

УДК 577.35

UDC 577.35

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ С БЕЛКАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

INFLUENCE OF COMPLEX FORMATION WITH BLOOD PLASMA PROTEINS ON THE SPECTRAL CHARACTERISTICS OF TRICARBOCYANINE DYES

Н. В. Белько,
аспирант кафедры лазерной
физики и спектроскопии физи-
ческого факультета БГУ;

N. Belko,
post graduate student of the Department
of Laser Physics and Spectroscopy
of the Faculty of Physics BSU;

И. И. Хлудеев,
кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник НИЛ биофизики и био-
технологии кафедры биофизики БГУ;

I. Khludeev,
PhD (Biology), Researcher
of the Research Laboratory of Biophysics
and Biotechnology, Chair of Biophysics, BSU;

В. П. Зорин,
кандидат биологических наук, заве-
дующий НИЛ биофизики и биотех-
нологии кафедры биофизики БГУ;

V. Zorin,
PhD (Biology), Head of the Research
Laboratory of Biophysics and Biotechnology,
Department of Biophysics, BSU;

М. П. Самцов,
доктор физико-математических наук,
заведующий лабораторией
спектроскопии НИИ ПФП
им. А. Н. Севченко БГУ

M. Samtsov,
Doctor of Physics and Mathematics, Head
of the Spectroscopy Laboratory
of the Research Institute of PFP
them. A. N. Sevchenko BSU

Поступила в редакцию 2.02.18.

Received on 2.02.18.

В данной работе представлены результаты экспериментов по определению влияния образования комплексов белков плазмы крови с трикарбоцианиновыми красителями на их спектральные характеристики. Приведены результаты анализа спектров поглощения водных растворов красителей при титровании сывороткой крови человека. Исследовано распределение красителей среди сывороточных белков. Проведена оценка параметров комплексообразования красителей с сывороточным альбумином белка. Обсуждаются возможные механизмы образования комплексов краситель-белок и их значение для оптических методов измерения концентрации красителей в биотканях.

Ключевые слова: трикарбоцианиновые красители, белки плазмы крови, анализ спектров поглощения, комплексообразование.

This paper presents the results of experiments to determine the effect of the formation of plasma protein complexes with tricarbocyanine dyes on their spectral characteristics. The results of the analysis of the absorption spectra of aqueous solutions of dyes during titration with human blood serum are presented. The distribution of dyes among serum proteins has been studied. The parameters of complex formation of dyes with bovine serum albumin have been estimated. Possible mechanisms for the formation of dye-protein complexes and their significance for optical methods for measuring the concentration of dyes in biological tissues are discussed.

Keywords: tricarbocyanine dyes, blood plasma proteins, analysis of absorption spectra, complexation.

Введение. Одним из способов повышения эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных новообразований является увеличение селективности накопления препаратов в опухолевой ткани. Для определения путей достижения этой цели необходимо исследовать взаимодействие фотосенсибилизаторов (ФС) с плаз-

мой крови и ее компонентами, поскольку эффективная транспортировка препарата посредством кровеносной системы является первым этапом, присутствующим в любом виде терапии. Для молекул ФС мишенями могут становиться различные структуры и ткани организма, и зачастую успех доставки лекарственного средства зависит от кровото-

ка, причем компоненты плазмы крови чрезвычайно важны как эндогенные переносчики.

В плазме крови могут присутствовать более 250 различных белков, однако только 5 из них обладают свойством связывать значительные количества различных лекарственных соединений. К ним относятся: сывороточный альбумин человека (САЧ, 35–40 мг/мл), α -1 кислый гликопротеин (0,55–1,4 мг/мл) и липопротеины: очень низкой плотности (0,2–0,4 мг/мл), низкой плотности (ЛНП, 0,66–1,4 мг/мл) и высокой плотности (0,35–0,85 мг/мл) [1]. Для эффективного транспорта любого лекарственного средства в качестве носителей должны быть задействованы один или несколько из этих белков [2; 3]. Одним из основных факторов, определяющих, с каким компонентом плазмы крови будет предпочтительно связываться ФС, является его гидрофобность/гидрофильность [4; 5]. Сывороточный альбумин, составляющий около 60 % от общего количества белка в плазме, служит эндогенным носителем для различных лекарств, преимущественно относительно гидрофильных, которые локализуются на двух четко установленных сайтах связывания I и II [6; 7]. Однако роль САЧ не сводится только к пассивному переносу лекарственных соединений в крови. Показано, например, что конъюгация ФС с САЧ приводит к росту их фототоксичности по отношению к раковым клеткам HepG2 и J774 [8].

