для соединения **2** (без учета указанных конформаций). Эти величины хорошо коррелируют с константами связывания **1** и **2** с ЧСА, полученными экспериментально (*рис. 2*).

Фотодинамическая активность в культуре клеток

В отсутствие освещения соединения **1** и **2** в концентрациях до 50 мкМ не вызывали гибель клеток ли-

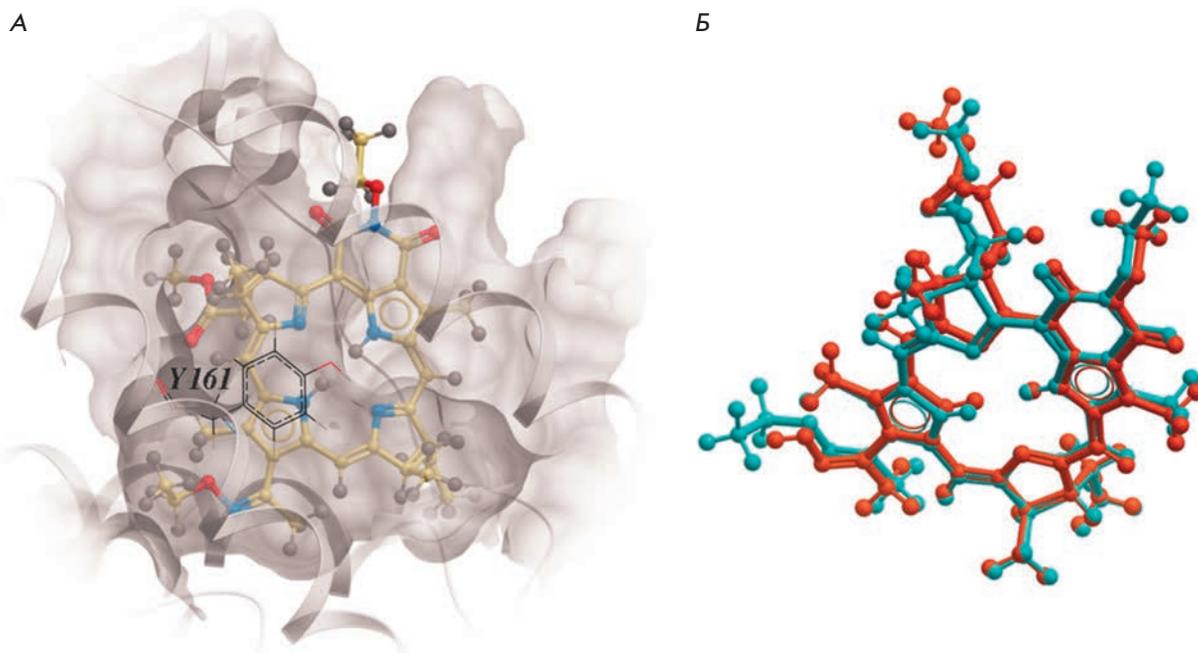


Рис. 3. А – наиболее вероятная позиция соединения **1** в сайте FA1 ЧСА, найденная методом молекулярного «гибкого» докинга. На переднем плане указано положение остатка Tyr161. Б – наиболее вероятные конформации **1** и **2** в сайте FA1. Сине-зеленый цвет – соединение **1**, оранжевый – **2**. Макроциклы обоих соединений практически совпадают в пространстве

