ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.Н. СЕМЕНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

САДЫКОВА ОЛЬГА ВИТАЛЬЕВНА

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ С АМФИФИЛЬНЫМИ ПОЛИМЕРАМИ В ГЕНЕРАЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА

1.4.7 – высокомолекулярные соединения

диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель: доктор химических наук Соловьева Анна Борисовна

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	10
1.1. Антибактериальная фотодинамическая терапия	10
1.2. Основные механизмы фотодинамической терапии	12
1.3. Фотосенсибилизаторы для ФДТ и АФДТ и препараты на их основе	16
1.4. Порфирины. Химическая структура и свойства	23
1.4.1. Фторсодержащие порфирины	26
1.4.2. Хлорины. Фотодитазин. Химическая структура и свойства	27
1.4.3. Электронные спектры поглощения порфиринов и хлоринов	30
1.4.4. Спектры испускания порфиринов и хлоринов	
1.4.5. Ассоциация в водном растворе	36
1.5. Амфифильные полимеры: строение и свойства	39
1.5.1. Поли-N-винилпирролидон	41
1.5.2. Плюроники	42
1.5.3. Порфирины и амфифильные полимеры	47
1.6. Полисахариды. Альгинат натрия	48
1.7. Динитрозильный комплекс железа	53
ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	57
2.1. Объекты исследования и приготовление образцов	57
2.1.1. Исходные вещества.	57
2.1.2. Получение фотосенсибилизирующих полимерных систем на	основе
водорастворимых ФС	59
2.1.3. Солюбилизация гидрофобного ТФПF20	59
2.1.4. Получение фотосенсибилизирующих полимерных систем на	
ТФПF20	60
2.2. Методы исследования порфиринсодержащих полимерных систем	60
2.2.1. Исследование каталитических свойств фотосенсибилизирующих	систем
в водных растворах	60
2.2.2. Расчет эффективной константы скорости реакции	для
порфиринсодержащих полимерных систем на основе Xe6Na (без ДНКЖ	() 61
2.2.3. Расчет эффективной константы скорости реакции	для
порфиринсодержащих полимерных систем на основе порфиринов	разной
природы (ФД и ТФПF20) в присутствии ДНКЖ	61
2.2.4. Спектральные методы исследования полимерных порфиринсодер	жащих
систем	64

2.2.5. Методы исследования надмолекулярной структуры полимерных
порфиринсодержащих систем в растворе и в пленках
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ И ПИЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА
НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМЫХ
ФС В РЕАКЦИИ ФОТООКИСЛЕНИЯ ТРИПТОФАНА67
3.1. Влияние альгината натрия на фотокаталитическую активность ФД и Xe6Na
67
3.2. Влияние альгината натрия на фотокаталитическую активность комплекса
Хе6Nа-ПВП68
ГЛАВА 4. НАДМОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПО ДАННЫМ РСА,
АСМ И ТГА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ
АКТИВНОСТЬ ИССЛЕДУЕМЫХ СИСТЕМ
4.1. Рентгеновская дифракция
4.2. Атомно-силовая микроскопия
4.3. Термогравиметрический анализ
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА НА
ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПФС, В ПРИСУТСТВИИ
АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ И АЛЬГИНАТА НАТРИЯ92
5.1. Фоторазложение динитрозильного комплекса железа с глутатионом и
фотодитазина при воздействии на эти системы света с λ=400 нм92
5.2. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность водорастворимого ФД
98
5.3. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность системы Φ Д – Π В Π –
AH100
5.3.1. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность ФД и системы ФД –
AH100
5.3.2. Фотокаталитическая активность системы ФД-ПВП-АН-ДНКЖ 100
5.4. Влияние ДНКЖ и АН на фотокаталитическую активность
солюбилизированного плюроником F127 гидрофобного ТФПF20104
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ109
ПРИЛОЖЕНИЕ 1
СПИСОК ПРИНЯТЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ112

ВВЕДЕНИЕ

Наблюдающийся рост полирезистентности микроорганизмов антибактериальным препаратам подчеркивает необходимость разработки новых альтернативных подходов к лечению инфекционных заболеваний. Одним из перспективных методов лечения локальных инфекций (длительно незаживающие раны, трофические язвы, диабетическая стопа) может оказаться антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ). В основе АФДТ лежат цитотоксические свойства активных форм кислорода (A Φ K), прежде всего синглетного $^{1}O_{2}$ кислорода, генерируемых красителями – фотосенсибилизаторами возбужденном состоянии [1]. Наиболее активная и нетоксичная группа ФС – фотосенсибилизаторы собой порфириновые $(\Pi\Phi C)$, представляющие азотсодержащие макроциклические соединения – порфирины и их частично гидрированные аналоги – хлорины. Основное преимущество АФДТ перед антибиотикотерапией заключается во множественном характере окислительной деструкции микробных клеток-мишеней, что затрудняет выработку устойчивости к последующим циклам фотодинамических воздействий [2].

Возможность повышения эффективности антибактериальной ФДТ открывает совмещение метода с воздействием некоторых биологически активных молекул — протеолитических ферментов, полисахаридов, антиоксидантов, оксида азота [3, 4].

В частности, повысить эффективность АФДТ возможно при одновременном использовании в качестве ранозаживляющего средства анионного полисахарида – альгината натрия (АН). Известно, что АН обладает хорошей ранозаживляющей способностью и в этом качестве в настоящее время используется в клинической практике [5]. За счет структурных особенностей и полианионной природы АН способен взаимодействовать с раневой жидкостью с образованием мягкого геля на раневом ложе, таким образом, удаляя или контролируя экссудат в ранах [6].

Как было показано сотрудниками Отдела полимеров и КМП ФИЦ ХФ им. Н.Н. Семенова РАН повышение активности Φ С в генерации 1 О₂, приводящее к росту эффективности $A\PhiДТ$, наблюдается в присутствии ряда амфифильных полимеров ($A\Pi$) – плюроника F127, $\Pi B\Pi$, $\Pi Э\Gamma$, образующих комплексы с ΦC , что приводит к дезагрегации исходно агрегированных в водных растворах порфириновых оснований [7].

К числу биологически активных соединений также можно отнести динитрозильный комплекс железа с глутатионом (ДНКЖ-ГЛ), который способен выступать в биосистемах в качестве доноров монооксида азота (NO), стимулирующего репарационно-регенеративные (восстановительные) процессы в живых организмах [8, 9]. Известно, что монооксид азота взаимодействует с АФК с образованием пероксинитрита (ООNО), являющегося важным компонентом иммунного ответа в организме человека и животных. Кроме того, монооксид азота способен к взаимодействию с триплетно-возбужденными молекулами ФС, причем в таких процессах ФС дезактивируются [10]. Такой эффект может быть связан прежде всего с фотодеструкцией молекул ФС, инициируемой радикалами NO, образующимися при фоторазложении доноров NO. При этом ранее было показано, что присутствие плюроника F127 в ФС-системе защищает водорастворимые ПФС от воздействия ДНКЖ.

Целью настоящей работы является разработка порфиринсодержащих фотосенсибилизирующих композиций для АФДТ на основе амфифильных полимеров (АП), альгината натрия (АН) и динитрозильного комплекса железа с глутатионом (ДНКЖ-ГЛ), обладающих высокой активностью в генерации синглетного кислорода, и установление влияния состава и соотношения компонентов системы на активность композиций в фотогенерации ¹О₂ в условиях in vitro (в модельной реакции фотоокисления триптофана) [11].

Диссертационная работа является частью плановых исследований, проводимых в ФИЦ ХФ РАН по теме «Создание новых полимерных, гибридных и композиционных материалов и их модифицирование с целью широкого практического применения».

Дополнительно композицию $\Pi\Phi C - A\Pi - AH - ДНКЖ$ исследовали in vivo (при лечении модельных ран у лабораторных животных методом $\Phi Д T$). В качестве

ФС были выбраны порфирины различной природы: водорастворимые – диметилглутаминовая соль хлорина е6 – препарат «Фотодитазин», используемый в клинической практике ФДТ, тринатриевая соль хлорина е6, аналог препарата «Фотодитазин», а также гидрофобный пентафторфенилпорфирин (ТФПF20).

В качестве амфифильных полимеров были выбраны хорошо изученные и использующиеся в настоящее время в медицине поли-N-винилпирролидон (ПВП) и плюроник F127. Присутствие АН, обладающего ранозаживляющими свойствами, в разрабатываемой полимер-полимерной ФС-системе с одновременным воздействием ДНКЖ-ГЛ, обладающего регуляторно-регенеративными свойствами позволит эффективно использовать указанные системы при АФДТ локальных инфекций.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи:

- установить фотокаталитическую активность ΦC -систем в реакции фотоокисления триптофана в воде в зависимости от состава и соотношения компонентов для двух ΦC $A\Pi$, ΦC AH, TPEX ΦC AH и четырех ΦC AH —
- установить влияние надмолекулярной структуры полимерных компонентов и их возможного взаимодействия в двойных $\Phi C A\Pi$, $\Phi C AH$ и тройной $\Phi C A\Pi AH$ системах на активность ΦC в указанной реакции;
- установить влияние ДНКЖ-ГЛ на активность ФС в случае водорастворимых и гидрофобных порфиринов в присутствии и отсутствии АП и АН;
- провести предварительные исследования эффективности разрабатываемой системы при АФДТ модельных ран у лабораторных животных.

Научная новизна работы.

Разработаны полимерные фотосенсибилизирующие системы генерации $^{1}O_{2}$ на основе фотодитазина, поливинилпирролидона, альгината натрия и ДНКЖ-ГЛ, показавшие высокую активность как в процессе фотоокисления триптофана, так и при лечении модельных ран у лабораторных животных методом АФДТ.

Установлена роль каждого из полимерных компонентов фотосенсибилизирующей системы. Впервые показано, что ПВП предотвращает разрушающее воздействие, оказываемое со стороны активных радикалов NO^{\bullet} , образующихся при фоторазложении ДНКЖ, на молекулы Φ Д. В то же время АН, не влияя на активность Φ Д в фотогенерации 1O_2 , оказывает in vivo на раневую поверхность животных заживляющее действие в сеансах антибактериальной фотодинамической терапии.

Методами рентгеновской дифракции (РД), атомно-силовой микроскопии (АСМ) и термогравиметрического анализа (ТГА) показано, что в системах Xe6Na –ПВП и Xe6Na – ПВП – АН Xe6Na локализуется в фазе ПВП и не взаимодействует с макромолекулами АН.

Методом ¹Н ЯМР спектроскопии установлено взаимодействие между функциональными группировками Хе6Nа и ПВП в системе Хе6Nа – ПВП – АН; при этом аналогичного взаимодействия между Хе6Nа и АН не обнаружено. Методами РД, АСМ, ТГА и динамического рассеяния света (ДРС) установлено, что макромолекулы АН и ПВП не взаимодействуют друг с другом, как в растворах, так и в твердых пленках, полученных при испарении водных растворов, содержащих указанные компоненты.

Показано, что гидрофобный порфирин — ТФПF20, солюбилизированный плюроником F127, обладает высокой фотокаталитической активностью в водной фазе в присутствии как ДНКЖ-ГЛ, так и АН, что связано со стабилизацией мицеллярной структуры плюроников при солюбилизации гидрофобных порфиринов.

Практическая значимость

Полученные быть разработке данные МОГУТ использованы при порфиринсодержащих препаратов для АФДТ локализованных инфекций (длительно незаживающих ран, осложненных ожогов, трофических язв). Такие препараты будут значительно более эффективны, чем обычно используемые ФС, благодаря дополнительной ранозаживляющей способности за счет использования природного полисахарида — альгината натрия и динитрозильного комплекса железа с глутатионом.

Положения, выносимые на защиту

- Установленные зависимости эффективной константы скорости реакции фотоокисления триптофана в присутствии двойных (ФС − АП), (ФС − АН) и тройных ФС − АП − АН систем от концентрации АП и АН, соотношения полимерных компонентов в системе и природы ФС.
- 2. Установленные зависимости величины эффективной константы скорости фотоокисления триптофана в присутствии систем ФС АП ДНКЖ, ФС АН ДНКЖ и ФС АП АН ДНКЖ от соотношения полимерных компонентов для водорастворимых и гидрофобного ФС.
- 3. Данные ¹Н ЯМР спектроскопии об изменении хим. сдвигов Xe6Na, ПВП и АН в системах Xe6Na ПВП и Xe6Na ПВП АН в D₂O по сравнению с соответствующими параметрами в растворах индивидуальных компонентов.
- 4. Данные РД и ТГА по надмолекулярной структуре ПВП, АН, ПВП АН, Хе6Nа ПВП, Хе6Nа АН, Хе6Nа ПВП АН в пленках, полученных при испарении соответствующих водных растворов.
- 5. Данные ACM по структуре поверхности пленок ПВП, AH, систем ПВП AH и Xe6Na ПВП AH, полученных испарением на слюде соответствующих водных растворов
- 6. Данные ДРС по размерам молекул и ассоциатов исходных полимеров (ПВП, АН) и полимерной смеси (ПВП АН) в водных растворах.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, и 13 тезисов докладов в материалах Международных и Российских конференций. В совместных работах автор принимал участие в подготовке и проведении экспериментальных исследований, в обсуждении и обработке полученных результатов, написании и подготовке работ к печати.

Апробация работы. Основные результаты работы были представлены на XVIII, XIX, XXI, XXII, XXIII, XXIV ежегодных научных конференциях отдела

полимеров и композиционных материалов ФИЦХФ РАН (Москва 2017, 2018, 2020, 2021, 2022, 2023), 25th, 26th, 27th International Laser Physics Workshop (LPHYS`16, LPHYS'17, LPHYS'18), XI International Conference on Chemistry for Young Scientists "Mendeleev 2019" (Санкт-Петербург, 2019).

Структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методической части, описания и обсуждения результатов, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 132 страницах, содержит 56 рисунков, 11 таблиц и библиографию из 205 наименований.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Антибактериальная фотодинамическая терапия

Эволюция новых механизмов резистентности микроорганизмов привела к появлению опасных устойчивых штаммов, включая бактериальные штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), известные как «superbags» (суперинфекции, перед которыми все существующие антибиотики бессильны). Устойчивость этих микроорганизмов, прежде всего, связана с их способностью производить защитные биопленки. Биопленки, в свою очередь, состоят из многовидовых микробных ассоциаций, занимающих лишь ~ 5-35% всей биопленки, остальное пространство заполняет внеклеточный полимерный матрикс на основе экзополисахаридов, белков, ДНК, а также гликопротеидов. Полимерный матрикс продуцируется самими бактериями и предохраняет их от агрессивных воздействий окружающей среды, в т.ч. OT воздействия антибиотиков, дезинфицирующих средств, изменения температуры, высыхания и т.д. Биопленки часто образуются при различных инфекционных патологиях, что, в конечном счете, может приводить к хроническим инфекционным заболеваниям [12, 13].

Таким образом, постоянный и неконтролируемый рост бактерий с МЛУ к часто употребляемым антибиотикам пенициллинам, макролидам, тетрациклинам, цефалоспоринам разных поколений, приводит к поиску новых, более эффективных путей инактивации патогенной микрофлоры. Традиционными способами в решении возникшей проблемы для микробиологов считается разработка новых антибактериальных препаратов с улучшенной структурой, поиске новых мишеней для антибиотикотерапии, рациональном использовании имеющихся средств и расширением альтернативных путей. Принципиально новым и отличным от антибиотикотерапии способом в борьбе на преодоление резистентности и инактивации микроорганизмов, образующих биопленки, является антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ) [14].

Фотодинамическая терапия (ФДТ) в большей степени известна в лечении злокачественных новообразований. В основе метода ФДТ лежат цитотоксические

свойства $A\Phi K$, прежде всего синглетного ${}^{1}O_{2}$ кислорода, генерируемых красителями – фотосенсибилизаторами (ФС) в возбужденном состоянии. В качестве ФС выступает наиболее активная и нетоксичная группа –ПФС [15–17]. В последние годы было обнаружено, что ПФС накапливаются также в патогенных микроорганизмах и при облучении светом определенной длины волны оказывают бактерицидное действие, поэтому ФДТ начали использовать при лечении локальных инфекций (длительно незаживающих ран, трофических язв и др.) (антибактериальная фотодинамическая терапия) [1, 18–23]. Одно из основных преимуществ АФДТ, перед использующейся В настоящее антибиотикотерапией, заключается во множественном характере окислительной деструкции микробных клеток-мишеней, что затрудняет выработку устойчивости к последующим циклам фотодинамических воздействий [24, 25]. Бактерицидный ΦДТ эффект метода лимитируется зоной лазерного облучения сенсибилизированных тканей, что позволяет избежать при местной ФДТ генерализации побочных эффектов, наблюдаемых при применении антибиотиков [26]. При применении АФДТ в лечении ран заживление протекает по типу естественных репаративных процессов, вследствие чего является метод органощадящим и легко переносится при многократном его использовании.

Однако существуют некоторые проблемы АФДТ, прежде всего, связанные с поиском путей снижения используемых доз ФС и наблюдаемых побочных эффектов (светотоксичности, геморрагических реакций в ране) [27]. Для повышения эффективности АФДТ ФС используют в составе т.н. коньюгатов — молекул ФС, ковалентно связанных с фрагментами синтетических или природных полимеров (антителами, аминокислотами, липосомами), способствующими проникновению ФС в клетку. Полагается, что в подобных конструкциях полимер уменьшает связывание ФС с нормальными тканями, повышая тем самым эффективность АФДТ. В последние годы для повышения эффективности АФДТ при лечении осложненных ожогов, ран и трофических язв фотодинамическое воздействие комбинируют с другими методами лечения, в частности, с

использованием биологически активных соединений активно ускоряющих заживление ран на разных стадиях процесса [28–30].

1.2. Основные механизмы фотодинамической терапии

Независимо от того, где применяется фотодинамическая терапия — в борьбе с различными видами опухолей, при инактивации вирусов, бактерий или грибов, принцип метода и механизмы фототоксического действия остаются неизменными.

Как выше было отмечено наиболее нетоксичными и эффективными ФС являются порфирины. К настоящему времени был проведен ряд исследований, в результате которых было показано, что ПФС, преимущественно накапливаясь в мембранах органелл, способны инициировать при фотовозбуждении реакции двух типов (I и II) [31, 32].

Первоначальной стадией в реакциях и I, и II типа является переход молекулы порфирина при поглощении кванта света hv из основного S_{θ} состояния на одну из свободных орбиталей (т.е. на новый энергетический уровень): сначала на короткоживущий синглетный уровень ${}^{I}Sens^{*}$ с временем жизни ~ 10^{-9} - 10^{-6} с, далее в процессе интеркомбинационной конверсии в более долгоживущее триплетное состояние ${}^{3}Sens^{*}$ со значительно большим временем жизни ~ 10^{-4} -10 с (схема 1). Далее молекула порфирина может перейти из ${}^{3}Sens^{*}$ — состояния в основное (${}^{3}Sens^{*}$ — S_{0} + $hv_{\phi oc}$ (фосфоресценция)) или вступить в реакции с окружающими клеточными структурами. Так, триплетно-возбужденные молекулы порфирина могут взаимодействие с биомолекулами, входящими в состав мембран (ненасыщенные жирные кислоты, боковые цепи α -аминокислот, таких как, цистеин, триптофан, тирозин, метионин и гистидин) (реакции I типа) или вступать в реакцию непосредственно с молекулярным кислородом (реакции II типа).

В реакции I-го типа молекула порфирина в возбужденном триплетном ${}^3Sens^*$ состоянии взаимодействует с субстратом — R, в результате чего происходит отрыв
электрона (окисление) или иона водорода (восстановление) от молекулы субстрата \mathbf{R} возбужденной молекулой порфирина. В ходе окисления углеводородов, спиртов,
эфиров, органических кислот и липидов первичные радикалы \mathbf{R}^*

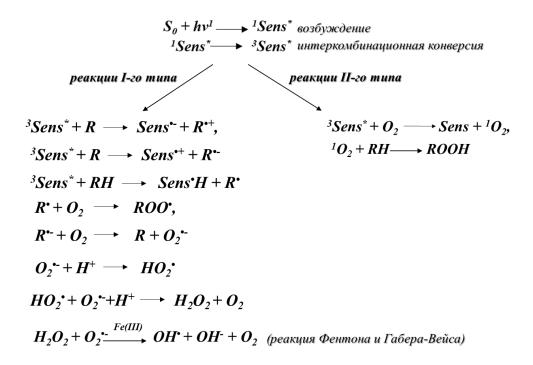


Схема 1. Реакции фотодинамического эффекта I и II типа.

присоединяют молекулярный кислород с образованием реакционно-способных перекисных радикалов (ROO^{\bullet}). В результате таких реакций могут образовываться перекиси органических соединений (ROOH, ROOR). Свободные радикалы при взаимодействии с молекулярным кислородом способны образовывать АФК, к которым относятся супероксидные-анионные радикалы O_2^{\bullet} и их протонированные аналоги — гидропероксильные радикалы (HO_2^{\bullet}), являющиеся сильными окислителями. Более того при дисмутации такие радикалы могут образовывать перекиси. Реакции перекисей с O_2^{\bullet} , приводит к образованию еще более сильного окислителя — гидроксил-радикала OH^{\bullet} (реакция Фентона и Габера-Вейса). Скорость реакции увеличивается в присутствии ионов железа Fe(III) [31].

Механизм реакции II типа основан на передаче энергии от ${}^3Sens^*$ к молекулярному кислороду с образованием синглетного 1O_2 кислорода. Время жизни синглетного кислорода в воде составляет ~ 3 мкс, в D_2O-70 мкс, а в органической среде $\sim 10-250$ мкс. В отличие от гидроксил-радикалов поражающее действие синглетного кислорода направлено в основном на реакции

присоединения его по двойным связям биомолекул с образованием гидропероксидов, продуктов циклоприсоединения эндо-пероксидов [33–35].

Оба типа фотохимических реакций на конечном этапе приводят к деструкции клеточной структуры и ее гибели.

Для успешного осуществления реакций I и II типа длина волны в электронном спектре поглощения (ЭСП) ПФС должна быть не выше 850 нм, а энергия перехода ПФС из основного состояния в возбужденное (S_0 - $^1Sens^*$) должна быть ниже 130 кДж/моль, иначе энергия $^1Sens^*$ - $^3Sens^*$ -перехода ПФС будет ниже энергии генерации 1O_2 (94 кДж/моль). Оптимальная длина волны поглощения ФС в этом случае должна входить в диапазон 650–850 нм, так называемую область оптического окна прозрачности биологической ткани («фототерапевтическое окно») [16]. Красный свет используется в основном при лечении методом ФДТ опухолей, расположенных глубоко в тканях.

При лечении методом ФДТ поверхностных поражений кожи, расположенных на глубине ~ до 1 мм можно воздействовать фиолетовым (380–450 нм) или синим светом (450–495 нм) (рис. 1).

Синглетный кислород образующийся в результате реакций II типа можно детектировать различными методами. Среди них наиболее часто применяется прямое измерение люминесценции синглетного кислорода в водных растворах высокочувствительными приемниками ИК-излучения [36, 37], например в присутствии ФС. Однако существуют некоторые сложности метода, связанные,

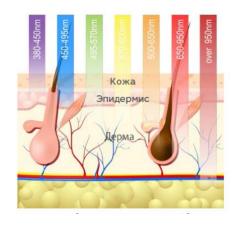


Рисунок 1. Проникновение под кожу излучения с разной длиной волны.

в первую очередь, с необходимостью применения дорогой аппаратуры для детектирования ИК-излучения, а также с ограничениями в выборе растворителя (время жизни молекулы ${}^{1}\text{O}_{2}$ в растворителе должно быть достаточно велико) и ФС (одновременно с люминесценцией синглетного кислорода регистрируются длинноволновые «хвосты» флуоресценции или фосфоресценции сенсибилизатора) [38].

Еще одним прямым селективным методом детектирования синглетного кислорода является метод ЭПР, благодаря наличию орбитального углового момента у молекулы ${}^{1}\text{O}_{2}$. Впервые для детектирования ${}^{1}\text{O}_{2}$ метод ЭПР был предложен в [39, 40], где также были детально изучены спектры ЭПР синглетного кислорода.

Помимо методов, основанных на электронных свойствах молекул синглетного кислорода, существует ряд непрямых методов его регистрации.

Наиболее распространенным методом измерения концентрации ${}^{1}O_{2}$ в жидкой фазе, в первую очередь, при изучении фотосенсибилизированной генерации ${}^{1}O_{2}$, является метод химических «ловушек». В качестве акцепторов ${}^{1}O_{2}$ чаще всего применяют тетраметилэтилен, 1,3 — дифенилизобензофуран, тетрациклон, производные антрацена, рубрен и др. [41, 42]. В биологических системах применяют водорастворимые ловушки ${}^{1}O_{2}$, такие как триптофан, гистидин, метионин и др. [43]. Окисление некоторых указанных ловушек представлено на схеме 2.

По большей части ФДТ протекает при совместном участии обоих представленных выше типов реакций, однако традиционно считается, что вклад ІІ-ого типа реакций превалирует [34, 43]. Из многолетних исследований можно сделать вывод о том, что механизм фотодинамической реакции в большей степени определяется биоокружением, в котором находится ФС. Так, образующиеся при переносе электронов радикальные пары в реакциях І-го типа стабильны в среде с высокой диэлектрической проницаемостью, где обратный перенос электронов затруднен, например, в водных растворах. Напротив, в неполярном или слабополярном биоокружении растворимость и время жизни синглетного

$$N_{\rm H_3}^{\rm NH_3^+}$$
 $N_{\rm H_2}^{\rm NH_3^+}$ $N_{\rm H_2}^{\rm NH_3^+}$ $N_{\rm H_2}^{\rm NH_2}$ $N_{\rm H_2}^{\rm NH_2}$

Схема 2. Реакция окисления триптофана, метионина и холестерина синглетным кислородом [31].

кислорода выше [44, 45]. Это подразумевает, что реакции І-ого типа легче протекают в клеточном цитозоле, а реакции ІІ-ого типа — в липидных или митахондриальных мембранах атипичных клеток. В большинстве своем биоокружение ФС, в которое он попадает в процессе таргетной доставки препарата, зависит, прежде всего, от молекулярного строения ФС, а именно от состояния гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) самого ФС. Биоокружение также может зависеть от характера используемых средств доставки (полимеры, мицеллы, липосомы и др.), степенью накопления ФС в пораженных клетках, прочности связывания ФС и т.д. [46–49].

1.3. Фотосенсибилизаторы для ФДТ и АФДТ и препараты на их основе

Как уже было приведено выше, при лечении методом ФДТ используют ФС – соединения природного или синтетического происхождения, молекулы которых в ходе поглощения кванта света переходят на более высокий энергетический уровень, переходя в возбужденное состояние, приобретают способность активировать молекулярный кислород и генерировать АФК. Способность к поглощению света вызвана присутствием в молекулах ФС хромофорных группировок (нитрозогрупп-, азогрупп-, нитрогрупп-), а также наличием сопряженных связей и ароматических групп. На сегодняшний день известно более 100 соединений, выступающих в роли ФС. К природным ФС можно отнести хлорофиллы, порфирины, фикобилины, а

также промежуточные продукты их синтеза, хинин, рибофлавин и др.

ФС должен обладать рядом определенных свойств, чтобы считаться идеальным лекарственным препаратом для АФДТ. К таким свойствам можно отнести высокую фототоксичность, низкую темновую токсичность, высокий квантовый выход ¹О₂, преимущественное связывание с микробными клетками по сравнению с клетками млекопитающих, подходящая фармакокинетика, основанная на быстром накоплении и удержании ФС в нужном месте и малым периодом остаточной фототоксичности [50, 51]. Подобные требования предъявляются к ФС при их использовании в лечении онкологических заболеваний. Однако всё же существует некоторые отличия в требованиях между противоопухолевыми ФС и ФС. инфекций, применяющимися при лечении локальных вызванных антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов [52]. Одно из них связано с разными мишенями. Так, в случае противоопухолевых ФС, главной мишенью служит опухолевая клетка, а для ФС, применяемых при лечении методом ФДТ локальных инфекций – селективное накопление должно происходить в атипичных (пораженных) клетках [46, 53]. Другим отличием противоопухолевых ФС является также то, что глубина проникновения света через ткань имеет гораздо более важное значение, нежели при инактивации патогенной микрофлоры. Одним из важных отличий использования ФДТ при лечении пораженных областей ткани является выраженные геморрагические реакции, свойственные, как самому методу, так и используемым ФС. Вследствие таких реакций повышается проницаемость стенки кровеносных сосудов, от которой зависит появление в тканях раны диапедезных кровоизлияний [54].

Еще одним отличием АФДТ от ФДТ является то, что препараты для АФДТ применяются наружно, поэтому, как темновая, так и остаточная световая токсичность в этом случае ниже, чем при ФДТ. В связи с этим использование более токсичных катионных ФС при проведении АФДТ оправдано, поскольку они проявляют значительно более эффективное связывание с поверхностью микробных клеток, которая для подавляющего числа патогенов несет отрицательный заряд [55, 56].

Отрицательно заряженные и нейтральные ФС также способны проникать через клеточные мембраны бактерий, однако наиболее эффективно — через пористые пептидогликанные слои грамположительной микрофлоры. В отношении грамотрицательных патогенов мембранный транспорт анионных и незаряженных ФС затруднен. В этой связи, по-видимому, необходимы носители или средства для анионных и нейтральных ФС, повышающие проницаемость липополисахаридной мембраны грамотрицательной микрофлоры, например, электролиты, полипептиды, полимеры [50, 53, 57, 58].

Большинство ФС имеют тетрапиррольную структуру и широко используются в противоопухолевой и антибактериальной ФДТ [52, 59–62]. Структура и свойства некоторых из них, использующихся как для ФДТ, так и для АФДТ будут рассмотрены ниже.

ФС одобренным Первым, клинически онкологии, является водорастворимая смесь, содержащая 20% мономеров и 80% димеров и олигомеров гематопорфирина, которая после получила название «Фотофрин» [63–65]. Позже были созданы ФС, основанные на более «очищенной» фракции гематопорфирина, к ним относятся: «Фотогем», «Фотосан», «Фотокарцинорин». Преимуществами данных ФС являются простота получения и эффективная фотосенсибилизирующая активность. Однако препараты первого поколения имеют неоптимальные фотофизические свойства (максимум поглощения при 630 нм), обладают слабой селективностью к опухолевым тканям, а также длительной фоточувствительностью [53]. Указанные характеристики стали основными причинами поиска и разработки новых фотосенсибилизирующих препаратов следующего поколения.

ΦС второго поколения бактериохлорина, на основе хлорина, бензопорфиринов, феофорбидов, пурпуринов, фталоцианинов ряда порфириноидов (порфицены, корролы и т.д.) поглощают при более высоких длинах волн (650 - 820 нм), не менее успешно накапливаются в опухолях и, за исключением фталоцианинов, легко выводятся из организма в течение суток. Многие ФС второго поколения имеют природное происхождение, в частности хлорины выделяют из хлорофилла, полученного из специальных растений или

микроводорослей, бактериохлорины — из культуры фототрофных бактерий, что позволяет получать препараты на основе возобновляемого сырья. Природные ФС второго поколения характеризуются низкой кожной токсичностью, препараты на их основе в настоящее время используются в ФДТ и АФДТ. Второе поколение ФС также включает в себя соединения не порфириновой структуры (фенотиазины, ксантены, фуллерены, антрахиноны, индоцианина, гиперицин и т.д.) [52].