В то же время липопротеины являются переносчиками в основном относительно гидрофобных соединений. Эти частицы считаются перспективными носителями для целенаправленной доставки лекарственных препаратов в опухолевые клетки, которые, как известно, экспрессируют повышенное количество ЛНП-рецепторов и вследствие этого поглощают ЛНП в существенно больших количествах по сравнению с нормальными клетками [9; 10]. Таким образом, изучение взаимодействия ФС с компонентами крови является важным аспектом разработки систем доставки ФС в стабильных, эффективных формах и в безопасной дозировке [11; 12].

В качестве первого шага в этом направлении для новых ФС на основе трикарбоцианиновых (полиметиновых) красителей (ПК) нами исследовано их взаимодействие с плазмой крови и ее компонентами. Эти соединения являются перспективными для использования в ФДТ [14], поскольку отличаются наличием интенсивной полосы поглощения с коэффициентом молярной экстинкции более

$10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ в дальней красной области (710–750 нм). Глубина проникновения излучения в биологические ткани в ней существенно выше по сравнению с областью спектра (625–660 нм), в которой находятся максимумы поглощения основных используемых в медицине ФС (Фотофрин 2, хлорины, Темпорфин). Большинство ПК являются гидрофобными соединениями, которые слабо или вообще нерастворимы в воде. Вследствие этого происходит агрегация ПК в водной среде, в том числе и в плазме крови при внутривенном введении. При агрегации могут существенно меняться многие фотофизические характеристики молекул красителя. Связывание ПК с белками сыворотки крови может не только влиять на их фармакокинетическое поведение в крови, но и способствовать дезагрегации молекул красителя, то есть процессы комплексообразования могут изменять фотофизические характеристики данных соединений.

Целью данной работы является изучение влияния связывания полиметиновых красителей с белками сыворотки крови на спектральные характеристики красителей в условиях *in vitro*.

Материалы и методика исследования.

В работе использовали два индотрикарбоцианиновых соединения, синтезированных в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. Севченко [13; 14] – ПК1 и его производное ПК2, полученное путем замещения двух карбоксильных групп молекулами полиэтиленгликоля с молекулярной массой 300 кДа. Стоковые растворы ПК1 с концентрацией $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ готовили в этаноле, а ПК2 – в дистиллированной воде. Стоковый раствор сывороточного альбумина быка (САБ, Sigma-Aldrich, USA) в дистиллированной воде имел концентрацию $5 \times 10^{-4} \text{ M}$. Сыворотку получали путем свертывания крови доноров и осаждения клеточного сгустка центрифугированием. Регистрацию спектров поглощения осуществляли с помощью спектрофотометра SOLAR PV1251, спектров люминесценции – с помощью спектрофлуориметра SOLAR CM-2203 или спектрофлуориметра SPEX Fluorolog.

Влияние сыворотки крови человека на спектральные характеристики полиметиновых красителей. В результате спектрофотометрических исследований (рисунк 1) установлено, что в водном растворе фосфатно-солевого буфера (pH 7,4) максимумы спектров поглощения ПК1 и ПК2 расположены на длине волны 704 нм и 706 нм соответственно.