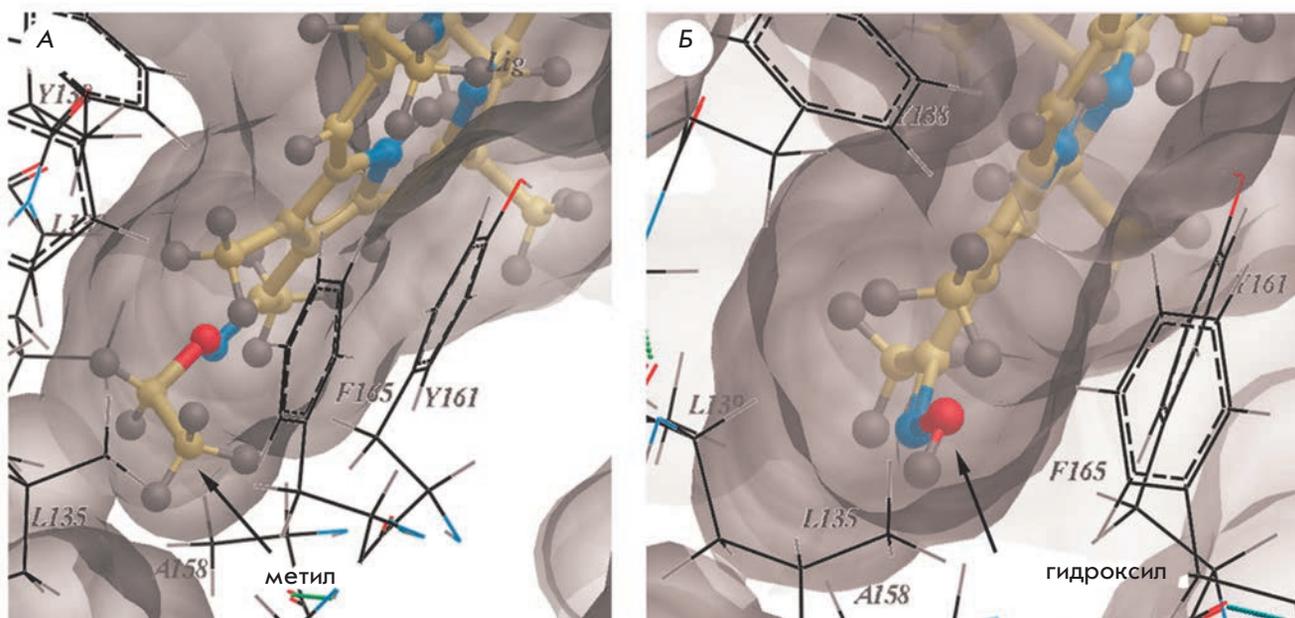


Рис. 4. Позы соединений **1** и **2** в сайте связывания FA1 ЧСА, обладающие наибольшей величиной оценочной функции. Сайт связывания FA1 отображен молекулярной поверхностью серого цвета. Цвета атомов: бежевый – углерод, серый – водород, синий – азот, красный – кислород. У соединения **1** в гидрофобном окружении оказывается неполярная метильная группа (А), у **2** – полярная гидроксильная группа (Б)

нии НСТ116 в условиях непрерывного воздействия в течение 72 ч. Напротив, фотосенсибилизирующая способность **1** и **2** оказалась высокой: для индукции повреждения клеток достаточны микромолярные концентрации **1** или **2**. После 15 мин освещения клеток, обработанных каждым из исследованных соединений, доля поврежденных клеток составила 100% для **1** и 57.8% для **2** (рис. 5А). После инкубации с 1 мкМ каждого ФС доля погибших клеток возрастала при увеличении продолжительности освещения до 20 мин (для **1**), тогда как в случае соединения **2** процент погибших клеток не увеличивался после освещения в течение 10–15 мин (рис. 5Б). Практически полная гибель культуры наблюдалась после 10-минутного воздействия света после инкубации клеток с 5 мкМ соединения **1** (рис. 5В).

Электронная микроскопия

С целью детального исследования механизма гибели клеток мы проанализировали ультраструктуру гибнущих клеток методом трансмиссивной электронной микроскопии. На рис. 6А–В представлены результаты электронной микроскопии клеток НСТ116, освещенных в отсутствие ФС (контроль) или после инкубации с **1**. В контрольных клетках (рис. 6А) плазматические мембраны на свободных поверхностях образуют микроворсинки, характерные для эпителия кишечника. В цитоплазме определяются митохондрии, цистерны эндоплазматического ретикулума, рибосомы, пузырьки пластинчатого комплекса. Хроматин распределен диффузно по ядру, образуя более плотные скопления преимущественно по периферии. Ядра имеют округлую форму с неглубокими инвагинациями ядерных мембран.