Хлорины, или дигидропорфирины образуются гидрированием одной двойной связи у порфиринов (см. рис. 2) и отличаются от порфиринов сильным возрастанием интенсивности длинноволновой полосы и ее смещением в красную область. ФС на основе хлоринов характеризуются высоким коэффициентом молярной экстинкции ($\varepsilon \sim 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^1$) с поглощением в области 500-650 нм и высоким квантовым выходом ${}^{1}O_{2}$ (0,4 - 0,8). Среди хлоринов стоит отметить водорастворимые соединения: ди-N-метил-D-глутаминовую соль хлорина еб отечественный препарат «Фотодитазин»; натриевую соль хлорина еб-препарат «Радахлорин»; тринатриевую соль хлорина е6+поливинилпирролидон белорусский препарат «Фотолон» [66]. Поскольку в данной работе будут использованы ФС на основе хлорина еб, в частности диглутаминовая соль хлорина еб (Фотодитазин), более подробно о нем будет представлено в Главе 1.4.2.

Гидрирование еще одной двойной связи у хлоринов приводит к образованию *бактериохлоринов* (тетрагидропорфирины) (рис. 2). В отличие от хлоринов полоса поглощения еще более сдвинута в длинноволновую область (590 – 790 нм) [67, 68]. Однако одновременно со спектральным смещением уменьшается стабильность молекулы. Использование тяжелого атома палладия служит одним из способов сохранения стабилизации молекулы бактериохлорина. Например, препарат Tookad (Израиль) – Pd-бактериохлорин, который имеет максимум поглощения при 760 нм и является разрешенным препаратом для лечения рака простаты [69].

Феофорбиды (660 нм) (феофорбид а, рис. 2) образуются в результате разрушения хлорофилла на ранних стадиях его распада, при которых происходит отщепление фитола и атома Mg. Один из препаратов на основе феофорбида –

гексиловый эфир феофорбида а (HPPH, photoclor), обладает высокой эффективностью при низких дозах и клинически применим в США [66, 67].

К ФС второго поколения, получаемых синтетическим путем, следует отнести, бензопорфирины, мезо-тетрагидроксифенилхлорин (m-THPC, фоскан, темопорфин), корролы, порфицены, фталоцианины, а также аминолевулиновую кислоту (АЛК) или ее эфиры.

Бензопорфирин (бензопорфирина монокислота, кольцо A, рис. 3) относится к одному из синтетических производных хлорина, имеет максимум поглощения при 690 нм и $\varepsilon = 33000~{\rm M}^{-1}{\rm cm}^{-1}$. Он не растворим в воде, и используется как липосомальная композиция или эмульсия. Под торговым названием Visudyne был особенно успешен при лечении заболеваний, связанных с поражением сетчатки глаза [67].

Темопорфин (мезо-тетрагидроксифенилхлорин, т-ТНРС, рис. 3) с

Рисунок 2. Структурные формулы природных ФС (хлорин, бактериохлорин и феофорбид а), содержащих тетрапиррольный макрогетероцикл.

Бензопорфирина монокислота, кольцо А

Рисунок 3. Структурные формулы некоторых синтетических производных хлорина.

максимумом поглощения 652 нм и є = 33000 М⁻¹см⁻¹ является еще одним синтетическим аналогом хлорина и первым разрешенным препаратом на его основе. В Европе темопорфин выпускается под торговой маркой Foscan для лечения плоскоклеточного рака головы и шеи [46].

Корролы— тетрапиррольные макроциклы, имеющие на один атом углерода меньше в *мезо*-положении, чем у порфиринов (рис. 4). Одним из уникальных свойств корролов является то, что они и их хелаты постпереходных металлов имеют высокий квантовый выход флуоресценции. Например, металлирование корролов галлием, фосфоромили алюминием приводит к высоким значениям квантовых выходов флуоресценции. Практическая полезность металлокорролов продемонстрирована их использованием в качестве ФС в ФДТ для борьбы с раком, фотодинамической инактивации микроорганизмов [70, 71].

Производные *порфицена*, синтетического изомера порфина, поглощающие на длине волны 659 нм, также являются перспективными ФС для ФДТ, например, 2,7,12,17-тетрафенилпорфицен (рис. 4) [66].

Ф*талоцианины* имеют более интенсивную полосу поглощения (630 – 720 нм) по сравнению с порфиринами, что связано с особенностями их молекулярной структуры, прежде всего наличию в молекуле мостиковых атомов азота (рис. 4). Фталоцианины сильно гидрофобны, что обычно уравновешивается модификациями их химической структуры для улучшения растворимости в воде. В качестве препаратов для ФДТ наиболее доступными и хорошо изученными являются водорастворимые сульфопроизводные фталоцианинов, в большей степени хлоральминиевый и цинковый комплекс. Так, на основе



Рисунок 4. Структурные формулы некоторых синтетических ФС.

сульфозамещенного фталоцианина алюминия создан препарат Фотосенс [66, 72, 73]. Фотосенс является разрешенным к медицинскому применению в России препаратом для лечения различных видов опухолей.

Среди синтетических ФС стоит выделить соединение, не имеющее тетрапиррольной структуры, но использующееся в настоящее время в медицине — 5-аминолевулиновая кислота (АЛК) (рис. 5) [74, 75]. В России препарат на основе АЛК — Аласенс клинически одобрен и применяется для лечения различного ряда опухолей.

Препараты на основе АЛК и фталоцианинов прошли все этапы клинических испытаний и в Европе и рекомендованы для лечения акне, диабетической стопы и хронических инфекций кожи.

Однако почти все синтетические ΦC обладают остаточной фототоксичностью.

Другие типы ФС для АФДТ

Среди ряда других соединений, которые были исследованы в качестве потенциальных ФС для АФДТ, следует выделить два: 1) ряд производных витамина В₂ (рибофлавин); 2) катионные производные бор-содержащих дипиррометеновых красителей (BODIPY). Производные рибофлавина, например, Flash 01A, поглощает в ближней УФ-области и имеет высокий выход генерации ¹O₂, а также способен инактивировать множество микроорганизмов. ΦС на основе катионных бор-дипиррометенобладают низкой темновой производных токсичностью, отличной биосовместимостью и высоким квантовым выходом генерации ¹О₂. В свою очередь ФС склоны к высокой липофильности и к агрегации в водных растворах, в связи с чем требуется поиск подходящих носителей для этих ФС [52, 76].

Рисунок 5. Структурная формула аминолевулиновой кислоты.

На сегодняшний день усовершенствование свойств уже имеющихся ФС и разработка новых продвинулись вперед, в частности, в направлении повышения специфичности ФС к пораженным клеткам и повышению их эффективности при использовании в ФДТ и АФДТ. Для достижения представленных выше свойств были созданы ФС третьего поколения, к которым относятся модифицированные препараты первого и, зачастую, второго поколения, в которых ФС ковалентно связаны с биомолекулами (антитела, белки, углеводы и т.д.), факторами роста, липопротеинами, полимерами, различными наночастицами и др., имеющими сродство к пораженным клеткам, либо инкапсулированные в носители (липосомы, полимерные мицеллы и др.) за счет электростатических или гидрофобных взаимодействий [52, 77–80].

1.4. Порфирины. Химическая структура и свойства.

Порфирины — многочисленные циклические ароматические полиамины, содержащие сопряженное макроциклическое кольцо из четырех замкнутых пиррольных колец I, II, III, IV, связанных метиновыми (=CH-) мостиками с координационным центром из атомов азота (H_2N_4) (рис.6). Основоположником всех тетрапиррольных соединений является 16-членный макроцикл ($C_{12}N_4$) — порфин (H_2P). Нумерация всех атомов тетрапиррольного макроцикла от 1 до 24 осуществляется по номенклатуре Международного союза теоретической и

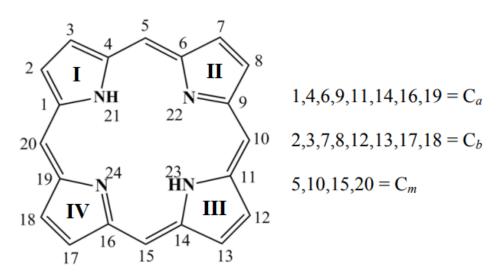


Рисунок 6. Структурная формула макроцикла порфина (H₂P) с нумерацией атомов согласно номенклатуре IUPAC [81].

прикладной химии (IUPAC). Макроцикл включает в себя четыре различных типа атомов: атомы углерода метиновых мостиков относятся к *мезо*-атомам углерода (C_m), в C_a расположены α -атомы, C_b включает β -атомы пиррольных колец.

Порфин и подобные ему замещенные порфирины представляют собой отдельный класс макроциклических соединений — собственно порфирины. Замещение протонов на различные органические и неорганические группы может происходить на периферии макроцикла в пиррольных кольцах (β -положение), в метиновых мостиках (*мезо*-положение), а также в ядре макроцикла молекулы (положения N_{21} и N_{23} , либо N_{22} и N_{24} при определенных условиях).

К порфиринам, в которых замещение происходит по β -положению, относятся окта-алкильные производные природного (гематопорфирин IX, дейтеропорфирин IX, мезопорфирин IX, протопорфирин IX) и синтитеческого (этиопорфирин I, октаэтилпорфирин) происхождения, окта-арильные производные (октафенилпорфирин), порфирины с аннелированными циклическими ядрами, содержащие гетероатомы (тетрабензопорфирины) и другие соединения с конденсированными кольцами, а также производные гидрированные по β -положениям (хлорины, бактерио- и *изо*-бактериохлорины, корфины), к числу которых можно отнести хлорофилловые лиганды (хлорофилл a, b).

Порфирины, у которых протоны атомов углерода метиновых мостиков замещены арильными группам, являются наиболее широко распространенными синтетическими порфиринами (тетраарилпорфирины), поскольку достаточно просты в получении и легко подвергаются модификации.

К N-замещенным порфиринам следует отнести моно-N-метилпорфирин, в котором замещение происходит в ядре макрогетероцикла. Замещение такого рода приводит к существенным изменениям молекулярной конформации тетрапиррольного макроцикла. Однако следует отметить, что все основные характеристики порфиринов при таком замещении сохраняются.

Одним из главных свойств порфиринов является их способность к образованию комплексов с катионами металлов, при этом в ядре макроцикла образуются четыре эквивалентные σ -связи (катион — N). Тетрапиррольный

макроцикл собственно порфиринов представляет собой дианионный лиганд с двумя пиррольными протонами в ядре для координируемого катиона металла. При соответствии валентности координируемого иона металла типу лиганда формируются металлокомплексы, которые носят название металлопорфирины (МП). Порфирины легко формируют тетракоординированные комплекса с двухвалентными металлами. При повышении валентности металла к нему дополнительно присоединяется один или два электронодонорных лиганда (внеплоскостное координирование, или экстракоординация) [81–87].

Свои важнейшие биологические функции металлокомплексы выполняют благодаря экстракоординации с молекулами воды, кислорода, перекиси, азотистых гетероциклов, белков и др. Так, протопорфирин IX с комплексно связанным двухвалентным железом (гем — красящее вещество, входящее в состав гемоглобинаи группы цитохромоф), выполняет такие функции, как перенос и фиксация молекул О₂ для обеспечения жизнедеятельности живых организмов [88]. Комплексы порфирина с магнием (хлорофиллы) способны образовывать аква-экстракомплексы путем координации одной молекулы Н₂О. Такие комплексы в составе молекулы белка участвуют в первой (фотофизической) стадии фотосинтеза [89].

Такое многообразие порфиринов, которое в сочетании с уникальной молекулярной структурой определяет их биологические функции в природе, способность выступать в качестве катализаторов, фотосенсибилизаторов, разнообразных красителей, является главной их особенностью. Благодаря уникальному набору физических и химических свойств порфирины и их аналоги привлекают интерес исследователей в области химии, биологии и медицины.

Структура порфиринов

Порфирины характеризуются сопряженной системой связанных рорбиталей, обеспечивающая делокализацию π -электронов по макроциклу. Энергия сопряжения, вычисленная из теплот сгорания нескольких тетрапиррольных соединений (~ 250 ккал/моль) значительно превышает энергию сопряжения четырех пиррольных ядер, что обуславливает высокую химическую стойкость и

ароматический характер порфиринов. Сопряженным порфириновым системам приписывают планарную конформацию с максимальным перекрыванием рорбиталей. Планарность определяется сопряжением рорбиталей, обеспечивающееся их перекрыванием в молекулярных структурах с чередованием одиночных и кратных связей [81].

Одним из методов исследования кристаллической структуры порфиринов является рентгеноструктурный анализ (РСА). По данным РСА порфирины перечисленных выше структурных групп, в частности, все β-замещенные и не объемистых заместителей порфирины имеющие мезо-замещенные характеризуются плоским строением молекул. Степень непланарности увеличивается по мере β-гидрирования в ряду: порфин < хлорин < бактериохлорин < *изо*-бактериохлорин. Однако неплоское строение *изо*-бактериохлорина выражено слабо, поэтому хлорины могут быть отнесены к числу преимущественно плоских соединений. Неплоское или искаженное строение, в частности, седлообразное или рифленое, характерно для металлопорфиринов с экстралигандами, порфиринов с объемными заместителями (в мезо-положение), порфиринов, содержащих ионы металлов, неоптимальных по размерам ядру тетрапиррольного макроцикла (размер ядра макроцикла порфирина составляет ~ 2 Å), а также для некоторых протонированных форм порфиринов [84].

Физико-химические свойства

Порфирины представляют собой кристаллы темно-красного цвета (феофетины, феофорбиды и хлорины имеют зеленую окраску), с температурой плавления выше 360°С. Порфирины – амфотерные соединения, обладающие как основными (N-основания), так и кислотными (NH-кислота) свойствами [90]. Они хорошо растворимы в уксусной кислоте, минеральных кислотах, пиридине, хлороформе, ДМФА, диоксане; гораздо хуже – в спиртах, ацетоне и эфире и практически не растворимы в воде [91].

1.4.1. Фторсодержащие порфирины

В последнее время появляется все больше работ, посвященных изучению

фторсодержащих порфиринов в качестве потенциальных ФС для ФДТ. Такой интерес связан с рядом преимуществ и дополнительных функций, обусловленных введением атомов фтора или фторуглеродных заместителей в структуру ФС. В частности, такое присоединение может приводить к повышению каталитической активности порфиринов, а также изменять растворимость макроцикла в конкретном растворителе. Фторированные производные порфиринов, как правило, имеют высокий квантовый выход фотогенерации триплетно-возбужденной формы ФС: (${}^{3}\Phi$ C*) (${}^{1}\Phi$ C0 hv ${}^{1}\Phi$ C* hv ${}^{3}\Phi$ C* ${}^{3}\Phi$ C* ${}^{3}\Phi$ C* ${}^{3}\Phi$ C* 4 O2 2 4 C0 (2 0 (4 0 2 0,6–0,8) [87]. Именно ${}^{3}\Phi$ C* ответственна за передачу энергии возбужденного ФС молекулярному кислороду. Помимо высокого квантового выхода фторсодержащие порфирины, в частности, фторированные тетрафенилпорфирины (ТФП), обладают повышенной фотостабильностью по сравнению с незамещенными ТФП [92, 93].

1.4.2. Хлорины. Фотодитазин. Химическая структура и свойства.

Интересную группу порфиринов составляют соединения, гидрированные по пиррольным двойным связям (3-4, 5-6 и 7-8) (рис. 7). Среди них наибольший интерес представляет 7,8-дигидропорфирин (синтетический хлорин), его алкилпроизводные — тетраметилтетраэтилхлорины (этиохлорины), мезотетрафенилхлорин, 1,3,5,8- тетраметил-2-винил-4-этил-6-карбокси-7(β-карбоксиэтил)- γ -(карбоксиметил) хлорин, называемый хлорином е6, и ряд других [83].

Хлорины обладают высоким квантовым выходом синглетного кислорода и интенсивной полосой поглощения при больших длинах волн по сравнению с порфиринами, где биологические ткани наиболее прозрачны для света (650 – 660 нм).

Об использовании производных хлоринового ряда для ФДТ в научной литературе было заявлено в 1986 г [94]. Группа авторов из США сообщила о результатах своего поиска ФС, который удовлетворял главным требованиям ФДТ, а именно хорошей тропностью к опухеловым клеткам и интенсивному поглощению в длинноволновой красной области спектра. Для производных хлоринов

характерны высокая избирательность, достаточная эффективность лечения и очень незначительная сенсибилизация кожи.

В 1994-2001 гг. в России были проведены исследования тетрапиррольных макроциклов хлоринового ряда (производных хлорофилла а) с целью выявления структурно-функциональных закономерностей накопления ФС в опухоли, повышения терапевтического эффекта и создания на их основе лекарственных субстанций и форм. Также была разработана технология извлечения из растительного сырья комплекса биологически активных хлоринов, которые содержат в качестве основного компонента хлорин е6 (Хеб).

Основными преимуществами Xe6 является его низкая токсичность, простота получения, быстрое и достаточно селективное накопление в клетках-мишенях и высокая фотосенсибилизирующая активность.

В последние годы появился ряд работ, посвященных применению АФДТ при лечении гнойных заболеваний мягких тканей, в частности трофических язв с использованием ФС хлоринового ряда. Хлорины оказывают положительное воздействие на течение раневого процесса, что проявляется выраженным антибактериальным действием, ускорением очищения ран от гнойнонекротического детрита и сокращением сроков заживления раневых дефектов [95].

В работах Park J.H. и коллег [96] ФС на основе хлорина е6 был высокоэффективен в отношении грамположительных бактерий. Для повышения проницаемости хлорина через внешнюю стенку грамотрицательных бактерий в

Рисунок 7. Структурная формула хлорина [83].

ряде работ были получены множественные катионные конъюгаты — поли-Lлизинхлорин е6, гидрофобный диоксидин-хлориновый конъюгат, хлориновый конъюгат на основе производного хлорофилла *а* и миристиновой кислоты [97–101].

Фотодитазин

Одним из эффективных российских препаратов для ФДТ на основе хлорина еб является фотодитазин ($\Phi \Pi$) (ди – N – метил –D – глюкаминовая соль хлорина еб), разработанный в 1998 г. в качестве ФС для лечения целого ряда опухолей. ФД (рис. 8) обладает высокой тропностью (степень накопления в пораженных тканях), не токсичен, выводится из организма за период не более чем 26 часов, что является ФДТ. В «Фотодитазин» немаловажным аспектом активируется низкоэнергетическом лазерном излучении с длиной волны 662 нм (при этом фотодинамический эффект может развиваться в тканях на глубине до 1,7-2 см) [102]. В работе [103] препарат «фотодитазин» был использован для лечения гнойных и длительно не заживающих ран. Было показано, что ФДТ с применением ФД снижает токсическое воздействие бактериальных продуктов, что ведет к уменьшению некротических проявлений и гнойного воспаления. Также ФДТ с применением фотодитазина давало первичный стимул при лечении длительно

Рисунок 8. Структурная формула ди-N-метил- D-глюкаминовой соли хлорина e6 (Фотодитазин).

незаживающих ран, ускоряющий раневый процесс и затем последовательно сокращающий время всех фаз заживления раны или язвы.

1.4.3. Электронные спектры поглощения порфиринов и хлоринов

Электронные спектры поглощения порфиринов

Порфирины и их производные обладают характерными светопоглощающими и флуоресцентными свойствами и относятся к одним из наиболее сильных хромофоров. Спектры поглощения растворов порфиринов включают в себя четыре основные Q-полосы небольшой интенсивности ($\varepsilon_{\text{max}} \sim 10^3 \div 10^4 \, \text{M}^{-1} \text{cm}^1$), находящиеся в видимой области спектра. Q-полосы традиционно нумеруются римскими цифрами, начиная с длинноволновой полосы. Вблизи границы видимой и УФ-областей порфирины имеют интенсивную B-полосу ($\varepsilon_{\text{max}} \sim 10^5 \, \text{M}^{-1} \text{cm}^1$), которая носит название «полоса Cope» ($\lambda = 380 - 420 \, \text{нм}$). Наличие полосы Соре является характерной чертой всех тетрапиррольных соединений.

На рисунке 9а представлен электронный спектр поглощения (ЭСП) H_2P , из которого видно, что интенсивность полос I и III очень низкая. При сравнении спектра H_2P со спектрами других порфиринов было установлено, что у большинства из них полосы I и III более интенсивны, а интенсивность II и IV полос примерно такая же, как у H_2P [104–106]. В то же время у металлопорфиринов (МП), в частности, для $Mg\Pi$, наблюдаются две полосы вместо четырех (рис. 96). Такое поведение полос связано с двукратным вырождение энергетических уровней, возникающих при протонировании нейтральной молекулы порфирина H_2P и

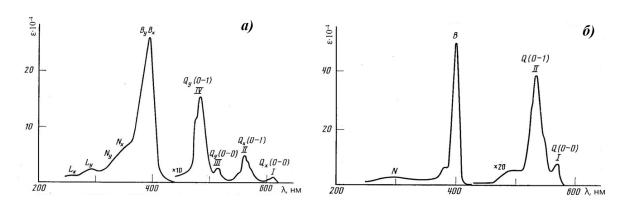


Рисунок 9. Электронный спектр поглощения H_2P (a) и МП (MgП) (б) в эфире при 293 К [104].

образовании ионных форм дикатиона H_4P^{2+} в результате повышения симметрии плоского макроциклического хромофора (л-электронного облака макроцикла). Данный эффект отражается в сужении полос Соре и уменьшению полос видимого спектра: вместо четырёх полос наблюдаются две, I и III полосы сливаются в одну, также наблюдается уменьшение и практически полное исчезновение II и IV полос. Поглощение молекул порфиринов в видимой и УФ- областях отвечает электронным и электронно-колебательным переходам с π -уровней основного состояния молекул порфиринов на возбужденные π^* -уровни ($\pi \to \pi^*$ переходы). Данные переходы хорошо описывает четырехатомная модель Гоутермана, согласно которой эти переходы осуществляются между двумя верхними заполненными (ВЗМО) и двумя нижними вакантными (НВМО) молекулярными орбиталями. Было установлено, что полосы I и III собственно порфиринов соответствуют чисто электронным (квазизапрещенным) π - π *-переходам родственны I полосе комплексов MП, которая в результате понижения симметрии от D_{4h} до D_{2h} расщепляется на две (рис. 9, 10). В стандартных обозначениях полоса І МП соответствует электронному переходу $1^1A_{1g} \to 1^1\bar{E}_u$ (симметрия D_{4h}), а полосы I и III безметальных порфиринов — переходам $1^1A_{1g} \rightarrow 1^1B_{3u}$ (I полоса поглощения) и $1^1A_{1q} \to 1^1B_{2u}$ (III полоса поглощения) [84].

Полосы II и IV собственно порфиринов служат электронно-колебательными (вибронными) спутниками I и III и соответствуют электронным переходам с электронного уровня основного состояния ${}^1A_{1g}$ на электронно-колебательные подуровни $1{}^1A_{1g} \to {}^1\bar{B}_{2u}$ (II полоса поглощения) и $1{}^1A_{1g} \to {}^1\bar{B}_{2u}^{\setminus \setminus}$ (IV полоса поглощения).

Полоса Соре МП принадлежит одному электронному переходу в дважды вырожденное возбужденное состояние ${}^1E_u^{\setminus}$. Расщепление состояния ${}^1E_u^{\setminus}$. при понижении симметрии до D_{2h} дает два перехода: $1{}^1A_{1g} \to 2{}^1\bar{B}_{3u}^{\setminus}$ и $1{}^1A_{1g} \to 2{}^1\bar{B}_{3u}^{\setminus}$, которые соответствуют полосе Соре безметальных порфиринов.

По порядку интенсивности полос поглощения в спектрах безметальных порфиринов их спектры разделяют на четыре типа (рис. 11). Этио-тип имеет

порядок интенсивности полос IV > III > II > I и характерен для симметрично замещенных порфиринов. В спектрах родо-типа интенсивность III полосы спектра

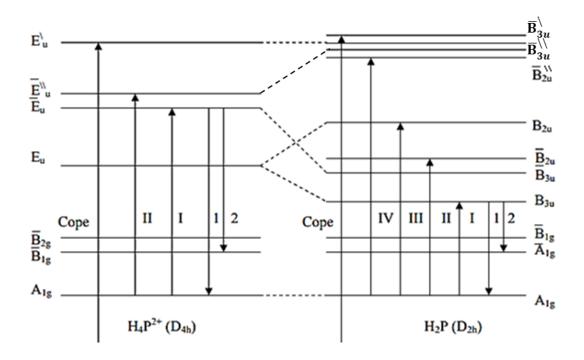


Рисунок 10. Энергетические уровни порфиринового макроцикла в H_2P (D_{2h}) , а также МП, H_4P^{2+} , Π^{2-} (D_{4h}) [84]. Черта над символом энергетического уровня означает колебательный спутник электронного перехода, стрелки $\uparrow\downarrow$ - поглощение или испускание УФ или видимого излучения.

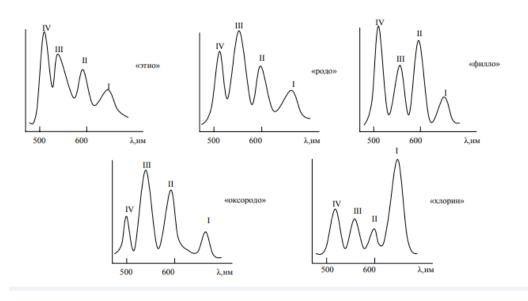


Рисунок 11. Типы спектров поглощения порфиринов в видимой области [109].

много выше интенсивности IV полосы (III > IV > II > I). Для хлоринов характерным является расположение полос I > IV > III > II. Оксородо-тип ЭСП имеет порядок интенсивности III > II > IV > I. Филло-тип ЭСП имеет порядок интенсивности IV > II > III > I и характерен для филлопорфирина, у которого периферические заместители расположены ассиметрично [107–109].

Электронные спектры поглощения фторированных порфиринов

Общие черты ЭСП в видимой и УФ-областях сохраняются при модификации порфиринного макрокольца. Однако изменения в спектрах поглощения все же могут происходить, если при модификации порфиринового макрокольца сильно изменилась его симметрия, поляризация или строение сопряженной π-системы. Например, ЭСП додека-, N- и мезо-замещенных порфиринов, а также хлоринов и циклофанов, у которых высока роль колебательных состояний молекул, несколько уширяются и снижается интенсивность некоторых полос. Также при замещении могут наблюдаться батохромные сдвиги полос относительно незамещенных H₂P [84]. Примером могут служить порфирины, содержащие фенильные группы (ТФП), у которых полоса Соре и некоторые Q-полосы сдвинуты в длинноволновую область спектра поглощения относительно незамещенных H₂P. Такие сдвиги в ЭСП могут быть связаны с нарушением копланарности молекулы ТФП за счет влияния фенильных колец на порфириновый макроцикл.

Исключением является фторирование в мезо- или β-пиррольных положениях порфиринового макроцикла. Так, сильный гипсохромный сдвиг полосы Соре и всех Q-полос спектра наблюдается при замещении атомами фтора в мезо-положениях макрокольца в молекуле ТФП (таблица 1). Такой сдвиг может быть связан с электроноакцепторным характером периферийного пентафторфенильного заместителя [110].

Таблица 1: Максимумы поглощений в ЭСП фторированных порфиринов в CH_2Cl_2 .

Порфирин	Максимумы поглощений в ЭСП -
	Полоса Соре, Q-полосы (λ нм)
ТФП*	419, 516, 550, 593, 651
ТФП-F20*	411, 505, 535, 582, 638

* - где ТФП — тетрафенилпорфирин, ТФП-F20 — мезо-тетракис (пентафторфенил) порфирин.

Электронные спектры поглощения хлоринов

Структура ЭСП хлоринов существенно отличается от порфириновой. Гидрирование сопряженных связей пиррольных фрагментов вносит элемент ассиметрии в строение π -электронного облака, поляризуя молекулу, что сказывается на ее спектральных характеристиках. Как видно из рисунка 12, в ЭСП хлорина е6 наблюдается существенный рост интенсивности и длинноволновое смещение I полосы. Известно, что положение I полосы всех незамещенных порфиринов наиболее чувствительно к изменению структуры молекулы. Это обусловлено тем, что низший вакантный уровень B_{3u} (рис. 10) наиболее сильно подвержен воздействию ядер и электронов остова хромофора (наиболее сильно связан с остовом), чем все вышележащие уровни. Поэтому гидрирование -C=C- связи может приводить к понижению уровня B_{3u} и батохромному смещению

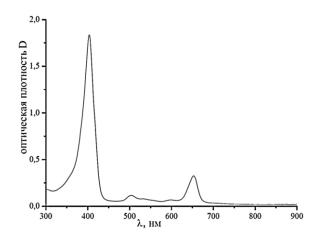


Рисунок 12. Спектр поглощения хлорина еб в воде [111].

полосы I в ЭСП [83, 104]. Полоса IV сохраняет свое положение, III полоса резко ослабевает и ее трудно выявить на спектре. Спектр поглощения в области полосы Соре при переходе от порфиринов к хлоринам становится более структурированным [84, 107].

1.4.4. Спектры испускания порфиринов и хлоринов

Электронное возбуждение молекул $H_2\Pi$ и $M\Pi$ снимается путем флуоресценции (1 Sens* \rightarrow Sens), которая возникает в результате энергетического перехода из возбужденного состояния в основное без изменения мультиплетности. Дезактивация 1 Sens*-состояния определяется конкуренцией двух процессов: флуоресценции и интеркомбинационной конверсии, причем деградация кванта энергии электронного возбуждения осуществляется через нижнее триплетное состояние с участием двух интеркомбинационных переходов: 1 Sens* \sim * \sim 3Sens* (интерконверсия) и 3 Sens* \sim \sim Sens (фосфорисценция), вероятность внутренней конверсии 1 Sens* \sim \sim \sim Sens пренебрежимо мала. Следовательно, 3 Sens*-состояние является ключевым фактором в безызлучательном размене энергии электронного возбуждения в порфириновых макроциклах [112, 113].

Квантовый выход флуоресценции и фосфоресценции порфиринов в большинстве случаев невелик. Так, у $H_2T\Phi\Pi$ (мезо-тетрафенилпорфирин) он составляет 0.12, а у дигидропорфина (хлорин) — $H_2Д\Gamma\Pi$ — 0.23. Решающее значение для установления путей дезактивации энергии электронного возбуждения имеет квантовый выход интеркомбинационной конверсии. В частности, ранее было установлено, что квантовый выход интерконверсии у порфиринов и МП велик и в сумме с квантовым выходом флуоресценции равен ~ 1 . Например, квантовый выход интерконверсии для H_2 ТФП равен 0,84, а H_2 ДГП — 0,78. Поэтому благодаря всем перечисленным выше свойствам, а именно энергетической близости 1 Sens * и 3 Sens * -состояний (E_T^{MP} = 159-193 кДж·моль $^{-1}$), высокому квантовому выходу интеркомбинационной конверсии, времени жизни (10^{-1} - 10^{-2} с) триплетного 3 Sens * -состояния, порфирины и некоторые МП выступают в качестве высокоэффективных ФС генерации синглетного кислорода [104].

Спектры флуоресценции порфиринов состоят практически из двух полос и зеркально симметричны полосам I и II спектра поглощения. На смещение полос в спектрах испускания, изменение их интенсивности и образованию дополнительных пиков может влиять природа растворителя, в которой находится порфирин, температура, а также примеси, присутствующие в растворе.

Порфирины обладают основными свойствами, следовательно, их спектры люминесценции могут сильно зависеть от величины рН раствора. Уменьшение рН смещает их в сторону коротких волн, при этом интенсивность свечения различных порфиринов по-разному зависит от величины рН. Это обстоятельство может быть использовано для их разделения и идентификации [107]. Кроме того, флуоресценцию порфиринов используют для исследования процессов их ассоциации [114].

Флуоресцентные спектры хлоринов характеризуются традиционными одной или двумя полосами и типичным стоксовым сдвигом I полосы спектра относительно Q_x -полосы ЭСП, величина которого возрастает по мере восстановления пиррольных колец (рис. 13).