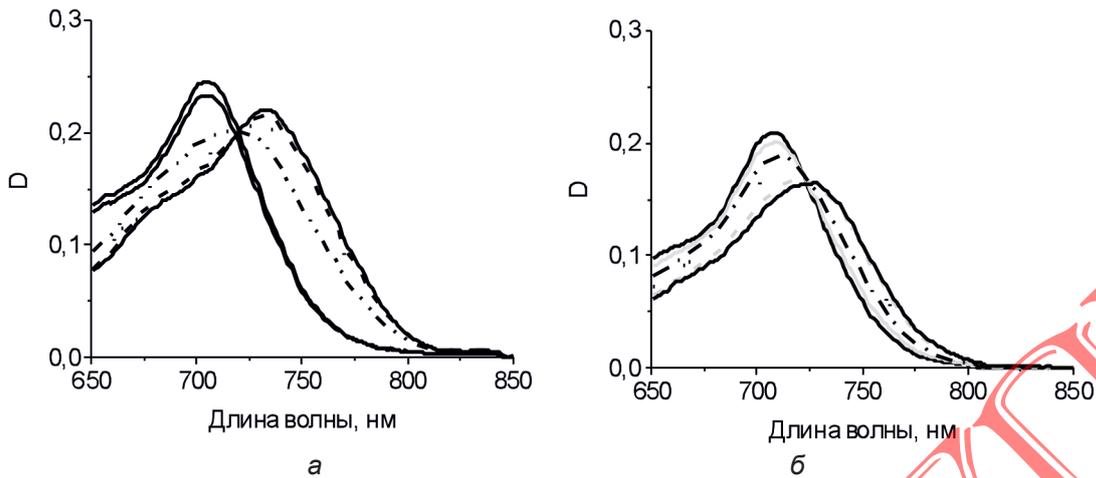


Рисунок 1 – Изменения спектров поглощения водных растворов ПК1 (а) и ПК2 (б) при добавлении сыворотки крови человека. Исходная концентрация красителей – 1 мкМ

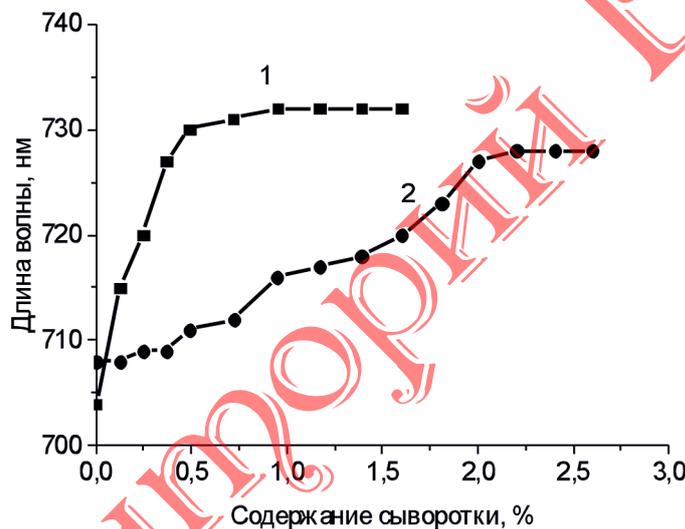


Рисунок 2 – Влияние добавления сыворотки крови человека на положение максимума спектра поглощения ПК1 (1) и ПК2 (2) в растворе ФСБ pH7,4

По мере роста концентрации сыворотки в образце наблюдается сдвиг максимума полосы поглощения красителей в длинноволновую область, причем обнаружены существенные различия в отклике ПК1 и ПК2 на добавление сыворотки крови человека в исходный раствор красителя. Как видно из рисунка 2, в случае титрования сывороткой раствора ПК1 даже незначительное увеличение ее концентрации (от 0 до 0,5 %) приводило к резкому смещению максимума спектра поглощения в красную область от 704 нм до 730 нм. Дальнейший рост содержания сыворотки в образце почти не влияет на положение максимума спектра поглощения ПК1 (при $C_{\text{сыв}} \geq 1\%$ величина $\lambda_{\text{макс}}$ остается в районе 732 нм).

При титровании раствора ПК2 для получения аналогичного эффекта требуется более высокая концентрация сыворотки. Смещение положения максимума спектра поглощения для ПК2 с 708 нм до 728 нм происходило пропорционально росту концентрации сыворотки от 0 до 2 %.

Дальнейшее повышение содержания сыворотки в образце не приводило к изменению положения максимума. Подобные спектральные эффекты наблюдаются для некоторых гидрофобных ФС, например фталоцианинов и порфиринов [15], при переходе из агрегированной формы в мономерную. Длинноволновое смещение спектров ПК, вероятно, связано с дезагрегацией данных красителей в результате образования комплексов с бел-

ками сыворотки крови, а наблюдаемые различия в поведении связаны с тем ПК1 и ПК2 образуют комплексы разными типами белков. Можно предположить, что ПК 1 имеет высокое сродство к САЧ, содержание которого велико, тогда как ПК2 связывается преимущественно с липопротеинами, молярная концентрация которых в сыворотке крови на порядок меньше в сравнении с альбумином.

Для проверки нашего предположения была проведена оценка связывания ПК с сывороточным альбумином по методу Жоба, который основан на анализе изменения спектральных характеристик красителя при вариации соотношения концентраций сывороточного альбумина и ПК в растворе. Результаты измерений приведены на рисунке 3.