После 10-минутного освещения клеток, нагруженных соединением **1**, отмечено набухание митохондрий и уменьшение плотности их матрикса (рис. 6Б). Встречаются митохондрии с поврежденными кристами и «вымывтым» матриксом, липидные капли, небольшое расширение цистерн эндоплазматического ретикулума. Большинство клеток приобретают неправильную форму за счет выростов, образуемых плазматическими мембранами. Целостность плазматических мембран сохранена. В ядрах снижается количество хроматина, в ядрышках увеличиваются участки плотного фибриллярного компонента. После 20-минутного освещения в цитоплазме увеличивается число лизосом и липидных включений, а в ядрах уменьшается количество хроматина. Значительное число клеток разрушено (рис. 6В).

ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что модификация периферических заместителей в молекуле бактериопурпуринамида

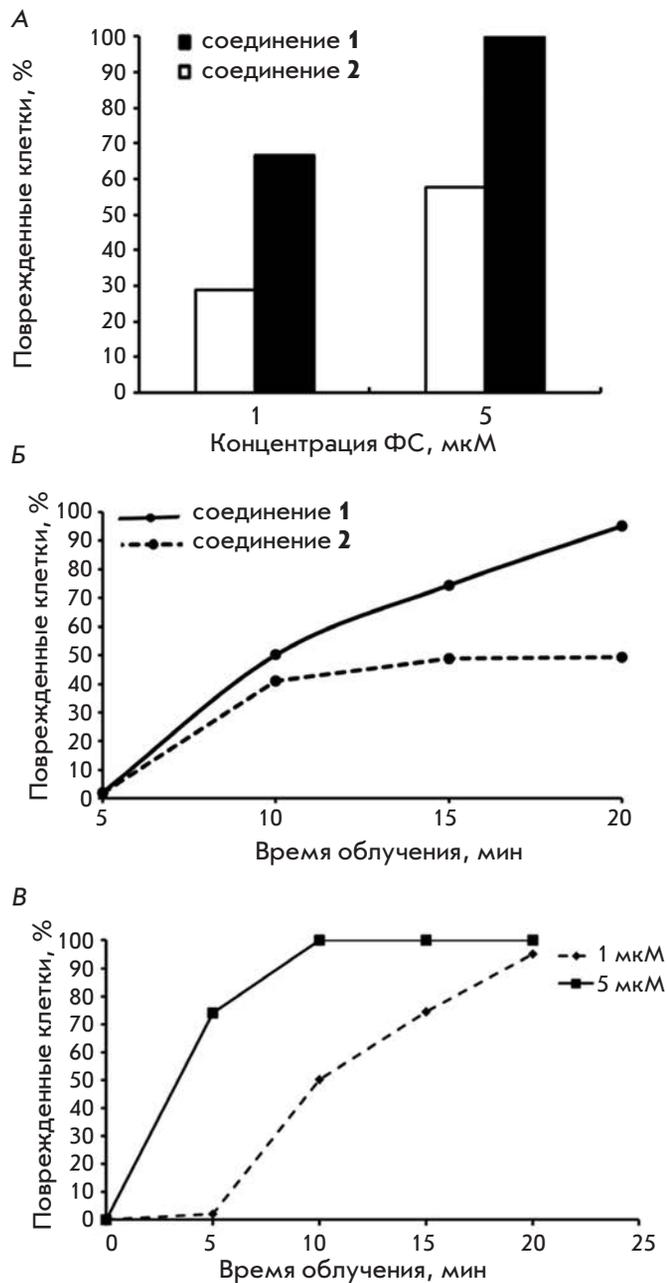


Рис. 5. Зависимость фотоповреждения клеток рака кишки (линия НСТ116) от концентрации ФС и времени освещения. А – освещение 15 мин; Б – 1 мкМ **1** или **2**; В – соединение **1**

существенно изменяет фотодинамическую эффективность ФС. Производное бактериопурпуринамида с этокси-группами при атомах азота в экзоцикле и пиррольном кольце А (соединение **1**) образует более прочные комплексы с белком-переносчиком ЧСА. Данные результаты получены экспериментальным путем и подтверждены молекулярным мо-