1.4.5. Ассоциация в водном растворе

Агрегацией (ассоциацией) называют широко известное явление в химии порфиринов и других красителей, при котором молекулы в концентрированных

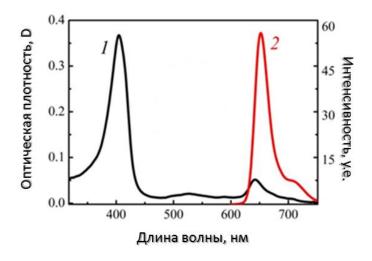


Рисунок 13. Электронный спектр поглощения (1) и спектр флуоресценции (2) хлорина е6 [115].

растворах образуют надмолекулярные ансамбли. Одним из примеров изучения агрегации могут служить работы West и соавторов по исследованию цианиновых красителей [116]. Авторами было обнаружено, что в ходе изменения концентрации красителя его ЭСП меняется и появляются новые полосы поглощения. Мономерная форма цианинового красителя наблюдается в сильно разбавленном растворе, но в то же время при увеличении концентрации интенсивность его полосы поглощения снижается и возникает новая полоса в коротковолновой области спектра, Рост соответствующая поглощению димера. концентрации дальнейшему гипсохромному смещению полосы с формированием полосы Нагрегата (hypsochromic). При очень высоких концентрациях наблюдается рост интенсивности, сужение и смещение в длинноволновую область ЭСП красителя по отношению полосы поглощения мономерной формы. Образовавшаяся полоса обозначается буквой J и названа в честь ее первооткрывателя E.Jelley.

Изменения в ЭСП циановых красителей свойственны и порфиринам, а также их аналогам при их агрегации. Агрегация порфириновых молекул представляет собой копланарную ассоциацию тетрапиррольных макроциклов порфиринов, вызванную нековалентными силами притяжения (силы Ван-дер-Ваальса, π - π -«стэкинг», водородная связь). Одним из характерных взаимодействий в случае макроцикла является π - π -«стэкинг» взаимодействия, которые приводят к ассоциации порфиринов, как в растворе, так и в твердом состоянии.

Образование *H*-агрегатов (face-to-face) характеризуется не только гипсохромным смещением полос поглощения относительно ЭСП мономера, но и значительным уменьшением интенсивности поглощения, а также сильным уширением полос, особенно в длинноволновой области спектра [117]. Появление узкой интенсивной полосы поглощения, которая сдвинута батохромно относительно полосы мономера характеризуется образованием J-агрегатов (edgeto-edge) порфиринов [118]. В работе [119] описываются случаи агрегации различных производных хлорина еб по Н- и Ј-типу в бинарной смеси этанол-вода в зависимости от процентного содержания воды в системе (EtOH-H₂O) и функциональных заместителей в периферических позициях молекулы хлорина еб.

Изменения в спектрах поглощения порфириноподобных соединений при агрегации объясняются моделью электронно-возбужденных состояний агрегированных молекул с точки зрения теории молекулярных экситонов [120].

Согласно этой модели, возбужденное состояние молекулы димера будет расщеплено на два уровня, энергии которых определяются уравнением:

$$E^{``} = E_G + (\varepsilon^+ - \varepsilon) + D + E$$

$$E^{`} = E_G + (\varepsilon^+ - \varepsilon) + D - E$$
(1)

где E' и E'' — энергии возбужденного состояния димера; E_G — энергия основного состояния димера; ε и ε^+ — энергия основного и низшего синглетного возбужденного состояния молекулы; E — экситонное расщепление — энергия взаимодействия, связанная с передачей энергии возбуждения между молекулами, формирующими димер, и определяющая расщепление электронного терма возбужденного состояния; D — экситонный сдвиг — изменение энергии взаимодействия молекул, образующих димер, за счет возбуждения одной из них, определяющее сдвиг энергетического уровня возбужденного состояния относительно основного состояния.

Гипсохромный и батохромный сдвиг в спектрах димеров можно объяснить, рассматривая их энергетические диаграммы (рис. 14). По формуле (1) разница

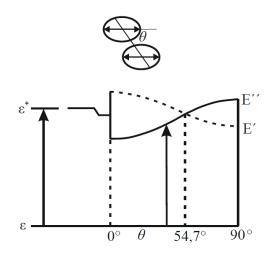


Рисунок 14. Энергетическая диаграмма экситонной полосы молекулярного димера при копланарном расположении диполей в зависимости от угла θ [121].

между энергиями экситона ΔE равна 2E, а сдвиг энергии возбужденного состояния димера относительно энергии возбужденного состояния мономера определяется величиной $D \pm E$.

При образовании димера существует несколько вариантов расположения диполей: 1) когда молекулы порфирина в ассоциате могут быть представлены в виде «сэндвича», в таком случае диполи параллельны друг другу (подобно "face-to-face" расположению порфириновых макроциклов), и 2) «в линию», когда диполи распределены вдоль одной оси (подобно "side-by-side", или "edge-to-edge"), либо "face-to-edge". Перебор всех возможных комбинаций взаимного расположения диполей позволяет определить правила отбора. В зависимости от угла θ — угла между линией, проходящей вдоль диполя, и линией, соединяющей центры диполей — значение экситонного расщепления может менять знак, что приводит к инверсии энергий экситонного состояния. Кроме того, каждой комбинаций расположения диполей соответствует определенное экситонное расщепление, рассчитываемое по формуле (2):

$$\Delta E = 2 \frac{M^2}{r^3} (1 - 3\cos^2 \theta)$$
 (2)

где r — расстояние между центрами молекул; M — переходный дипольный момент мономера. Согласно формуле (2) при угле $54,7^{\circ}$ экситонное расщепление становится равным нулю и сдвиг энергии возбужденного состояния димера определяется только параметром D.

Таким образом, согласно теории молекулярного экситона, если угол θ находится в интервале от 54,7° до 90°, при поглощении происходит переход на уровень с большей, чем у мономера энергией, и в электронном спектре наблюдается гипсохромный сдвиг полосы поглощения димера относительно полосы мономера. При $0^{\circ} < \theta < 54,7^{\circ}$ наблюдается батохромный сдвиг [121].

1.5. Амфифильные полимеры: строение и свойства

Амфифильные полимеры (АП) – вещества полимерной природы, обладающие тропностью (лиофильностью) к гидрофильным и гидрофобным средам одновременно. Данные полимеры имеют способность растворяться или

набухать как в органических растворителях несмешивающихся с водой, так и в водных растворах и смесях [122].

К представленному классу веществ можно отнести многие синтетические и полусинтетические водорастворимые гомо- и сополимеры, например, ПВС, ПВП, ПЭГ, сополимеры этилен- и пропиленгликолей и т.д. Частным случаем проявления амфифильности являются полимеры у которых фрагменты амфифильной молекулы с разной лиофильностью пространственно разделены. Они склонны к самоорганизации (мицелообразванию) в растворе либо к формированию мономолекулярных слоев на границе раздела фаз [123].

Для АП гидрофильная и гидрофобная части могут быть представлены как короткими фрагментами, так и более длинными участками, в последнем случае, как правило, речь идет о блок-сополимерах (рис. 15). Существование полярной и неполярной частей молекулы способствует агрегации частиц с образованием мицелл, билипидных слоев, ленгмюровских пленок и др.

В последние годы выражен прогресс в развитии синтетических путей получения амфифильных блок-сополимеров различного строения, растворимости и функциональности. Архитектура блок-сополимеров весьма разнообразна. Они могут состоять из диблок-, триблок- и мультиблочных, а также привитых сополимеров.

Этиленоксидные последовательности звеньев различной длины является одними из самых распространенных гидрофильных фрагментов. На сегодняшний день вызывают значительный интерес блок-сополимеры состоящие из полиэтелиноскидных гидрофильных фрагментов и других полиалкиленоксидов меньшей полярности, таких как полипропиленоксид и полибутиленоксид,



Рисунок 15. Строение амфифильной молекулы.

известных под коммерчески торговым названием Плюроник и Синпероник [124].

Еще одной рассматриваемой группой АП являются соединения, в состав которых входят гидрофильные фрагменты полимерной цепи и гидрофобные фрагменты — длинноцепные алифатические радикалы. Примером соединения, которое имеет такое строение, может служить, поливинилпирролидон (ПВП) [125].

1.5.1. Поли-N-винилпирролидон

Наиболее известным представителем карбоцепных полимеров, имеющих поли-N-виниламидное строение, является ПВП (рис. 16). ПВП занимает особое место среди большого круга водорастворимых полимеров разнообразного строения из-за широкого применения в различных областях медицины, науки и техники.

ПВП представляет собой объемистый, нетоксичный, неионогенный полимер. Молекула ПВП содержит гидрофильный пирролидоновый фрагмент и гидрофобную алкильную группу. Благодаря высокой полярности амидной группы в пирролидоновом кольце ПВП хорошо растворим в воде, наличие неполярных метиленовых и метиновых групп в кольце и вдоль его основной цепи позволяет ПВП растворяться во многих органических растворителях [126]. Гидрофобные фрагменты, минимизируя свои контакты с водой, могут «сворачиваться» в клубок, образованный гидрофильным блоком.

Впервые полимерные водорастворимые продукты различной ММ из винилпирролидона были получены Фикентчером и Херле в 1939 г. Они разработали метод полимеризации этого полимера в воде в присутствии аммиака и водорода.

Этот метод был положен в основу технологического процесса получения ПВП для медицины. Высокая биологическая активность ПВП, отсутствие

$$\begin{bmatrix} -CH_2 - CH - \\ | \\ N - O \end{bmatrix}_n$$

Рисунок 16. Структурная формула поли-N-винилпирролидона.

токсичности, устойчивость к тепловой обработке в воде и ряд других свойств способствуют широкому его применению в медицинской практике [127].

Интересным свойством ПВП является его высокая адсорбирующая способность и склонность к комплексообразованию, что позволяет ему нести большое практическое значение. ПВП связывает многие вещества, в т.ч. лекарственные препараты, токсины, красители.

1.5.2. Плюроники

Тройные блок-сополимеры этиленоксида (ЭО) и пропиленоксида (ПО) – плюроники представляют собой симметричные полимеры общей формулы:

Полиэтиленоксидные (ПЭО) блоки являются гидрофильными, тогда как полипропиленоксидные (ППО) — гидрофобными (рис. 17). Блок-сополимеры с разным количеством ПЭО и ППО звеньев характеризуются разным гидрофильно-липофильным балансом (ГЛБ). Благодаря своему амфифильному характеру эти сополимеры проявляют поверхностно-активные свойства, включая способность взаимодействовать с гидрофобными поверхностями и биологическими мембранами.

Коммерческий производитель плюроников BASF Corporation ввел специальную номенклатуру для этих сополимеров, состоящую из буквы и цифр.

Буквы обозначают физическое состояние каждого сополимера (жидкое (L), пастообразное (P) и твердое (F). Первая цифра (две цифры в трехзначном

$$HO(CH_2CH_2O)_{m/2}(CHCH_2O)_n (CH_2CH_2O)_{m/2}H$$
 CH_3

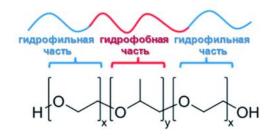


Рисунок 17. Структурная формула плюроника.

обозначении) умноженная на 300, указывает примерную молекулярную массу гидрофобной части ППО. Последняя цифра при умножении на 10 указывает приблизительное процентное содержание (по массе) этиленоксида в молекуле плюроника [128–130]. На рисунке 18 представлена так называемая решетка (сетка) плюроников ("Pluronic grid"), созданная компанией BASF, которая позволяет подобрать нужный плюроник для разного рода задач.

В диапазоне доли ЭО блока от 0% до 25% молекулярный вес ПО блока не влияет на агрегатное состояние плюроника, который остается жидким. Однако при дальнейшем повышение доли ЭО наблюдается возникновение зоны перехода плюроника в пастообразное состояние. При 30% ЭО для этого молекулярная масса ПО должна быть выше 2750 г/моль. При дальнейшем увеличении доли ЭО молекулярная масса ПО уменьшается до достижения пастообразного состояния плюроника. От 70% ЭО плюроник переходит в твердое состоянии, вне зависимости от содержания ПО.

Аргегация плюроников в водной среде

Определяющим свойством плюроников является способность единичных

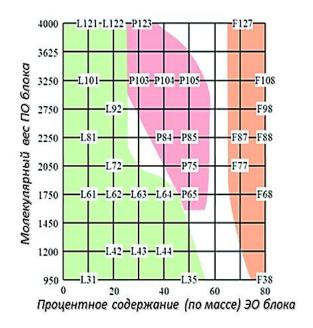
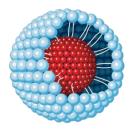


Рисунок 18. «Pluronic grid» (цветовой код агрегатного состояния плюроников в условиях окружающей среды: зеленый — жидкое, розовый — пастообразное, оранжевый — твердое).

молекул (юнимеров) самособираться в мицеллы. Юнимеры формируются в сильно разбавленных растворах и/или при низкой температуре. При повышении концентрации плюроника или температуры в растворе образуются мицеллярные агрегаты, находящиеся в равновесии с единичными молекулами. Внутреннее ядро мицелл состоит из гидрофобного ППО, внешняя оболочка из гидрофильного ПЭО (рис. 19).

В зависимости от длины блоков ЭО и ПО, их соотношения, концентрации полимера, температуры и др. параметры мицеллы могут принимать разные морфологии формирующихся структур (рис. 20). В частности, авторы работы [131] показали, что в зависимости от соотношения ПЭО/ППО блоков агрегаты плюроника могут приобретать различные формы. Так, для блок-сополимеров, содержащих 40 % (масс.) ПЭО или более, при 25°С образуются сферические агрегаты. При содержании ПЭО блоков ~ 30 % (масс.) возможно образование



- -этиленоксидные фрагменты (ЭО)
- -пропиленоксидные фрагменты (ПО)

Рисунок 19. Сферическая мицелла плюроника

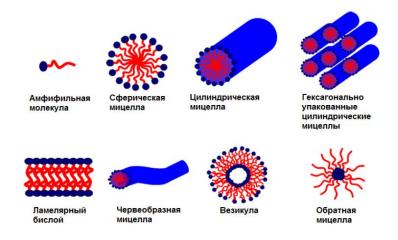


Рисунок 20. Схематическое изображение морфологии агрегатов плюроника.

ассоциатов цилиндрической формы. Блок-сополимеры, содержащие до 20 % (масс.) ПЭО образуют ламели. В неводной среде образуются обратные мицеллы.

Процесс мицелообразования конкретного плюроника в водном растворе, прежде всего, определяется концентрацией полимера и температурой. Начальное образование мицелл происходит при концентрации, называемой критической концентрацией мицелообразования (ККМ). Для определения ККМ используют методы, основанные на изменении физико-химических свойств растворов ПАВ при переходе от молекулярного раствора к мицеллярному (измерение поверхностного натяжения, определение мутности растворов ПАВ, эквивалентной электропроводности, показателя преломления и осмотического давления).

Значение ККМ плюроников варьируется в широком интервале концентраций от 10^{-7} M до 10^{-4} M и зависит от длины блоков ППО и ПЭО, pH раствора, отношения И гидрофобными между гидрофильными свойствами ПАВ, присутствия электролитов в растворе. Увеличение длины гидрофобного блока ППО повышает гидрофобность блок-сополимера плюроника способствует суммарную уменьшению значения ККМ. При этом влияние ПЭО гидрофильного блока на параметры мицелообразования оказывается не такими выраженным. В частности, с увеличением длины блока ПЭО и фиксированной величине блока ППО значение ККМ возрастает незначительно. Следовательно, на процесс мицеллообразования плюроника в водном растворе в большей степени влияет именно гидрофобный блок ППО. При равном соотношении ПО/ЭО с увеличением молекулярной массы плюроника величина ККМ уменьшается, иными словами блок-сополимеры плюроника с высокой молекулярной массой в большей степени подвержены к образованию мицелл в водных растворах [132].

Формирование мицелл в водном растворе сильно зависит и от температуры. Мицеллы не образуются до температуры, называемой критической температурой мицелообразования (КТМ). Также, как и в случае с ККМ, с уменьшением гидрофобности блок-сополимера плюроника при постоянной длине гидрофобного ППО блока КТМ увеличивается. Так, при низких температурах в водных растворах молекулы плюроника F127 окружает гидратный слой. Однако при повышении

температуры гидрофильные цепи сополимера десольватируются в результате разрыва водородных связей, установившихся между растворителем и этими цепями. Это явление способствует гидрофобным взаимодействиям между ППО блоками и приводит к образованию геля, который имеет мицеллярную природу. Жидкая мицеллярная фаза устойчива при низких температурах, но при повышении температуры приобретает кубическую форму. При более высоких температурах формируется фаза гексагонально упакованных цилиндров (рис. 20). Гелеобразование плюроника F127, как полагают, происходит в результате дегидратации полимера, что приводит к увеличению трения и запутывания цепей, образуя гидрофобную ассоциацию из ППО блока. Причина этого заключается в том, что сегменты ППО блока содержат группы полярного и неполярного характера. При понижении температуры преобладает полярная конформация, в результате чего плюроник полностью растворяется в воде. При повышении температуры статистический вес неполярной конформации растет, благодаря чему усиливается взаимодействие между сополимерами, а связь сополимер-вода ослабевает [133, 134].

Гидрофобное ПО ядро может служить микросредой для включения в мицеллы различных неполярных соединений, а гидрофильная оболочка, в свою очередь, играет роль своего рода стабилизирующего «интерфейса» между гидрофобным ядром и внешней водной средой. Гидрофобные соединения, находящиеся в ПО ядре способны коллоидно растворяться, или солюбилизироваться [135]. В результате такой солюбилизации образуются почти прозрачные термодинамически равновесные растворы.

Плюроники являются малотоксичными соединениями, при этом их токсичность коррелирует с их гидрофобностью. С уменьшением содержания гидрофильных ПЭО блоков в молекуле полимера (т.е. с увеличением гидрофобности) его токсическое воздействие на организм несколько повышается. Однако даже самые гидрофобные плюроники являются весьма низкотоксичными соединениями по сравнению с обычными низкомолекулярными ПАВ. Именно низкая токсичность и низкое значение ККМ делают плюроники перспективными

соединениями для использования в фармакологии и медицине. Например, плюроник F127 используется в различных системах доставки лекарств [136] и для местного применения [137]. Применение геля плюроника F127 на ранней стадии ожоговых поражений значительно ускоряет процесс заживления ран и стимулирует рост эпителиальной ткани [137, 138]. Благодаря своим свойствам плюроник F127 был включен в состав кремов для лечения ожогов [139]. А также этот плюроник используется для доставки цитотоксических антибиотиков в раковые клетки [133].

1.5.3. Порфирины и амфифильные полимеры

В последние годы при лечении методом ФДТ патологических заболеваний кожи (опухолей, трофических язв) используют ФС, включенные в структуру полимеров биомолекул, или что уменьшает токсичность повышает фотостабильность ФС за счет преимущественного накопления в пораженных тканях. При этом полимерный носитель служит инертной матрицей для фиксации ФС и не оказывает дополнительного воздействия на патологические ткани. В литературе имеется ряд работ [80, 111, 140–144], в которых было обнаружено свойство ПФС формировать В водных растворах супрамолекулярные наноразмерные комплексы с определенными фрагментами АП, что способствует разагрегации исходно ассоциированных в водных растворах порфириновых В работах [140, 141. 144] было соединений. показано, такое комплексообразование ПФС с АП способно не только приводить к разагрегации порфириновых ассоциатов, но и повышать активность ПФС в процессе генерации ${}^{1}\mathrm{O}_{2}$. Указанный эффект определяет значительное повышение результативности ФДТ поверхностных опухолей и инфицированных ран у животных, гнойных ран и осложненных ожогов у пациентов. При этом такой же лечебный эффект достигается при понижении на порядок и более молярной концентрации ПФС в разработанной лекарственной форме (то есть при существенном снижении фототоксичности) [145].

Новые возможности повышения эффективности АФДТ открывает совмещение метода с воздействием некоторых биологически активных молекул —

протеолитических ферментов, полисахаридов, антиоксидантов, оксида азота. В частности, повысить эффективность АФДТ возможно при одновременном использовании в качестве ранозаживляющего средства анионного полисахарида – альгината натрия (АН).

К числу биологически активных соединений также можно отнести динитрозильный комплекс железа с глутатионом (ДНКЖ-ГЛ), который способен выступать в биосистемах в качестве доноров монооксида азота (NO), стимулирующего репарационно-регенеративные (восстановительные) процессы в живых организмах.

1.6. Полисахариды. Альгинат натрия.

Полисахариды – природные макромолекулярные полимеры, в состав которых входит более десяти моносахаридных остатков, соединенных Молекулы полисахаридов ГЛИКОЗИДНЫМИ связями. имеют линейное разветвленное строение, а молекулярная масса может варьироваться от нескольких Природные тысяч ДО нескольких миллионов. полисахариды обладают бактерицидностью, низкой токсичностью, биоразлагаемостью, способностью к гелеобразованию при использовании различных сшивающих агентов [6] и находят применение в фармакологической и пищевой промышленности.

На основе полисахаридов – хитозана, альгината натрия [146] в последние годы широко применяют раневые покрытия, содержащие биоактивные добавки синтетических и природных веществ, что повышает ранозаживляющие свойства таких покрытий.

Альгинат натрия

Альгинат натрия — неразветвленный бинарный сополимер, состоящий из остатков β -D-маннуроновой и α -L-гулуроновой кислот, связанных $1 \rightarrow 4$ глюкозидными связями (рис. 21) [147, 148]. АН получают путем щелочной экстракции бурых водорослей. Он обладает огромным спектром потребительских свойств и в настоящее время находит широкое применение в самых разных областях. Применение альгинатов основано на их способности к

структурированию жидких растворов и стабилизации различных эмульсий [149].

Физико-химические характеристики альгината натрия

Физико-химические свойства АН определяются соотношением сегментов Мблока (маннуровой кислоты) и G-блока (гулуроновой кислоты). Мономерные звенья в полисахаридной цепи могут быть объединены в гомополимерные блоки (MM и GG) и блоки с чередующимися последовательностями (MG), вследствие этого могут приобретать различную форму [150, 151]. Гидроксильные группы в сегментах М-блока находятся в экваториальном положении, что обуславливает объединение звеньев В цепь «ленточного» типа с расстоянием повторяющимися звеньями, равным 10,35 Å. ОН-группы в сегментах G-блока расположены аксиально. При объединении звеньев формируется ленточная структура складчатого типа, в которой расстояние между повторяющимися звеньями 8,7 Å. β-D-маннуроновые остатки придают гибкую форму молекуле, а

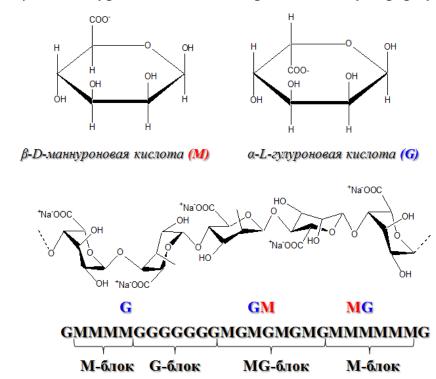


Рисунок 21. Структура альгината натрия. Молекулы альгината представляют собой линейные блок-сополимеры: β-D-маннуроновой (М) и α-L-гулуроновой кислот (G) с различным составом и последовательностью расположения блоков М и G.

остатки α -L-гулуроновой кислоты образуют «жесткие» молекулярные цепи [152, 153].

Вязкость

Альгинат натрия — полиэлектролит и в водном растворе его молекулы склонны к самоассоциации, вследствие чего растворы альгинатов характеризуются повышенной вязкостью [154–156]. Вязкость АН зависит от молекулярной массы полимера, концентрации в растворе, температуры и рН среды.

Молекулярная масса

Одним из ключевых факторов, влияющих на вязкость альгината в водном растворе, является его молекулярная масса. Молекулярная зависит в основном от вида водорослей, из которой получают полисахариды и колеблется в диапазоне \sim 32-600 кДа. Способность к гелеобразованию полисахарида связана с величиной его молекулярной массы, чем она выше, тем прочнее образующийся альгинатный гель. При этом прочность геля зависит от соотношения и содержания G- и М-блоков альгината и может повышаться в ряду G > MG > M, а гибкость -G < M < MG. В связи, с чем альгинаты содержащие большее количество остатков гулуроновой кислоты характеризуются высокой прочностью, напротив альгинаты богатые на остатки маннуроновой кислоты или смешанных блоков характеризуются высокой гибкостью полимерных цепей [157].

рΗ

Вязкость раствора альгината натрия не меняется при значениях рН (5-10). При рН ниже 5 свободные ионы –СОО- в полисахаридной цепочке начинают протонироваться, электростатическое отталкивание между цепями ослабевает, что приводит к сближению молекул и образованию водородных связей, повышая вязкость раствора. При дальнейшем снижении рН образуется гель, обычно при рН 3-4; однако, если альгинат содержит остаточный кальций, такое гелеобразование может происходить при pH ~ 5. Если pH быстро снизить с 6 до 2, образуется желеобразный осадок альгиновой кислоты. При рН выше 10 молекулы альгината стабильность натрия теряют свою В результате деполимеризации, сопровождающейся потерей вязкости раствора [158].

Температура

В альгинатных растворах, подобно большинству растворов других полисахаридов, вязкость уменьшается с увеличением температуры. В работе Большаковой Л. С. и соавторов была исследована вязкость водного раствора альгината натрия при изменении температуры. В частности, было показано, что в температурном интервале от 20° С до 80° С вязкость АН не меняется и составляет ~ 9,5 Па*с. Однако при повышении температуры до 100° С вязкость снижается и достигает значений ~ 3,4 Па*с [159]. В работе [160] также было показано, что в диапазоне температур от 75° С до 95° С вызкостные характеристики альгината не меняются. При температуре выше 100° С происходит деструкция альгинатной молекулы и ослабевание Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, агрегативная устойчивость геля ослабевает, что приводит к соединению коллоидных частиц в агрегаты и седиментации (образование коагулята).

Концентрация

Вязкость альгинатов сильно зависит от концентрации полисахарида в растворе. Так, в работе [161] методом лазерной корреляционной спектроскопии установлено, что альгинат натрия в водном растворе образует частицы с размерами гидродинамических радиусов, укладывающихся в интервалы: R_1 =2-4 нм; R_2 =20-60 нм; R_3 =130-370 нм. Первая группа частиц (R_1), как предполагают авторы данной работы, вероятно, связана с образованием отдельных молекул альгината натрия. При росте концентрации количество частиц R_2 и R_3 групп увеличивается, и, как считают авторы, образование этих частицы связано с ассоциацией частиц R_1 группы, что обусловливает высокую вязкость раствора.

Для предотвращения повышения вязкости растворов на основе альгината натрия, используют перемешивание на мешалках с большими сдвиговыми усилиями или добавление солей одновалентных катионов (NaCl, KCl) к водному раствору АН.

Понижение вязкости растворов АН при перемешивании на мешалке с высоким усилием сдвига достигается за счет предотвращения слипания микрочастиц полимера, которые становятся липкими, как только их поверхность

увлажняется. Кроме того, такое понижение вязкости при сдвиге связано с наличием длинных полисахаридных цепей в растворах АН и жестко связанных гидратированных полисахаридных молекул. При невысоких скоростях сдвига (при долгом хранении раствора или перемешивании на магнитной мешалке на низких скоростях) молекулы АН ориентированы более или менее случайно. В то же время, при увеличении скорости перемешивания молекулы альгината ориентированы параллельно одна другой [162].

Добавление солей к водному раствору АН приводит, прежде всего, к экранированию зарядов в полимерных цепях ионного полисахарида, что препятствует электростатическим взаимодействиям макромолекул АН. Работы ряда исследователей – Olav Smidsrod и коллег направлены на исследовании размера частиц АН методом динамического рассеяния света (ДРС) в солевых растворах (NaCl, KCl). Было установлено, что диаметр частиц АН в солевых растворах существенно меньше, чем в водных [151, 163].

Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, хорошими связующими способностями АН используется в профилактической и клинической медицине, в пищевой промышленности и биотехнологии.

В частности, известны примеры использования наночастиц, на основе АН, в ФДТ. Подобные частицы авторами применялись в качестве носителей катионного ФС – метиленового синего (МС) [164, 165]. Было показано, что инкапсулирование МС в наночастицах АН позволяет, не только обеспечивать эффективную доставку МС к опухолевым клеткам, но и пролонгировать его эффект [166–170].

Альгинат натрия как ранозаживляющий агент

В настоящее время АН хорошо зарекомендовал себя как эффективный ранозаживляющий агент при лечении гнойных ран. По мнению многих исследователей, АН представляет собой оптимальную среду для размножения и миграции раневых клеток, чем и объясняются ранозаживляющие свойства альгинатных покрытий. Альгинатные раневые покрытия обладают высокими абсорбирующими (способность связывать раневой экссудат) и дренирующими

(способность отводить раневой экссудат с поверхности раны, например, в вышележащую повязку) свойствами [168, 171–174]. Альгинатные повязки могут поглощать раневую жидкость в сухом виде и образовывать гели, которые могут обеспечить сухую рану физиологически влажной средой и свести к минимуму бактериальные инфекции, тем самым способствуя быстрой регенерации и образованию грануляционной ткани [175, 176].

Также было продемонстрировано снижение мембранной функции бактериальных клеток за счет образования вязкого слоя альгината с внешней стороны клеточной мембраны, препятствующего транспорту питательных веществ в патогенную клетку [6]. Противовоспалительные свойства альгината натрия, как было показано в работе [5], связаны с подавлением выработки цитокинов (IL-1β и IL-6), которые в свою очередь стимулируют воспалительные реакции в клетках, препятствуя нормальному заживлению ран.

К достоинствам альгината натрия относится нетоксичность и, следовательно, безопасность для использования на раневых поверхностях и полостях, а также достаточная легкость биологического разложения. Это позволяет легко удалить его простым орошением раневой поверхности физиологическим раствором. Этот процесс не разрушает грануляционную ткань, что делает перевязку ран относительно безболезненной [177].

1.7. Динитрозильный комплекс железа

Динитрозильные комплексы железа были впервые обнаружены в тканях животных и клетках дрожжей в 1960-х г. одновременно группами исследователей СССР (Ваниным А.Ф. и Налбадяном Р.М.), США и Великобритании. Анизотропный сигнал ЭПР с центром при $g_{cp} = 2,03$ является характерной особенностью ДНКЖ. Идентификация этого сигнала в дрожжевых клетках послужила основой открытия ДНКЖ в живых системах, являющегося новым типом эндогенных парамагнитных центров в биосистемах [8, 178, 179]. Оказалось, что ответственные за сигнал 2,03 системы в организме образуются при реакции нитрозильных лигандов (NO), которые, в свою очередь, возникают путем

восстановления нитритов при участии метаболических систем, с железосерными белками, сформированными связыванием белка с двух- или четырехкластерным железом по тиоловой группе [180–182]. В соответствии с СТС сигнала 2,03 в состав ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, дающих этот сигнал, входят один атом железа, два тиолсодержащих лиганда и два нитрозильных лиганда, т.е. комплексы представляют собой моноядерные комплексы железа (М-ДНКЖ), с общей формулой [(RS)₂Fe(NO)₂]. ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами может существовать и в биядерной (Б-ДНКЖ)-диамагнитной форме (рис. 22). Биядерная форма ЭПР-неактивна и описывается общей формулой [(RS)₂Fe₂(NO)₄] [183]. В биядерной форме ДНКЖ две группы Fe(NO)₂ связаны между собой двумя мостиковыми атомами серы (RS-) группы. Обе формы ДНКЖ в биосистемах находятся в химическом равновесии из-за присутствия ионизированной серы в тиолах (nRS-) (схема 3).

