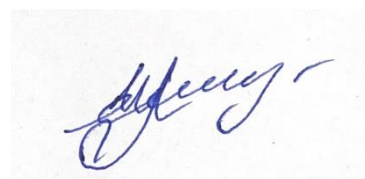


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ
ИНСТИТУТ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ЭЛЕКТРОХИМИИ
ИМ. А.Н. ФРУМКИНА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи



Ефимова Инесса Андреевна

**ПОРФИРИНАТЫ ФОСФОРА(V) ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ
ПРИМЕНЕНИЙ**

1.4.4 – Физическая химия

1.4.1 – Неорганическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научные руководители:

Академик РАН, профессор, доктор химических наук

Горбунова Юлия Германовна

Кандидат химических наук

Сафонова Евгения Александровна

Москва 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	4
1. ВВЕДЕНИЕ	6
2. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	12
2.1. Синтетические подходы к получению порфиринов и их производных	13
2.1.1. Порфирины, модифицированные в β - и мезо- положениях	13
2.1.2. Конъюгаты и сопряженные системы на основе порфиринов	20
2.1.3. Металлопорфирины	27
2.1.4. Порфиринаты фосфора(V).....	28
2.2. Физико-химические характеристики порфиринов и порфиринатов фосфора(V).....	30
2.2.1. Спектроскопия поглощения	30
2.2.2. Фотофизические и фотохимические свойства порфиринов и их комплексов	33
2.2.2.1. Люминесцентные свойства	34
2.2.2.2. Генерация синглетного кислорода	36
2.3. Применение порфиринов и их комплексов в медицине	38
2.3.1. Диагностика	38
2.3.1.1. Магнитно-резонансная томография	38
2.3.1.2. Позитронно-эмиссионная томография	40
2.3.1.3. Флуоресцентная визуализация	41
2.3.1.4. Фотоакустическая визуализация	46
2.3.2. Терапия	49
2.3.2.1. Фотодинамическая терапия	49
2.3.2.1.1. Антибактериальная ФДТ	62
2.3.2.2. Фототермическая терапия	64
2.3.2.3. Сонодинамическая терапия	66
2.3.2.4. Фотоиммунотерапия	71
2.4. Постановка задачи	75

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	76
3.1. Получение порфиринов фосфора(V)	76
3.2. Оптические и флуоресцентные свойства.....	91
3.3. Зависимость оптических и флуоресцентных свойств от рН.....	95
3.4. Фотохимические свойства.....	104
3.5. Электрохимические свойства	107
3.6. Дефосфорилирование в присутствии белков	109
3.7. Цитотоксические свойства	115
4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	133
4.1. Реактивы и оборудование.....	133
4.2. Методы исследования.....	134
4.3. Получение порфиринов и их комплексов.....	141
ВЫВОДЫ	152
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	154

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ИК – инфракрасный

УФ – ультрафиолетовый

ЭСП – электронная спектроскопия поглощения

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

MALDI TOF MS – масс-спектрометрия с адсорбцией исследуемого вещества на матрице, последующей десорбцией под действием лазерного излучения и времяпролётным детектированием

HR-ESI TOF MS – масс-спектрометрия высокого разрешения с ионизацией распылением исследуемого вещества в электрическом поле и времяпролётным детектированием

ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь

НСМО – низшая свободная молекулярная орбиталь

ДМСО – диметилсульфоксид

м.д. – миллионная доля

s – синглет

d – дублет

t – триплет

dt – дублет триплетов

td – триплет дублетов

dq – дублет квадруплетов

br. – уширенный сигнал

ДФБФ – 1,3-дифенилизобензофуран

SO – синглетный кислород

Por - порфирин

Pu – пиридин

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФТТ – фототермическая терапия

АФК – активные формы кислорода

ФД – флуорсецентная диагностика

ФДД – фотодинамическая диагностика
5-ALA, 5-АЛК – 5-аминолевулиновая кислота
TSPP- 5,10,15,20-(*n*-сульфонатофенил)порфирин
DBU - 1,8-диазабисцикло[5.4.0]ундец-7-ен
DIPEA - N,N-Диизопропилэтиламин
DMT – диметилтриптамин
TIPS - триизопропилсилиловый эфир
CuAAC – Cu(I)-катализируемое азид-алкиновое циклоприсоединение
DAMP (Danger-Associated Molecular Patterns) - молекулярные паттерны,
ассоциированные с повреждением
НАДФ - Никотинамидадениндинуклеотидфосфат
ФАД – флавинадениндинуклеотид
DCF - 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Фундаментальная роль порфириноидов в природных биокаталитических реакциях и процессах генерации и переноса энергии стимулирует интерес к дизайну и разработке искусственных биомиметических систем на основе синтетических тетрапирролов, в том числе, с целью их использования в биомедицинских целях для диагностики и терапии различных заболеваний. Для решения таких задач к этим соединениям предъявляется ряд требований, среди которых одним из ключевых является водорастворимость.

Классическим способом достижения водорастворимости порфиринов является модификация периферии макроцикла с введением анионных, катионных или нейтральных гидрофильных заместителей. Другим подходом является получение конъюгатов с биомолекулами (липосомами, белками, олигонуклеотидами, сахарами). В некоторых случаях введение необходимых солюбилизирующих групп в молекулы макроциклов может быть осуществлено на этапе сборки порфирина, однако чаще модифицируют предварительно синтезированный макроцикл. Зачастую, такая модификация требует сложных, порой многостадийных, синтетических процессов, а также трудоемкой очистки получаемых соединений.

Ранее в нашей группе было показано, что введение атома фосфора(V) в полость макроцикла приводит к образованию водорастворимых катионных комплексов, при этом наличие аксиальных лигандов у атома фосфора дополнительно позволяет настраивать фотофизические и фотохимические свойства этих соединений. Кроме того, наличие P(V) в молекуле препятствует агрегации, которая может приводить к снижению растворимости и изменению фотофизических и фотохимических свойств порфиринов. Также было установлено, что порфирилаты P(V) способны эффективно генерировать синглетный кислород, в том числе в водных средах, что делает их перспективными фотосенсибилизаторами (ФС). Помимо этого, способность порфирилатов P(V) проявлять флуоресценцию в красной области спектра

может быть использована при разработке диагностических систем, в том числе флуоресцентных рН-сенсоров для биологических жидкостей, тканей и органов, рН которых варьируется от 1 (для желудка) до 9 (для урины).

Несмотря на перспективны применения комплексов фосфора(V) с порфиринами, их фотофизические свойства и биологическая активность остаются малоизученными. Таким образом, систематическое исследование фотофизических, фотохимических и цитотоксических свойств порфиринов фосфора(V), в том числе в зависимости от кислотности среды, является актуальной задачей.

Цель работы

Целью настоящего диссертационного исследования является разработка подходов к получению серии водорастворимых порфиринов фосфора(V), выявление зависимости их фотофизических, фотохимических и цитотоксических свойств от особенностей их строения и свойств среды.

Научная новизна

Разработаны и оптимизированы подходы к синтезу комплексных соединений фосфора(V) с порфиринами, содержащими *мезо*-заместители различной электронной природы (фенильные и пиридилные в соотношении от 4:0 до 0:4, *n*-метилфенильные, *n*-метоксифенильные, *n*-*трет*-бутилфенильные, *n*-(карбоксиметил)фенильные, *n*-цианофенильные), в том числе впервые получены: диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-цианофенил)порфиринат фосфора(V), диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-карбоксиметилфенил)порфиринат фосфора(V), ди(*n*-аминофеноксид)-5,10,15,20-тетрафенилпорфиринат фосфора(V), ди(*n*-аминофеноксид)-5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфиринат фосфора(V).

Показано, что наличие донорных *мезо*-заместителей в структуре порфирина облегчает введение электронодефицитного атома фосфора(V) в полость макроцикла.

Установлено, что по сравнению с комплексами, содержащими акцепторные *мезо*-заместители, для растворов комплексов с донорными *мезо*-

заместителями в этаноле характерен батохромный сдвиг полос поглощения и эмиссии, а также более высокие квантовые выходы генерации синглетного кислорода и бóльшая фотоустойчивость. Кроме того, введение аксиальных –OEt групп в порфирилаты P(V) также приводит к смещению спектров поглощения и эмиссии в красную область спектра и увеличению квантовых выходов генерации синглетного кислорода в сравнении с комплексами, содержащими аксиальные –OH группами.

Для серии порфирилатов фосфора(V) показано влияние природы *мезо*-заместителей и аксиальных лигандов на цитотоксические свойства. Установлено, что комплексы с аксиальными –OEt группами проявляют наномолярную и пикомолярную фототоксичность против клеток аденокарциномы легкого A-549 и аденокарциномы молочной железы MCF-7 при облучении светом 450 нм. Впервые продемонстрировано, что комплексы с донорными *мезо*-заместителями способны проявлять также наномолярную цитотоксичность при облучении светом 660 нм.