При относительно высоких концентрациях ПК1 (5 мкМ) в водном растворе в отсутствие САБ молекулы красителя сильно агрегированы, о чем свидетельствует появление интенсивного длинноволнового максимума в спектре поглощения, характерного для β -агрегатов. По мере увеличения содержания САБ в растворе данный пик исчезает и наблюдается значительное смещение положения основного максимума поглощения от 709 нм (для соотношения САБ/ПК1 = 1:9) до 747 нм (при соотношении САБ/ПК1 \geq 3/2). Такое изменение спектров характерно для дезагрегации пигмента и нахождения молекул ПК1 в неполярном микроокружении [13]. Возможно, это является результатом встраивания молекул ПК1 в гидрофобные полости молекулы САБ в результате образования

комплексов краситель-белок. На графике, построенном в координатах Жоба, имеется излом, соответствующий относительному содержанию САБ в растворе $\sim 0,48$, то есть соотношение комплексообразования САБ/ПК1 близко к 1:1.

В отличие от ПК1, положение максимума спектра поглощения менее гидрофобного ПК2 при росте относительного содержания САБ в растворе меняется незначительно (с 708 нм до 710 нм), а график зависимости величины поглощения от относительной концентрации белка ($C_{САБ} / C_{САБ} + C_{ПК2}$) имеет линейный вид. Подобное поведение пигмента в растворах САБ свидетельствует об отсутствии образования прочных комплексов между молекулами альбумина и ПК2.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными исследования образования комплексов красителей с белками сыворотки крови человека методом эксклюзионной гель-хроматографии. Анализ фракций, полученных при гель-хроматографическом разделении образцов сыворотки, окрашенной ПК, показал, что исследуемые соединения выходят из колонки вместе с фракциями сывороточного альбумина человека (САЧ) и липопротеинов высокой и низкой плотности. При этом основное количество ПК1 обнаруживается во фракциях САЧ, а с липопротеиновыми фракциями выходит менее 25 % пигмента. В то же время практически весь ПК2 находится в липопротеиновых фракциях, поскольку фракции САЧ содержат лишь следовые количества красителя. Таким образом, более гидрофобный ПК1 проявляет большее

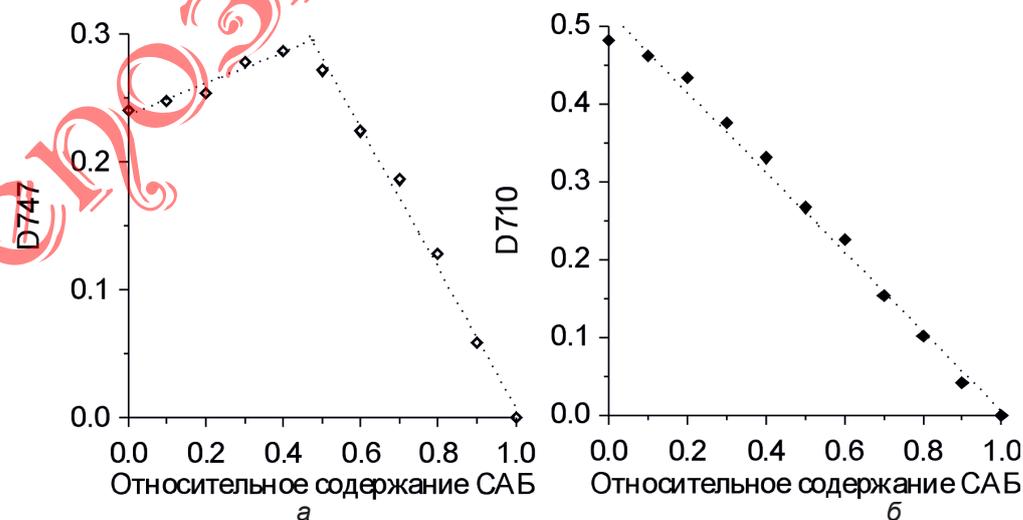


Рисунок 3 – Изменение оптической плотности образцов, содержащих САБ и ПК в различных соотношениях (график Жоба). По оси абсцисс – соотношение концентрации САБ к суммарной концентрации смеси ПК+САБ, которая в образце оставалась постоянной и равнялась $5 \times 10^{-6} M$

сродство к САЧ в сравнении с менее гидрофобным ПК2.