Cxema 3
$$[(S)_2 Fe_2(NO)_4] \stackrel{\leftarrow}{\rightarrow} 2[(RS)_2 Fe(NO)_2]$$

Согласно представленной схеме М-ДНКЖ присутствует при избытке тиолов в растворе, тогда как Б-ДНКЖ – при их недостатке. При этом, следует отметить, что для того, чтобы Б-ДНКЖ полностью переходила в М-ДНКЖ одного избытка тиолов недостаточно. Необходимо, чтобы свободные тиолы (не входящие в ДНКЖ) были ионизованы по тиоловой сере, т.е. Б-ДНКЖ полностью преходит в М-ДНКЖ при наличии в растворе свободных тиолов и только при щелочных значениях рН. При нейтральных значениях рН даже при избытке свободных тиолов в растворе подавляющая часть ДНКЖ остается в биядерной форме. Как показали исследования, проведенные Ваниным А.Ф. и коллегами, при десятикратном избытке глутатиона в растворе ДНКЖ с глутатионом, моноядерной формы представлено не более 10% комплексов [8, 183–185].

Электронные спектры поглощения М- и Б-ДНКЖ представлены на рисунке 23. Моноядерная форма ДНКЖ имеет интенсивный пик поглощения при 390 нм, имеющего коэффициент экстинкции (ε =4700 M⁻¹c⁻¹), также имеются слабые полосы на 610 нм (ε =300 M⁻¹c⁻¹) и 770 нм (ε =310 M⁻¹c⁻¹). Б-ДНКЖ содержит две интенсивные полосы поглощения на 310 нм (ε =9200 M⁻¹c⁻¹) и на 360 нм (ε =7400 М⁻¹с⁻¹).

 1 с $^{-1}$), а также слабую полосу на 768 нм (ϵ =100 M $^{-1}$ с $^{-1}$) [8].

R—S NO HOOC

R—S NO

$$R = C C CH$$

NO

 $R = C CH$

NO

 $R = C CH$
 $R = CH$
 $R =$

Рисунок 22.Структурная формула М-ДНКЖ (а) и Б-ДНКЖ (b) [8].

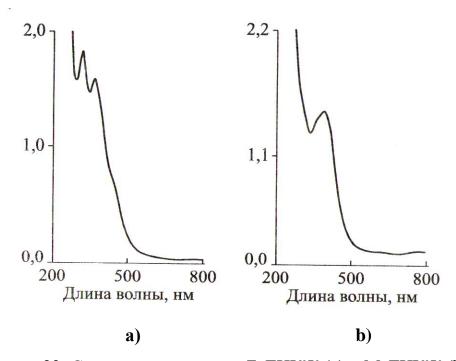


Рисунок 23. Спектры поглощения Б-ДНКЖ (а) и М-ДНКЖ (b) [8].

Биологическая активность ДНКЖ

Биологическая активность таких комплексов, как было показано профессором А.Ф. Ваниным, определяется способностью этих комплексов выступать в биологических системах в качестве доноров монооксида азота NO и ионов нитрозония NO⁺. Эти комплексы могут оказывать на системы как

репарационные, регуляторные так И цитотоксические воздействия. При воздействиях, реализуемых отсутствие репарационных В освещения, выделяющиеся NO и NO⁺ передаются на мишени их биологического действия – соответственно, тиолсодержащие белки, инициируя гем-И активные репарационные процессы. При фотовозбуждении ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами распадающиеся железо-динитрозильные фрагменты этих комплексов выделяют значительное количество NO, окисляющегося синглетным кислородом до цитотоксического пероксинитрита (NOO⁻) [8].

Таким образом, исходя из вышеприведенных литературных данных, можно полагать, что на сегодняшний день антибактериальная фотодинамическая терапия, направленная на лечение локальных инфекций, вызывает интерес у многих исследователей, поскольку данный метод позволяет выйти на новый уровень борьбы с антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов. Однако метод АФДТ имеет ряд побочных эффектов, в частности, связанных с геморрагическими реакциями, происходящими в ране в присутствии ΦC при фотовозбуждении и свойственных как самому методу, так и ΦC . В то же время использование ΦC в комплексе с $A\Pi$ при одновременном воздействии биологически активных молекул, таких как АН и ДНКЖ позволит в значительной мере ослабить, а в отдельных случаях, возможно, и исключить такие реакции, тем самым повысив эффективность метода. Несмотря на важность таких систем для повышения эффективности антибактериальной фотодинамической терапии, в практически отсутствуют соответствующие исследования. литературе Установлению механизмов процессов фотогенерации синглетного кислорода, происходящих с участием полимерных фотосенсибилизирующих систем на основе амфифильных полимеров (плюроник F127, ПВП) и полисахарида (альгинат натрия) и влиянию ДНКЖ на эффективность фотогенерации ${}^{1}O_{2}$ посвящена данная работа.

ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ.

2.1. Объекты исследования и приготовление образцов.

2.1.1. Исходные вещества.

В качестве основных объектов исследования были выбраны порфирины разной природы (водорастворимые и гидрофобный):

- хлорин е6, (Xe6, Frontier Scientific, Великобритания). Водорастворимость хлорина е6 достигалась использованием его в виде тринатриевой соли (**Xe6Na**). Для получения Xe6Na порошок хлорина е6 растворяли в водном растворе гидрокарбоната натрия (молярное соотношение NaHCO₃:Xe6=3:1);
- N-метил-ди-D-глюкаминовая соль хлорина е6 Фотодитазин (ФД), (Вета-Гранд, Россия).
- фторированный тетрафенилпорфирин 5,10,15,20-пентафторфенилпорфирин (**ТФПF20**), (Sigma-Aldrich, США).

Структуры ФС представлены на рисунке 24.

Полимеры:

- амфифильные полимеры поли-N-винилпирролидон ($\Pi B \Pi$) (M_w 40–10³M, Dr. Theodor Schuchardt, Германия) и тройной блоксополимер этилен- и пропиленоксида, плюроник **F127** (F127, M_w 12,6·10⁻³M, BASF).
- полисахарид альгинат натрия (**AH**) (вязкость 5.0-40.0 сП, Sigma-Aldrich, США). Структуры полимеров представлены на рисунке 25.

Соединение, продуцирующее монооксид азота:

динитрозильный комплекс железа с природным тиолсодержащим лигандом – глутатионом (ДНКЖ-ГЛ) (рис. 26). ДНКЖ синтезирован в ФИЦ ХФ РАН Ваниным А.Ф по методике, представленной в работе [9].

Для исследований фотокаталитических свойств $\Pi\Phi C$ в водной среде в качестве субстрата использовали триптофан (**T** Φ) (Sigma-Aldrich, CШA).

Рисунок 24.Структурные формулы: Xe6Na (a), ФД (b), ТФПF20 (c).

a)
$$-CH_{2}-CH-$$

$$N=0$$

$$n$$

$$C)$$

$$N=0$$

$$N=$$

Рисунок 25. Структурные формулы: ПВП (a), плюроника F127 (b), АН (c).

2.1.2. Получение фотосенсибилизирующих полимерных систем на основе водорастворимых ΦC

Фотосенсибилизирующие двойные системы (ФС – ПВП и ФС – АН) с водорастворимыми ФС (ФД, ХебNа) готовили путем добавления к водному раствору ПВП, либо АН раствор ФС. Для получения тройной системы (ФС – ПВП – АН) раствор ФС сначала смешивали с ПВП, затем к полученному раствору добавляли водный раствор АН. Системы, содержащие ДНКЖ, готовили в том же порядке, как описано выше, но водный раствор комплекса железа добавляли в последнюю очередь. Следует отметить, что фотокаталитическая активность полученных систем не зависела от порядка смешения реагентов. Концентрация АН варьировалась от $1.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л до $3.0 \cdot 10^{-3}$ моль/л (0,002 – 0,06 % мас.) (в расчете на звено), при этом концентрация ПВП изменялась от $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л до $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л (0,04 – 0,8% мас.). Концентрация хлоринового ФС составляла $2.5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Концентрация ДНКЖ менялась от $5.0 \cdot 10^{-6}$ моль/л до $5.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

2.1.3. Солюбилизация гидрофобного ТФПF20

Для солюбилизации растворимого в органических растворителях ТФПF20 получали совместный раствор ФС ($2,5\cdot10^{-6}$ моль/л) и плюроника F127 ($1,0\cdot10^{-5}$ – $5,0\cdot10^{-4}$ моль/л) в хлороформе. Сухой остаток (аддукт), полученный после удаления растворителя (в роторном испарителе), растворяли в дистиллированной воде.

$$R = \begin{array}{c} IIOOC \\ CH_2 \\ HN \\ C = O \\ R = \begin{array}{c} C \\ CH_2 \\ II_2 \\ II_2C \\ II_2$$

Рисунок 26.Структурная формула ДНКЖ.

2.1.4. Получение фотосенсибилизирующих полимерных систем на основе ТФПF20

К растворенному в воде сухому остатку добавляли водные растворы АН, либо ДНКЖ. Для получения четырехкомпонентной системы ТФПF20 – F127 –АН – ДНКЖ к аддукту (ТФПF20 – F127) добавляли водный раствор АН, далее водный раствор ДНКЖ. Концентрация ДНКЖ составляла $1.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, концентрация АН варьировалась от $1.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л до $6.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

2.2. Методы исследования порфиринсодержащих полимерных систем.

2.2.1. Исследование каталитических свойств фотосенсибилизирующих систем в водных растворах

Как уже упоминалось, для исследования фотокаталитической активности ПФС использовали реакцию фотоокисления триптофана. Фотоокисление триптофана осуществлялось за счет растворенного в воде молекулярного кислорода в кварцевой кювете (объем реакционной смеси – 3 см 3 , толщина l=1см) при комнатной температуре и перемешивании.

Полученные системы в п.2.1.2 и 2.1.4 перемешивали (магнитная мешалка "Heidolph", скорость, 650 об/мин) в течение 10 минут, затем включали освещение реакционной смеси светодиодным аппаратом АФС (производства ООО «Полироник») с длиной волны λ =400 нм при мощности 210 мВт и начинали отсчет времени реакции, сохраняя режим перемешивания. Исходная концентрация триптофана составляла $C_{0i} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. За кинетикой процесса следили по изменению концентрации триптофана, которую определяли по уменьшению интенсивности фотолюминесценции триптофана ($\lambda_{ex} = 275$ нм, $\lambda_{em} = 355$ нм), окисляющегося до эндоперекиси триптофана (рис. 27) [11].

COOH COOH NH₂
$$^{1}O_{2}$$
 0 NH₂ 0 NH₂ NH₂ NH₂

Рисунок 27. Окисление триптофана синглетным кислородом.

2.2.2. Расчет эффективной константы скорости реакции для порфиринсодержащих полимерных систем на основе Xe6Na (без ДНКЖ)

Для сопоставительной оценки активности порфиринсодержащих систем в реакции фотоокисления триптофана вводили эффективную удельную константу скорости $k_{\it eff}$, определяемую по начальному линейному участку зависимости интенсивности I_i от времени:

$$k_{eff} = \frac{\Delta I}{I_0 \Delta t C^{PPS}} \tag{3}$$

где I_0 и ΔI — соответственно, исходная интенсивность люминесценции триптофана (в приборных единицах, а.и.) и изменение этой интенсивности при фотоокислении за время Δt , C^{PPS} — концентрация фотосенсибилизатора. Погрешность определения k_{eff} составляла 10%. Погрешность определялась на основе кинетических данных, при которых каждое значение $I_i(t)$ устанавливалась как среднее значение для 5-8 измерений.

2.2.3. Расчет эффективной константы скорости реакции для порфиринсодержащих полимерных систем на основе порфиринов разной природы (ФД и ТФПF20) в присутствии ДНКЖ

Фотоокисление триптофана в присутствии ДНКЖ проводилось в тех же условиях, как представлено в п.2.2.1.

Определение наблюдаемой константы k_{obs} скорости фотоокисления триптофана на основе проводимых экспериментов осложнялось тем, что при включении светодиода в момент времени t=0 одновременно с уменьшением концентрации $C^{TP}(t)$ триптофана в реакционной среде фиксировалось уменьшение концентраций $C^{TOMF\ 20,\Phi\mathcal{I}}(t)$ и $C^{\mathcal{I}HK\mathcal{K}}(t)$ – ТФПF20, ФД и ДНКЖ, соответственно. Здесь следует указать, что процесс фотоиндуцированного разложения $\mathcal{I}HK\mathcal{K}$ с введением в реакционную среду радикалов NO, идущий одновременно с фотосенсибилизированным окислением триптофана, может инициировать как фотодеструкцию молекул ФС, так и обусловливать скорость целевой реакции —

прямого фотоокисления триптофана. Поэтому уравнение для кинетики фотоокисления триптофана было представлено следующим образом:

$$\frac{dC^{TP}(t)}{dt} = -k^{TP} \cdot C^{TP}(t)c^{\Phi C}(t)c^{\mathcal{A}HK\mathcal{K}}(t), \qquad (4)$$

Здесь k^{TP} — константа скорости фотосенсибилизированного окисления триптофана; $c^{\Phi C}(t) \equiv C^{\Phi C}(t)/C_0^{\Phi C}$ и $c^{ZHKSK}(t) \equiv C^{ZHKSK}(t)/C_0^{ZHKSK}$ — относительные концентрации ПФС и ДНКЖ, уменьшающиеся вследствие процессов фотодеградации, так что, при $C^{TP}(0) \equiv C_0^{TP}$ получали:

$$C^{TP}(t) = C_0^{TP} \exp \left[-k^{TP} \int_0^t c^{\Phi C}(\tau) c^{AHKK}(\tau) d\tau \right]. \tag{5}$$

Далее определяли наблюдаемую константу k_{obs}^{TP} скорости фотоокисления триптофана по уменьшению флуоресценции триптофана, анализируя линейный участок $[0, \Delta t]$ соответствующей кинетической зависимости, в течение которого окисляется примерно 20-30% количества триптофана в исходном растворе. При этом, как это следует из выражения (5), необходимо одновременно исследовать кинетику фотодеструкции ФС и ДНКЖ, то есть фиксировать соответствующие зависимости $e^{ac}(t)$ и $e^{JHKK}(t)$. Ниже будет показано, что в исследуемом временном интервале $[0, \Delta t]$ фотоокисления триптофана и при выбранных концентрациях всех компонентов, участвующих в исследуемом процессе фотоокисления триптофана, интегральное выражение в показателе экспоненты (5) с достаточной относительной точностью ($\sim 5\%$) может быть представлено в виде линейной зависимости от времени:

$$\chi_{TP}(\Delta t) \equiv \int_{0}^{\Delta t} c^{\phi C}(\tau) c^{AHKK}(\tau) d\tau \approx \xi_{TP} \cdot \Delta t, \qquad (6)$$

где ξ_{TP} — интерполяционный кинетический параметр, и кинетика процесса окисления TP на указанном интервале имеет простой вид:

$$\Delta C^{TP} \equiv C_0^{TP} - C^{TP} (\Delta t) = C_0^{TP} \cdot k^{TP} \xi_{TP} \Delta t . \tag{7}$$

константу k_{obs}^{TP} скорости фотоокисления триптофана представляли следующим уравнением:

$$k_{obs}^{TP} = k^{TP} \xi_{TP} = \frac{\Delta I}{I_0 \Delta t},\tag{8}$$

где I_0 и ΔI — соответственно, исходная интенсивность люминесценции триптофана (в приборных единицах, а.u.) и изменение этой интенсивности при фотоокислении за время Δt . Истинная константа скорости окисления триптофана в каждых конкретных условиях определялась согласно:

$$k^{TP} = k_{obs}^{TP} / \xi_{TP}, \tag{9}$$

имея в виду, что величина ξ_{TP} находится численно с учетом конкретных условий процесса фотоокисления триптофана. Вводили, соответственно, эффективную константу $k_{e\!f\!f}^{TP}$ скорости фотоокисления триптофана, приходящуюся на одну молекулу Φ C, определяя такую константу согласно $k_{e\!f\!f}^{TP} = k^{TP}/C^{\Phi\!C}$. Погрешность определения $k_{e\!f\!f}^{TP}$ составляла 10%.

$$\Delta C^{\Phi \mathcal{I}} \approx k^{\Phi \mathcal{I}} C_0^{\Phi \mathcal{I}} \xi_{\Phi \mathcal{I}} \Delta t , \qquad \xi_{\Phi \mathcal{I}} = \frac{1}{\Delta t} \int_0^{\Delta t} c^{\mathcal{I}HKK}(t) dt , \qquad (6a),$$

$$\Delta C^{\text{ДИКЖ}} \approx k^{\text{ДИКЖ}} C_0^{\text{ДИКЖ}} \xi_{\text{ДИКЖ}} \Delta t , \quad \xi_{\text{ДИКЖ}} = \frac{1}{\Delta t} \int_0^{\Delta t} c^{\phi \mathcal{A}}(t) dt , \qquad (6b)$$

где $C_0^{(i)}$ и $\Delta C^{(i)}$ – соответственно, исходная концентрация i-го компонента – (ФД, ДНКЖ) и изменение концентрации соответствующего компонента при фотоокислении за время Δt ; ξ_i – интерполяционный кинетический параметр процессов фотодеградации компонента i (ФД или ДНКЖ), если в процессе такой

фотодеградации заметно изменяются концентрация другого деградирующего компонента.

2.2.4. Спектральные методы исследования полимерных порфиринсодержащих систем

Электронные спектры поглощения (ЭСП) и флуоресценция.

Возможные взаимодействия порфиринов с полимерами фиксировали по сдвигам полос поглощения и флуоресценции. Электронные спектры поглощения (ЭСП) растворов снимали на спекторофотометре Cary50 (Varian, Австрия). Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре CaryEclipse (Varian, Австрия). Спектры люминесценции синглетного кислорода регистрировали с помощью спектрофлуориметра — Horiba Fluoromax Plus (Horiba-Jobin-Yvon, Palaiseau, Франция). ИК-детектор: DSS-IGA020L (спектральный диапазон 800 нм-1700 нм). Длинноволновый фильтр TLP RG780 (Edmund Optics).

¹Н ЯМР спектроскопия.

 1 Н ЯМР спектры регистрировали с использованием спектрометра Bruker AVANCE III 500 МГц (Аналитический центр коллективного пользования ИПХФ РАН, под рук. Черняка А.С.). В стандартные ампулы (с наружным диаметром 5 мм) помещали образцы, растворов Xe6Na, полимеров и систем Xe6Na – ПВП, Xe6Na – ПВП – АН (в соотношении 1:1 по массе) в D_2O (Aldrich, 99 атом. % D). Спектры 1 Н-ЯМР были получены при температуре 20.5 ± 0.1 °C и рабочей частоте прибора 500 МГц. Частоты сдвигов ЯМР калибровали с использованием остаточных сигналов протонов из дейтерированной воды (4,71 м.д.).

2.2.5. Методы исследования надмолекулярной структуры полимерных порфиринсодержащих систем в растворе и в пленках.

Рентгеновская дифракция (РД).

Исследование структуры пленок методом РД выполняли в Центре рентгенодифракционного анализа ИБХФ РАН под рук. Кривандина А.В. на рентгеновском дифрактометре с координатным детектором (излучение $CuK\alpha$, $\lambda =$

1.542 Å, расстояние образец-детектор 105 мм, ширина рентгеновского пучка в плоскости образца и ширина окна детектора 4 мм). Интенсивность рентгеновского рассеяния измеряли «на просвет» при комнатной температуре в интервале значений модуля дифракционного вектора $0.04~\text{hm}^{-1} < \text{S} < 4.5~\text{нm}^{-1} \ (\text{S=}2\sin\theta/\lambda, 2\theta - \text{угол рассеяния})$. Пленки для исследования методом РД получали высушиванием на подложке из полиэтилена в течение 4-5 дней водных растворов, содержащих в разных пропорциях Xe6Na, ПВП и АН (толщина пленок $\sim 50-100~\text{мкm}$). Массовое соотношение компонентов в двойных системах составляло 3:1, 1:5 и 1:10 (Xe6Na:ПВП), 1:5, 1:10 (Xe6Na:AH), 1:2 (АН:ПВП), в тройных системах $\sim 1.5:10:5~\text{i}$ 1.5:5:5 (Xe6Na:ПВП:АН).

Атомно-силовая микроскопия (АСМ).

Методом АСМ изучали структуру поверхности пленок, полученных на слюде при испарении при комнатной температуре в боксе в течение 12-15 часов водных растворов АН, ПВП, АН – ПВП, Хе6Nа – АН, Хе6Nа – ПВП и Хе6Nа – ПВП и Хе6Nа – ПВП – АН. Массовое соотношение компонентов в двойных системах составляло 1:5 (Хе6Nа:ПВП), 1:5 (Хе6Na:АН), 1:2 (АН:ПВП), в тройной системе – 1:5:5 (Хе6Na:ПВП:АН).

Использовали сканирующий зондовый микроскоп *Solver P47* (производство *NT-MDT*, г. Зеленоград). Изображения фрагментов поверхности образцов исследуемых пленок были полученв режимах топографии в полуконтактной моде. Все измерения проводили кантилеверами серии *etalon HA-NC* с жесткостью 3.5-12 Н/м и резонансной частотой 140-235 кГц (радиус закругления 10 нм).

Термогравиметрический анализ (ТГА).

Композиции Xe6Na — полимер (ПВП, AH) готовили растворением Xe6Na и полимера в воде, при интенсивном перемешивании полученного раствора в течение 10-15 мин. Пленки для исследования методом ТГА получали высушиванием на стеклянной подложке в течение 4-7 дней водных растворов, содержащих в разных пропорциях Xe6Na, ПВП и AH. В двойной системе Xe6Na — ПВП концентрации компонентов составляли: $C_{\Pi B\Pi} = 0.4$ % мас., $C_{Xe6Na} = 0.04$ %

мас. В системе Xe6Na – AH концентрации составляли: $C_{AH} = 0.25$ % мас, $C_{Xe6Na} = 0.04$ % мас. Для полимер-полимерной системы AH – ПВП: $C_{AH} = 0.25$ % мас., $C_{\Pi B\Pi} = 0.4$ % мас. В тройной системе Xe6Na – ПВП – AH (1:10:5): $C_{Xe6Na} = 0.04$ % мас., $C_{\Pi B\Pi} = 0.4$ % мас., $C_{AH} = 0.25$ % мас. Помимо этого, были приготовлены «смесевые» образцы смешением в ступке твердого полимера и хлорина, с таким же соотношением компонентов в системах, как и при получении пленок из водных растворов.

Динамическое рассеяние света (ДРС).

Размер частиц и ξ-потенциал полимеров (ПВП и АН) в водных и водносолевых растворах в исходном состоянии и в двойной полимерной системе (ПВП-АН) определяли методом динамического светорассеяния на приборе Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Малверн, Великобритания), оснащенном гелий-неоновым лазером ($\lambda = 633$ нм) под углом 173°. ξ -потенциал измеряли методом лазерной доплеровской велосиметрии, электрофоретическую подвижность. Уравнение Генри использовалось для расчета значений ξ-потенциала. Диэлектрическая проницаемость 78,5 и вязкость 0,8872 мПа для чистого растворителя использовались для всех систем с учетом низкой концентрации полимера. Растворы фильтровали через стандартные мембраны Millipore Millex-GV, Nylon 0,2, 0,22 мкм, Millipore Millex-GV, Hydrophilic PVDF 0,2, 0,22 мкм в оптическую кварцевую кювету (1×1 см²). Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Zetasizer Soft Ware 6.20 (Malvern Instruments Ltd., Великобритания). Концентрация ПВП составляла 0,15 % мас. Концентрация АН менялась от 0,05 % мас. до 0,15 % мас. Исследования проводились в водных и водно-солевых растворах KCl, с концентрацией KCl – 94 mM. Водный раствор AH с концентрацией 0,05% мас. получали растворением в 5 мл воды 0,0024 г порошка АН. Далее полученную смесь перемешивали при нагревании до ~ 80-90°С на магнитной мешалке до полного растворения альгинатного порошка. Исследования проводились в лаборатории физико-химических модификаций биополимеров ИБХФ РАН под рук. Плащиной И.Г. и Дубовика А.С.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ И ПИЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНА НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ФС В РЕАКЦИИ ФОТООКИСЛЕНИЯ ТРИПТОФАНА

Как уже было упомянуто, эффективность АФДТ трудно заживающих гнойных ран можно повысить при одновременном воздействии на рану альгината натрия.

Можно полагать, что натриевая соль альгиновой кислоты — АН не будет взаимодействовать с Xe6Na, в отличие от поликатионного хитозана [186]. Результаты исследования влияния АН на эффективную константу k_{eff} скорости фотосенсибилизированного окисления триптофана представлены в данной главе. Следует отметить, что для выявления возможного влияния природы противоиона в молекуле Xe6 на фотосенсибилизирующую активность Φ C в работе были использованы две соли хлорина e6 — тринатриевая и диглутаминовая (препарат Фотодитазин).

3.1. Влияние альгината натрия на фотокаталитическую активность ФД и Xe6Na

На рисунке 28 представлена зависимость эффективной константы скорости

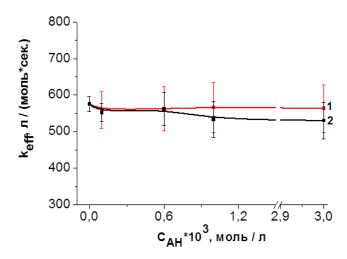


Рисунок 28. Зависимость эффективной константы k_{eff} скорости реакции фотоокисления триптофана, катализируемой системой: 1) Φ Д – АН; 2) Хе6Nа – АН от концентрации АН. Концентрация Φ С – 2,5·10⁻⁶моль/л, концентрация триптофана 2,5·10⁻⁵моль/л.

 k_{eff} фотоокисления триптофана, катализируемого системами $\Phi Д$ — AH и Xe6Na — AH от концентрации полимера. Видно, что AH в указанном интервале концентраций практически не влияет на величину эффективной константы скорости k_{eff} ΦC . Возможно, это связано с отсутствием каких-либо взаимодействий в системе ΦC — AH.

Отсутствие взаимодействий между ФС и макромолекулами альгината натрия подтверждается электронными спектрами поглощения (ЭСП) и спектрами флуоресценции Xe6Na в присутствии и отсутствии AH¹ (рис. 29). В присутствии AH оптическая плотность полос поглощения и интенсивность полос флуоресценции Xe6Na практически не меняется.

3.2. Влияние альгината натрия на фотокаталитическую активность комплекса Xe6Na-ПВП

Ранее было показано, что в присутствии АП – ПВП, ПВС, F127 и др., фотокаталитическая активность водорастворимых порфиринов, в частности, динатриевой соли 3,8-ди(1-метоксиэтил) дейтеропорфирина IX (димегин, ДМГ), в реакции окисления триптофана возрастает благодаря образованию слабосвязанных

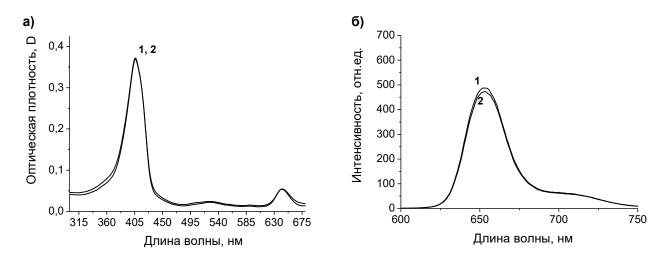


Рисунок 29. Электронный спектр поглощения (а) и спектр флуоресценции (б) Xe6Na (1) и Xe6Na – AH (2). Концентрация Xe6Na – $2,5\cdot10^{-6}$ моль/л, концентрация AH $1\cdot10^{-4}$ моль/л.

 $^{^{1}}$ Для ФД-АН электронные спектры поглощения и спектры флуоресценции аналогичны спектрам Xe6Na-AH.

межмолекулярных комплексов Φ С – АП и дезагрегации Φ С [187, 188]. В данном разделе будет описано влияние АН на активность комплексов Xe6Na – ПВП.

Особенности фотокаталитической активности комплексов Xe6Na-ПВП в присутствии АН

На рисунке 30 представлены зависимости эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления триптофана в присутствии систем Xe6Na – ПВП (рис. 30, кривая 1), Xe6Na – ПВП – АН (кривая 2) от концентрации ПВП.

Как следует из рисунка 30, в отсутствие ПВП (нулевые точки на кривых) АН не влияет на величину k_{eff} , а в присутствии ПВП активность системы Xe6Na – АН приближается к активности системы Xe6Na – ПВП (рис. 30, кривые 1, 2). Другими словами, присутствие АН в системе Xe6Na – ПВП не влияет на фотокаталитическую активность Xe6Na и не препятствует образованию комплекса между ПВП и Xe6Na [189]. Об комплексообразовании между Xe6Na и ПВП свидетельствуют, в первую очередь, изменения в ЭСП и спектрах флуоресценции Xe6Na в присутствии ПВП и АН (рис. 31, A, Б). В ЭСП Xe6Na полоса I (рис. 31A, кривая 1) сдвигается в красную область на \sim 21 нм. Этот эффект наблюдается для

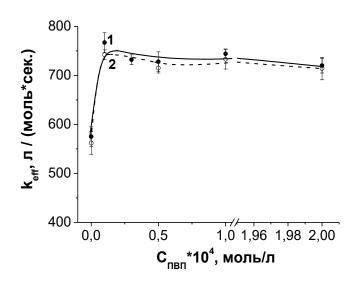


Рисунок 30. Зависимость эффективной константы скорости реакции фотоокисления триптофана, катализируемой системой: $Xe6Na - \Pi B\Pi$ (1) и $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH$ (2), от концентрации $\Pi B\Pi$, где 2 - AH (6·10⁻⁴ моль/л). Концентрация $Xe6Na - 2.5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, концентрация триптофана $-2.5 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

систем Xe6Na – ПВП, Xe6Na – ПВП – АН, где присутствует АП (рис. 31A, кривые 2, 3). Полоса флуоресценции систем Xe6Na – ПВП и Xe6Na – ПВП – АН (рис. 31Б, кривые 2, 3) сдвинута на ~ 12 нм относительно полосы флуоресценции чистого Xe6Na (рис. 31Б, кривая 1). Наблюдающиеся батохромные сдвиги полос поглощения и флуоресценции Xe6Na говорят о взаимодействии периферийных группировок хлорина с фрагментами ПВП [190].

О взаимодействии Хе6Na с ПВП также свидетельствуют данные ¹Н-ЯМР спектроскопии, полученные для систем Хе6Na – ПВП и Хе6Na – ПВП – АН (таблица 2). Для сравнения в таблице 2 представлены данные ¹Н ЯМР для исходного Хе6Na, нумерация протонов изображена на рисунке 24a в Главе 2. Было показано, что в ¹Н ЯМР спектрах систем Хе6Na – ПВП и Хе6Na – ПВП – АН наблюдается сдвиг сигналов *мезо*-протонов порфиринового цикла, периферийных метильных групп и остатков пропионовой кислоты в молекуле Хе6Na в слабое поле. В присутствии двух полимеров (ПВП и АН) наблюдаются незначительные изменения величины хим. сдвига, порядка 0,1 м.д. (по сравнению с двойной системой Хе6Na – ПВП) сигналов *мезо*-протонов цикла для системы Хе6Na – АН – ПВП, что может быть связано с конформационными изменениями макромолекул

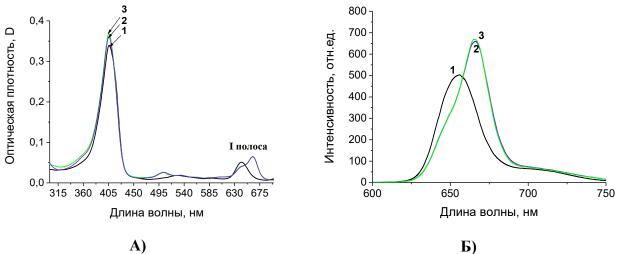


Рисунок 31. Электронный спектр поглощения (A) и спектр флуоресценции (Б) Xe6Na (1), Xe6Na – ПВП (2) и Xe6Na – ПВП – АН (3). Концентрация Xe6Na – $2,5\cdot10^{-6}$ моль/л, концентрация ПВП – $1\cdot10^{-4}$ моль/л (0,4 % мас.), АН – $6\cdot10^{-4}$ моль/л (0,012 % мас.).