Показано, что порфирилаты P(V) индуцируют два механизма клеточной смерти. Основной механизм связан с разрушением клеточной мембраны, и нарушением дыхательной цепи, это происходит как в темноте, так и на свету. Это приводит к тому, что гипоксические условия усиливают токсичность порфирилатов P(V) в темноте. Второй механизм включает образование активных форм кислорода (АФК) при облучении светом, за которым следует апоптоз либо некроз, что характерно для фотодинамической терапии (ФДТ).

Впервые систематически изучено необычное явление дефосфорилирования комплексов до свободных оснований в присутствии белков. Установлена роль аксиальных лигандов в данном процессе. Так, комплексы с двумя аксиальными –OH группами дефосфорилируются как в присутствии сывороточных белков, так и в клетках, тогда как комплексы с аксиальными гидроксипропильными группами частично дефосфорилируются лишь в клеточном окружении, а комплексы с аксиальными –OEt группами не подвергаются этому процессу. При этом комплексы с аксиальными –OH и

– OPrOH группами локализуются преимущественно в лизосомах, тогда как комплексы с аксиальными –OEt группами диффузно распределены по цитоплазме.

На примере порфиринов Р(V) с *n*-аминофенольными и гидроксильными аксиальными группами продемонстрирована возможность управления оптическими и флуоресцентными свойствами комплексов путем варьирования pH среды.

Практическая значимость

Оптимизированные подходы к получению порфиринов фосфора(V) позволяют повысить эффективность синтеза и снизить затраты реагентов в процессе их синтеза и выделения.

Наномолярная фотоцитотоксичность порфиринов фосфора(V) с аксиальными –OEt группами в отношении клеток аденокарциномы легкого и аденокарциномы молочной железы позволяет разработать на основе данных комплексов новые эффективные фотосенсибилизаторы для противораковой ФДТ.

Изученная в данной работе способность к дефосфорилированию комплексов фосфора(V) с аксиальными –ОН группами в присутствии белков может быть использована как метод доставки в клетки свободных оснований различных порфиринов, который позволяет преодолевать низкую водорастворимость исходных макроциклов.

Выявленные закономерности изменения физико-химических свойств порфиринов фосфора(V) в зависимости от их структуры расширяют фундаментальные знания о химии порфиринов и могут быть использованы для направленного синтеза производных порфиринов с заданными свойствами.

Основные положения, выносимые на защиту

- Получение ряда новых порфиринов фосфора(V) с *n*-цианофенильными и *n*-карбоксиметилфенильными *мезо*-заместителями и аксиальными этокси-группами, а также *мезо*-фенил- и *n*-метилфенил-порфиринов фосфора(V) с *n*-аминофенольными группами в аксиальных положениях;

- Оценка влияния электронной природы *мезо*-заместителей в структуре порфиринов на их реакционную способность в реакциях введения атома фосфора в полости макроциклов;
- Оценка влияния электронной природы *мезо*-заместителей и аксиальных лигандов на оптические, фотофизические и фотохимические свойства порфиринов P(V);
- Влияние строения порфиринов P(V) на их световую и темновую цитотоксичность в отношении клеток аденокарциномы легкого A-549 и аденокарциномы молочной железы MCF-7, а также на их накопление и внутриклеточную локализацию;
- Механизм клеточной гибели опухолевых клеток под действием порфиринов P(V) в темновых и световых условиях.
- Способность порфиринов P(V) к дефосфорилированию при взаимодействии с белками;
- pH-Управляемое переключение фотофизических и фотохимических свойств порфиринов P(V) с аксиальными –ОН и –O-Ph-NH₂ лигандами.

Личный вклад автора

Автором лично проведен синтез всех комплексов, обсуждаемых в данном диссертационном исследовании, изучены оптические, фотофизические и фотохимические свойства комплексов порфиринов (поглощение, флуоресценция, способность к генерации синглетного кислорода, фотостабильность), в том числе в зависимости от pH, а также изучены их световая и темновая цитотоксичность, механизмы цитотоксичности, процесс дефосфорилирования при взаимодействии с белками и проведен цитометрический анализ. Автором написан текст настоящего диссертационного исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту и выводы.

Автор выражает благодарность коллегам, внесшим вклад в настоящее диссертационное исследование: к.х.н. Акасову Р.А. (МПУ) и аспиранту

Горшкову Е.В. (МГУ им М.В. Ломоносова) за помощь в проведении биологических экспериментов, к.х.н. Киракосян Г.А. (ИОНХ РАН, ИФХЭ РАН) и д.х.н. Бирину К.П. (ИФХЭ РАН) за регистрацию ЯМР-спектров, д.х.н. Мартынову А.Г. (ИФХЭ РАН) за проведение квантово-химических расчетов, д.х.н. Мартынову А.Г. (ИФХЭ РАН), к.х.н. Сафоновой Е.А. (ИФХЭ РАН) и к.х.н. Бунину Д.А. (ИФХЭ РАН) за регистрацию масс-спектров с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией MALDI TOF; к.х.н. Шокурову А.В. (ИФХЭ РАН) и к.х.н. Ермаковой Е.В. (ИФХЭ РАН) за проведение электрохимических исследований, центрам коллективного пользования ИФХЭ РАН и ИОНХ РАН за предоставленное оборудование для проведения физико-химических исследований.

Апробация работы

Результаты проведенных исследований были представлены в виде устных и стендовых докладов на XVI, XVII конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов ИФХЭ РАН (г. Москва, 2021 г., 2022 г.), XIX международной конференции «Спектроскопия координационных соединений» (г. Туапсе, п. Небуг, 2022 г), XIII конференции молодых ученых по общей и неорганической химии (г. Москва, 2023 г), XXII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (ф.т. Сириус, 2024 г.).

Публикации

Основное содержание работы опубликовано в 3-х статьях и 8-ми тезисах докладов на Российских и Международных конференциях.

2. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Соединения порфиринов широко распространены в природе. Циклические тетрапирролы – хлорофилл и гем, являются ключевыми компонентами фотосинтетических и дыхательных биосистем соответственно. Производные порфиринов являются кофакторами ряда ферментов, которые принимают участие в ряде окислительных процессов в организме, переносе энергии и малых молекул. Фундаментальная роль порфириноидов в природных процессах привлекла интерес к получению синтетических порфиринов, изучению их физико-химических свойств и поиску возможных путей их практического использования в широком круге прикладных областей.

Химии порфиринов было посвящено много книг и монографий, как в изданиях начала XX века [1,2], так и современных работах, среди которых нельзя не отметить 50-томный «Справочник по порфиринам» (Handbook of porphyrin science) под редакцией проф. Кадиша, Смита и Гиляра, новые тома которого регулярно выходят с 2010 г. [3]. Более того, ежегодно публикуется множество обзоров посвященных порфиринам, где подробно обсуждаются вопросы их синтеза и применения. Все это подчеркивает непрекращающийся интерес к синтезу и использованию порфириновых макрогетероциклов, и в настоящее время порфирины и их производные находят применение в таких областях, как катализ [4–7], молекулярная электроника [8,9], искусственный фотосинтез [10,11] и др.

Благодаря способности порфиринов селективно накапливаться в опухолях, а также генерировать активные формы кислорода (АФК), значительная часть работ, связанных с исследованием порфиринов и их производных, нацелена на биомедицинские приложения [12–14], в первую очередь включающие фотодинамическую терапию (ФДТ), фототермическую терапию (ФТТ) и флуоресцентную диагностику различных заболеваний [15]. Важно отметить, что использование производных порфиринов как

фотосенсибилизаторов (ФС) в ФДТ уже вышло на уровень их клинического применения, что более подробно будет обсуждено в разделе 2.3.

2.1. Синтетические подходы к получению порфиринов и их производных

2.1.1. Порфирины, модифицированные в β - и мезо- положениях

Молекула порфирина представляет собой 18-электронный тетрапиррольный макроцикл (Рис. 1). В зависимости от расположения заместителей в макроцикле порфирины разделяют на β - и мезо-замещенные. β -Замещёнными называются порфирины, у которых заместители расположены на атомах углерода пиррольных колец, т.е. в положениях 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18. Мезо-замещенными называются порфирины, у которых заместители расположены на углеродных мостиках между пиррольными кольцами, т.е. в положениях 5, 10, 15, 20 (Рис. 1) [16].

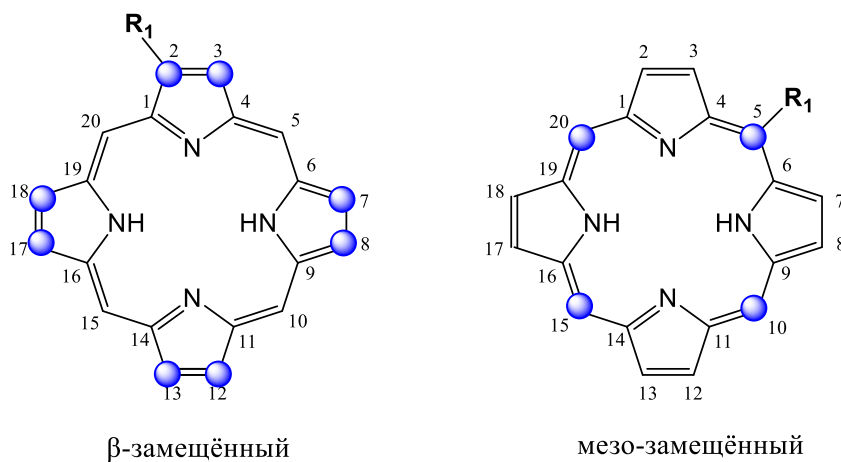


Рис. 1. Номенклатура порфиринов.