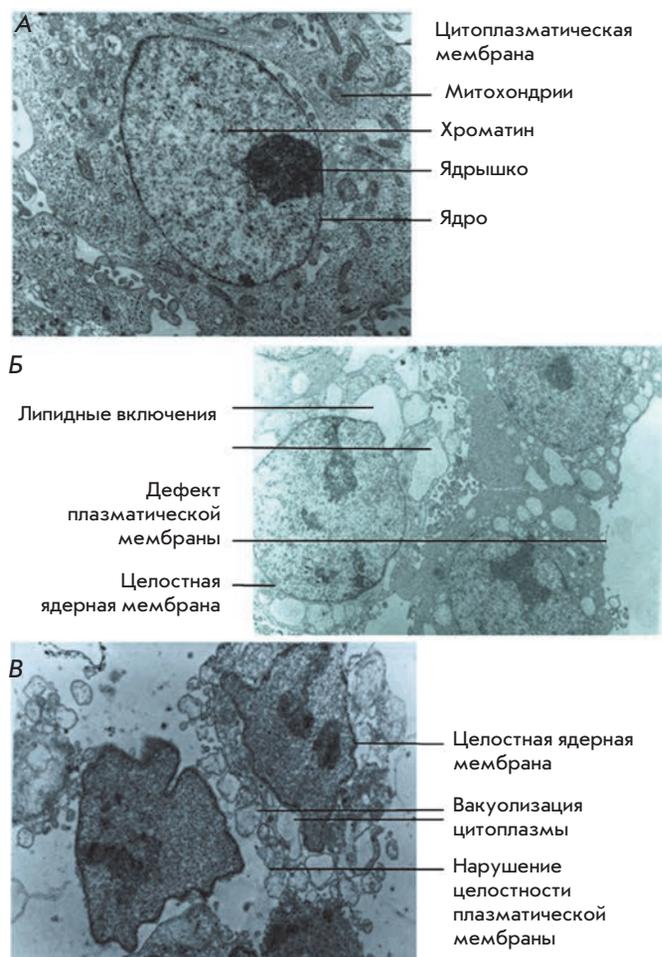


Рис. 6. Ультраструктурные признаки фотоповреждения клеток линии NCT116. А – intactные клетки; освещение в течение 10 (Б) и 20 (В) мин. Увеличение $\times 5000$

делированием комплексов ФС–ЧСА. Уменьшение аффинности соединения 2 к ЧСА обусловлено тем, что при связывании внутри сайта FA1 гидроксильная группа оксима оказывается в гидрофобном окружении. Теряется энергетически выгодная водородная связь с водой, что ослабляет связывание с белком. Напротив, этокси-группа соединения 1 способствует более прочному связыванию с белком за счет гидрофобных взаимодействий.

Соединения 1 и 2 оказались высокоактивными ФС: для индукции гибели клеток достаточны микромолярные концентрации и кратковременная инкубация. Важно, что более высокая константа комплексообразования с ЧСА соединения 1 соответствовала большей фотоактивности этого ФС в культуре клеток. Предстоит оценить влияние периферического заместителя на такие параметры

фотоактивности, как накопление и распределение ФС в клетках, способность генерировать реакционноспособные частицы (выход синглетного кислорода или кислородных радикалов).

Мы полагаем, что повышенная аффинность 1 к ЧСА обуславливает высокий выход активных форм кислорода при фотоактивации. Эти метаболиты – ключевые в процессах фотоповреждения биомакромолекул. Нековалентный комплекс 1–ЧСА может выступать в роли активируемой светом оксидоредуктазы и многократно катализировать перенос электрона от молекулы ФС в триплетном состоянии к молекулярному O_2 , усиливая образование активных форм кислорода. Механизм, при котором ФС в возбужденном триплетном состоянии может непосредственно взаимодействовать с субстратом и/или растворителем через перенос протона или электрона, описан ранее [2].