Таблица 2. Значения сигналов протонов Xe6Na в отсутствие и в присутствии полимеров и значения сдвига (Δ) сигналов в присутствии полимеров.

	Xe6Na	Хе6Na-ПВП	Хе6Nа-ПВП-
			AH
-СН-мезо (1,2,3)	9.21 (1H)	9.61 (1H)	9.75 (1H)
	9.04 (1H)	9.31 (1H)	9.28 (1H)
	6.94 (1H,	7.99 (1Н, уш.)	7,84 (1H)
	уш.)		
$-C\underline{\mathbf{H}}=C\mathbf{H}_{2}$ (4)	6.73 (1H)	-	6.06 (1H)
$-CH=C\underline{H}_{2}(5)$	5.47 (2H,	6.03	-
	уш.)		
-C <u>H</u> ₂ -COONa (13)	5.80 (1H)	5.80 (1H)	5.74 (1H)
	5.25 (1H)	5.21 (1H)	5.12 (1H)
СН-(IV пиррольного кольца)	4.84(1H)	4.86 (1H)	4.85 (1H)
(10)			
-CH-CH ₂ -CH ₂ -COONa (16)	4.46 (1H)	4.49 (1H)	4.46 (1H)
_ ` , ,		$\Delta = 0.03$	
4×СН ₃ макроцикла (6,7,8,9)	3.60 (3H)	3.65 (3H),	3.63 (3H),
•		$\Delta = 0.05$	$\Delta = 0.03$
	2.98 (3H)	-	-
	1.76 (3H)	1.76 (3H)	1.76 (3H)
	0.99 (3H)	1.03 (3H)	1.06 (3H)
-CH-CH ₂ -COONa (15)	2.92 (1H)	-	-
	2.82 (1H)	2.86 (1H)	-
-CH-C <u>H</u> ₂ -CH ₂ -COONa (14)	2.66 (2H)	2.74 (2H)	2.74 (2H)
-C <u>H</u> 2-CH3 периферийной	2.46 (2H,	-	-
<u>-</u> группы (11)	уш.)		
-CH ₂ -C <u>H</u> 3 периферийной	1.14 (3H)	1.45 (3H)	1.59 (3H)
группы (12)) , , ,

ПВП, вызывающими изменения во взаимодействии с молекулами хлорина. При этом сигналы протонов периферийных групп в молекуле хлорина в тройной системе Xe6Na – ПВП – АН также (по сравнению с Xe6Na) сдвинуты в сильное и слабое поле, однако величина сдвига не превышает значений, наблюдающихся для двойной системы Xe6Na – ПВП.

Значительные изменения наблюдались и для полос, соответствующих не только Xe6Na, но и ПВП. Данные 1 Н ЯМР спектроскопии исходного ПВП и в присутствии Xe6Na приведены в таблице 3. В спектрах ПВП наблюдаются сигналы

протонов метиновой (СН–) и метиленовой (СН₂) групп в диапазоне 1.54-1.69 м.д. и 3,60–3,75 м.д. Кроме того, присутствуют сигналы протонов метиленовой группы гидрофильных пирролидоновых фрагментов в диапазоне 1,98–2,41 м.д. и 3,26 м.д. В присутствии Хе6Na происходит сдвиг сигналов протонов метиленовых и метиновых групп ПВП в сильное поле (~ на 0,5-0,65 м.д.), при этом сигналы пирролидонового цикла практически не меняются. Этот факт указывает на взаимодействие Хе6Na с гидрофобными фрагментами макромолекулы полимера. Полученные данные коррелируют с теми, что было нами ранее показано [191] при сравнении ПМР-спектров ПВП в отсутствие и в присутствии ФС – димегина (ДМГ). В частности, было установлено образование водородных связей и наличие гидрофобных взаимодействий в системе ДМГ – ПВП.

При этом изменений в ¹Н ЯМР спектрах АН в присутствии Хе6Na не было зафиксировано, о чем свидетельствуют данные ¹Н ЯМР спектроскопии исходного АН и в присутствии Хе6Na (таблица 4, 5).

Данные ¹Н ЯМР спектроскопии АН приведены в таблице 4, нумерация протонов изображена на рисунке 25с в Главе 2. Два основных характерных для АН пика при 4,92 и 4,51 м.д. обусловлены H-1 и H-5 остатками G в гулуроновых блоках (G-блок). Сигнал протонов сосредоточенный около 4,56 м.д. возникает из H-5

Таблица 3. Значения сигналов протонов ПВП в отсутствие и в присутствии Xe6Na.

ПВП	Хе6Nа – ПВП	
1.69	} 1.33(уш.)	
1.54		
3.75		
3.60	3.1 (ш.)	
2.39	Ì	
2.28	├ 1.9-2.3 (уш.)	
2.24	J	
1.98	~1.9 (уш.)	
3.26	~3.2	
	1.69 1.54 3.75 3.60 2.39 2.28 2.24	

остатков G, смежных с остатками маннуроновой кислоты (М-блоки), и из H-1 остатков М-блока. Второстепенные сигналы протонов АН, появляющиеся при 3,80~3,63 м.д. были отнесены к H2, H3 и H4 L-гулуроновой и D-маннуроновой кислот. Расшифровку ¹Н ЯМР спектра АН проводили, опираясь на ранее опубликованные литературные данные [192–194].

При исследовании методом 1 Н-ЯМР-спектроскопии растворов смеси двух полимеров (ПВП и АН) возникли трудности в извлечении информации. Причина этого заключалась в том, что пики спектров 1 Н-ЯМР для таких растворов сильно уширены, что затрудняет их расшифровку. Поэтому исследование системы ПВП — АН проводили методом ДРС. С помощью ДРС определяли размер ассоциатов и ξ -потенциалы индивидуальных полимеров (АН и ПВП) и их смесей для установления характера взаимодействий между компонентами системы ПВП —АН в растворе.

На рисунке 32 представлены распределения по размерам ассоциатов АН в водном и водно-солевом растворе. Было показано, что АН в водном растворе образует ассоциаты с размерами ~160 и 1200 нм (рис. 32А). Появление крупных ассоциатов может быть связано с электростатическими взаимодействиями в молекулах АН.

Добавление соли обычно используется для исключения этих взаимодействий

Таблица 4.	Значения	сигналов	протонов	AH.
тиолици т.	JII CIIII	CIII IIasiob	протопов	7 XI I.

Кислота	H1	H2	Н3	H4	Н5
D- маннуроновая	4.56	3.84	3,63	3.90	4.3
кислота (М)	$(\underline{M1}+G)$				
L-гулуроновая	4.92	3.78	4.00	4.05	4.51 (GG5)
кислота (G)	(G1)				4.56
					(M1+ <u>G5</u>)

Таблица 5. Значения сигналов протонов АН в присутствии Xe6Na.

Кислота	H1	H2	Н3	H4	Н5
D -маннуроновая	4.57	3.86	3,63	3.91	4.3
кислота (М)	(<u>M1</u> +G)				
L -гулуроновая	4.92	3.80	4.00	4.07	4.52 (GG5)
кислота (G)	(G1)				4.56
					(M1+ <u>G5</u>)

[154, 155, 163, 195]. В связи с этим исследование исходных компонентов АН и ПВП, а также смеси ПВП – АН проводились в КС1 (94 mM). Было показано, что в присутствии соли размер ассоциатов АН уменьшается и составляет ~ 20-30 нм. Также наблюдается образование более крупных ассоциатов ~ 500-600 нм (рис. 32Б), но не достигающих величин крупных ассоциатов АН в воде.

В таблице 6 представлены размеры молекул и ассоциатов АН, ПВП и смеси ПВП – АН (1:1) в КСl и значение ξ-потенциала. Размер ассоциатов ПВП в водносолевом растворе составляет ~ 15 нм (табл.6, строка 1). В совместном растворе АН и ПВП размер ассоциатов ПВП практически не меняется. Размер ассоциатов АН в совместном растворе АН и ПВП меняется и составляет ~ 70 нм и 1100 нм (табл.6, строка 3). По-видимому, это может быть связано с самоассоциацией АН, что приводит к уменьшению доли свободного объема в системе ПВП – АН [154, 155].

Исследование АН, $\Pi B \Pi$ и смеси $\Pi B \Pi$ – АН проводились и в бессолевых растворах при более низких концентрациях АН.

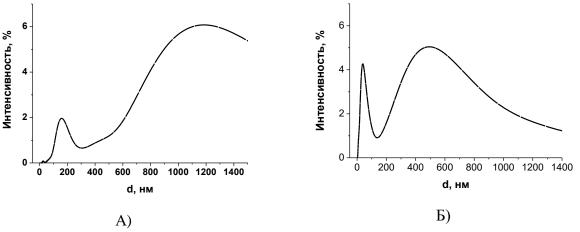


Рисунок 32. Распределение молекул и ассоциатов АН по размерам (0,1 % мас.): А) в воде; Б) в КС1 (94mM).

Таблица 6. Распределение ассоциатов и ξ-потенциалов по размерам в водносолевом растворе АН и ПВП.

$N_{\underline{0}}$	Соединение	Размеры частиц, нм	ξ-потенциал, мВ
1	ПВП (0,15 %мас.)	15	-5
2	АН (0,15 % мас.)	25, 605	-26,5
3	АН (0,15 %мас.)-	15, 75, 1105	-32
	$\Pi B \Pi (0,15 \% \text{мас.})$		

Методом ДРС были исследованы размеры ассоциатов и значение ξ-потенциала при концентрации АН (0,05 % мас.), ПВП (0,15 % мас.) и смеси ПВП – АН (3:1). Данные таблицы 7 показывают, что ПВП в водном растворе характеризуется низким отрицательным значением ξ-потенциала (-5 мВ), тогда как для АН в водном растворе значение ξ-потенциала составляет -53 мВ. Очевидно, частицы полианиона АН, содержащие противоионы натрия, более стабильны в растворе, чем частицы нейтрального ПВП. В совместном растворе АН — ПВП значение ξ-потенциала составляет -62 мВ. Это указывает на высокую стабильность частиц в совместном растворе, сопоставимую со стабильностью частиц в растворе АН. Размер ассоциатов ПВП в совместном растворе АН и ПВП остается неизменный (табл. 7, строки 1, 3). Размер ассоциатов АН в совместном растворе АН и ПВП несколько меняется (табл. 7, строки 2, 3). Как выше было упомянуто, образование крупных ассоциатов АН в смеси АН – ПВП связано с самоассоциацией молекул АН в присутствии поливинилпирролидона.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о существовании непосредственных взаимодействий между группировками Хе6Na и ПВП в системах Хе6Na — ПВП и Хе6Na — ПВП — АН и об их отсутствии между Хе6Na и АН в системе Хе6Na — АН и соответствующей трехкомпонентной системе. Присутствие АН практически не влияет на взаимодействие между Хе6Na — ПВП в системе Хе6Na — ПВП — АН и не снижает величину эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления триптофана в указанной тройной системе (по сравнению с соответствующей двойной Хе6Na — ПВП системой). Методом ДРС показано отсутствие взаимодействий между ПВП и АН в смеси ПВП — АН.

Таблица 7. Распределение ассоциатов и ξ-потенциалов по размерам в водных растворах АН и ПВП.

No	Соединение	Размеры частиц, нм	ξ-потенциал, мВ
1	ПВП (0,15 %мас.)	15	-5
2	АН (0,05 % мас.)	41, 230	-53
3	АН (0,05 %мас.)-	16, 97, 783	-62
	$\Pi B \Pi (0,15 \% \text{мас.})$		

ГЛАВА 4. НАДМОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ПО ДАННЫМ РСА, АСМ И ТГА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ИССЛЕДУЕМЫХ СИСТЕМ

С целью изучения особенностей взаимодействия Xe6Na и полимеров в многокомпонентных фотокаталитических системах в данной главе методами РД, АСМ и ТГА было проведено исследование структуры твердых пленок, полученных из водных растворов Xe6Na, АН и ПВП при разных пропорциях этих составляющих.

4.1. Рентгеновская дифракция.

О структурном состоянии Xe6Na, AH и ПВП и возможных межмолекулярных взаимодействиях в реакционной системе, можно, очевидно, опосредованно судить по данным рентгено-структурного анализа пленок, полученных из растворов смеси этих веществ. Прежде чем перейти к анализу дифрактограмм таких многокомпонентных плёнок рассмотрим дифрактограмму плёнки «Xe6Na» (рис. 33a).

Анализ дифрактограммы плёнки Xe6Na показывает, что эта плёнка имеет характерный сильный максимум при $S\approx 0.3$ нм $^{-1}$ (рис. 33a). На рис.336 представлена дифрактограмма плёнки Xe6Na — ПВП (3:1), которая содержит избыточное количество Xe6Na и небольшое количество ПВП. Интенсивность рентгеновского рассеяния на ПВП в такой плёнке незначительна и почти вся интенсивность рентгеновского рассеяния на такой плёнке обусловлена рассеянием на Xe6Na [196]. Наибольшую интенсивность на такой дифрактограмме имеет максимум при $S\approx 0.3$ нм $^{-1}$, характерный для структуры Xe6Na. Этот максимум был использован нами для идентификации Xe6Na в многокомпонентных плёнках, полученных из совместных растворов Xe6Na и полимеров.

На рисунке 34 приведены дифрактограммы порошка (рис. 34а) и пленки альгината натрия (рис. 34б, в). Для анализа наличия анизотропии структуры пленок измерения были проведены при двух ориентациях пленок: (1) при

перпендикулярном падении рентгеновского пучка на пленку (рис.34б) и (2) при косом падении рентгеновского пучка на пленку (угол ~20°) (рис.34в).

Дифрактограмма исходного порошка альгината натрия (рис. 34а) и пленки альгината натрия, полученные при двух ориентациях пленки (рис. 34б, в), содержат одни и те же (по положению) основные дифракционные максимумы при ~1.6 и 2.5 HM^{-1} . которые, очевидно, возникают вследствие упорядоченной укладки полимерных цепей в порошке и пленке альгината. Эти максимумы и для пленки, и порошка значительную ширину, указывает имеют ЧТО несовершенную упорядоченность полимерных цепей в этих образцах. Сходство

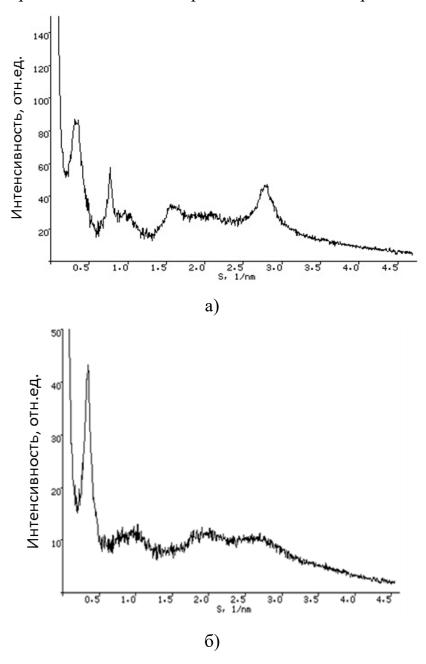
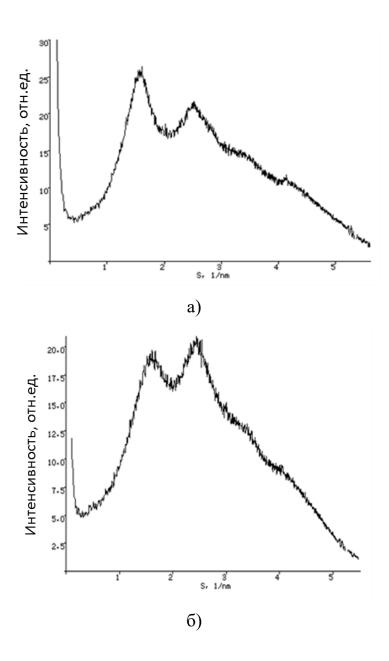


Рисунок 33. Дифрактограммы пленки Xe6Na (a) и пленки Xe6Na-ПВП (3:1) (б).

дифрактограмм порошка и пленки альгината натрия говорит о том, что характер укладки полимерных цепей в этих образцах в целом одинаков. Соотношение интенсивностей дифракционных максимумов на дифрактограммах этих образцов отличается, и на дифрактограмме пленки альгината, полученной при косом падении рентгеновского пучка (рис. 34в), наблюдается дополнительный слабый максимум при $S\approx0.5$ нм. Все это свидетельствует о наличии ориентации цепей альгината в пленке.



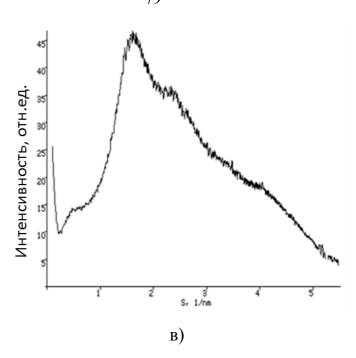


Рисунок 34. Дифрактограммы порошка АН и пленки (б, в), полученные при падении рентгеновского пучка перпендикулярно плоскости пленки (б) и под углом $\sim 20^{\circ}$ (в).

Дифрактограммы пленок АН с Xe6Na (рис. 35) существенно отличаются от дифрактограмм пленок чистого АН (рис. 346, в). Основным дифрактограммы пленки Xe6Na – AH (1:5) (рис.35a) является наличие сильного малоуглового дифракционного максимума вблизи $S \approx 0.3 \text{ нм}^{-1}$, соответствующий рефлексу упорядоченной фазы Xe6Na (рис. 33). При этом на дифрактограмме 34б) подобный пленки альгината натрия (рис. максимум отсутствует. Следовательно, Xe6Na практически не меняет надмолекулярную структуру альгината натрия в пленках и образует в таких пленках отдельную упорядоченную фазу.

Система Xe6Na — AH (1:10), содержащая 10% Xe6Na от массы AH, была исследована в двух ориентациях относительно рентгеновского пучка: при падении рентгеновского пучка перпендикулярно плоскости пленки и под углом \sim 20° (рис. 356, в). При обеих таких ориентациях пленки на ее дифрактограммах, регистрируется достаточно сильный дифракционный пик при $S \approx 0.3 \text{ нm}^{-1}$, который свидетельствует о содержании в этой пленке значительного количества отдельной фазы Xe6Na.

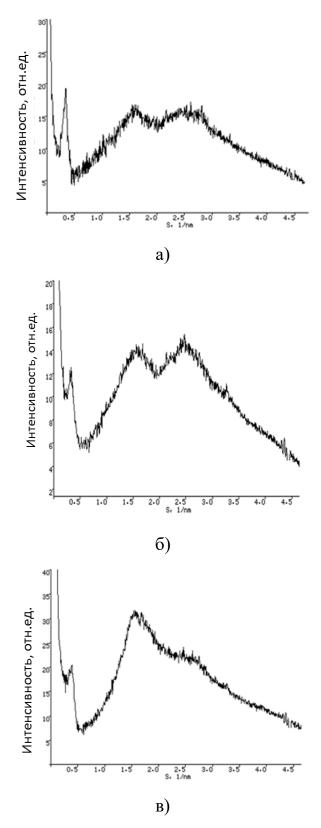


Рисунок 35. Дифрактограммы пленок: а) Xe6Na – AH (1:5); б) Xe6Na – AH (1:10), полученная при установке пленки перпендикулярно рентгеновскому пучку; в) Xe6Na – AH (1:10), полученная при установке пленки под углом \sim 20° к рентгеновскому пучку.

Дифракционные кривые для пленок Xe6Na - AH (1:5), Xe6Na - AH (1:10) (рис. 35 a, б) и пленки AH (рис. 34б) в области дифракционных максимумов AH (при S > 1 m^{-1}) практически совпадают. Следовательно, присутствие в таких пленках Xe6Na не оказывает существенного влияния на структуру AH. На основании того, что структура AH в присутствии Xe6Na не меняется и Xe6Na образует в пленках Xe6Na - AH отдельную фазу, можно заключить, что в растворах, из которых были получены эти пленки, Xe6Na не взаимодействует с AH.

Для пленок на основе ПВП с добавками Хе6Nа (в данном случае были исследованы пленки Хе6Nа – ПВП (1:10) и Хе6Nа – ПВП (1:5)) наблюдается совсем иная картина структурообразования компонентов пленки. В частности, на рисунке 36 приведены дифрактограммы ПВП в присутствии Хе6Nа при соотношениях Хе6Nа – ПВП (1:5) и (1:10). На полученной дифрактограмме (рис. 36а, б) дифракционный максимум при $S \approx 0.3$ нм $^{-1}$, характерный для отдельной фазы Хе6Na, практически отсутствует или имеет очень ничтожную величину. Следовательно, Хе6Na практически не образует в данных пленках отдельной фазы.

ПВП, судя по его дифрактограмме (рис. 37, кривая 2), имеет структуру, похожую на структуру АН (рис. 34б), но с несколько другими параметрами укладки полимерных цепей (дифракционнные пики наблюдаются для ПВП при S \approx 1.3 и 2.4 нм $^{-1}$, для альгината натрия при S \approx 1.6 и 2.5 нм $^{-1}$).

Сравнение дифрактограммы системы $Xe6Na-\PiB\Pi$ (1:10) (рис. 366) с дифрактограммой $\Pi B\Pi$ (рис. 37, кривая 2) показывает, что форма дифракционных кривых для этих двух пленок при S < 2 нм $^{-1}$ значительно отличается. Это отчетливо видно при совмещении данных дифрактограмм на одном рисунке (рис. 37, кривые 1, 2). Можно полагать, что такое изменение формы дифракционной кривой $\Pi B\Pi$ при введении в пленку хлорина происходит за счет изменения структуры $\Pi B\Pi$ в результате его взаимодействия с Xe6Na именно в растворе, из которого в дальнейшем были получены пленки. Очевидно, в водном растворе Xe6Na в молекулярном или мелкодисперсном виде связывается с $\Pi B\Pi$ и при образовании из этого раствора пленок входит в виде дефектов в полимерную фазу $\Pi B\Pi$. Из-за наличия в системе таких дефектов размеры областей когерентного рассеяния $\Pi B\Pi$

в пленках могут уменьшаться, причем неодинаково в разных направлениях, и в связи с этим может происходить уменьшение интенсивности одного из дифракционных максимумов ПВП.

Результаты проведенного рентгенодифракционного исследования трехкомпонентных пленок $Xe6Na-\Pi B\Pi-AH$ (1.5:10:5) и $Xe6Na-\Pi B\Pi-AH$ (1.5:5) похожи на результаты, полученные для пленок $Xe6Na-\Pi B\Pi$.

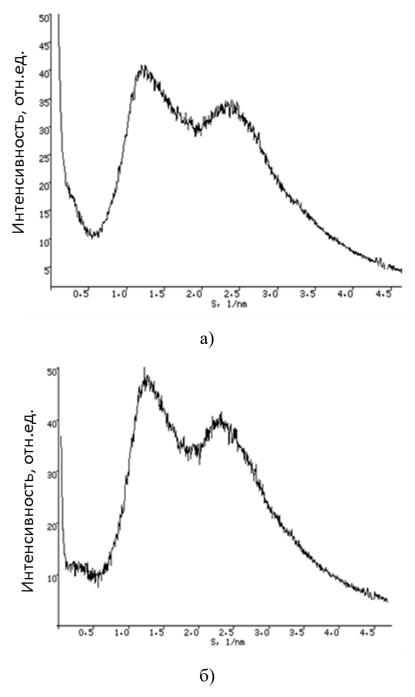


Рисунок 36. Дифрактограммы систем: а) Xe6Na – ПВП (1:5); б) Xe6Na – ПВП (1:10).

Присутствие АН в тройной системе, по-видимому, не оказывает воздействия на Xe6Na. Так, на дифрактограмме для системы $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH (1.5:5:5)$ (рис. 38a) дифракционный пик при $S \approx 0.3$ нм $^{-1}$, характерный для Xe6Na, имеет незначительную величину. Следовательно, для пленок такого состава, как и для систем $Xe6Na - \Pi B\Pi$, (рис. 36a), основная часть хлорина в отличие от систем из альгината натрия с Xe6Na (рис. 35a) по-видимому, не образует отдельной фазы.

Для системы $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH$ (1.5:10:5) дифракционный максимум $S \approx 0.3$ Hm^{-1} также не выявляется (рис.38б, 39б, кривая 1), но при этом наблюдается уменьшение интенсивности дифракционного пика $\Pi B\Pi$ при $S \approx 1.3$ Hm^{-1} по сравнению с пленкой $\Pi B\Pi$ (рис. 37, кривая 2) и пленкой $\Pi B\Pi - AH$ (рис. 39а, б, кривая 2). Следовательно, в таких трехкомпонентных пленках, как и в пленках $Xe6Na - \Pi B\Pi$, почти не образуется включений отдельной упорядоченной фазы Xe6Na, но происходит некоторое изменение структуры $\Pi B\Pi$ по сравнению с пленками $\Pi B\Pi$, не содержащими Xe6Na.

Следует отметить, что несмотря на одинаковое содержание Xe6Na в пленках $Xe6Na-\Pi B\Pi-AH~(1.5:10:5)$ и $Xe6Na-\Pi B\Pi~(1:10)$, судя по их дифрактограммам (см. рис. 36б и 38б), в пленке $Xe6Na-\Pi B\Pi-AH~(1.5:10:5)$ не происходило никакого образования включений упорядоченной фазы Xe6Na, тогда как в пленке

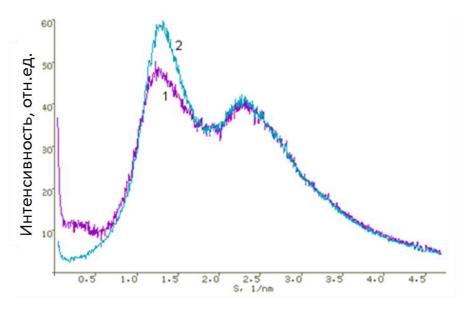


Рисунок 37. Сравнение дифрактограмм пленки Xe6Na – ПВП (1:10) (1) и пленки ПВП (2). Дифрактограммы нормированы по второму максимуму.

Хе6Na – ПВП (1:10), по-видимому, все-таки содержалось небольшое количество такой фазы. На основании этого можно полагать, что присутствие полианиона АН способствует более эффективному связыванию Хе6Na с ПВП в растворе.

В свою очередь важно было отметить, образуют ли одну смешанную полимерную фазу АН и ПВП в пленках, в которых содержится оба этих полимера, или они находятся в таких пленках в виде двух отдельных фаз.

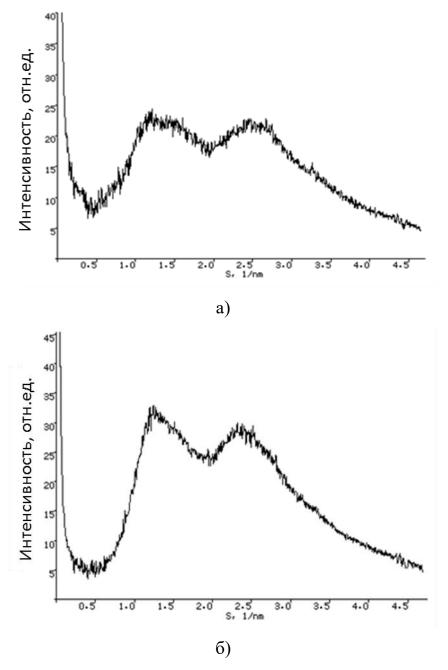


Рисунок 38. Дифрактограммы пленок: (a) Xe6Na – Π B Π – AH (1.5:5:5), (б) Xe6Na – Π B Π – AH (1.5:10:5).

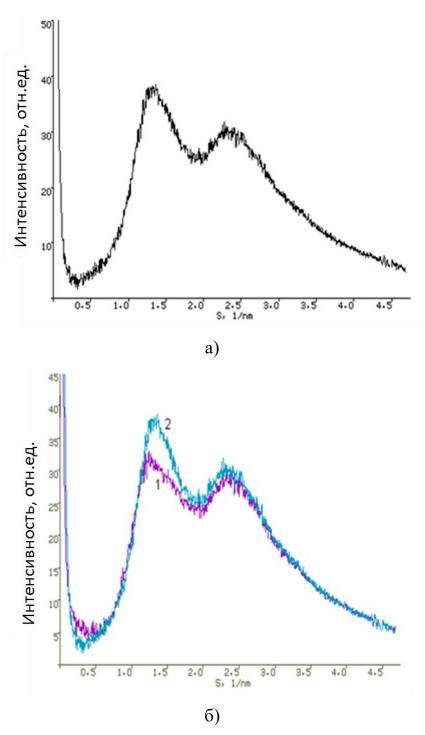


Рисунок 39. Дифрактограмма пленки ПВП — АН (а) (2:1); сравнение дифрактограмм пленки $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH$ (1.5:5:10) (1) и пленки $\Pi B\Pi - AH$ (2:1) (2) (б).

Для понимания этого сравнивали экспериментальную и модельную кривые интенсивности рентгеновского рассеяния для пленки ПВП – АН (2:1) (рис. 40). Модельная кривая интенсивности была получена сложением экспериментальных интенсивностей пленок ПВП и АН, взятых с весами равными содержанию этих составляющих в двойной полимерной системе (ПВП – АН; 2:1). В частности, было показано, что экспериментальная и модельная кривые интенсивности (рис. 40, кривые 3, 4), находятся очень близко в области больших углов рассеяния. Напротив, в области малых углов экспериментальная интенсивность рассеяния пленки ПВП – АН (кривая 3) намного больше экспериментальных интенсивностей рассеяния отдельными полимерными составляющими такой пленки (кривые 1, 2) и модельной интенсивности (кривая 4). Близкие значения экспериментальной и модельной интенсивностей в области больших углов рассеяния и значительно более высокую экспериментальную интенсивность по сравнению с модельной области объяснить интенсивностью малых углов рассеяния ОНЖОМ существованием двух отдельных фаз ПВП и АН в их смеси.

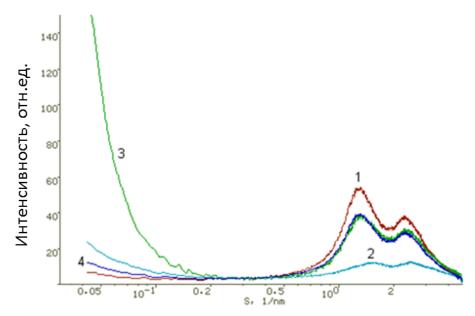


Рисунок 40. Сравнение экспериментальной и модельной дифрактограмм пленки ПВП–АН (логарифмический масштаб по оси абсцисс): 1 — экспериментальная дифрактограмма пленки ПВП, 2 - AH, $3 - \Pi B\Pi - AH$ (2:1), 4 - MO модельная дифрактограмма пленки ПВП — AH (2:1).

Причиной высокой экспериментальной интенсивности малоуглового рассеяния для пленки, состоящей из смеси ПВП и АН, может быть межфазный контраст плотности этих полимеров и/или структурные дефекты на границе раздела их фаз.

4.2. Атомно-силовая микроскопия.

Методом АСМ исследовали тонкие пленки (порядка нескольких нм), полученные на слюде из растворов ПВП и АН, а также их двойных и тройных смесей, содержащих и не содержащих Xe6Na.

Было показано, что пленки АН имеют сетчатую трехмерную структуру (рис. 41, A). В работе [197] также было отмечено, что АН при формировании пленки, полученной из его водного раствора, образует трехмерную сетку, которая состоит из отдельных цепей полимера.

ПВП не имеет четкой структурной организации и формирует на поверхности слюды тонкие сплошные пленки, состоящие из визуально бесструктурных глобул полимера (рис. 41, E).