Классическим методом получения мезо-замещенных порфиринов является конденсация альдегидов и пирролов в условиях кислотного катализа (Схема 1), предложенная Адлером [17]. Наиболее часто реакцию проводят при кипячении смеси реагентов в пропионовой кислоте [18], реже – в дихлорметане в присутствии трифторуксусной кислоты [19], в смеси пропионовой кислоты и ДМСО [20], или нитробензола [21]. В результате тетрамеризации образуется порфириноген, который затем окисляется

кислородом воздуха в порфирин. Этот метод является удобным для получения симметричных порфиринов.

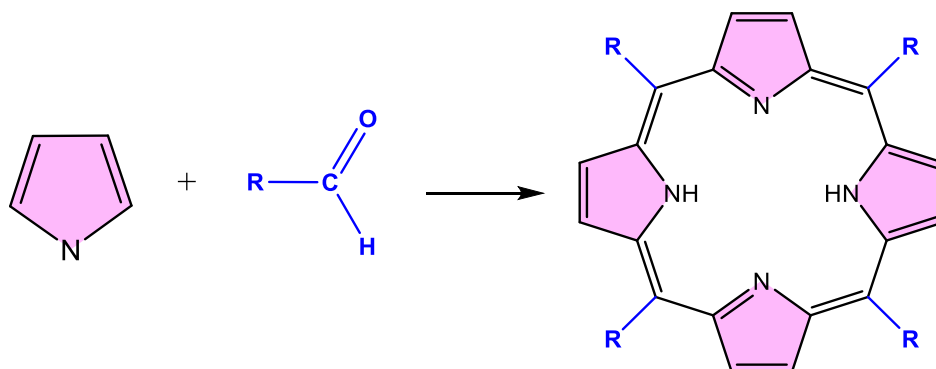


Схема 1. Синтез симметричных мезо-замещенных порфиринов.

При введении в такую реакцию смеси альдегидов происходит образование продуктов со всеми возможными сочетаниями заместителей (Схема 2). Такой одnoreакторный подход иногда целенаправленно используют для одновременного получения ряда порфиринов для изучения влияния заместителей на свойства получаемых соединений. Так, в работе [22] из смеси пиррола, фенил- и пиридил-альдегидов был получен ряд порфиринов со всеми возможными соотношениями фенильных и пиридных фрагментов (от A_4 до B_4).

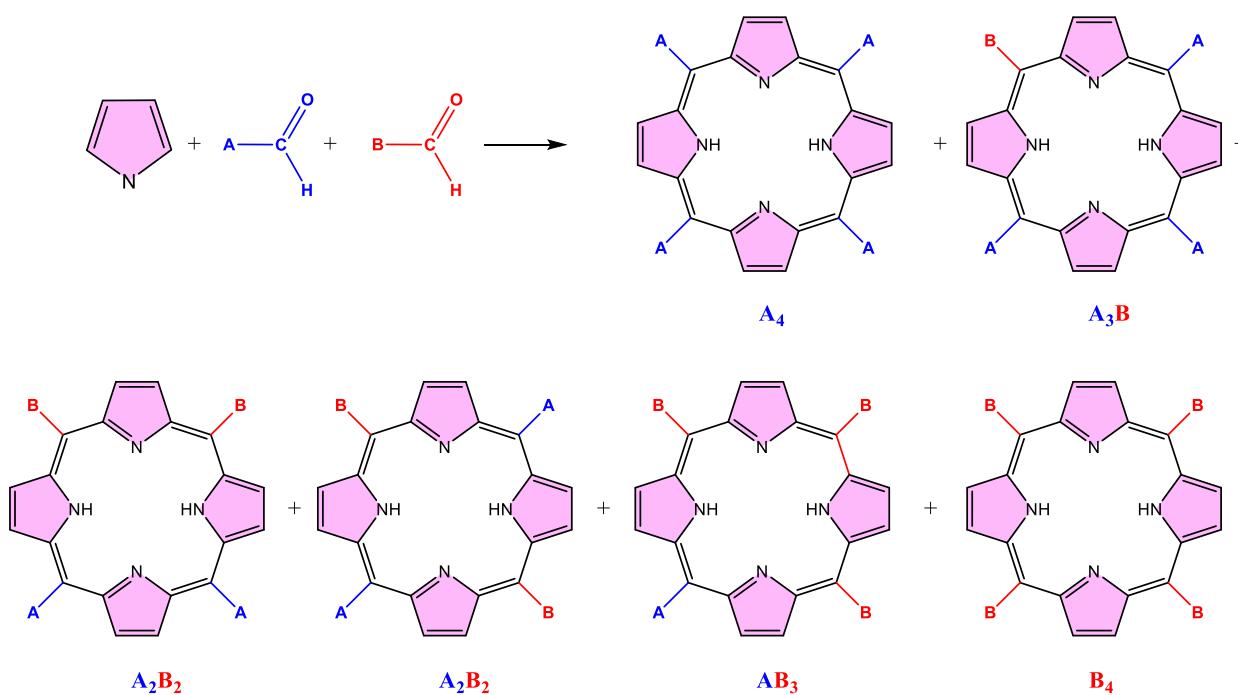


Схема 2. Возможные продукты конденсации двух альдегидов с пирролом.

Кислотная конденсация замещенных ацилпирролов позволяет получать β -замещенные порфирины (Схема 3) [23,24]. Однако, если ацилпирролы имеют разные заместители в положениях 3 и 4 (А и В на Схема 3) при тетрамеризации будет образовываться смесь продуктов.

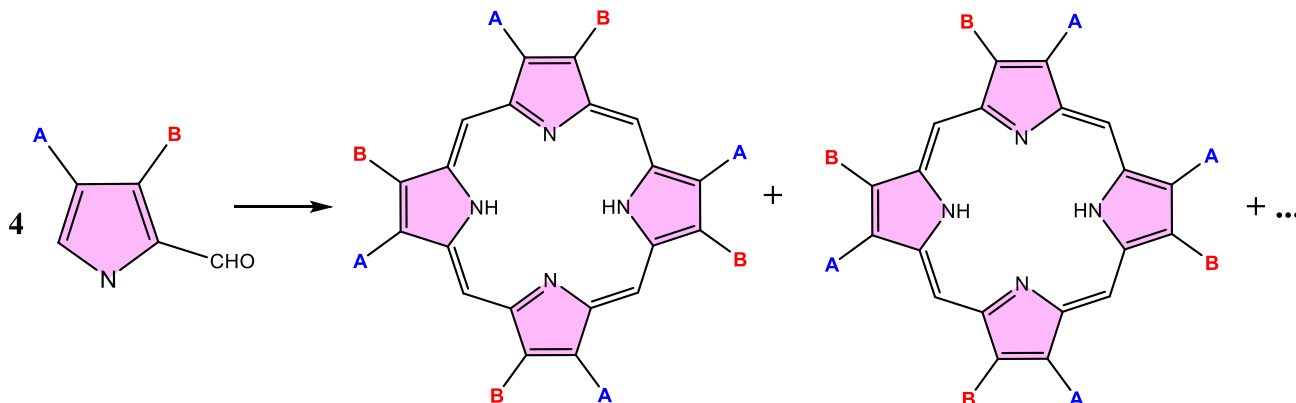


Схема 3. Синтез β -замещённых порфиринов.

В случаях, если разделение смеси продуктов с разной комбинацией заместителей затруднительно, рациональным является применение стратегий направленного синтеза несимметричных порфиринов. Можно выделить три основных подхода: 1) [2+2] конденсация двух дипиррометанов [25], 2) [3+1] конденсация трипиррана и диацилпиррола [17,26] и 3) циклизация биланов [27].

Ключевыми интермедиатами в подходе [2+2], разработанном группой Макдональда [28], является пара дипиррометанов, один из которых несет три будущих *мезо*-фрагмента (1,9-дикарбинолдипиррометан), а другой – один (незамещенный дипиррометан) (Схема 4). Необходимый 1,9-дикарбинолдипиррометан можно получать из незамещенного дипиррометана путем его ацилирования.