Высокая фотоактивность 1 и 2 для опухолевых клеток обусловлена их способностью вызывать некроз – первичное повреждение плазматической мембраны. Фотонекроз регистрировался в первые минуты воздействия света и сопровождался выраженными и необратимыми нарушениями структуры клеток. Эти нарушения выявлены в цитоплазме, тогда как ядро сохраняло свою структуру. Схожая картина фотонекроза выявлена при активации мембранотропного борированного производного хлорина e_6 [5]. Эти особенности отличают 1 и 2 от других ФС, которые вызывают фотогибель клеток путем других механизмов – апоптоза и аутофагии [31–34]. Мы полагаем, что быстрая гибель опухолевых клеток как исход ФДТ желательна в клинических ситуациях, особенно для элиминации опухолей с первичной или приобретенной лекарственной устойчивостью. Вместе с тем требуется оценить значение возможных иммунологических реакций в ответ на некроз индуцирующую ФДТ.

В представленной работе обоснована необходимость оптимизации длинноволновых (инфракрасных) ФС для ФДТ. Критериями оптимизации служат повышение аффинности к белку-переносчику ЧСА и способность вызывать фотонекроз. Действительно, химическая модификация бактериопурпуринида позволяет получить соединения с повышенным сродством к ЧСА и способностью вызывать необратимые фотоповреждения опухолевых клеток. Эти особенности, а также отсутствие темновой цитотоксичности и достаточная растворимость в водных средах (по крайней мере в диапазоне концентраций, необходимых для индукции фотонекроза) позволяют считать новые производные бактериопурпуринов перспективными для дальнейшей разработки. ●

Г.Н. Рычков благодарит за поддержку Комитет по науке и высшей школе администрации г. Санкт-Петербурга.
Работа поддержана РФФИ (грант №11-03-00620) и Федеральной целевой