Присутствие Xe6Na в двойных системах Xe6Na – ПВП и Xe6Na – АН не меняет вид топографии пленок АН и ПВП. По-видимому, Xe6Na равномерно распределяется в полимерной фазе, масштабы которой сравнимы с размерами волокон АН и глобул ПВП. По всей вероятности, включения отдельной фазы Xe6Na в пленках, выявленные методом рентгеновской дифракции, имеют более мелкие размеры и поэтому не видны на изображениях пленок Xe6Na – АН, полученных методом АСМ. В силу того, что толщина пленок, исследованных методом РД и АСМ, различна, процессы структурообразования в пленках Xe6Na– АН могут отличаться и молекулы Xe6Na в таких пленках, исследованных методом АСМ, равномерно распределяются в полимерной матрице АН и не образуют отдельной упорядоченной фазы Xe6Na.

При исследовании методом ACM топографии поверхности пленок на основе АН и ПВП, было показано, что структура поверхности таких пленок представлена двумя отдельными полимерными фазами (рис.41, *B*). В частности, на фоне сетчатой

структуры АН, где хорошо различимы отдельные участки его волокон, просматриваются области бесструктурного ПВП. Так, ранее в работах [198–200] методами СЭМ и АСМ, также наблюдался такой эффект фазового разделения в пленках для системы АН – ПВП, полученных поливом из раствора. При этом было показано, что сетчатая структура АН, заполненная сплошной фазой ПВП, сохраняется и в толстых пленках (порядка десятков микрон). Таким образом, полученные данные для системы АН – ПВП исследованные методом АСМ об образовании общей полимерной фазы в данной пленке, не противоречат приведенным выше данным рентгеновской дифракции о двухфазной структуре пленок АН – ПВП.

Введение Xe6Na в тонкую пленку смеси AH — ПВП по данным ACM не оказывает влияния на укладку полимерных цепей в такой пленке (рис. 41, Γ), как и в случае пленок, образованных одним из этих полимеров.

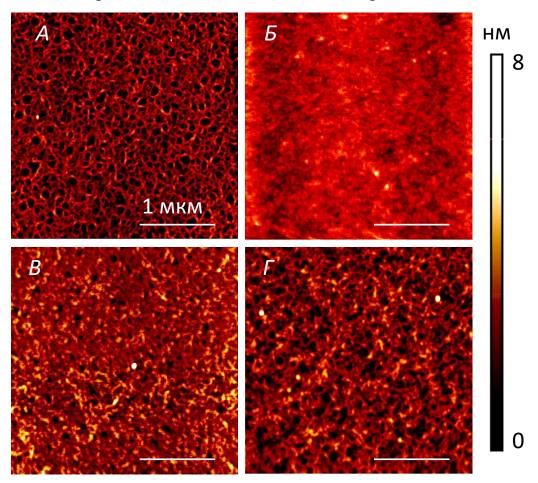


Рисунок 41. Топография тонких пленок АН (*A*), ПВП (*B*), АН–ПВП (1:2) (*B*) и Хе6Nа–ПВП–АН (1:5:5) (Γ).

4.3. Термогравиметрический анализ.

На рисунке 42 представлены кривые процесса термоокислительной деструкции (ТОД) ПВП и его композиций с ХебNа. Как видно из этого рисунка, в присутствии ХебNа наблюдается смещение в высокотемпературную область кривой ТГ ПВП (температура начала потери массы — $T_{\text{нлмПВП}} = 303^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{нлмХебNa-ПВП}} = 346^{\circ}\text{C}$), что свидетельствует о повышении термостабильности полимера (рис. 42a, кривые 1, 3). Кривая ДСК системы ХебNа — ПВП $_{\text{пленка}}$ имеет большой экзопик с максимумом при $T=441^{\circ}\text{C}$, отсутствующий на кривых ДСК ХебNa, ПВП и твердой смеси ХебNa — ПВП (рис. 42б), и соответствующий, очевидно, распаду комплекса ХебNa — ПВП.

Изменение процесса ТОД свидетельствуют об отличии процесса ТОД двойной системы $Xe6Na-\Pi B\Pi_{\Pi\Pi HKa}$ от процессов ТОД исходных компонентов Xe6Na, $\Pi B\Pi$ и твердой смеси $Xe6Na-\Pi B\Pi$.

При этом Xe6Na практически не влияет на деструкцию AH. В двойной смеси Xe6Na – AH_{пленка} отсутствует различие в характере кривых ТГ и ДСК от исходного АН и твердой смеси Xe6Na – AH_{тв.смесь} (рис. 43). В частности, температура начала потери массы для АН (Т_{нпмАН}= 220°С) не меняется в присутствии Xe6Na (Т_{нпмХе6Nа-АН}= 219°С). Характерный для АН экзо пик в области температур выше 500°С сохраняется и на кривых ДСК двойной системы Xe6Na – AH (рис. 43, кривые 1, 2). Процесс деструкции двойной смеси Xe6Na – AH_{тв.смесь} (рис. 43, кривая 3), полученной при механическом смешении компонентов, а не через раствор, аналогичен процессу ТОД АН и Xe6Na – АН_{пленка} (рис. 43, кривые 1, 2).

Характер кривых ТГ и ДСК тройной системы $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH$ (рис. 44, кривая 1) схож с характером кривых ТГ и ДСК двойной системы $Xe6Na - \Pi B\Pi$ (рис. 44, кривая 3) и исходного AH (рис. 43, кривая 2). В частности, на кривой ТГ присутствуют две стадии от системы $Xe6Na - \Pi B\Pi$ ($T_{H\Pi M} = 346^{0}$ C) и AH ($T_{H\Pi M} = 220^{0}$ C). На кривой ДСК тройной системы $Xe6Na - \Pi B\Pi - AH$ (рис. 44, кривая 1) максимум основного экзо пика аналогичен максимуму экзо пика, наблюдающегося в двойной системе $Xe6Na - \Pi B\Pi$ (температура максимального экзопика $-T_{9K3.Xe6Na-HB\Pi} = 434^{0}$ C, $T_{9K3.Xe6Na-HB\Pi} = 431^{0}$ C). Сохраняющийся высокотемпературный экзо

пик на кривой ДСК тройной системы с максимумом при $T_{\text{мах}} = 570^{\circ}\text{C}$ (рис. 44, кривая 1), характерный для АН, свидетельствует о присутствии в тройной системе небольшого количества избытка АН.

Таким образом, результаты проведенных исследований методами РД, АСМ и ТГА показали, что Xe6Na взаимодействует с ПВП и не взаимодействует с АН.

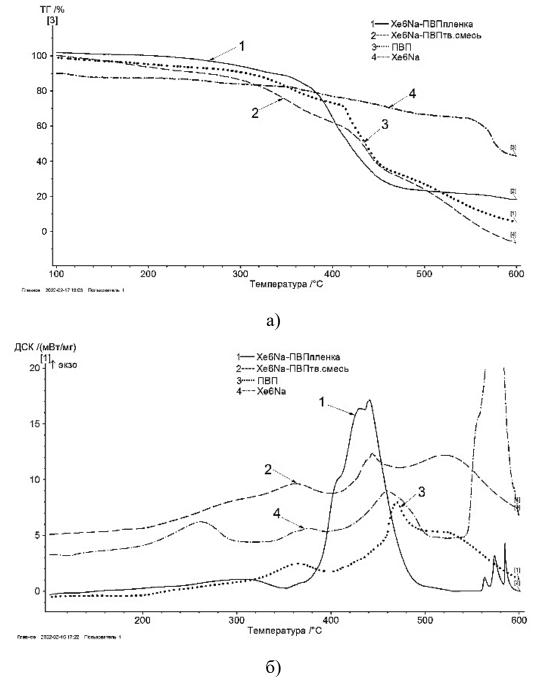


Рисунок 42. Кривые а — ТГ; б — ДСК при ТОД систем: 1 — Xe6Na — $\Pi B \Pi_{\Pi\Pi E HKa}, 2 - Xe6Na - \Pi B \Pi_{TB,CMeCb}, 3 - \Pi B \Pi, 4 - Xe6Na.$

Следует также отметить, что взаимодействия АН и ПВП в растворе не происходит, т.к. согласно данным РД и АСМ в пленках, содержащих оба этих полимера, наблюдается образование двух отдельных фаз этих полимеров, имеющих такую же структуру, как в соответствующих однокомпонентных пленках АН и ПВП.

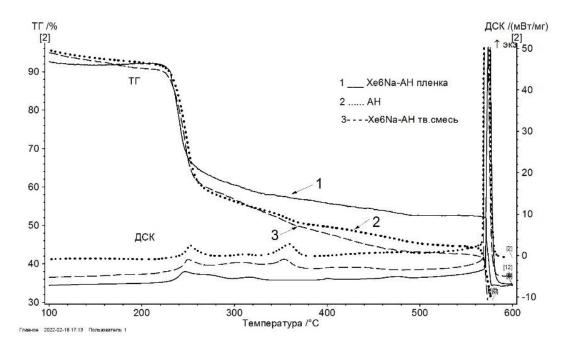


Рисунок 43. Кривые ТОД систем: $1-Xe6Na-AH_{\text{пленка}},\,2-AH,\,3-Xe6Na-AH_{\text{тв.смесь}}.$

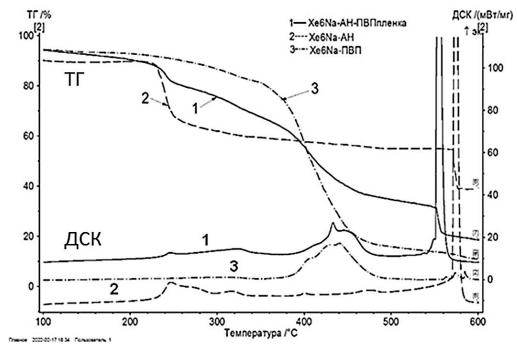


Рисунок 44. Кривые ТОД систем: $1-Xe6Na-\Pi B\Pi-AH_{пленка}, 2-Xe6Na-AH,$ $3-Xe6Na-\Pi B\Pi.$

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА НА ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПФС, В ПРИСУТСТВИИ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ И АЛЬГИНАТА НАТРИЯ.

выше отмечено, монооксид азота, Как было образующийся фоторазложении ДНКЖ, способен к взаимодействию с триплетно-возбужденными молекулами ФС, что может приводить к деструкции фотосенсибилизатора. Надежды на реализацию идеи одновременного использования ФС и ДНКЖ связаны с ранее обнаруженным нами «полимерным эффектом» – повышением в присутствии амфифильных полимеров (АП) удельной, отнесенной к молекуле ПФС. фотосенсибилизирующей активности в процессах окисления, достигается за счет солюбилизации, своего рода «капсулирования» молекул ПФС. Последний фактор может играть определяющую роль при проявлении активности ДНКЖ – продуцирования радикалов NO•.

Для выявления влияния природы Φ С на активность в генерации 1 О₂ в присутствии ДНКЖ, наряду с водорастворимым Фотодитазином в качестве Φ С был использован гидрофобный фторсодержащий тетрафенилпорфирин (ТФПF20), предварительно солюбилизированный плюроником F127.

Таким образом, в данной главе будет рассмотрено влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность водорастворимого ФД и систем на его основе - ФД – АН, ФД – ПВП, ФД – ПВП – АН, а также на активность ФС-систем на основе гидрофобного фторсодержащего ТФП – ТФПF20 – плюроник F127, ТФПF20 – плюроник F127 – АН.

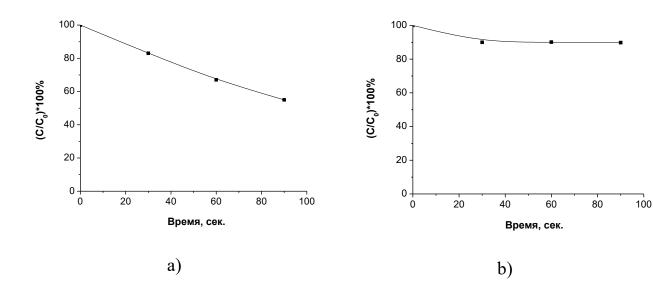
5.1. Фоторазложение динитрозильного комплекса железа с глутатионом и фотодитазина при воздействии на эти системы света с λ=400 нм.

Одна из задач данной главы состояла в установлении возможностей совмещения фотодинамических воздействий на патологические ткани и одновременного фотоинициирования в этих тканях регуляторно-регенеративных процессов со стороны радикалов NO[•], генерируемых при разложении ДНКЖ-ГЛ. Очевидная сложность достижения таких решений связана с тем, что в условиях

фотовозбуждения оба процесса – ФДТ и ДНКЖ-разложение – могут быть направлены на подавление активности друг друга.

Для установления особенностей таких взаимных воздействий и поиска факторов, позволяющих минимизировать возможное взаимное подавление двух видов терапии, вначале исследуем модельный процесс фотодеградации ДНКЖ-ГЛ и ПФС (ФД) при воздействии на эти системы фотовозбуждения с $\lambda = 400$ нм. При этом в качестве еще одного компонента в рассматриваемой модельной системе в водную среду будем вводить ПВП, оказывающий, как уже указывалось выше (см. Главу 3) существенное влияние на кинетику фотосенсибилизированного окисления органического субстрата – триптофана в присутствии ПФС, а также в присутствии АН.

Зависимости относительного содержания в растворе фотодитазина в отсутствии ДНКЖ от времени облучения представлены на рисунке 45a, а на рисунке 45b — зависимости относительного содержания ДНКЖ в отсутствие ФД. На рисунке 45c — зависимости относительного содержания ДНКЖ (кривая 1) и фотодитазина (кривая 2) в водных растворах смесей ДНКЖ-ФД, а также в присутствии ПВП (рис. 45d), АН (рис. 45e), двух полимеров ПВП и АН (рис. 45f).



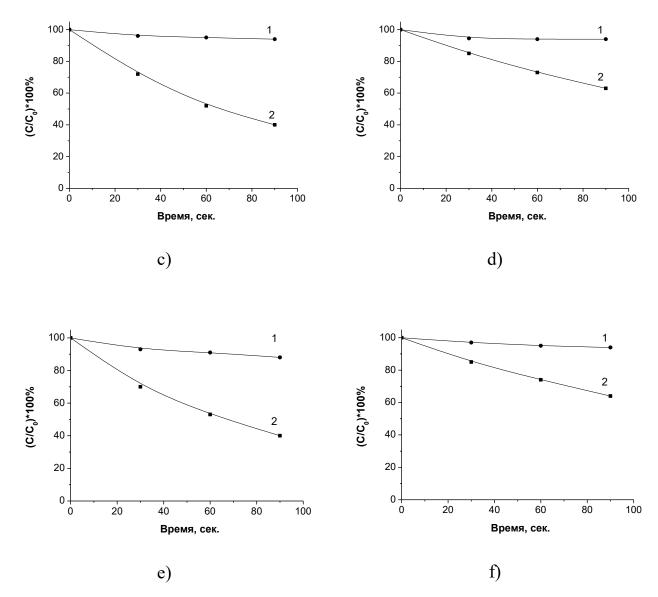


Рисунок 45. Зависимость относительного содержания от времени облучения светом с λ =400 нм в водном растворе: $\Phi\mathcal{J}$ (рис. 45a) в отсутствие $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$; $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (рис. 45b) в отсутствие $\Phi\mathcal{J}$; $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45c) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45c) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$; $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45d) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45d) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{I}B\Pi$; $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{I}B\Pi$ - $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{I}B\Pi$ - $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{I}B\Pi$ - $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ (кривая 1, рис. 45e) и $\Phi\mathcal{J}$ (кривая 2, рис. 45e) в системы $\mathcal{J}HK\mathcal{K}$ - $\Phi\mathcal{J}$ - $\mathcal{J}B\Pi$ - \mathcal{J} - $\mathcal{J$

Как указывалось выше (см. Главу 2, п.2.2.3), при анализе кинетики фоторазложения ДНКЖ и ФД, когда оба этих компонента находятся в реакционной среде, необходимо фиксировать одновременно концентрационные изменения таких компонентов. Поэтому в экспериментах, результаты которых представлены на рис. 45, наряду с исследованием уменьшения вследствие фотодеградации концентрации $C^{\Pi HKW}(t)$ целевого компонента — ДНКЖ фиксировалось уменьшение концентрации $C^{\Phi C}(t)$ молекул $\Phi Д$. На рисунке 46 представлены в качестве (точки) примеров результаты численных расчетов зависимостей $\chi_{\mathit{ДНКЖ}}(\Delta t) \approx \xi_{\mathit{ДНКЖ}} \cdot \Delta t$, получаемых в соответствии с выражением (6b, см. Главу 2, п.2.2.3), и соответствующие интерполяционные линейные аппроксимации, определяющие параметры $\xi_{\mathit{ЛНКЖ}}$, с использованием которых на основе выражений

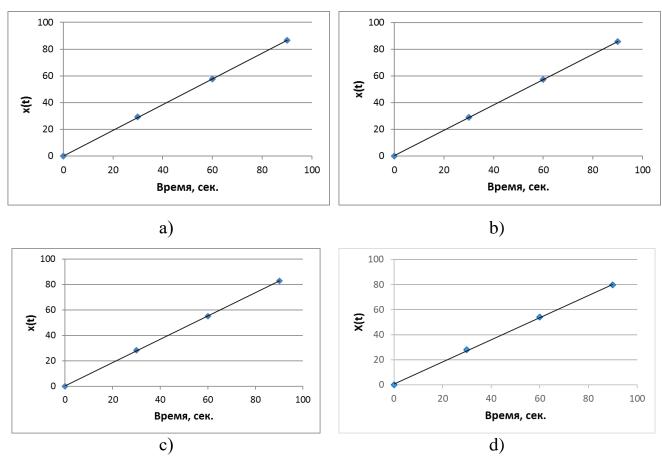
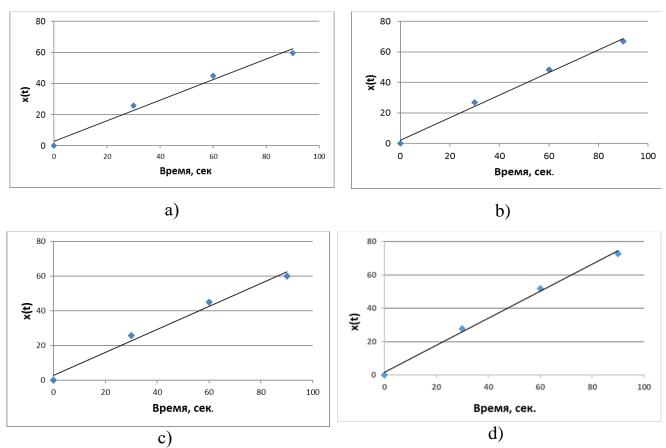


Рисунок 46. Зависимости $\chi_{\mathit{ДНКЖ}}(\Delta t) \approx \xi_{\mathit{ДНКЖ}} \cdot \Delta t$ (6b), построенные для расчета величин $\xi_{\mathit{ДНКЖ}}$, соответствующих кинетическим зависимостям, представленным на рис. 45 (c-f): для водных растворов $\mathit{ДНКЖ-\PhiД}$ (a), $\mathit{ДНКЖ-\PhiД-\PiB\Pi}$ (b), $\mathit{ДНКЖ-\PhiД-AH}$ (c), $\mathit{ДНКЖ-\PhiД-\PiB\Pi-AH}$.

типа (8) и (9) определяются константы скорости рассматриваемых процессов фотодеградации ДНКЖ. Соответствующие параметры, а также найденные величины достоверности R^2 таких аппроксимаций приведены в таблице 8. Аналогичные зависимости для определения констант скорости фотодеградации ФД представлены на рисунке 47, а соответствующие константы и величины R^2 приведены в таблице 9.

Одним из важных параметров для определения искомых констант скоростей деградации $k^{\mathcal{A}HKK}$ и $k^{\Phi\mathcal{I}}$ на основе соответствующих наблюдаемых k^i_{obs} констант фотодеструкции компонента i, т.е. ($\Phi\mathcal{I}$ или $\mathcal{I}HKK$) оказывается учет изменяющейся вследствие фотодеградации концентрации ПФС, определяющей расчетный параметр ξ_i на основе представленных на рисунках 46 и 47



зависимостей. Как следует из данных таблицы 8, констант фотолиза ДНКЖ в пределах ошибки практически не зависят от присутствия в растворе ФД, ПВП и АН, тогда как соответствующие оценки на основе наблюдаемых k_{obs}^i констант с учетом фактора ξ_i оказываются ошибочными. Очевидно, что при нахождении в водном растворе лишь ДНКЖ или фотодитазина имеем $\xi_i = 1$ и $k_{obs}^i = k^i$. С точки зрения интересующей нас проблемы влияния ДНКЖ на фотосенсибилизирующую активность ФД полученные данные указывают на повышение константы скорости деградации k^{opt} в 2 раза, вызываемое, можно полагать, взаимодействием радикалов NO $^{\bullet}$, образующихся при фоторазложении ДНКЖ, с порфириновым основанием [10]. Основной же вывод из приводимых данных — установление роли ПВП как фактора, эффективно «защищающего» ПФС от фотодеградации, в присутствии которого величина k^{opt} возросла «лишь в 1,5 раза» по сравнению с исходным значением. В свою очередь, присутствие АН в системе ФД — ДНКЖ не приводит к уменьшению фотодеструкции ФД, как это наблюдается при введении ПВП в систему ФД — ДНКЖ (таблица 9).

Таблица 8. Расчетные параметры ξ и R^2 , а также константы скорости разложения ДНКЖ при разных составах реакционной среды. Общая относительная ошибка для величин приводимых констант скорости фотолиза ДНКЖ не превышает 10% и 20%, соответственно.

Водный	ξ_i	R^2	k_{obs}^{D-DNCF}	k^{D-DNCF}
раствор			$\times 10^{3}, s^{-1}$	$\times 10^{3}, s^{-1}$
ДНКЖ	1.0	-	0.88	0.88
ДНКЖ-ФД	0.962	1.0	0.69	0.72
ДНКЖ-	0.951	1.0	0.65	0.70
ФД-ПВП				
ДНКЖ-	0.919	0.999	0.83	0.90
ФД-АН				
ДНКЖ-	0.955	0.999	0.66	0.70
ФД-ПВП-				
AH				

Таблица 9. Расчетные параметры ξ и R^2 , а также константы скорости разложения (прямого фотолиза) фотодитазина при разных составах реакционной системы. Общая относительная ошибка для величин приводимых констант скорости фотолиза фотодитазина не превышает 10%.

Водный	ξ_i	R^2	k_{obs}^{PhD}	k^{PhD}
раствор			$\times 10^{3}, s^{-1}$	$\times 10^{3}, s^{-1}$
ФД	1.0	-	4.9	4.9
ФД-ДНКЖ	0.646	0.981	6.6	10.2
ФД-	0.74	0.992	5.2	6.6
ДНКЖ-				
ПВП				
ФД-	0,642	0,982	6.6	10.3
ДНКЖ-АН				
ФД-	0.74	0.993	5.2	6.6
ДНКЖ-				
ПВП-АН				

5.2. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность водорастворимого ФД

На рисунке 48 представлена зависимость эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления триптофана в присутствии ФД от концентрации ДНКЖ. Видно,

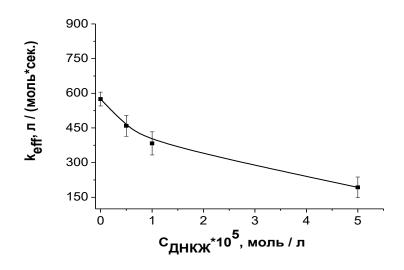


Рисунок 48. Зависимость эффективной константы скорости фотоокисления триптофана, в присутствии Φ Д от концентрации ДНКЖ, при концентрации $C_{\Phi\Pi}=2,5\cdot10^{-6}$ моль/л, $C_{T\Phi}=2,5\cdot10^{-5}$ моль/л.

что с увеличением концентрации ДНКЖ величина k_{eff} снижается. Как уже было отмечено, такой эффект может быть связан прежде всего с увеличением скорости фотодеструкции Φ Д в результате взаимодействия с радикалами NO•, образующимися в процессе фоторазложения ДНКЖ [201, 202].

Дезактивация Φ Д в условиях фотовозбуждения в присутствии NO• подтверждается падением интенсивности люминесценции синглетного кислорода, генерируемого Φ Д в присутствии ДНКЖ (λ =400 нм) по сравнению с люминсценцией 1 О₂ (рис. 49, кривая 2), генерируемого Φ Д в отсутствие ДНКЖ (рис.49, кривая 1).

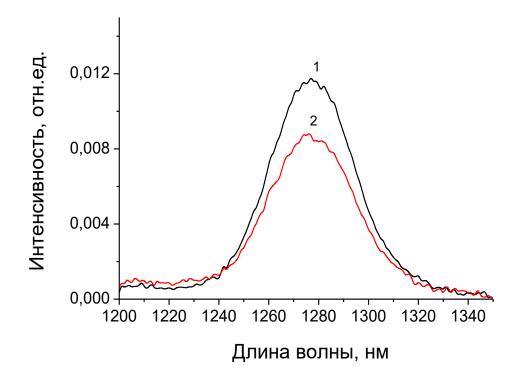


Рисунок 49. Люминесценция синглетного кислорода в D_2O . 1) Φ Д (408 nm); 2) Φ Д — ДНКЖ. Ошибка эксперимента ~ 10%. Концентрации: Φ Д — 2,5·10⁻⁶ моль/л; ДНКЖ — 1·10⁻⁵ моль/л.

5.3. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность системы ФД – ПВП – АН

5.3.1. Влияние ДНКЖ на фотокаталитическую активность $\Phi \mathcal{I}$ и системы $\Phi \mathcal{I} - AH$

В таблице 10 представлены значения эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления ТФ, катализируемого ФД, от концентрации АН в отсутствие и в присутствии ДНКЖ. Видно, что АН в указанном интервале концентраций практически не влияет (в пределах ошибки эксперимента) на величину эффективной константы скорости. Как было указано выше для Хе6Na, это, очевидно, происходит (см. Главу 4), из-за отсутствия взаимодействия между ФД и АН. При этом ДНКЖ понижает величину k_{eff} вне зависимости от присутствия АН в системе (табл.6). Как говорилось выше, такое падение k_{eff} является, очевидно, следствием разрушающего воздействия радикалов оксида азота на молекулы ФС. Таким образом, макромолекулы АН не участвуют во взаимодействии NO• с молекулами водорастворимого ФС [203].

Таблица 10. Эффективные константы скорости реакции фотоокисления триптофана в присутствии систем ФД-АН, ФД-АН-ДНКЖ.

	$k_{\it eff}$, моль/л \cdot с		
[AH]	ФД	ФД +ДНКЖ	
0	570	380	
	ФД+АН	ФД+АН+ДНКЖ	
1·10 ⁻⁴ M	560	360	
6·10 ⁻⁴ M	560	360	
$1 \cdot 10^{-3} M$	570	350	

*Относительная ошибка измерений составляла не более 10 % $C_{\phi /\!\!\!/} = 2.5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, $C_{/\!\!\!/} + 1.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

5.3.2. Фотокаталитическая активность системы ФД-ПВП-АН-ДНКЖ

Поскольку при фотоиндуцированном разложении ДНКЖ с введением в реакционную среду радикалов NO• происходит фотодеструкция молекул ФД, проблема увеличения общей скорости этого процесса должна была состоять в

исключении или в существенном снижении негативного разрушающего воздействия NO• на ФД. С этой целью в реакционную среду был введен амфифильный полимер — ПВП. Известно, что ПВП, в структуре которого присутствуют гидрофобные (винильные) и гидрофильные (пирролидоновые) фрагменты, образует водородные связи и комплексы с рядом ароматических соединений — фуллеренами, ароматическими аминами, красителями, имеющими отрицательный заряд [127]. В то же время в структуре ФД имеются три карбоксильных остатка, дополнительно поляризующие молекулу ФС. Учитывая эти свойства ФД и ПВП, можно полагать, что задача образования вокруг молекул ФС защитного полимерного слоя в присутствии указанного АП будет решена.

Действительно, в водных растворах, содержащих Φ С и ПВП, вне зависимости от присутствия других компонентов (в данном случае — АН и ДНКЖ) наблюдалось взаимодействие функциональных групп молекул Φ Д и макромолекул ПВП, приводящее к росту величины k_{eff} . На рисунке 50 представлены зависимости эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления триптофана в присутствии комплекса Φ Д — ПВП (кривая 1); комплекса Φ Д — ПВП и АН (кривая 2) и комплекса

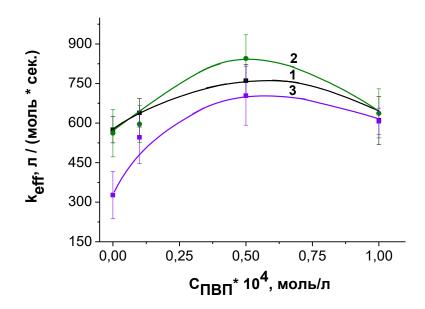
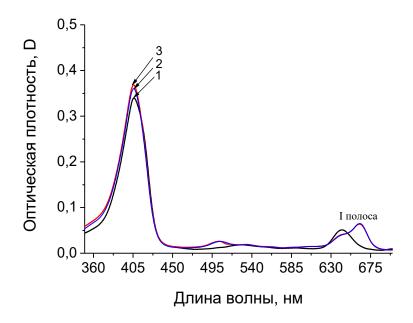


Рисунок 50. Зависимость эффективной константы скорости фотоокисления триптофана (k_{eff}), катализируемого системой ФД-ПВП в отсутствие АН (**1**) и в присутствии АН (**2,3**) и ДНКЖ (**3**) от концентрации ПВП. С $_{\Phi Д}$ =2,5·10⁻⁶ моль/л, С_{АН} =0 моль/л (1); С_{АН} = 6·10⁻⁴ (2); С_{АН} =6·10⁻⁴ моль/л, С_{ЛНКЖ}=1.0·10⁻⁵моль/л (3).

 Φ Д – ПВП, АН и ДНКЖ (рис. 50, кривая 3) от концентрации ПВП. Во всех случаях наблюдается одинаковый ход зависимостей k_{eff} = $f[\Pi B\Pi]$, свидетельствующий о росте величины k_{eff} при возрастании концентрации ПВП до молярного соотношения Φ Д:ПВП ~1:20. Некоторое уменьшение k_{eff} при дальнейшем возрастании концентрации ПВП, вероятно, связано с увеличением доли «неэффективного» связывания полимером субстрата и Φ С при возрастании концентрации АП в реакционной смеси, когда молекулы субстрата и Φ С оказываются удалены друг от друга. Ранее аналогичный эффект мы наблюдали при фотоокислении триптофана, сенсибилизированном системой Т Φ ФП – ПВП [187].

Увеличение константы скорости фотоокисления триптофана в системе ПФС – ПВП, как нами ранее было показано, связано с процессами дезагрегации ассоциатов молекул ФС, исходно существующих в водных растворах, вследствие межмолекулярного взаимодействия между периферийными группами молекул ФС и фрагментами макромолекул АП. В то же время в отсутствие ПВП (нулевые точки на кривых) ДНКЖ понижает величину k_{eff} , а в присутствии ПВП активность систем ФД – ПВП – АН – ДНКЖ, как следует из рисунка 50, приближается к активности систем ФД – ПВП. Это свидетельствует о способности ПВП препятствовать нежелательному взаимодействию NO• молекулами ΦД c условиях фотовозбуждения.

На взаимодействие Φ Д с ПВП в системах Φ Д – ПВП – АН и Φ Д – ПВП – АН и Φ Д – ПВП – АН – ДНКЖ указывает батохромный сдвиг полосы I в ЭСП Φ Д при введении ПВП в вышеуказанные реакционные смеси, а также батохромные сдвиги и рост интенсивности полос люминесценции в спектрах флуоресценции в указанных системах (по сравнению со спектром исходного Φ Д). Так, в ЭСП фотодитазина (рис. 51, кривая 1) сдвигается в красную область на \sim 21 нм только при добавлении АП, это проявляется в спектрах поглощения Φ Д – ПВП, Φ Д – ПВП – АН, Φ Д – ПВП – ДНКЖ и Φ Д – ПВП – АН – ДНКЖ (кривые 2, 3, 5, 6). Аналогичные батохромные сдвиги и рост интенсивности полос наблюдаются и в спектрах флуоресценции (рис. 52).