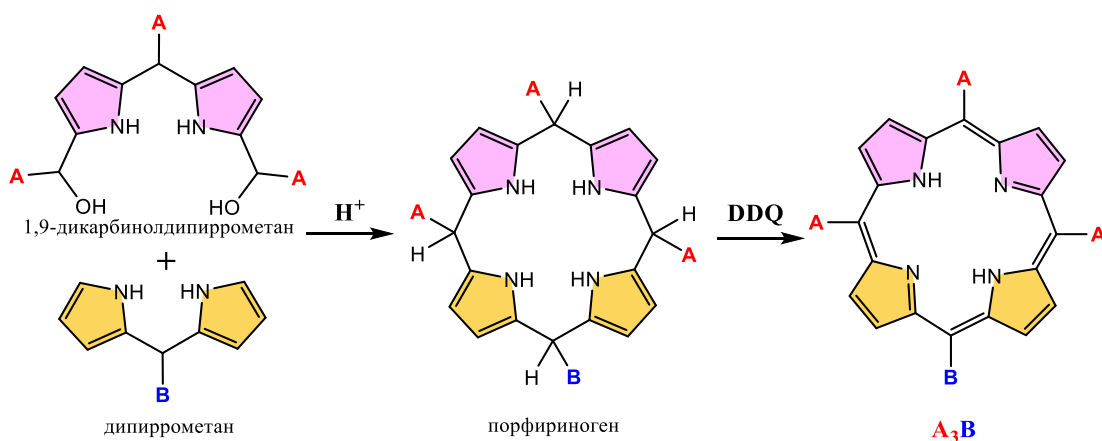


Схема 4. Получение несимметричного порфирина с помощью [2+2] подхода.

На основе метода [2+2] Бодифом и Моментеу был разработан подход [3+1] (Схема 5), использующий трипиррольный интермедиат и 2,5-дизамещенный пиррол [29]. Такой подход оказался эффективным инструментом для создания несимметричных β -замещённых порфиринов, однако его применимость для создания мезо-замещённых несимметричных порфиринов ограничивается сложностями при синтезе исходных соединений с необходимыми заместителями у «мостиковых» атомов углерода.

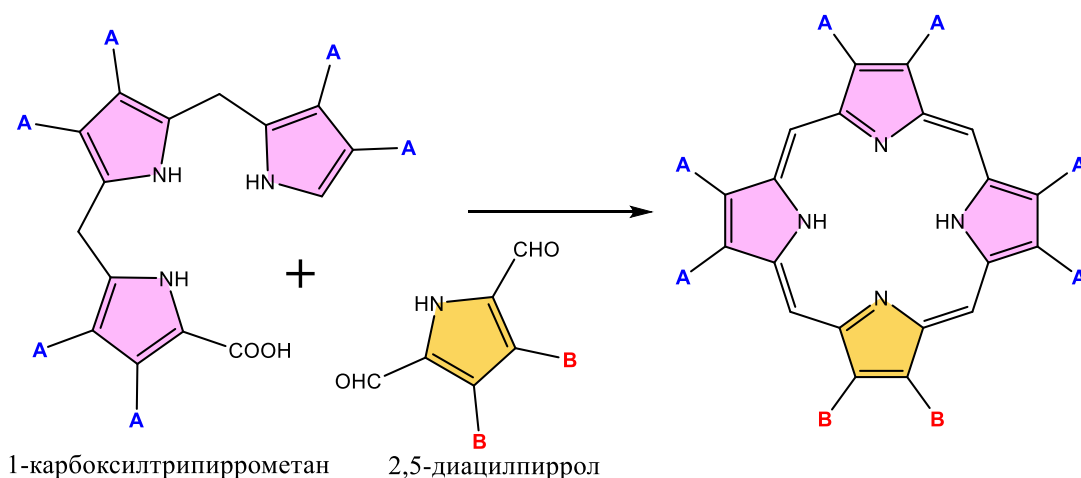


Схема 5. Получение порфиринов [3+1] конденсацией трипиррана и диацетилпиррола.

Альтернативным методом, позволяющим удобно получать как β - так и мезо-замещённые несимметричные порфирины является циклизация линейных тетрапирролов – биланов в присутствии $MgBr_2$ и DBU (Схема 6). Требуемый билан получают при катализируемой кислотой реакции 9-бромдипиррометан-1-карбинола и 1-ацилдипиррометана.

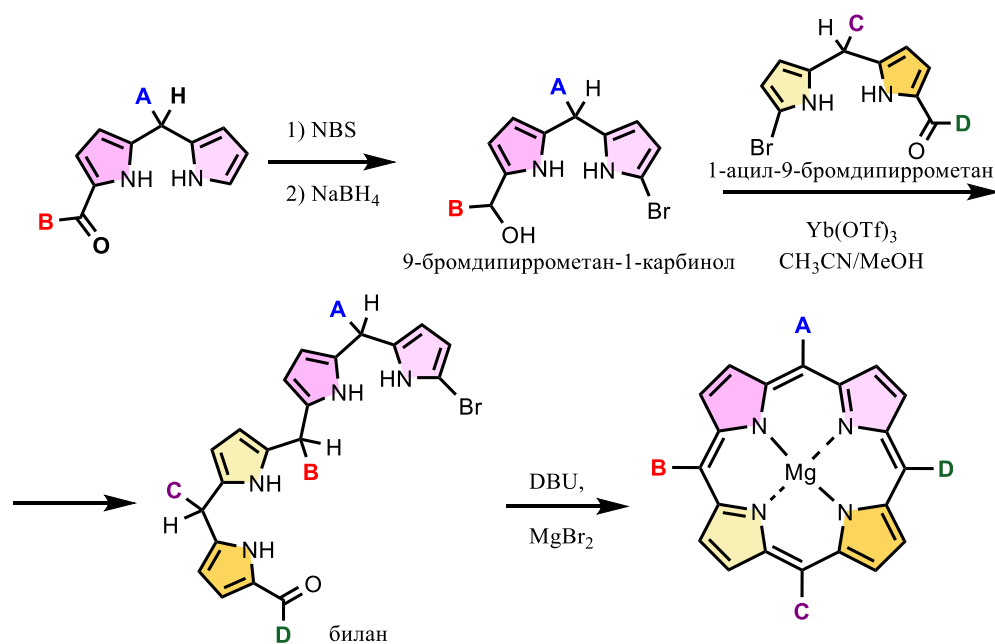


Схема 6. «Билановый» путь образования мезо-замещенных порфиринов.

Такой метод обеспечивает более высокие выходы на каждой стадии по сравнению с [2+2]- и [3+1]-подходами и отсутствие необходимости добавления химического окислителя. Ограничениями метода являются невозможность введения стерически нагруженных заместителей в положения **B** и **C**, а также требование к устойчивости функциональных групп в условиях данного синтеза.

Несмотря на то, что порфирины являются перспективными биомиметиками, для возможности их применения в медицинских целях необходимо обеспечить растворимость в воде порфиринового макроцикла. Существует несколько подходов для увеличения водорастворимости порфиринов: 1) введение гидрофильных заместителей на периферию макроцикла; 2) получение конъюгатов с биомолекулами; 3) введение атома фосфора(V) в полость макроцикла.

Гидрофильные заместители (анионные, катионные и нейтральные) могут быть введены на ранних стадиях синтеза целевого соединения (как правило, при сборке порфиринового макроцикла с использованием защитных групп на соответствующих функциональных заместителях) или на поздних стадиях постсинтетической модификации порфирина.

Среди анионных групп наиболее часто вводимыми являются карбоксилатные, сульфо- и фосфатные группы. Порфирины с карбокси-группами на периферии могут быть получены щелочным гидролизом их эфиров (Схема 7) [30,31].

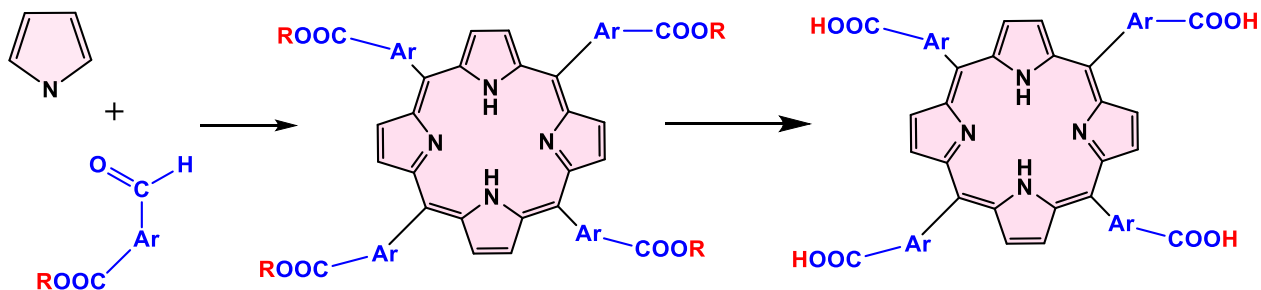


Схема 7. Получение мезо-(тетра(карбоксифенил))порфирина.

Сульфирование мезо-тетрафенилпорфирина происходит региоселективно в *para*-положениях мезо-фенильных колец [32]. Однако эта стратегия солюбилизации имеет недостатки, среди которых следует отметить жесткие условия реакции (обработка конц. H_2SO_4 при повышенной температуре в течение нескольких часов), которые могут затрагивать иные функциональные группы в порфирине при их наличии, и трудности с очисткой целевого соединения. С другой стороны, это позволяет эффективно солюбилизировать порфирины в водной среде.