Для многих порфиринов основную роль в образовании комплексов с САЧ играют гидрофобные взаимодействия. Например, для группы дикарбонильных порфиринов связывания с САЧ возрастает по мере роста гидрофобности соединений [16]. Однако ранее нами при исследовании группы хлориновых ФС было показано, что помимо гидрофобных взаимодействий существенную роль в процессе комплексообразования с САЧ играют электростатические взаимодействия [17]. Так, при физиологических рН значения константы связывания с САЧ для хлорина e_6 (Хл e_6) и монометилового эфира Хл e_6 (заряд молекул -3 и -2 соответственно) различаются незначительно, тогда как для диметилового (заряд молекулы -1) и незаряженного триметилового эфиров Хл e_6 данный показатель снижался почти в 3 и в 11 раз соответственно. При окрашивании сыворотки крови хлоринами основное количество ($\sim 70\%$) Хл e_6 находится в комплексах с САЧ, а остальной ФС связан с липопротеинами. В то же время более 90 % гидрофобных соединений (триметилового эфира Хл e_6 и метатетрагидроксифенилхлорина) обнаруживалось в липопротеиновых фракциях [18]. Считается, что комплексы хлоринов с САЧ стабилизируются за счет электростатических взаимодействий между отрицательно заряженными периферийными заместителями в молекуле ФС и положительно заряженными остатками аминокислот, расположенными на входе в гидрофобный «карман» в субдомене VI молекулы САЧ [19].

Исследования трехмерной структуры САБ показали, что существуют два сайта связывания с высоким сродством к малым гетероциклическим или ароматическим соединениям, расположенные на субдоменах IIA и IIIA, два доминантных сайта для длинноцепочечных жирных кислот (IB и IIIB) и два сайта связывания различных металлов [20]. Участки связывания IIA и IIIA структурно характеризуются наличием скрытой гидрофобной полости, покрытой заряженными и полярными остатками [21]. Для группы из 4 катионных порфиринов было показано, что аффинность к САБ возрастала с увеличением числа положительных зарядов на молекуле. При этом авторы считают встраивание этих

соединений в гидрофобную полость белка маловероятным, объясняя результаты связыванием их на поверхности молекулы БСА через механизм электростатического взаимодействия [22].

Для наших красителей можно предположить, что аналогичным образом происходит связывание молекул ПК1 с САБ при значительном избытке красителя. Однако, когда число мест связывания на белках превышает число молекул ПК1 в образце ($C_{САБ} > C_{ПК1}$), вероятно, происходит встраивание красителя в гидрофобные полости. Об этом свидетельствует положение максимума спектра поглощения, характерное для ПК1 в неполярном микроокружении. В случае ПК2 наличие двух длинных углеводородных цепочек, по-видимому, стерически препятствует образованию комплексов с альбумином.

Заключение. В результате проведенных экспериментов установлено, что химическая модификация исходного трикарбоцианинового красителя ПК1 полиэтиленгликолем не только существенно понижает гидрофобность полученного соединения – ПК2, но и радикально изменяет относительное сродство красителей к белкам плазмы крови. Гидрофобный ПК1 связывается преимущественно с сывороточным альбумином, тогда как гидрофильный ПК2 обнаруживается в липопротеинах. Такое поведение катионных полиметиновых красителей противоположно характеру распределения среди белков сыворотки анионных хлориновых ФС, что предполагает наличие существенных различий в механизмах связывания и, как следствие, возможных различий в фармакокинетике этих соединений.

Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии комплексообразования с белками плазмы крови на фотофизические характеристики полиметиновых красителей. Изменение положения максимумов поглощения ПК зависит как от химической структуры самих красителей, так и от природы белков-носителей, с которыми связываются ПК в плазме крови. Наличие таких эффектов необходимо учитывать как при проведении анализа содержания ПК в биологических тканях оптическими методами, так и при разработке протоколов ФДТ с использованием полиметиновых соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. The binding of drugs to blood plasma macromolecules: Recent advances and therapeutic significance / J. P. Tillement [et al.] // *Adv. Drug Res.* – 1984. – Vol. 13. – P. 59–94.
2. de Smidt, P. C. Properties of incorporation, redistribution, and integrity of porphyrin-low-density lipoprotein complexes / P. C. de Smidt, A. J. Versluis, T. J van Berkel / *Biochemistry.* – 1993. – Vol. 32(11). – P. 2916–2922.
3. *Cohen, S.* Binding of porphyrin to human serum albumin. Structure–activity relationships / S. Cohen, R. Margalit // *Biochem. J.* – 1990. – Vol. 270 (2). – P. 325–330.
4. Photosensitization of mitochondria by liposome-bound porphyrins / F. Ricchelli [et al.] // *Photochem. Photobiol.* – 1993. – Vol. 58. – P. 53–58.
5. *Зорин, В. П.* Распределение порфириновых сенсбилизаторов между белковыми и клеточными элементами крови / В. П. Зорин, И. И. Хлудеев, Т. Е. Зорина // *Биофизика.* – 2000. – Т. 45, вып. 2. – С. 313–319.
6. Predicting plasma protein binding of drugs: a new approach / N. A. Kratochwil [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 64(9). – P. 1355–1374.
7. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin / J. Ghuman [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 353, № 1. – P. 38–52.
8. Halogenated silicon(IV) phthalocyanines with axial poly (ethylene glycol) chains. Synthesis, spectroscopic properties, complexation with bovine serum albumin and in vitro photodynamic activities / J.-D. Huang [et al.] // *New. J. Chem.* – 2004. – Vol. 28. – P. 348–354.
9. *Chung, N. S.* Potential role of the lowdensity lipoprotein receptor family as mediators of cellular drug uptake / N. S. Chung, K. M. Wasan // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2004. – Vol. 56. – P. 1315–34.
10. *Goldstein, J. L.* The LDL Receptor / J. L. Goldstein, M. S. Brown // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2009. – Vol. 29. – P. 431–438.
11. Serum albumin as a vehicle for zinc phthalocyanine: photodynamic activities in solid tumor models / C. Larroque [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 1996. – Vol. 74. – P. 1886–1890.
12. *Kongshaug, M.* The distribution of porphyrins with different tumour localising ability among human plasma proteins / M. Kongshaug, J. Moan, S.B. Brown // *Br. J. Cancer.* – 1989. – Vol. 59. – P. 184–188.
13. Fluorescence of a photosensitizer based on an indotricarbocyanine dye in photochemotherapy / M. P. Samtsov [et al.] // *J. Appl. Spectr.* – 2011. – Vol. 78 (1). – P. 110–116.
14. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A. Lugovski [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2016. – V. 316. – P. 31–36.
15. *Harvey, P. D.* Recent advances in free and metalated multiporphyrin assemblies and arrays; a photophysical behavior and energy transfer perspective // In: *The porphyrin handbook* / Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard. – Elsevier Science, USA, 2003. – V. 18. – P. 63–250.

REFERENCES

1. The binding of drugs to blood plasma macromolecules: Recent advances and therapeutic significance / J. P. Tillement [et al.] // *Adv. Drug Res.* – 1984. – Vol. 13. – P. 59–94.
2. de Smidt, P. C. Properties of incorporation, redistribution, and integrity of porphyrin-low-density lipoprotein complexes / P. C. de Smidt, A. J. Versluis, T. J van Berkel / *Biochemistry.* – 1993. – Vol. 32(11). – P. 2916–2922.
3. *Cohen, S.* Binding of porphyrin to human serum albumin. Structure–activity relationships / S. Cohen, R. Margalit // *Biochem. J.* – 1990. – Vol. 270 (2). – P. 325–330.
4. Photosensitization of mitochondria by liposome-bound porphyrins / F. Ricchelli [et al.] // *Photochem. Photobiol.* – 1993. – Vol. 58. – P. 53–58.
5. *Zorin, V. P.* Raspredeleniye porfirinovykh sensibilizatorov mezhdru belkovymi i kletochnymi elementami krovi / V. P. Zorin, I. I. Khludeyev, T. Ye. Zorina // *Biofizika.* – 2000. – Т. 45, вып. 2. – С. 313–319.
6. Predicting plasma protein binding of drugs: a new approach / N. A. Kratochwil [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 64(9). – P. 1355–1374.
7. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin / J. Ghuman [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 353, № 1. – P. 38–52.
8. Halogenated silicon(IV) phthalocyanines with axial poly (ethylene glycol) chains. Synthesis, spectroscopic properties, complexation with bovine serum albumin and in vitro photodynamic activities / J.-D. Huang [et al.] // *New. J. Chem.* – 2004. – Vol. 28. – P. 348–354.
9. *Chung, N. S.* Potential role of the lowdensity lipoprotein receptor family as mediators of cellular drug uptake / N. S. Chung, K. M. Wasan // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2004. – Vol. 56. – P. 1315–34.
10. *Goldstein, J. L.* The LDL Receptor / J. L. Goldstein, M. S. Brown // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2009. – Vol. 29. – P. 431–438.
11. Serum albumin as a vehicle for zinc phthalocyanine: photodynamic activities in solid tumor models / C. Larroque [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 1996. – Vol. 74. – P. 1886–1890.
12. *Kongshaug, M.* The distribution of porphyrins with different tumour localising ability among human plasma proteins / M. Kongshaug, J. Moan, S.B. Brown // *Br. J. Cancer.* – 1989. – Vol. 59. – P. 184–188.
13. Fluorescence of a photosensitizer based on an indotricarbocyanine dye in photochemotherapy / M. P. Samtsov [et al.] // *J. Appl. Spectr.* – 2011. – Vol. 78 (1). – P. 110–116.
14. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A. Lugovski [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2016. – V. 316. – P. 31–36.
15. *Harvey, P. D.* Recent advances in free and metalated multiporphyrin assemblies and arrays; a photophysical behavior and energy transfer perspective // In: *The porphyrin handbook* / Eds.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard. – Elsevier Science, USA, 2003. – V. 18. – P. 63–250.