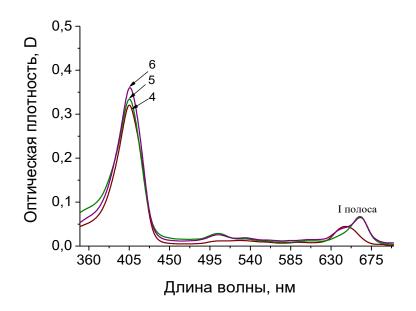
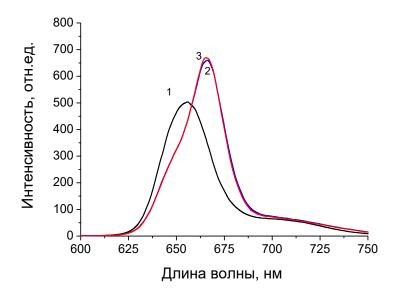


Рисунок 51. Электронные спектры поглощения:1) ФД (2,5 \cdot 10⁻⁶ моль/л); 2) ФД – ПВП (1 \cdot 10⁻⁴моль/л); 3) ФД – ПВП – АН (6 \cdot 10⁻⁴моль/л); 4) ФД – ДНКЖ (1.0 \cdot 10⁻⁵моль/л); 5) ФД – ПВП – ДНКЖ; 6) ФД – ПВП – АН (6 \cdot 10⁻⁴ моль/л) – ДНКЖ.



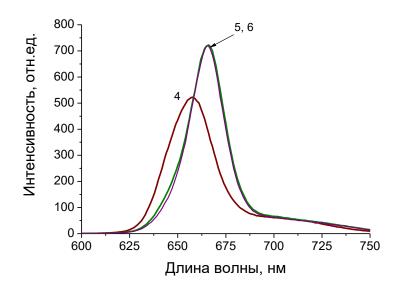


Рисунок 52. Спектры флуоресценции:1) ФД (2,5·10⁻⁶ моль/л); 2) ФД – ПВП (1·10⁻⁴моль/л); 3) ФД – ПВП – АН (6·10⁻⁴моль/л); 4) ФД – ДНКЖ (1.0·10⁻⁵моль/л); 5) ФД – ПВП – ДНКЖ; 6) ФД – ПВП – АН (6·10⁻⁴ моль/л) – ДНКЖ.

5.4. Влияние ДНКЖ и АН на фотокаталитическую активность солюбилизированного плюроником F127 гидрофобного ТФПF20

Известно, что водорастворимость гидрофобных ПФС можно достигать путем их солюбилизации амфифильными полимерами, в частности, мицеллообразующим триблоксополимером этилен- и пропилен- оксида плюроником F-127. Благодаря своему строению (гидрофобная внутренняя часть и «гидрофильная опушка»),

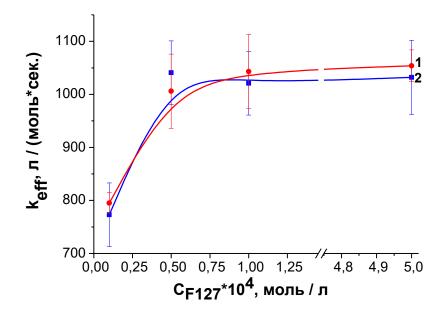
мицеллы плюроника способны солюбилизировать, то есть переводить в водный раствор неполярные вещества, практически нерастворимые в воде [204]. Можно полагать, что такая «инкапсуляция» молекул ПФС в мицеллы позволит предотвратить негативное воздействие радикалов NO•, образующихся при фоторазложении ДНКЖ.

Действительно, на рисунке 53A представлены зависимости эффективной константы скорости k_{eff} фотоокисления триптофана в присутствии систем ТФПF20 – F127 (рис. 53A, кривая 1) и ТФПF20 – F127 – ДНКЖ (рис. 53A, кривая 2) от концентрации плюроника F127. Видно, что добавление ДНКЖ к системе ТФПF20 – F127 не влияет на величину k_{eff} . Можно полагать, что в случае солюбилизированного гидрофобного ТФПF20 плюроник является барьером, препятствующим такому влиянию.

На рисунке 53Б представлены зависимости эффективной константы скорости $k_{e\!f\!f}$ фотоокисления триптофана в присутствии систем ТФПF20 - F127 - AH (рис. 53Б, кривые 3, 4) и ТФПF20 - F127 - AH - ДНКЖ (рис. 53Б, кривая 5) от концентрации плюроника F127. Видно, что при добавлении АН к системе ТФПF20 - F127 значения $k_{e\!f\!f}$ практически неизменны относительно значений $k_{e\!f\!f}$, наблюдающихся для системы ТФПF20 - F127. Как выше было показано, полианион АН не взаимодействует с водорастворимым анионным хлорином е6, аналогом ФД. В случае солюбилизированного нейтрального ТФПF20, по-видимому, ФС также не взаимодействует с полисахаридом, что проявляется в отсутствии влияния АН на фотокаталитическую активность систем ТФПF20 - F127 и ТФПF20 - F127- АН - ДНКЖ.

Отсутствие влияния АН и ДНКЖ на систему ТФПF20 – F127 подтверждается спектрами флуоресценции для этих систем (рис. 54, 55).

Было проведено исследование влияния ДНКЖ на фогенерацию ${}^{1}O_{2}$ в системе ТФПF20 – F127 – AH. На рисунке 56 приведен спектр люминесценции синглетного кислорода для систем ТФПF20 – F127, ТФПF20 – F127 – AH и ТФПF20 – F127 – AH – ДНКЖ. Видно, что присутствие ДНКЖ в системе ТФПF20 – F127 – AH



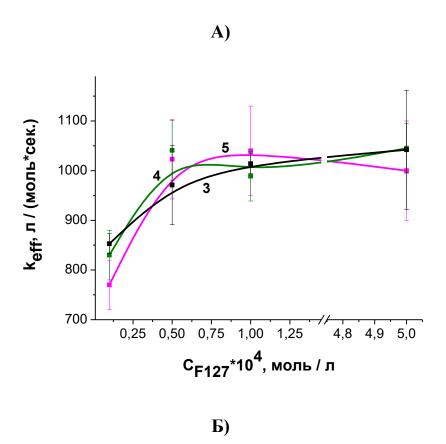


Рисунок 53. Зависимость эффективной константы k_{eff} скорости фотоокисления триптофана, катализируемого системой ТФПF20 – F127 – ДНКЖ в отсутствии (**A**) и в присутствии (**B**) АН от концентрации плюроника F127. (1) $C_{\text{ДНКЖ}} = 0$ моль/л; (2) $C_{\text{ДНКЖ}} = 1.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; (3) $C_{\text{АН}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_{\text{ДНКЖ}} = 0$ моль/л; (4) $C_{\text{АН}} = 6 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_{\text{ДНКЖ}} = 0$ моль/л; (5) $C_{\text{АН}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $C_{\text{ДНКЖ}} = 1.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

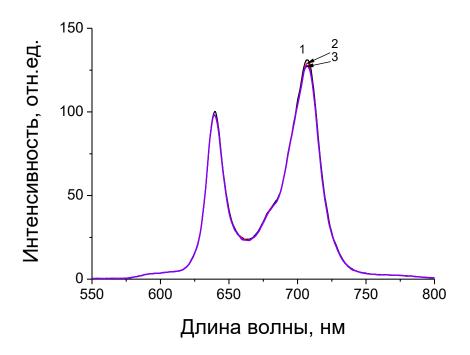


Рисунок 54. Спектры флуоресценции:1) ТФПF20 – F127($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 2) ТФПF20 – F127 – АН ($6 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 3) ТФПF20 – F127 – АН ($6 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

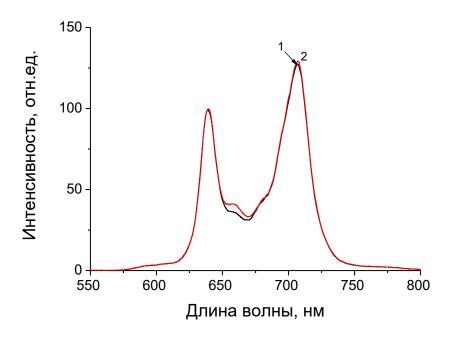


Рисунок 55. Спектры флуоресценции: 1) ТФПF20 — F127 ($5\cdot10^{-4}$ моль/л) — ДНКЖ; 2) ТФПF20 — F127 — АН ($1\cdot10^{-4}$ моль/л) — ДНКЖ.

снижает интенсивность люминесцении ${}^{1}\text{O}_{2}$. При этом, как было показано выше (рис. 53) эффективная константа скорости систем ТФПF20 – F127 и ТФПF20 – F127 – АН в присутствии ДНКЖ не снижается. Очевидно, такое падение интенсивности люминесценции в присутствии ДНКЖ, может быть связано с взаимодействием синглетного кислорода с радикалами NO• (см. Главу 1, п.1.7.1).

Таким образом, в данной главе показано, что в реакции фотоокисления триптофана Φ С, катализируемого Φ С – гидрофобным (ТФПF20) и водорастворимым (Φ Д), в присутствии АП (плюроник F127, ПВП) ДНКЖ не уменьшает эффективную константу скорости k_{eff} фотоокисления триптофана. Иными словами, АП «защищают» порфирины (гидрофобные и водорастворимые) от взаимодействия с образующимся при освещении ДНКЖ оксидом азота, приводящего к постепенному разрушению системы сопряженных двойных связей и падению способности активировать молекулярный кислород.

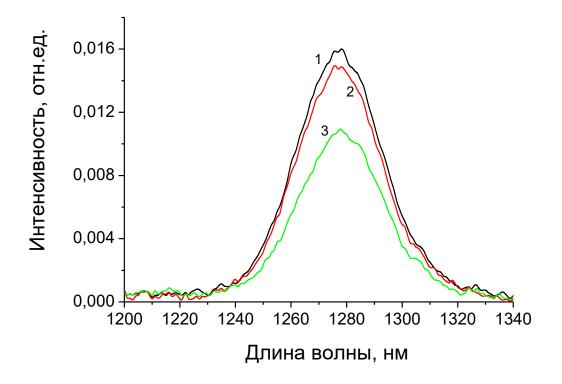


Рисунок 56. Люминесценция синглетного кислорода в D_20 : 1) ТФПF20 (2,5· 10^{-6} моль/л) – F127 (1· 10^{-4} моль/л) (410 нм); 2) ТФПF20 – F127 – АН (1· 10^{-4} моль/л); 3) ТФПF20 – F127 – АН – ДНКЖ (1· 10^{-5} моль/л).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

- 1. Разработаны фотосенсибилизирующие полимерные композиции генерации ${}^{1}\text{O}_{2}$ на основе фотодитазина и поливинилпирролидона в присутствии биологически активных молекул (альгината натрия и ДНКЖ-ГЛ), показавшие высокую эффективность в модельных реакциях фотоокисления триптофана и при лечении экспериментальных ран у лабораторных животных методом АФДТ.
- 2. Установлена роль каждого из полимерных компонентов фотосенсибилизирующей системы. Так, показано, что ПВП предотвращает разрушающее воздействие радикалов NO•, вырабатываемых при фоторазложении ДНКЖ, на молекулы фотодитазина. В то же время альгинат натрия, не подавляя активность ФД в фотогенерации ${}^{1}\text{O}_{2}$, оказывает invivo на раневую поверхность животных заживляющее действие в сеансах фотодинамической терапии.
- 3. Методами ДРС, ¹Н ЯМР спектроскопии, РД, АСМ и ТГА показано, что в водных растворах, содержащих исследуемые фотосенсибилизирующие полимерные системы и в твердых пленках, формируемых при испарении данных растворов Xe6Na и ПВП образуют комплексы; при этом полимерные компоненты АН и ПВП не взаимодействуют друг с другом.
- 4. Показано, что фторированный тетрафенилпорфирин ТФПГ20, солюбилизированный плюроником F127, обладает высокой фотокаталитической активностью в присутствии как ДНКЖ, так и АН, что связано со стабилизацией мицеллярной структуры плюроников при солюбилизации гидрофобных порфиринов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

In vivo эксперименты по фотодинамическому воздействию с использованием композиционных систем фотодитазина с ПВП, ДНКЖ и АН при лечении модельных ранах у лабораторных животных.

Исследования были выполнены на животных (23 крысы), разделенных на 6 групп, по 4-5 крысы в каждой, в зависимости от способа обработки раны в каждой группе (Таблица 11). Экспериментальные группы I–V служили в качестве контроля для базовой экспериментальной группы VI. В исследовании использовали модель полнослойной плоской раны с тефлоновыми ограничительными кольцами, описанной в работе [205].

Таблица 11. Распределение животных по группам

Группа	I	II	III	IV	V	VI
Обработка	нет	ФД+	AH+	ПВП-	ФД-АН-	ФД-ПВП-АН-
		hν	hν	AH+hν	ДНКЖ+һѵ	ДНКЖ+һѵ

Показано, что добавление ПВП, АН и ДНКЖ в раствор фотодитазина (VI группа) значимо уменьшает геморрагический эффект ФДТ, обычно характерный для этого метода и затрудняющий кровоток в ране. Кроме того, на основании результатов гистологических исследований, было показано, что такие показатели, как пролиферация фибробластов, рост и созревание грануляционной ткани в группе VI (ФД-ПВП-АН-ДНКЖ) достоверно выше, чем в остальных группах. Это объясняется наличием в составе композиций ДНКЖ, в частности, его стимулирующим влиянием на пролиферацию фибробластов и рост грануляционной ткани [203].

СПИСОК ПРИНЯТЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФДТ – антибактериальная фотодинамическая терапия

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость

АФК – активные формы кислорода

ТФ – триптофан

ФС – фотосенсибилизатор

ПФС – порфириновый фотосенсибилизатор

ФД – фотодитазин

Xe6Na – тринатриевая соль хлорина е6

ТФПF20 – пентафторфенилпорфирин

 $T\Phi\Phi\Pi$ — тетрацезиевая соль 5,10,15,20-тетракис[4-(1'-карба-клозо-додекар- боран-1'-ил)тетрафторфенил] порфирина

 H_2P — порфин

МП – металлопорфирин

ТФП – тетрафенилпорфирин

 $H_2Д\Gamma\Pi$ — дигидропорфирин (хлорин)

АП – амфифильные полимеры

 $\Pi B \Pi -$ поливинилпирролидон

ПЭГ – полиэтиленгликоль

 ΠBC — поливиниловый спирт

F127 – плюроник F127

АН – альгинат натрия

ДНКЖ-ГЛ – динитрозильный комплекс железа с глутатионом

ГЛБ – гидрофильно-липофильный баланс

РД – рентгеновская дифракция

АСМ – атомно-силовая микроскопия

ТГА – термогравиметрический анализ

ДРС – динамическое рассеяние света

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Hamblin M.R., O'Donnell D.A., Murthy N., Contag Christopher H., Tayyaba Hasan. Rapid control of wound infections by targeted photodynamic therapy monitored by *In vivo* bioluminescence imaging // Photochem. Photobiol. − 2002. − V.7. − №1. − P. 51–57.
- Huang L., Xuan Y., Koide Y., Zhiyentayev T., Tanaka M., and Hamblin M. R. Type I and Type II mechanisms of antimicrobial photodynamic therapy: An in vitro study on gramnegative and gram-positive bacteria // Lasers Surg. Med. – 2012. – V. 44. – №6. – P. 490– 499.
- 3. Du B., Tung C.-H. Enzyme-Assisted Photodynamic Therapy Based on Nanomaterials // ACS Biomater. Sci. Eng. − 2020. − № 6. − P. 2506–2517.
- 4. Fraix A., Sortino S. Combination of PDT photosensitizers with NO photodononors // Photochem. Photobiol. Sci. 2018. № 17. P. 1709–1727.
- 5. Summa M., Russoa D., Penna I., Margarolia N., Bayer I. S., Bandiera T., Athanassiou A., Bertorelli R. A biocompatible sodium alginate/povidone iodine film enhances wound healing // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018. V. 122. P. 17–24.
- 6. Szekalska M., Puciłowska A., Szymańska E., Ciosek P., and Winnicka K. Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications // International Journal of Polymer Science. 2016. V. 2016. P. 1–17.
- 7. Пат. 2609735 РФ. Способ оптимизации фотодинамической терапии гнойных ран / Соловьева А.Б., Аксенова Н.А., Спокойный А.Л.; заявл. 09.12.2015; опубл. 02.02.2017.
- 8. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами. Ванин А.Ф. М. Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2015. 220 с.
- 9. Vanin A.F., Poltorakov A.P., Mikoyan V.D., Kubrina L. N., Burbaev D. S. Polynuclear water-soluble dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands: Electron paramagnetic resonance and optical studies // Nitric Oxide. 2010. V.23. P. 136–149.
- 10. Singh R.J., Hogg N., Joseph J., Kalyanaraman B. Photosensitized decomposition of S-nitrosothiols and 2-methyl-2-nitrosopropane. Possible use for site-directed nitric oxide

- production // FEBS Letters. 1995. V. 360. №1. P. 47–51.
- Rossi E., Vorst A., Jori G. Competition Between the Singlet Oxygen and Electron Transfer Mechanisms in the Porfyrin-Sensitized Photooxidation of L-Tryptophan and Tryptamine in Aqueous Micellar Dispersions // Photochemistry and Photobiology. – 1981. – V. 34. – P. 447–454.
- 12. Kalaiarasan E., Kottha T., Harish B. N., Gnanasambandam V., Sali V. K., John J. Inhibition of quorum sensing-controlled biofilm formation in Pseudomonas aeruginosa by quorum-sensing inhibitors // Microbial Pathogenesis. 2017. –V. 111. P. 99–107.
- 13. Misba L., Zaidi S., Khan A. U. A comparison of antibacterial and antibiofilm efficacy of phenothiazinium dyes between Gram positive and Gram negative bacterial biofilm // Photodiagnosis and Photodynamic therapy. 2017. V. 18. P. 24–33.
- 14. Anju V.T., Parasuraman Paramanantham, Sruthil Lal S.B, Alok Sharan, Asad Syed, Needa A. Bahkali, Marzouq H. Alsaedi, K. Kaviyarasu, Siddhardha Busi. Antimicrobial photodynamic activity of toluidine blue-carbon nanotube conjugate against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus Understanding the mechanism of action // Photodiagnosis and Photodynamic therapy. 2019. V. 27. P. 305–316.
- Акопов А.Л., Казаков Н.В., Русанов А.А., Карлсон А. Механизм фотодинамического воздействия при лечении онкологических больных // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2015. №2. С. 9–15.
- 16. Dabrowski J. M., Arnaut, L. G. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment // Photochemical & Photobiological Sciences. 2015. V.14, № 10. P. 1765–1780.
- 17. Oniszczuk A., Wojtunik-Kulesza K. A., Oniszczuk T., Kasprzak K. The potential of photodynamic therapy (PDT)—experimental investigations and clinical use // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016. V. 83. P. 912–929.
- Hamblin, M. R., Hasan, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? // Photochemical and Photobiological Sciences. 2004. V.3, № 5. P. 436–450.
- 19. Hu X., Zhang H., Wang Y., Shiu B.C., Lin J.H., Zhang S., Lou C.W., Li T.T. Synergistic antibacterial strategy based on photodynamic therapy: progress and perspectives //

- Chemical Engineering Journal. 2022. V. 450. P. 138–129.
- 20. Sun X., Wang L., Lynch C.D., Sunetal X. Nanoparticles having amphiphilic silane containing Chlorin e6 with strong anti-biofilm activity against periodontitis-related pathogens// Journal of Dentistry. 2019. –V. 81. P. 70–84.
- 21. Reis A.C.M., Fernandes W., Regis M. Scientific evidence in antimicrobial photodynamic therapy: An alternative approach for reducing cariogenic bacteria // Photodiagnosis and Photodynamic therapy. 2019. V. 26. P. 179–189.
- 22. Akhtar F., Khan A.U., Misba L., Akhtar K., Ali A. Antimicrobial and antibiofilm photodynamic therapy against vancomycin resistant Staphylococcus aureus (VRSA) induced infection in vitro and in vivo // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2021. V. 160. P. 65–76.
- 23. Meerovich G.A., Akhlyustin E.V., Tiganova I.G., Lukyanets E.A., Makarova E.A., Tolordava E.R., Yuzhakova O.A., Romanishkin I.D., Philipova N.I., Zhizhimova Y.S., Gonchukov S.A., Romanova Y.M., Loschenov V.B. Photodynamic inactivation of pseudomonas aeruginosa bacterial biofilms using new polycationic photosensitizers // Laser Physics Letters. − 2019. −V. 16, №11. −P. 1−5.
- 24. Hanakova A., Bogdanova K., Tomankova K., Pizova K., Malohlava J., Binder S., Bajgar R., Langova K., Kolar M., Mosinger J., Kolarova H. The application of antimicrobial photodynamic therapy on s. aureus and e. coli using porphyrin photosensitizers bound to cyclodextrin // Microbiological Research. 2014. V. 169 (2–3). P. 163–170.
- 25. Huang L., Xuan Y., Koide Y., Zhiyentayev T., Tanaka M., Hamblin M. R. Type I and type II mechanisms of antimicrobial photodynamic therapy: an in vitro study on gram-negative and gram-positive bacteria // Lasers in Surgery Medicine. − 2012. − V. 44, №. 6. − P. 490–499.
- 26. Гейниц А.В., Толстых П.И., Дербенёв В.А. Фотодинамическая терапия гнойных и длительно не заживающих ран: пособие для врачей. Москва: Министерство здравоохранения РФ. 2004. 15 с.
- 27. Толстых П.И., Дербенев В.А., Соловьева А.Б., и др. Теоретические и практические аспекты лазерной фотохимии для лечения гнойных ран // Биотерапевтический журнал, -2008, т. 7, №4, С. 20–24.

- 28. Cristina Parisia, Mariacristina Faillab, Aurore Fraixa, Antonio Rescifinaa, Barbara Rolandob, Loretta Lazzaratob, Venera Cardilec, Adriana C.E. Grazianoc, Roberta Frutterob, Alberto Gascob, Salvatore Sortino. A molecular hybrid producing simultaneously singlet oxygen and nitric oxide by single photon excitation with green light // Bioorganic Chemistry. 2019. V. 85. P. 18–22.
- 29. Azadikhah F., Karimi A. R., Yousefi G. H., Hadizadeh M. Dual antioxidant-photosensitizing hydrogel system: Cross-linking of chitosan with tannic acid for enhanced photodynamic efficacy// International Journal of Biological Macromolecules. 2021. V.188. P. 114–125.
- 30. Solovieva A.B., Rudenko T.G., Shekhter A.B., Glagolev N.N., Spokoinyi A.L., Fayzullin A.L., Aksenova N.A., Shpichka A.I., Kardumyan V.V., Timashev P.S. Broad-spectrum antibacterial and pro-regenerative effects of photoactivated Photodithazine-Pluronic F127-Chitosan polymer system: In vivo study // Photocemistry&Photobiology B: Biology. 2020. V. 210, 111954. P. 1–7.
- 31. Krasnovsky A. A. Primary mechanisms of photoactivation of molecular oxygen. History of development and the modern status of research // Biochem. 2007. V. 72, № 10. P. 1065–1080.
- 32. Bonnett R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy // Chemical Society Rewiews. 1995. V.24. N. 1. P. 19–33.
- 33. Узденкий А.Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. Санкт-Петербург: Наука. 2010. 326 с.
- 34. Узденкий А.Б Биофизические аспекты фотодинамической терапии // Биофизика. 2016. Т.61, № 3. С. 547—557.
- 35. Странадко Е.Ф. Основные механизмы фотодинамической терапии // Фотобиол. и экспер. мед. 1999. №1. С.36–43.
- 36. Krasnovsky A.A. Photoluminescence of singlet oxygen in pigment solutions // Photochemical & Photobiological Sciences. 1979. V.29. P.29–36.
- Tanielian C., Wolff C. Porphyrin-sensitized generation of singlet molecular oxygen: comparison of steady-state and time-resolved methods // J. Physical Chemistry. 1995.
 V. 99, № 24. P. 9825–9830.

- 38. Красновский А.А. Люминесценция при фотосенсибилизированном образовании синглетного кислорода в растворах. В кн.: Возбужденные молекулы. Кинетика превращений. Под ред. А.А.Красновского. Л.: Наука, 1982, с.32–50.
- 39. Falick A.M., Mahan B.H., Myers R.J. Paramagnetic Resonance Spectrum of the $^1\Delta_g$ Oxygen Molecule // J.Chem.Phys. − 1965. − V.42, №5. − P.1837–1838.
- 40. Nardi G., Manet I., Monti S., Miranda M. A., Lhiaubet-Vallet V. Scope and limitations of the TEMPO/EPR method for singlet oxygen detection: the misleading role of electron transfer // Free Radical Biology and Medicine. 2014. V. 77. P. 64–70.
- 41. Krieg, M. Determination of singlet oxygen quantum yields with 1,3-diphenylisobenzofuran in model membrane systems // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 1993. V. 27, № 2. P. 143–149.
- 42. Foote C.S., Wexler S. Olefin oxidations with excited singlet molecular oxygen // Journal of the American Chemical Society. − 1964. − V. 86, №18. − P. 3879–3880.
- 43. Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy. Boca Raton: CRC Press. 2000. 324 P.
- 44. Kuimova M. K., Yahioglu G., Ogilby P. R. Singlet oxygen in a cell: spatially dependent lifetimes and quenching rate constants // Journal of the American Chemical Society. 2009. V. 131, №1. P. 332–340.
- 45. Oliveira C. S., Turchiello R., Kowaltowski A. J., Indig G. L., Baptista M. S. Major determinants of photoinduced cell death: subcellular localization versus photosensitization efficiency // Free Radical Biology and Medicine. − 2011. − V. 51 №4. − P. 824–833.
- 46. Sharma S. K., Mroz P., Dai T., Huang Y.-Y., Denis T. G. St., Hamblin M. R. Photodynamic therapy for cancer and for infections: What is the difference? // Israel Journal of Chemistry. 2012. V. 52. P. 691–705.
- 47. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. − 1997. − V. 39, № 1. − P. 1–18.
- 48. Juzenas P., Moan J. Singlet oxygen in photosensitization // Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology. 2006. V. 25, №1–2. P. 29–50.

- 49. Aveline B.M. Primary processes in photosensitization mechanisms // Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis in dermatology. Ed. by P. Calzavara-Pinton, P. M. Szeimies, and B. Ortel / Amsterdam: Elsevier, 2001, P. 17–37. 394 p.
- 50. Liu Y., Qin R., Zaat S.A.J. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. Journal of Clinical and Translational Research. −2015. − V.1, № 3. − P.140–167.
- 51. Wainwright M., Maisch T., Nonell S., Plaetzer K., Almeida A., Tegos G.P., Hamblin M.R. Photoantimicrobials—are we afraid of the light? // The Lancet Infectious Diseases. 2017. V. 17, № 2. P. 49–55.
- 52. Abrahamse H., Hamblin M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy // Biochemical Journal. 2016. V. 473, № 4. P. 347–364.
- 53. 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., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B. C., Golab J. Photodynamic Therapy of Cancer: An Update // CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2011. V. 61, № 4. P.205–282.
- 54. Соловьева А.Б., Спокойный А.Л., Руденко Т.Г., Шехтер А.Б., Глаголев Н.Н., Аксенова Н.А., Баранов А.В. Влияние водорастворимых полимеров на активность фотодитазина при фотодинамической терапии гнойных ран мягких тканей в эксперименте // Клиническая практика. 2016. №2. С. 45–49.
- 55. Silhavy T. J.; Kahne D.; Walker S. The bacterial cell envelope // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2010. V. 2, № 5. P. 1–16.
- 56. Hamblin M. R. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. − 2002. − V. 49, № 6. − P. 941–951.
- 57. Dosselli R., Ruiz-González R., Moret F., Agnolon V., Compagnin C., Mognato M., Sella V., Agut M., Nonell S., Gobbo M. and Reddi E. Synthesis, spectroscopic, and photophysical characterization and photosensitizing activity toward prokaryotic and eukaryotic cells of porphyrin-magainin and -buforin conjugates // Journal of Medical Chemistry. − 2014. − V. 57, № 4. − P. 1403–1415.
- 58. Dosselli R., Tampieri C., Ruiz-González R., eds. Synthesis, characterization, and

- photoinduced antibacterial activity of porphyrin-type photosensitizers conjugated to the antimicrobial peptide apidaecin 1b // Journal of Medical Chemistry. -2013. V.56, N_{\odot} 3. -P.1052-1063.
- 59. Josefsen L. B., Boyle R. W. Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitisers // Metal-Based Drugs. 2008. V. 2008. P. 1–23.
- 60. Dolmans D., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy for cancer // Nature Reviews Cancer. 2003. V. 3, № 5. P. 380–387.
- 61. O'Connor A.E., Gallagher W.M., Byrne A.T. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy // Photochemistry and Photobiology. − 2009. − V. 85, №5. − P. 1053–1074.
- 62. Zhang J., Jiang C., Figueiró Longo J. P., Azevedo R. B., Zhang H., Muehlmann L.A. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy // Acta Pharmaceutica Sinica B. − 2018. − V. 8, № 2. − P. 137–146.
- 63. Dougherty T. J. Introduction // Photodynamic Therapy: Methods in Molecular Biology. Ed.by Gomer C.J. / Totowa: Humana Press. 2010. V. 635. P. 1–6. 296 p.
- 64. Schwartz S., Absolon K., Vermund H., Some relationships of porphyrins, X-rays, and tumors // University of Minnesota Medical School. 1955. V. 27. P. 7–13.
- 65. Schuitmaker J.J., Baas P., van Leengoed H. L., van der Meulen, F.W., eds. Photodynamic therapy: a promising new modality for the treatment of cancer // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. − 1996. − V. 34, № 1. − P. 3–12.
- 66. Лукьянец Е.А. Поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2013. № 3. С. 3–16.
- 67. Boyle R.W., Sandland J. Photosensetizer antibody-drug-conjugates: past, present and future // Bioconjugating chemistry. 2019. V. 30, №4. P. 975–993.
- 68. Otvagin V., Kuzmina N. S., Kudriashova E. S., Nyuchev A. V., Gavryushin A. E., Fedorov A. Y. Conjugates of Porphyrinoid-Based Photosensitizers with Cytotoxic Drugs: Current Progress and Future Directions toward Selective Photodynamic Therapy //J. Med. Chem. 2022. V. 65, №3. –P.1695–1734.
- 69. Vakrat-Haglili Y., Weiner L., Brumfeld V., Brandis A., Salomon Y., Mcllroy B., Wilson B. C., Pawlak A., Rozanowska M., Sarna T., Scherz A. The microenvironment effect on