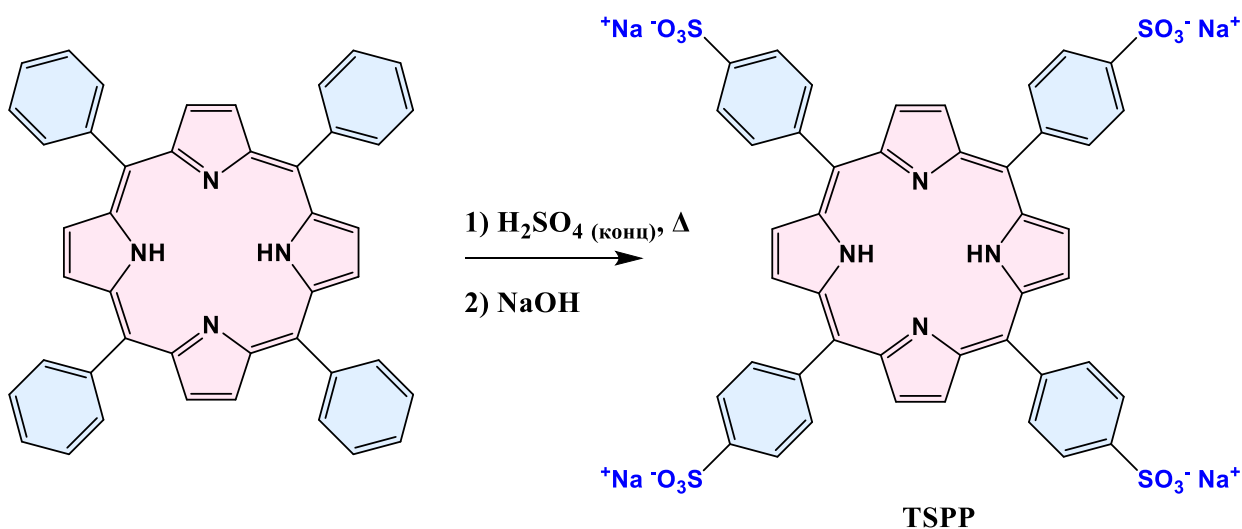


Схема 8. Сульфирование тетрафенилпорфирина.

Альтернативным методом введения сульфонатных групп является подход, основанный на использовании хлорсульфоновой кислоты $ClSO_3H$ [33]

или его триметилсиланового производного $\text{ClSO}_3\text{SiMe}_3$ [34] в более мягких условиях. Продукт хлорсульфонирования затем может быть гидролизован до соответствующей сульфокислоты (Схема 9).

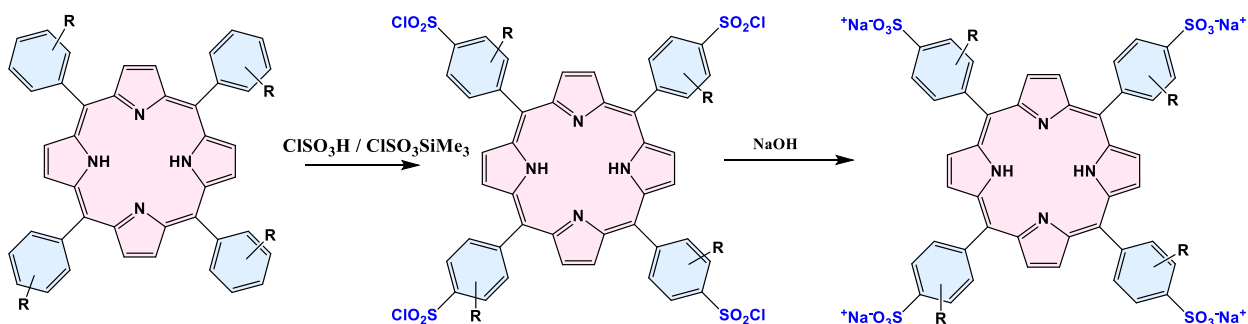


Схема 9. Получение сульфопроизводных порфирина методом хлорсульфонирования.

Введение алкилфосфонатных функциональных групп на периферию порфирина также применяется для увеличения их гидрофильности. В качестве фосфорилирующих агентов могут быть использованы различные производные фосфорной кислоты: $\text{P}(\text{OSiMe}_3)_3$ [35], $\text{HP}(\text{O})(\text{OAlk})_2$ [36,37], $\text{ClP}(\text{O})(\text{OMe})_2$ [38], $\text{P}(\text{OMe})_3$ [39] и др. Однако такие методы фосфорилирования осуществляются в несколько стадий и сопровождаются сложной очисткой.

Альтернативным методом солубилизации порфиринов является введение катионных групп, прежде всего – аминных (третичных и четвертичных). Стратегии их получения часто основаны на синтезе порфиринов методом Адлера с включением аминсодержащих строительных блоков или путем модификации других функциональных групп, таких как фенолы [40,41]. Пример модификации мезо-фенольного фрагмента в порфирине приведен на Схема 10 [42].

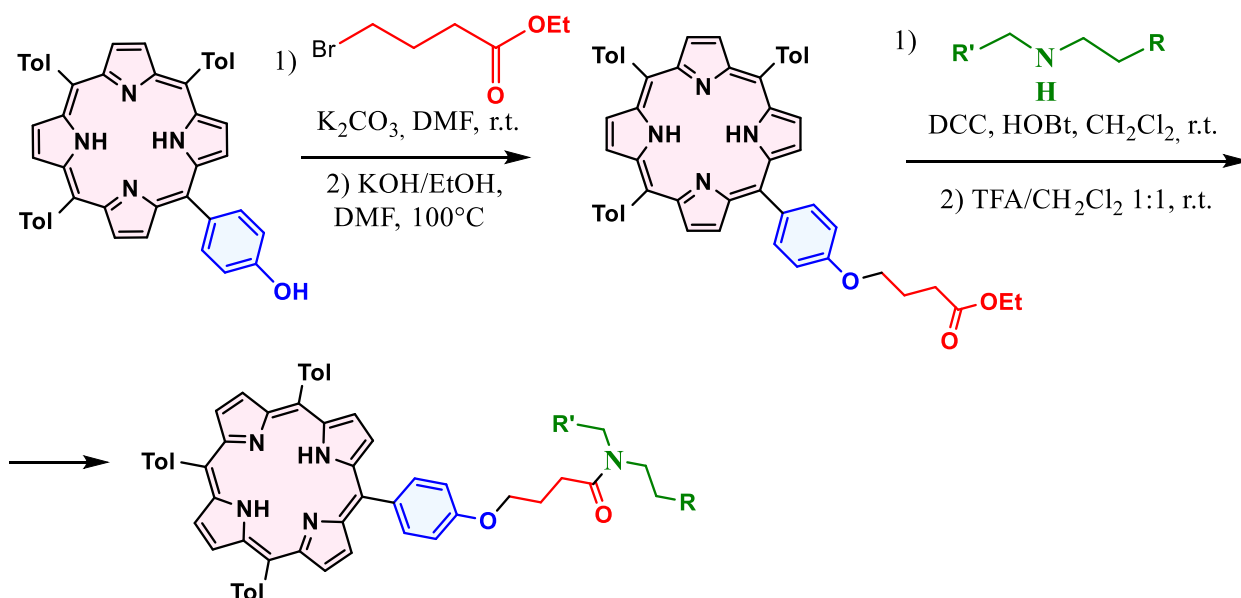


Схема 10. Получение амин-содержащих порфиринов путем модификации фенольного фрагмента.

Также в литературе описано множество примеров водорастворимых мезо-пиридилпорфиринов и их кватернизованных аналогов, способных интеркалироваться в ДНК [22,41,43–46]. Тетра(4-пиридил)порфирин может быть получен методом Адлера из смеси пиррола и пиридинальдегида и затем кватернизован действием алкилгалогенидов.

2.1.2. Конъюгаты и сопряженные системы на основе порфиринов

Для увеличения биосовместимости структуру порфирина также можно модифицировать в периферических положениях путем их конъюгации с биомолекулами: липосомами, белками, олигонуклеотидами, сахарами и др.

Для получения олигонуклеотидных и пептидных конъюгатов известен ряд методов, таких как амидное сочетание, фосфоримирование, кросс-сочетание, пептидное лигирование, основанное на собственных функциональных группах боковой цепи, биортогональные реакции, реакция гидразида и др. [47].

Одним из наиболее перспективных методов введения нуклеотидного фрагмента является проведение амидного сочетания между порфириincarбоновой кислотой и нуклеотидным фрагментом, содержащим

свободную $-NH_2$ группу (Схема 11) [48,49]. Путем такого амидного сочетания были получены конъюгаты гиалуроновой кислоты и порфирина (Схема 12), которые имели значительный красный сдвиг полос поглощения в ближнюю инфракрасную область, а также обладали низкой темновой токсичностью и высокой фототоксичностью [20].