программой «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 годы» (госконтракт № 14.512.11.0016).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Phillips D. // *Int. Rev. J.* 1997. V. 22. № 3/4. P. 3–50.
- Ashur I., Goldschmidt R., Pinkas I., Salomon I., Szewczyk G., Sarna T., Scherz A. // *J. Phys. Chem. A.* 2009. V. 113. P. 8027–8037.
- Josefsen L.B., Boyle R.W. // *Theranostics.* 2012. V. 3. № 9. P. 916–966.
- Chen Y., Li G., Pandey R.K. // *Curr. Org. Chem.* 2004. № 8. P. 1105–1134.
- Moisenovich M.M., Ol'shevskaya V.A., Rokitskaya T.I., Ramonova A.A., Nikitina R.G., Savchenko A.N., Tatarskiy V.V., Kaplan M.A., Kalinin V.N., Kotova E.A., et al. // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 9. P. e12717.
- Grin M.A., Mironov A.F., Shtil A.A. // *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 2008. V. 8. № 6. P. 683–697.
- Oertel M.I., Schastak S.L., Tannapfel A., Hermann R., Tannapfel A., Hermann R., Sack U., Mossner J., Berr F. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2003. V. 71. P. 1–10.
- Dąbrowski J.M., Arnaut L.G., Pereira M.M., Urbańska K., Simões S., Stochel G., Cortes L. // *Free Rad. Biol. Med.* 2012. V. 52. P. 1188–1200.
- Меерович И.Г., Грин М.А., Ципровский А.Г., Меерович Г.А., Оборотова Н.А., Лощенов В.Б., Барышников А.Ю., Миронов А.Ф. // *Рос. биотер. журн.* 2007. Т. 6. № 1. С. 22.
- Ol'shevskaya V.A., Nikitina R.G., Guiul'malieva M.A., Zaitsev A.V., Luzgina V.N., Kononova E.G., Ivanov O.G., Burmistrova N.V., Kaplan M.F., Kalinin V.N., et al. // *Org. Biomol. Chem.* 2006. V. 4. P. 3815–3821.
- Ol'shevskaya V.A., Nikitina R.G., Savchenko A.N., Malshakova M.V., Vinogradov A.M., Golovina G.V., Belykh D.V., Kutchin A.V., Kaplan M.A., Kalinin V.N., et al. // *Bioorg. Med. Chem.* 2009. V. 17. № 3. P. 1297–1306.
- Ol'shevskaya V.A., Savchenko A.N., Zaitsev A.V., Kononova E.G., Petrovskii P.V., Ramonova A.A., Tatarskiy V.V. Jr., Moisenovich M.M., Kalinin V.N., Shtil A.A. // *J. Organometal. Chem.* 2009. V. 694. № 11. P. 1632–1637.
- Пшенкина Н.Н. // *Мед. акад. журн.* 2011. Т. 11. № 3. С. 3–15.
- Sharman W.M., van Lier J.E., Allen C.M. // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2004. V. 56. P. 53–76.
- Tsuchida T., Zheng G., Pandey R.K., Potter W.R., Bellnier D.A., Henderson B.W., Kato H., Dougherty T.J. // *Photochem. Photobiol.* 1997. V. 66. № 2. P. 224–228.
- Миронов А.Ф., Грин М.А., Ципровский А.Г., Меерович Г.А., Меерович И.Г., Оборотова Н.А., Трещалина Е.М., Лощенов В.Б., Барышников А.Ю., Цыганков А.А. // *Патент России № 2411943.* Бюл. № 29. 2011.
- Mironov A.F., Grin M.A., Tsiprovskiy A.G. // *J. Porph. Phthalocyan.* 2002. V. 6. № 5. P. 358–361.
- Benesi H.A., Hildebrandt J.H. // *J. Am. Chem. Soc.* 1949. V. 71. P. 2703–2707.
- Abagyan R., Totrov M., Kuznetsov D. // *J. Comput. Chem.* 1994. V. 15. P. 488–506.
- Hanwell M.D., Curtis D.E., Lonie D.C., Vandermeersch T., Zurek E., Hutchison G.R. // *J. Chem. Inform.* 2012. V. 4. № 1. P. 17.
- Schmidt M.W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K.A., Su S., Windus T.L., Dupuis M., Montgomery J.A. // *J. Comput. Chem.* 1993. V. 14. № 11. P. 1347–1363.
- Huzinaga S., Andzelm J., Klobukowski M., Radzio-Andzelm E., Sakai Y., Tatewaki H. *Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations.* Amsterdam: Elsevier, 1984. 240 p.
- Roothaan C.C.J. // *Rev. Modern Phys.* 1951. V. 23. № 2. P. 69.
- Wardell M., Wang Z., Ho J.X., Robert J., Ruker F., Ruble J., Carter D.C. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. V. 291. № 4. P. 813–819.
- Fernández-Recio J., Totrov M., Abagyan R. // *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics.* 2003. V. 52. № 1. P. 113–117.
- Totrov M., Abagyan R. // *Proteins.* 1997. Suppl. 1. P. 215–220.
- Totrov M., Abagyan R. // *Peptide Sci.* 2001. V. 60. № 2. P. 124–133.
- Eisfeld A., Briggs J.S. // *Chem. Phys.* 2006. № 324. P. 376–384.
- Yao-Bing Y., Wang Y.-N., Ma J.-B. // *Spectrochim. Acta. Part A.* 2006. V. 64. P. 1032–1038.
- Ascenzi P., Fasano M. // *IUBMB Life.* 2009. V. 61. № 12. P. 1118–1122.
- Garg A.D., Bose M., Ahmed M.I., Bonass W.A., Wood S.R. // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 4. P. e34475.
- Chin W.W., Heng P.W., Bhuvaneshwari R., Lau W.K., Olivo M. // *Photochem. Photobiol. Sci.* 2006. № 5. P. 1031–1037.
- Calin M.A., Paraska S.V. // *J. Optoelectron. Adv. Mat.* 2006. V. 8. № 3. P. 1173–1179.
- Evans C.L., Abu-Yousif Adnan O., Jin P. Yong, Klein O.J., Celli J.P., Rizvi I., Zheng X., Hasan T. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 8. P. e23434.