- the generation of reactive oxygen species by Pd–Bacteriopheophorbide // Journal of the American Chemical Society. 2005. V. 127, № 17. P. 6487–6497.
- 70. Mahammed A., Gross Z. Corroles as triplet photosensetizers // Coord. Chem. Rev. 2019. V. 379. P. 121–132.
- Preu A., Saltsman I., Mahammed A., Pfitzner M., Goldberg I., Gross Z., Rober B. Photodynamic inactivation of mold fungi spores by newly developed charged corroles // J. Photochem. Photobiol. B. 2014. V. 133. P. 39–46.
- 72. Ludmila M. Baltazar, Anjana Ray, Daniel A. Santos, Patrícia S. Cisalpino, Adam J. Friedman and Joshua D. Nosanchuk. Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control fungal infections // Frontiers in Microbiology. 2015. V. 6. P.1–11.
- 73. Maisch Tim. Strategies to optimize photosensitizers for photodynamic inactivation of bacteria // J. Photochem. Photobiol. B. 2015. V.150. P.2–10.
- 74. Oniszczuka A., Wojtunik-Kuleszaa K. A., Oniszczukb T., Kasprzaka K. The potential of photodynamic therapy (PDT)—Experimental investigations and clinical use // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016. №83. P.912–929.
- 75. Rosa L. P., F.C. da Silva. Antimicrobial photodynamic therapy: a new therapeutic option to combat infections // J. Med. Microb. Diagn. 2014. №3. P.1–7.
- 76. Функциональные материалы на основе тетрапиррольных макрогетероциклических соединений / Под ред. О.И. Койфмана. М.: ЛЕНАНД. 2019. 848 с.
- 77. Simoes J.C.S., Sarpaki S., Papadimitroulas P., Therrien B., Loudos G. Conjugated photosensitizers for imaging and PDT in cancer research // J. Med. Chem. − 2020. −№63. −P.14119–14150.
- 78. Duse L., Agel M. R., Pinnapireddy S. R. Photodynamic Therapy of Ovarian Carcinoma Cells with Curcumin-Loaded Biodegradable Polymeric Nanoparticles // Pharmaceutics. 2019. V.11, №282. –P.1–18.
- 79. Mfouo-Tynga I. S., Dias L. D., Inada N. M. Features of third generation photosensitizers used in anticancer photodynamic therapy: Review // Photodiagnosis and Photodynamic therapy. 2021. V.34. –P.1–11.
- 80. Соловьева А. Б., Толстых П.И., Иванов А.В., Глаголев Н.Н., Мелик-Нубаров Н.С.,

- Жиентаев Т.М., Шин Ф.Е., Кулешов И.Ю. Полимеры в фотодинамической терапии: наноразмерные комплексы плюрониковс фотодитазином при лечении ожогов и гнойных ран // Альманах клинической медицины. 2008, № 2. С. 362–365.
- 81. Крук Н.Н. Строение и оптические свойства тетрапиррольных соединений: монография / Крук Н.Н. Минск: БГТУ. 2019. 216 с.
- 82. Rabinowitch E. Spectra of Porphyrins and Chlorophyll // Reviews of modern physics. 1944. –V.16, № 3, 4. P. 226–235.
- 83. Порфирины: структура, свойства, синтез / К.А. Аскаров, Б.Д. Березин, Р.П. Евстигнеева и др. М.: Наука, 1985. 333 с.
- 84. Березин Д.Б. Макроциклический эффект и структурная химия порфиринов. М.: КРАСАНД, 2010. – 424 с.
- 85. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т. 1. Пер. с англ. Порфирины. Глава 33. М.: Мир, 1993. 384 с.
- 86. The Porphyrins V1: Structure and Synthesis / edited by David Dolphin, Part A, ACADEMIC PRESS. –1978. V.1, 644 p.
- 87. Biesaga M., Pyrzyńska K., Trojanowicz M. Porphyrins in analytical chemistry. Areview // Talanta. − 2000. − V. 51, №2. − P.209–224.
- 88. Amos-Tautua B. M., Songca S. P. and Oluwafemi O. S. Application of Porphyrins in Antibacterial Photodynamic Therapy // Molecules. 2019. V. 24, 2456. P. 1–28.
- 89. Березин Б.Д., Койфман О.И. Образование, строение и свойства экстракомплексов порфиринов // Успехи химии. 1980. Т. XLIX, №12. С. 2389–2417.
- 90. Химия биологически активных природных соединений. Под ред. Преображенского Н.А., Евстигнеевой Р.П. 1976. Издательсво «Химия». – 441 с.
- 91. Неницеску К.Д. Органическая химия. 1963. Пер. с румынского Вырлэдяну Л. Т. II. Под редакцией акад. Кабачника М.И. Издательство иностранной литературы. 1048 с.
- 92. Cavaleiro J. A.S., Görner H., Lacerda P.S.S., MacDonald J.G., Mark G., Neves M.G.P. M. S., Nohr R.S., Schuchmann H.-P., Sonntag C., Tomé A.C. Singlet oxygen formation and photostability of meso-tetraarylporphyrin derivatives and their copper complexes // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 2001. V. 144. Is. 2–3. –

- P. 131–140.
- 93. Di Magno S.G., Biffinger J.C., Sun H. Fluorinated Porphyrins and Corroles: Synthesis, Electrochemistry, and Applications // In Fluorine in Heterocyclic Chemistry; Metzler, J.B., Ed.; Springer: Cham, Switzerland. 2014. V.1. P. 589–620.
- 94. Bommer J.C., Sveida Z.J., Burnham B.F. Further studies on the relationship between tetrapyrrole structure and usefulness as photosensitizers // Proc. 1st Int. Conf. Clinical Applications of Photosensitization for Diagnosis and Treatment. 1986. P.124–129.
- 95. Филоненко Е.В., Серова Л.Г. Фотодинамическая терапия в клинической практике // Biomedical photonics. 2016. Т.5, №2, Р.26-37.
- 96. Park J.H., Moon Y.H., Bang I.S., Kim Y.C., Kim S.A., Ahn S.G., Yoon J.H. Antimicrobial effect of photodynamic therapy using a highly pure chlorin e6 // Lasers Med Sci. 2010. V.25, №5. P.705–710.
- 97. Michael R. Hamblin, David A. O'Donnell, Naveen Murthy, Christopher H. Contag3and Tayyaba Hasan. Rapid Control of Wound Infections by Targeted Photodynamic Therapy Monitored by *In Vivo* Bioluminescence Imaging // Photochemistry and Photobiology. − 2002. −V.75, №1. − P.51–57.
- 98. Hamblin M.R., Zahra T., Contag C.H., McManus A.T., Hasan T. Optical monitoring and treatment of potentially lethal wound infections in vivo// J. Infect. Dis.–2003. –V.187, №11. P.1717–1725.
- 99. Berezin D.B., Kustov A.V., Venedictov E.A., Makarov V.V., Kruchin S.O., Belykh D.V. Photosensetizers for antibacterial PDT: synthesis, singlet oxygen generation, hydrophilicity control and toxicity assays // International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines ICPP-9, Nankin, 2016. –26 p.
- 100. Кустов А.В., Гарасько Е.В., Белых Д.В., Худяева И.С., Старцева О.М. и др. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда для антимикробной фотодинамической терапии // Успехи современного естествознания. 2016. Т.12, №2. С. 263–268.
- 101. Пат. 2673888 РФ. Производные хлорофилла а, модифицированные фрагментами миристиновой кислот на / Березин Д.Б., Белых Д.В., Кустов А.В., Пушкарева Е.И., Кудаярова Т.В.; заявл. 01.03.2018, опубл. 03.12.2018.
- 102. Гейниц А.В., Баум Р.Ф., Зарецкий А.М. Фотодинамическая терапия в лечебной

- практике // Мед. науч.-практ. журнал лечащий врач. 2005. №2. С. 74–75.
- 103. Дербенев В.А., Азимшоев А.М., Шарифов А.Д. Фотодитазин в комплексном лечении гнойных ран // Рос. биотер. журн. 2007. Т.6, №2. С.10–14.
- 104. Аскаров К.А., Березин Б.Д., Быстрицкая Е.В. и др. Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение. М.: Наука, 1987. 384 с.
- 105. Spellane P.J., Gouterman M., Antipas A., Kim S. and Liu Y.C. Porphyrins. Electronic spectra and four-orbital energies of free-base, zinc, copper, and palladium tetrakis (perfluorophenyl) porphyrins // Inorganic Chemistry. − 1980, №19. − P.386–391.
- 106. Barald, A. Carnevali, G. Ponterini, D. Vanossi. Electronic spectrum of porphyrins. CS INDO CI study// Journal of Molecular Structure (Theochem). −1995. –V.333, №1–2. P.121–133.
- 107. Гуринович Г.П., Севченко А.Н., Соловьев К.Н. Спектроскопия порфиринов // Успехи физических наук. 1963. Т.79, № 2. С.173–234.
- 108. Большаков Г.Ф., Ватаго В.С., Агрест Ф.Б. Ультрафиолетовые спектры гетероорганических соединений / Издательство «Химия» Ленинградское отделение. 1969. 492 с.
- 109. Tilak P. Wijesekera and David Dolphin. Some preparation sand properties of porphyrins// Methods in Porphyrin Photosensitization. Part of the Advances in Experimental Medicine and Biology. 1985. V.193. P. 229–266.
- 110. Smirnov V.V., Woller E.K., Tatman D., DiMagno S.G. Structure and Photophysics of β-Octafluoro-*meso*-tetraarylporphyrin // Inorg. Chem. 2001. V. 40. Is.11. P. 2614–2619.
- 111. Клименко И.В., Лобанов А.В. Спектрально-флуоресцентные свойства хлорина е6 в различных супрамолекулярных системах// Биоорганическая, биофизическая и медицинская химия. –2016. –С. 71–74.
- 112. Котова С.Л. Особенности сенсибилизированной генерации синглетного кислорода в газовую фазу при фотовозбуждении твердофазных систем на основе тетрафинилпорфирина: дисс. канд. хим. наук: 02.00.21 / Котова Светлана Леонидовна. М., 2004. 158 с.
- 113. Reddi E., Jori G., Rodgers M.A.J., Spikes J.D. Flash photolysis studies of hemato- and

- copro-porphyrins in homogeneous and microheterogeneous aqueous dispersions // Photochemistry and photobiology. − 1983. − V. 38. − №6. − P. 639–645.
- 114. Бабушкин А.А., Бажулин П.А., Королев Ф.А., Левшин Л.В., Прокофьев В.К., Стричанов А.Р. Методы спектрального анализа. М.: Издательство Московского университета, 1962. 509 с.
- 115. Visheratina A. K., Martynenko I. V., Orlova A. O., Maslov V. G., Baranov A. V., Fedorov A. V. Energy transfer efficiency in quantum dot/chlorin e6 complexes. // Clinical and Biomedical Spectroscopy and Imaging IV, edited by J. Quincy Brown, Volker Deckert, Proc. of SPIE-OSA. 2015. V. 9537, 95372C. P.1–9.
- 116. Snow A.W. Phthalocyanine aggregation // In: The porphyrin handbook / Eds.: K.M. Kadish, K.M. Smith, R. Guilard. Elsevier Sciense, USA. 2003. –V. 17. –P. 129–176.
- 117. Shubhajit Paul, Susithra Selvam, Paul Wan Sia Heng, Lai Wah Chan. Elucidation of Monomerization Effect of PVP on Chlorin e6 Aggregates by Spectroscopic, Chemometric, Thermodynamic and Molecular Simulation Studies // Journal of Fluorescence. 2013. V. 23. P. 1065–1076.
- 118. Niu L., Zhong C., Chen Z., Zhang Z., Li Z., Zhang F., Tang Y. Novel azobenzene-phthalocyanine dyads-design of photo-modulated J-aggregation // Chin. Sci. Bull. 2009. V. 54, № 7. P. 1169–1175.
- 119. Шухто О.В., Солодухин Т.Н., Старцева О.М., Худяева И.С., Белых Д.В., Кустов А.В., Романенко Ю.В., Березин Д.Б. Ассоциация амфифильных производных макрогетероциклов на основе хлорина е6 и метилфеофорбида а // Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук. 2016. № 1–4(216). С. 127–135.
- 120. Kasha M. Rawls H.R., Ashraf El-Bayoumi M. The exciton model in molecular spectroscopy // Pure Appl. Chem. 1965. V. 11. No. 3–4. P. 371–392.
- 121. Ластовой А.П. Влияние межмолекулярных взаимодействий на спектральные и фотохимические свойства производных тетраазахлорина. дисс. канд. хим. наук: 02.00.04 / Ластовой Антон Павлович. М., 2014. 150 с.
- 122. Paschalis A. Amphiphilic copolymers and their application //Current opinion in Colloid & Interface Science. 1996. V. 1. Iss. 4. P. 490–501.

- 123. Халатур П.Г. Самоорганизация полимеров // Соросовский образовательный журнал. -2001. − Т. 7, № 4. С. 36–43.
- 124. Jialin Yu, Huayu Qiu, Shouchun Yin, Hebin Wang, and Yang Li. Polymeric Drug Delivery System Based on Pluronics for Cancer Treatment // Molecules. 2021. 26, 3610. P. 1–23.
- 125. Kuskov A.N., Shtilman M.I., Goryachaya A.V., et al. Self-assembling nanoscaled drug delivery systems composed of amphiphilic poly-Nvinylpyrrolidones // Journal of Non-Crystalline Solids. 2007. V.353, N. 41–43. P. 3969–3975.
- 126. Torchilin V.P., Levchenko T.S., Whiteman K.R., Yaroslavov A.A., Tsatsakis A.M., Rizos A.K., Michailova E.V., Shtilman M.I. Amphiphilic poly-N-vinylpyrrolidones: synthesis, properties and liposome surface modification // Biomaterials. 2001. V.22. P. 3035—3044.
- 127. Ю.Э.Кирш. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламид: Синтез и физико-химические свойства. М.: Наука, 1998. 252 с.
- 128. Pitto-Barry A. and Barry N. P. E. Pluronicblock-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalization and clinical advances // Polym. Chem. 2014. V.5, №10. P. 3291–3297.
- 129. Sharma R. K. and Sharma M. Polyethylene oxide-polypropylene oxide based block copolymers as nanovehicles for drug formulations // BioEvolution. 2014. V. 1, №3. P. 68–75.
- 130. Alexandridis P., Hatton T. A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) -poly (ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces:thermodynamics, structure, dynamics, and modeling. // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. − 1995. − V. 96, №46. − P. 1–46.
- 131. Nagarajan R. Solubilization of hydrocarbons and resulting aggregate shape transitions in aqueous solutions of Pluronic (PEO–PPO–PEO) block copolymers. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 16. –1999. P.55–72.
- 132. Kabanov A. V., Batrakova E. V., Alakhov V. Y. Pluronic block copolymers for overcoming drug resistance in cancer // Advanced Drug Delivery Reviews. 2002. V. 54, №5. P.759–779.

- 133. Malmsten M. and Lindman B. Self-assembly in aqueous block copolymer solutions // Macromolecules. 1992. V. 25. P. 5440–5445.
- 134. Hecht E., Mortensen K., Gradzielski M., and Hoffmann H. Interaction of ABA block copolymers with ionic surfactants: influence on micellization and gelation // J. Phys. Chem. 1995. V. 99. P. 4866–4874.
- 135. Kabanova A. V., Batrakova E. V., Alakhov V. Yu. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery // Journal of Controlled Release. 2002. V.82, №2-3. P.189–212.
- 136. Escobar-Chávez J. J., López-Cervantes M., Naïk A., Kalia Y. N, Quintanar-Guerrero D., Ganem-Quintanar A. Applications of thermo-reversible pluronic F127 gels in pharmaceutical formulatrions // J Pharm. Pharmaceut. Sci. 2006. − V.9, №3. − P.339–358.
- 137. Paustian P. W., McPherson J. C., Haase R. R., Runner R. R., Plaoman K. M., Ward D. F., Nguyen F. H. Intravenous Pluronic F127 in early burn wound treatment in rat // Burns. 1993. V. 19, № 3. P. 187–191.
- 138. Schmolka I. R. Artificial skin. I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns // J. Biomed. Mater. Res. − 1972. − V. 6, №6. − P. 571–582.
- 139. Nalbandian R. M., Henry R.L., Balko K. W., Adams D. V., Neuman N. R. / Pluronic F-127 gel preparation as an artificial skin in the treatment of third-degree burns in pigs // J. Biomed. Mater. − 1987. − V. 21, № 9. − P. 1135–1148.
- 140. Соловьева А.Б., Мелик-Нубаров Н.С., Аксенова Н.А., Глаголев Н.Н., Встовский Г.В., Бугрин B.C., B.H., Ольшевская B.A., Г.В. Лузгина Белкова плюрониками Солюбилизированные порфириновые фотосенсибилизаторы окисления триптофана // Журнал физической химии. – 2006. – Т. 80, № 1. – С. 137– 143.
- 141. Жиентаев Т.М., Мелик-Нубаров Н.С., Литманович Е.А., Аксенова Н.А., Глаголев Н.Н., Соловьева А.Б. Влияние плюроников на фотокаталитическую активность водорастворимых порфиринов // Высокомолекулярные соединения, Серия А. 2009. Т. 51. № 5. С. 757–767.
- 142. Батов Д.Б., Кустов А.В., Кручин С.О., Макаров В.В., Березин Д.Б. Агрегация

- катионных производных хлорина е6 в воде и водных растворах поливинилпирролидона // Журнал структурной химии. 2019. T. 60, №3. C. 461-466.
- 143. Hadener M., Gjuroski I., Furrer J., Vermathen M. Interactions of Polyvinylpyrrolidone with Chlorin e6-Based Photosensitizers Studied by NMR and Electronic Absorption Spectroscopy // Journal of Physical Chemistry. 2015. V. 119. P. 12117–12128.
- 144. Park H., Park W., Na K. Doxorubicin loaded singlet-oxygen producible polymeric micelle based on chlorine e6 conjugated pluronic F127 for overcoming drug resistance in cancer // Biomaterials. − 2014, № 35. − P. 7963–7969.
- 145. Пат. 2314806 РФ. Средство для лечения злокачественной опухоли методом ФДТ / Соловьева А.Б.; заявл. 13.06.06; опубл. 20.01.08.
- 146. Siddhesh N. Pawar, Kevin J. Edgar. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications // Biomaterials. −2012. − V.33, № 11. − P. 3279–3305.
- 147. Ertesvag H., Svein V. Biosynthesis and applications of alginates // Polymer degradation and stability. 1998. V. 3. –P. 85–91.
- 148. Penman A. and Sanderson G.R. A method for the determination of uronic acid sequence in alginates // Carbohydrate Research. 1972. V. 25, №2. –P. 273–282.
- 149. Peter Gacesa. Alginates // Carbohydrate Polymers 8. 1988. P. 161–182.
- 150. Haug Larsen and Smidsrod. Uronic acid sequence in alginate from different sources // Carbohydrate Research. −1974. −V.32, №2. − P.217–225.
- 151. Olav Smidsrod, Arne Haug, Bjorn Larsen. The influence of pH on the Rate of hydrolysis of acidic polysaccharides // Acta Chem.Sca. −1966, № 4. − P. 1026–1034.
- 152. Lewis J.G., Stanley N.F., Guist G.G. Commercial production and applications of algal hydrocolloids // Algae and Human Affairs. Cambridge: University Press. 1988. P. 205–236.
- 153. Yang J.-S., Xie Y.-J., He W. Research progress on chemical modification of alginate: A review // Carbohydrate Polymers. 2011. 84. P.33–39.
- 154. Branca C., Wanderlingh U., D'Angelo G., Crupi C., Rifici S. Study of the dynamical behavior of sodium alginate/myoglobin aqueous solutions: A dynamic light scattering study // Journal of Molecular Liquids. –2015. –V.209. P.294–300.

- 155. Lima A. M. F., Borsali V. S. R. Dynamic light scattering and viscosimetry of aqueous solutions of pectin, sodium alginate and their mixtures: effects of added salt, concentration, counterions, temperature and chelating agent // J. Braz. Chem. Soc. − 2009. − V.20, № 9. − P. 1705–1714.
- 156. Zhong D., Huang X., Yang H., Cheng R. New insights into viscosity abnormality of sodium alginate aqueous solution // Carbohydrate Polymers. −2010. –V. 81, № 4. P. 948–952.
- 157. Aarstad O., Strand B.L., Klepp-Andersen L.M., Skjaak-Brak G. Analysis of G-block distributions and their impact on gel properties of in vitro epimerized mannuronan // Biomacromolecules. 2013. V. 14. P. 3409–3416.
- 158. Чмыхалова В.Б. Перспективные направления использования бурых водорослей в пищевой промышленности // Вестник Камчатского государственного университета. –2012. №21. С. 66–78.
- 159. Большакова Л. С., Литвинова Е. В., Жмурина Н. Д., Бурцева Е. И. Влияние различных технологических факторов на реологические характеристики альгинатных гелей // Современные проблемы науки и образования. 2012. №6. 148 с.
- 160. Ковалева Е. А., Соколова В. М. Обоснование использования ламинариевых для получения пищевых систем с заданными функциональными свойствами // Научные труды Дальрыбвтуза. 2011. Т. 23. С.156–164.
- 161. Оберюхтина И. А., Боголицын К. Г., Попова Н. Р., Парфенова Л. Н. Применение метода лазерной корреляционной спектроскопии в исследовании гидродинамических свойств разбавленных растворов альгината натрия // Материалы II Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ». Казань, 24-27 июня 2002 г. С. 104–105.
- 162. Пищевые загустители, стабилизаторы, гелеобразователи / А. Аймесон (ред.сост.). Перев. с англ. д-ра хим. наук С. В. Макарова. СПб.: ИД «Профессия». 2012. 408 с.
- 163. Smidsrod O. and Haug A. A light Scattering Study og Alginate // Acta Chemica Scandinavica. 1968. V. 22. P. 797–810.

- 164. Khdair A., Handa H., Mao G., Panyam J. Nanoparcticle-mediated combination chemotherapy and photodynamic therapy overcomes tumor drug resistance in vitro // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. − 2009. − V.71, №2. − P. 214–222.
- 165. Khdair A., Gerard B., Handa H., Mao G., Shekhar M. P. V. and Panyam J. Surfactant-Polymer Nanoparticles Enhance the Effectiveness of Anticancer Photodynamic Therapy

 // Molecular Pharmaceutics. − 2008. − V.5, №5. − P. 795–807.
- 166. Chavanpatil M. D., Khdair A., Gerard B., Bachmeier C., Miller D. W., Shekhar M. P., Panyam J. Surfactant-polymer nanoparticles overcome P-glycoprotein-mediated drug efflux // Mol. Pharmaceutics. 2007. –V. 4. P. 730–738.
- 167. Peters M.C., Isenberg B.C., Rowley J.A., Mooney D.J. Release from alginate enhances the biological activity of vascular endothelial growth factor // J. Biomater. Sci. Polym. Edn. –1998. V. 9. P. 1267–1278.
- 168. Kikuchi A., Kawabuchi M., Watanabe A., Sugihara M., Sakurai Y., Okano T. Effect of Ca²⁺-alginate gel dissolution on release of dextran with different molecular weights // J. Controlled Release. –1999. V. 58. P. 21–28.
- 169. Gaserod O., Sannes A., Skjak-Braek G. Microcapsules of alginate-chitosan. II. A study of capsule stability and permeability // Biomaterials. 1999. V. 20. P. 773–783.
- 170. Torre M.L., Maggi L., Vigo D., Galli A., Bornaghi V., Maffeo G., Conte U. Controlled release of swine semen encapsulated in calcium alginate beads // Biomaterials. 2000. V. 21. P.1493–1498.
- 171. Chavanpatil M. D., Khdair A., Gerard B., Bachmeier C., Miller D. W., Shekhar M. P., Panyam J. Surfactant-polymer nanoparticles overcome P-glycoprotein-mediated drug efflux // Mol. Pharmaceutics. 2007, 4, P. 730–738.
- 172. Peters M.C., Isenberg B.C., Rowley J.A., Mooney D.J. Release from alginate enhances the biological activity of vascular endothelial growth factor // J. Biomater. Sci. Polym. Edn., 9. 1998. P. 1267–1278.
- 173. Gaserod O., Sannes A., Skjak-Braek G. Microcapsules of alginate-chitosan. II. A study of capsule stability and permeability // Biomaterials, 20. 1999. P. 773–783.
- 174. Torre M.L., Maggi L., Vigo D., Galli A., Bornaghi V., Maffeo G., Conte U. Controlled

- release of swine semen encapsulated in calcium alginate beads // Biomaterials, 21. 2000. P. 1493–1498.
- 175. Laurano R., Boffito M., Ciardelli G., Chiono V. Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market Author links open overlay panel // Engineered Regeneration 3. 2022. P. 182–200.
- 176. Aderibigbe B.A., Buyana B. Alginate in Wound Dressings // Pharmaceutics. 2018. V. 10, № 42. P. 1–19.
- 177. Yeung R. A., Kennedy R. A. A comparison of selected physico-chemical properties of calcium alginate fibers produced using two different types of sodium alginate // Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2019. V.90. P. 155–164.
- 178. Vanin A.F. Dinitrosyl Iron Complexes as a "Working Form" of nitric oxide in living organisms / Cambridge Scholars Publishing, 2019. 272 p.
- 179. Vanin A.F. How is Nitric Oxide (NO) Converted into Nitrosonium Cations (NO⁺) in Living Organisms? (Based on the Results of Optical and EPR Analyses of Dinitrosyl Iron Complexes with Thiol-Containing Ligands) // Applied Magnetic Resonance. –2020. 51. –P. 851–876.
- 180. Vanin A.F. Dinitrosyl Iron Complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // Nitric Oxide. 2009. V.21, № 1. P. 1–13.
- 181. Loc H.C., Sahni S., Kalinowski D.S., Kovacevic Z., Lane D.J.R., Richardson V. Glutathione S-transferase and MRP1 form an integrated system involved in the storage and transport of dinitrosyl–dithiolato iron complexes in cells// Free Radical Biology and Medicine. 2014. V.75. P. 14–29.
- 182. Stamler J.S., Singel D.J., Loscalzo J. Biochemistry of Nitric Oxide and Its Redox-Activated Forms// Science. 1992. 258. P.1898–1902.
- 183. Vanin A.F., Ernst van Faasse. Radicals for life: the various forms of nitric oxide / Elsevier, 2011. 442 p.
- 184. Vanin A.F., Ostrovskaya L. A., Korman D. B., Mikoyan V. D., Kubrina L. N., Borodulin R. R., Fomina M. M., Blukhterova N. V., Rykova V. A. An antinitrosative system as a factor in malignant tumor resistance to the cytotoxic effect of nitrogen monoxide //

- Biophysics. 2015. V.60, №4. P. 121–125.
- 185. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследования // Биохимия. -1998. T.63, №7, -C.924-938.
- 186. Glagolev N. N., Rogovina S. Z., Solov'eva A. B., Aksenova N. A., and Kotova S. L. Photocatalytic Activity of Water-Soluble Tetrapyrrole Compounds in the Presence of Amino-Containing Polymers // Russian Journal of Physical Chemistry. − 2006. − V. 80, №1. − P. S72–S76.
- 187. Соловьева 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 // Журнал химической физики. 2012. Т. 31. № 6. С. 72–80.
- 188. Solovieva A. B., Melik-Nubarov N. S., Zhientaev T.M., Tolstih P.I., Kuleshov I.I., Aksenova N.A., Litmanovich E.A., Glagolev N.N., Timofeeva V.A., Ivanov A.V. Development of Novel Formulations for Photodynamic Therapy on the Basis of Amphiphilic Polymers and Porphyrin Photosensitizers. Pluronic Influence on Photocatalytic Activity of Porphyrins // Biophotonics. 2009. V.19, № 4. P. 817–824.
- 189. Solov'eva A.B., Khasanova O. V., Aksenova N. A., Chernyak A. V., Volkov V. I., Timofeeva V. A., Timashev P. S. Effect of Polysaccharides and Polyvinylpyrrolidone on the Photocatalytic Activity of Chlorin e6 in Tryptophan Oxidation // Russian Journal of Physical Chemistry A. − 2019. − V. 93, № 12. − P. 2507–2514.
- 190. Belovolova L. V., Glushkov M. V., Aksenova N. A., Solov'eva A. B., Khasanova O. V. UV Luminescence and Light Scattering in Photoditazine Systems with Sodium Alginate, Poly-N-Vinylpyrrolidone, and Tryptophan // Optics and Spectroscopy. − 2019. − V. 126, № 6. − P. 703−709.
- 191. Aksenova N.A., Oles T., Sarna T., Glagolev N. N., Chernjak A. V., Volkov V. I., Kotova S. L., Melik-Nubarov N. S., and Solovieva A. B. Development of Novel Formulations for Photodynamic Therapy on the Basis of Amphiphilic Polymers and Porphyrin Photosensitizers. Porphyrin-Polymer Complexes in Model Photosensitized Processes // LaserPhysics. −2012. − V. 22, №. 10. − P. 1642–1649.
- 192. Fertah M., Belfkira A., Dahmane E., Taourirte M., Brouillette F. Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan Laminaria digitata brown seaweed //

- Arabian Journal of Chemistry. 2017. V.10. P. S3707–S3714.
- 193. Shinohara M., Kamono H., Aoyama T. Reletionships between guluronate contents in alginates determined by ¹H-NMR spectroscopy and their average molecular weights // Fisheries Science. 1999. V.65, №6. P.909–913.
- 194. Wang H., Chen X., Wen Y., Li D., Sun X., Liu Z., Yan H. and Lin Q. A Study on the Correlation between the Oxidation Degree of Oxidized Sodium Alginate on Its Degradability and Gelation // Polymers. 2022. V.14(9), 1679. P. 1–15.
- 195. Strand K. A., Boe A., Dalberg P. S., Sikkeland T., Smidsrod O. Dynamic and Static Light Scattering on Aqueous Solutions of Sodium Alginate // Macromolecules. 1982. V. 15, №2. P. 570–579.
- 196. Sadykova O.V., Krivandin A.V., Aksenova N.A., Timofeeva V.A., Shatalova O.V., Kotova S.L., Solovieva A.B. Specific Features of the Structural Organization of Porphyrin-Containing Binary and Ternary Polymer Systems: X-Ray Diffraction and Atomic Force Microscopy Study // Polymer Science, Series A. − 2021. − V.63, №2. − P. 154–161.
- 197. Decho A.W. Imaging an alginate polymer gel matrix using atomic force microscopy // Carbohydrate Research. 1999. V.315. P.330–333.
- 198. Abdelghany A.M., Oraby A.H., Farea M.O. Influence of green synthesized gold nanoparticles on the structural, optical, electrical and dielectric properties of (PVP/SA) blend // // Physica B: Condensed Matter. 2019. V.560. P. 162–173.
- 199. Liakos I., Rizzello L., Bayer I. S., Pier Paolo Pompa, Roberto Cingolani, Athanassia Athanassiou. Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads // Carbohydrate Polymers. − 2013. −V. 92. № 1. − P. 176–183.
- 200. Caykara T., Demirci S., Eroglu M. S., Guvin O. Surface Properties of Binary Blend Films of Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) and Poly(vinyl alcohol) with Sodium Alginate // Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics. 2006. –V. 44. № 2. P. 426–430.
- 201. Solovieva A.B., Vanin A. F., Shekhter A. B., Glagolev N. N., Aksenova N. A., Mikoyan V. D., Kotova S. L., Rudenko T. G., Fayzullin A. L., Timashev P. S. Is it possible to combine photodynamic therapy and application of dinitrosyl iron complexes in the wound treatment? // NOX. 2019. –V.83. P. 24–32.
- 202. Соловьева А.Б., Глаголев Н.Н., Аксенова Н.А., Курьянова А.С., Ванин А.Ф.,

- Тимофеева В.А., Тимашев П.С. Динитрозильный комплекс железа в процессах сенсибилизированного окисления органических субстратов // ЖФХ. 2019. Т.93, N_{\odot} 9. С. 1428–1436.
- 203. Sadykova O.V., Aksenova N.A., Glagolev N.N., Vanin A.F., Shekhter A.B., Fayzullin A.L., Dubovik A.S., Plashchina I.G., Solovieva A.B., Timashev P.S. Effect of dinitrosyl iron complex and sodium alginate on the activity of porphyrin photosensitizers solubilized by amphiphilic polymers in the generation of singlet oxygen // Laser Physics. − 2023. − V. 33, №4. − P. 1–10.
- 204. Savko M.A., Aksenova N.A., Akishina A.K., Khasanova O.V., Glagolev N.N., Rumyantseva V.D., Zhdanova K.A., Spokoinyi A.L., and Solovieva A.B. Effect of Pluronic F127 on the Photosensitizing activity of Tetraphenylporphyrins in organic and aqueous phases // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2017. V. 91. P. 2260–2267.
- 205. Shekhter A.B., Rudenko T.G., Serezhenkov V.A., Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with cysteine or glutathione accelerate skin wound healing in animals // Biofizika. 2007. V.52, №3. P. 539–547.