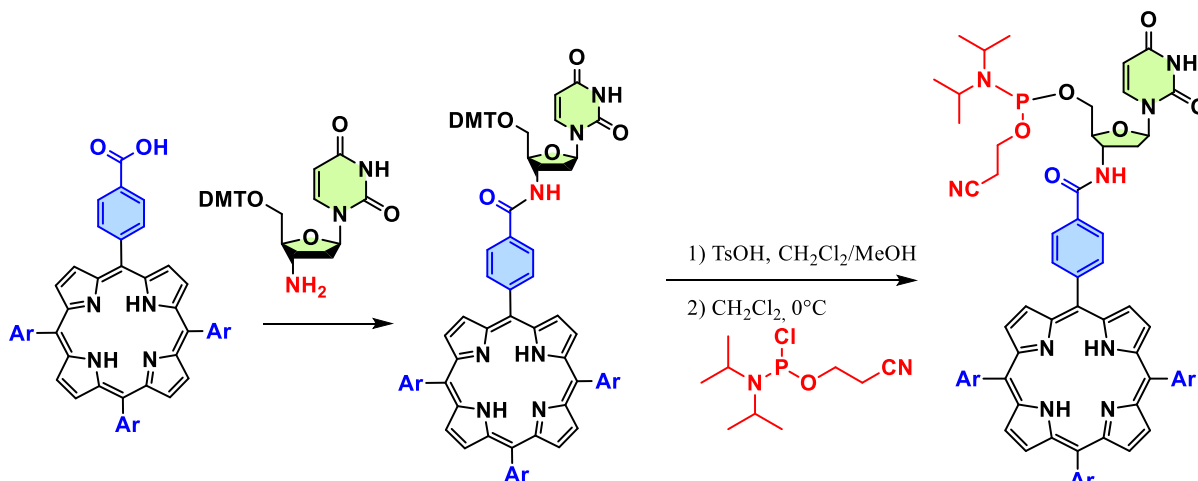


Схема 11. Амидное сочетание между карбоксил-замещенным порфирином и нуклеотидом с последующем фосфорамитидированием (присоединением DIPEA).

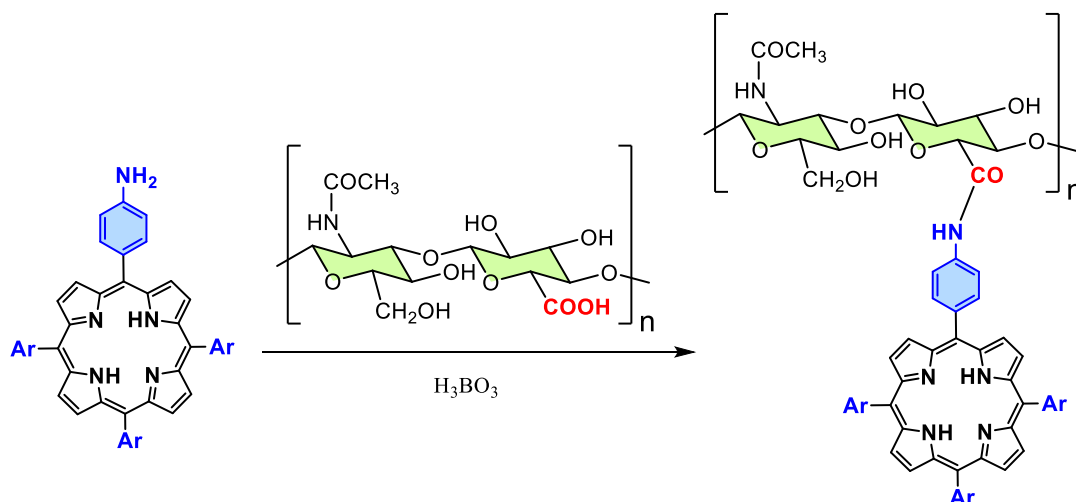


Схема 12. Получение конъюгатов гиалуроновой кислоты и аминоксодержащего порфирина путем амидного сочетания.

Помимо амидных линкеров, для получения конъюгатов применяются и фосфатные линкеры – фосфорамидиты. Для их получения порфирин, содержащий $-CH_2OH$ фрагмент [50] или порфириносодержащий 5' – гидроксинуклеотид [51] фосфорилируется 2-циано-этил-N,N-диизопропилхлор-фосфорамитидином (DIPEA) (Схема 13) с получением

фосфорамидита. Последующее увеличение нуклеотидной последовательности осуществляется путем поэтапного связывания нуклеозидных фосфорамидитов, для чего реализуется снятие защиты с кислотной группы диметилтриптамина (DMT), т.е. детритилирования на терминальном нуклеозиде перед добавлением каждого входящего фосфорамидита. Данный метод твердофазного синтеза на основе фосфорамидита является одним из основных методов получения олигонуклеотидных последовательностей.

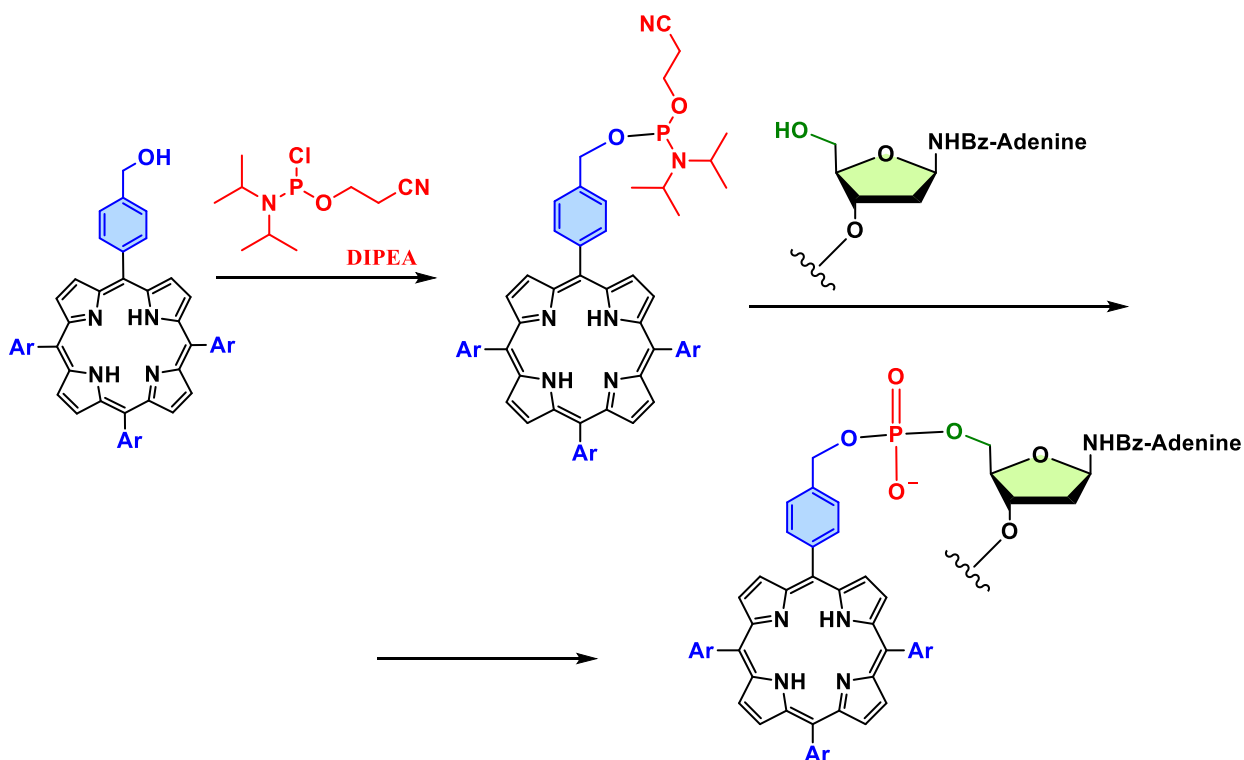
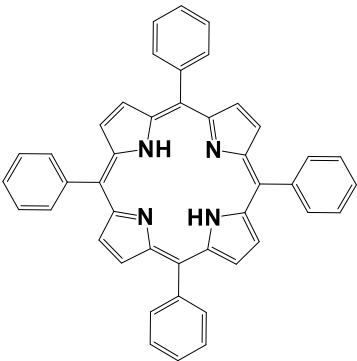
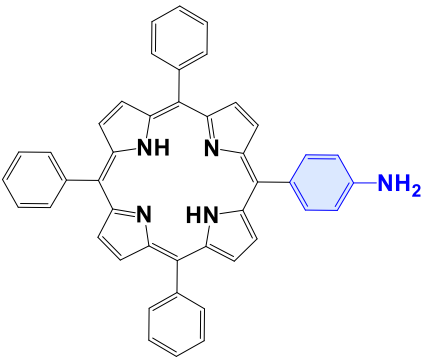
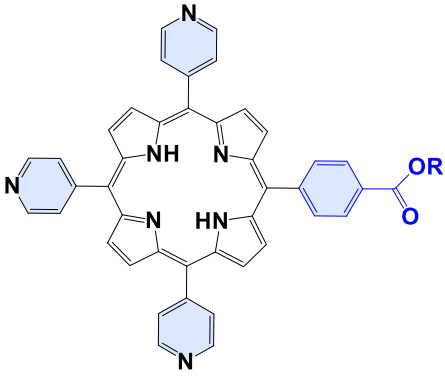
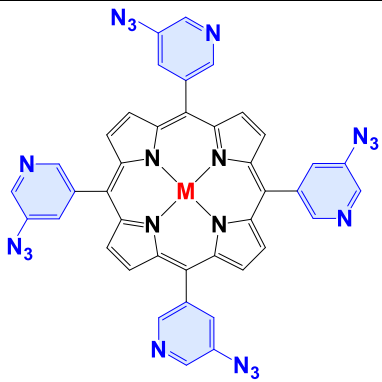
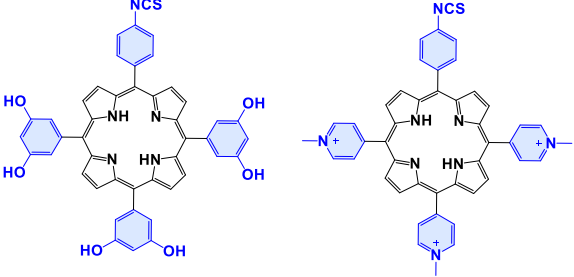
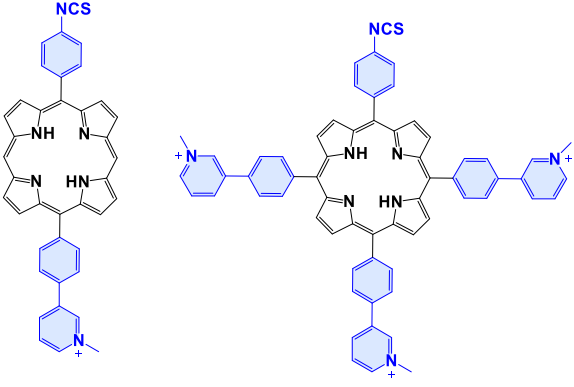
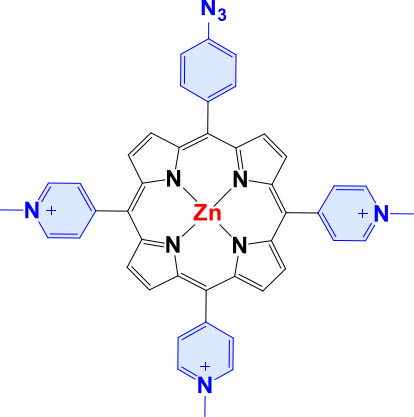