16. The effect of porphyrin structure on binding to human serum albumin by fluorescence spectroscopy / O. Rinco [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2009. – Vol. 208, Is. 2–3. – P. 91–96.
17. pH-Dependent changes in the mechanisms of transport of chlorine e6 and its derivatives in the blood / I. I. Khlu-deev [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2015. – V. 160, № 2. – P. 208–212.
18. Investigation of Foscan® interactions with plasma proteins / S. Sasnouski [et al.] // *BBA.* – 2005. – Vol. 1725(3). – P. 394–402.
19. Crystal structural analysis of human serum albumin complexed with hemin and fatty acid / P.A. Zunszain [et al.] // *BMC Structural Biology.* – 2003. – Vol. 3.: 6.
20. Huang, B. X. Probing three-dimensional structure of bovine serum albumin by chemical cross-linking and mass spectrometry / B. X. Huang, H-Y. Kim, C. Dass // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2004. – Vol. 15 (8). – P. 1237–1247.
21. Andrade, S. M. Spectroscopic studies on the interaction of a water soluble porphyrin and two drug carrier proteins / S. M. Andrade, S.M.B. Costa // *Biophys. J.* – 2002. – Vol. 82. – P. 1607–1619.
22. Zhao, P. Cationic pyridinium porphyrins appending different peripheral substituents: Spectroscopic studies on their interactions with bovine serum albumin / P. Zhao, J-W. Huang, L-N. Ji // *Spectrochimica Acta Part A.* – 2012. – V. 88. – P. 130– 136.
16. The effect of porphyrin structure on binding to human serum albumin by fluorescence spectroscopy / O. Rinco [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2009. – Vol. 208, Is. 2–3. – P. 91–96.
17. pH-Dependent changes in the mechanisms of transport of chlorine e6 and its derivatives in the blood / I. I. Khlu-deev [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2015. – V. 160, № 2. – P. 208–212.
18. Investigation of Foscan® interactions with plasma proteins / S. Sasnouski [et al.] // *BBA.* – 2005. – Vol. 1725(3). – P. 394–402.
19. Crystal structural analysis of human serum albumin complexed with hemin and fatty acid / P.A. Zunszain [et al.] // *BMC Structural Biology.* – 2003. – Vol. 3.: 6.
20. Huang, B. X. Probing three-dimensional structure of bovine serum albumin by chemical cross-linking and mass spectrometry / B. X. Huang, H-Y. Kim, C. Dass // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2004. – Vol. 15 (8). – P. 1237–1247.
21. Andrade, S. M. Spectroscopic studies on the interaction of a water soluble porphyrin and two drug carrier proteins / S. M. Andrade, S.M.B. Costa // *Biophys. J.* – 2002. – Vol. 82. – P. 1607–1619.
22. Zhao, P. Cationic pyridinium porphyrins appending different peripheral substituents: Spectroscopic studies on their interactions with bovine serum albumin / P. Zhao, J-W. Huang, L-N. Ji // *Spectrochimica Acta Part A.* – 2012. – V. 88. – P. 130– 136.

РЕНОВІТОРІ