Схема 13. Фосфорамидитирование порфирина, содержащего $-CH_2OH$ фрагмент, с последующим присоединением к нуклеотидной цепи.

Проведение палладий-катализируемого сочетания Соногаширы между мезо-(*n*-йодфенил)-порфирином и триизопропилсилиловым эфиром (TIPS) фенилэтиниленового нуклеотида также приводит к образованию порфири-нуклеотидного конъюгата, который затем можно использовать в качестве строительного блока для наращивания нуклеотидной цепи [47]. Некоторые примеры описанных конъюгатов порфиринов с пептидами, белками и антителами представлены в таблице 1.

Таблица 1. Примеры конъюгатов порфиринов с пептидами и белками.

Порфирин	Белковый компонент	ссылка
	фузогеная пептидная последовательность HIV-1Tat 40-60	[52]
	Лизин, Аргинин	[53]
	HSA, BSA, моноклональные антитела CD104	[54]
	Глицин, Глутамин, Гистидин, Цитозин, Лизин, Изолейцин	[55]

	Моноклональные антитела FSP 77 , 17.1A и 35A7	[56]
	Моноклональные антитела CD104, CD146 и CD326	[57]
	Моноклональные антитела 7B2	[58]

Поскольку известно, что раковые клетки склонны к большому потреблению сахаров по сравнению со здоровыми клетками, то привлекательными объектами представляются гликокоъюгаты на основе порфиринов. Они имеют высокую водорастворимость [59], а также способность к накоплению в раковых клетках за счет облегчения углеводно-белкового взаимодействия при клеточном распознавании [60,61]. Для получения углевод-порфириновых систем наиболее широко применимы методы кросс-сочетания и «клик»-реакций. Катализируемое Pd(II) кросс-сочетание бромированного порфирина и защищенного алкилированного спирта позволяет получать алкинилированный порфирин (Схема 14). Дальнейшее азид-алкиновое циклоприсоединение (CuAAC) приводит к

получению глюкоконъюгатов с различными сахарами: глюкозой, галактозой, трегалозой, лактозой и др.[59,62]. Клик-реакции CuAAC обычно проводят при катализе солями одновалентной меди, из-за чего возникает необходимость использования металлокомплекса порфирина вместо свободного основания для того, чтобы избежать комплексообразования между порфирином и катионом Cu(I). По этой причине получение глюкоконъюгатов реализуют для металлопорфиринов, прежде всего Zn [63].

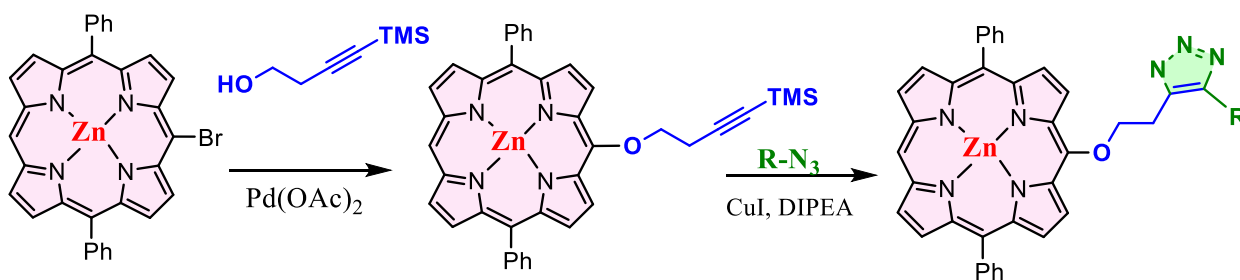


Схема 14. Получение глюкоконъюгатов порфирина методом азид-алкинового присоединения (CuAAC).

Проведение клик-реакции между порфирином с азидной группой и более доступными гликозидами с алкиновой группой возможно как при катализе Cu(I) [64], так и при микроволновом воздействии [65]. Разнообразие условий и используемых субстратов для клик-реакций между порфиринами и сахарами подробно обсуждалось в работе [66]. В ряде работ было продемонстрировано, что уменьшение длины линкера между порфирином и сахаром приводит к увеличению фотоцитотоксического эффекта [62,63], причем для некоторых конъюгатов IC₅₀ по отношению к клеткам ретинобластомы снижается до 0.1 мкМ [67].

В качестве агента, увеличивающего водорастворимость и доставку порфиринов, также возможно использование липосом. Ковалентное присоединение порфирина к цепи полиэтиленгликоля приводит к формированию липосом, способных вызывать апоптоз раковых клеток [68]. Липосомизация порфиринов в смеси фосфатидилхолина и холестерина приводит к эффективному захвату порфирина в липосому, что должно способствовать накоплению в опухоли [69]. Отдельный интерес представляют конъюгаты порфирин-липид, известные как порфисомы. Порфисомы

формируются путем супрамолекулярной самосборки липидов и порфирина [70] и способны генерировать фотоакустические сигналы (Рис. 2) [71].

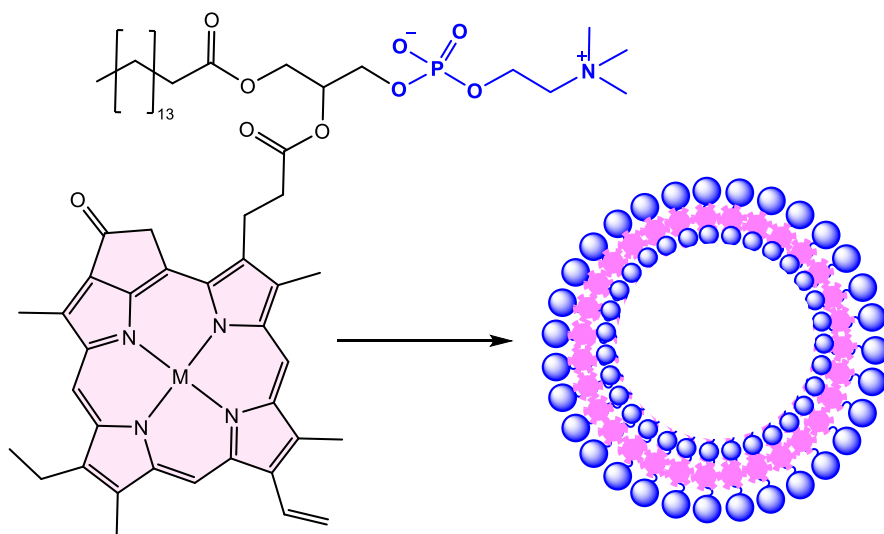


Рис. 2. Сборка металлопорфирина, конъюгированного с липидом, в порфисомы.

В зависимости от соотношения порфирин : липид меняется размер образуемых супрамолекулярных частиц, так при соотношении 1:4 образуются нановезикулы диаметром 100 нм и толщиной билипидного слоя 10 нм и с батохромным сдвигом полосы S_{0r} в электронном спектре поглощения на ~ 10 нм [70]. При соотношении 1:2 размер получаемых порфисом порфисомы составлял 20-50 нм, однако при генерировании синглетного кислорода, происходит окисление кратных связей липидного слоя, что приводит к изгибу ацильной цепи и увеличению площади бислоя [72]. Нановезикулы размером 100-120 нм образовывались также при соотношении 1:1 [73]. Порфисомы предлагают многообещающую альтернативу неорганическим наночастицам для фотоакустической биовизуализации, поскольку их органическая природа позволяет им быть биоразлагаемыми и при этом эффективно поглощать свет в ближнем инфракрасном диапазоне длин, генерируя уровни тепла, сопоставимые с неорганическими золотыми наночастицами [74]. Также для солюбилизации нерастворимых в воде порфиринов используются различные ПАВ, так, например, Pluronic F127 был успешно применен для преодоления агрегации порфиринов в водных растворах [75,76].

2.1.3. Металлопорфирины

Ввиду высокой ароматичности порфирины способны образовывать прочные комплексные соединения с различными металлами, что делает их координационную химию чрезвычайно богатой. Макроцикл порфирина является высокоселективным для ионов с радиусом около 70 пм. Когда ионный радиус координирующего катиона находится в диапазоне 55–80 пм, ион металла может вписаться в центр плоской тетрапиррольной кольцевой системы, образуя плоский металлопорфирин, что характерно для большинства атомов металлов d-элементов. Ионы металлов с большим ионным радиусом (более 80–90 пм) располагаются вне плоскости порфирина. Разнообразие типов ядер в комбинации с известными различными методами модификации периферии макроцикла позволяет получить огромное число комплексных соединений, физико-химические свойства которых будут зависеть как от природы макроцикла, так и от природы металлоцентра [77–79].

Как правило, комплексы порфиринов получают прямым комплексообразованием, протекающим между свободными основаниями и солями металлов (Схема 15), наиболее часто используются галогениды, ацетаты и ацетилацетонаты [80].

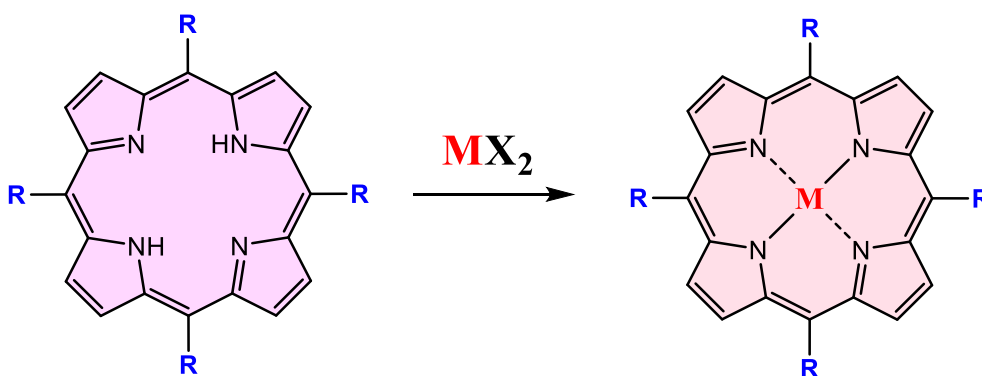


Схема 15. Общая схема синтеза металлокомплексов порфиринов

Условия реакции (температура, растворитель) варьируются в зависимости от используемого металла и природы порфирина. Выбор растворителя зависит от его способности растворять как соли металла, так и порфирин, в связи с чем чаще всего используются высококипящие растворители, такие как ДМФА и пиридин или смеси хлорированных

растворителей со спиртами. Комплексы с щелочными металлами получают при невысоких температурах (до 80°C), тогда как введение d-металлов осуществляют при температуре от 100 до 250°C [81].

2.1.4. Порфирилаты фосфора(V)

Помимо катионов металлов в полость порфиринов могут введены некоторые неметаллы: кремний [82], фосфор [83], сурьма [84]. Катионом с наименьшим радиусом, который можно внедрить в порфирин в единственном числе, является фосфор(V) (Схема 16). Первый синтез *мезо*-замещенных порфирилатов P(V) был описан в 1977 году Каррано и Цуцуи [85], примерно одновременно с работой Сайера и Гутермана о синтезе β -октаэтилпорфирилата P(V) [86]. В обеих работах в качестве источника фосфора применялись хлорпроизводные (POCl_3 и PCl_3) с образованием на первой стадии дихлорпорфирилатов фосфора(V).

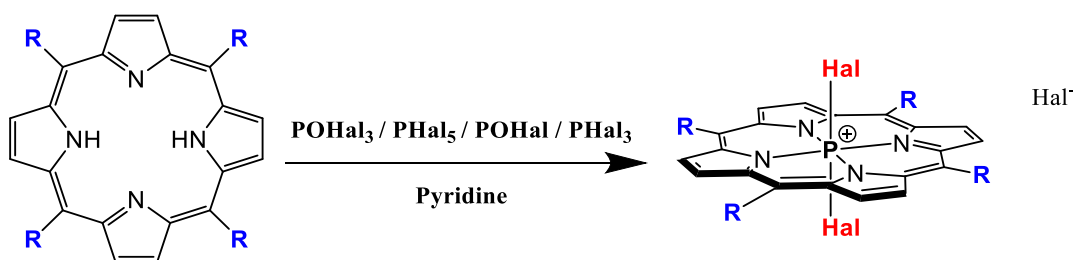


Схема 16. Основные способы внедрения атома фосфора в полость порфиринового макроцикла.

В настоящее время для синтеза порфирилатов P(V), содержащих заместители в *мезо*- либо в β -положениях, помимо POCl_3 и PCl_3 используются также бром-производные фосфора [87–89]. Использование POBr_3 представляется наиболее перспективным способом, поскольку для введения фосфора в полость порфирина требуется меньшее количество POBr_3 по сравнению с POCl_3 и PCl_3 , при этом скорость образования дигалогенпорфирилата и выход реакции выше [89]. Порфирилаты фосфора(V) с аксиальными группами $-\text{Br}$ обладают исключительной реакционной способностью и не могут быть выделены в индивидуальном виде. С одной стороны, это не позволяет предварительно очищать комплекс перед

проведением следующих стадий, а с другой стороны, это способствует более эффективному замещению аксиальных лигандов по сравнению с дихлорпорфиринами.

Дигалогенпорфирилаты фосфора(V) в дальнейшем могут быть подвержены функционализации (Схема 17) посредством замещения аксиальных групп $-\text{Hal}$ на $-\text{OH}$, $-\text{OEt}$, $-\text{OAr}$, $-\text{NHAr}$ и т.д. [88,90]. В том числе возможно введение в аксиальные положения биологически активных групп, таких как триптофановые, тирозиновые или глюкопиранозильные [91,92].

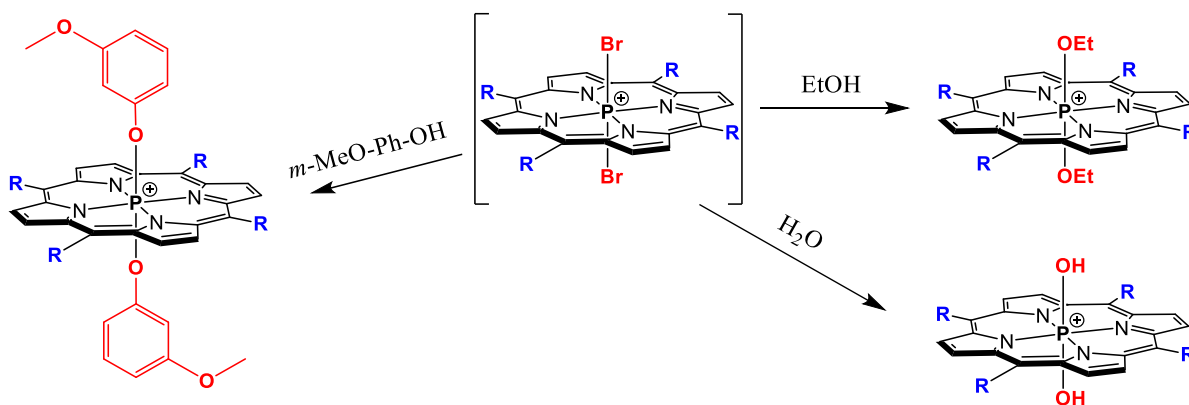


Схема 17. Получение производных порфирилатов фосфора(V).

При использовании вместо PHal_3 его алкильного производного RPCl_2 можно получить комплексы с двумя типами аксиальных лигандов (Схема 18) [90]. В дальнейшем из таких комплексов могут быть получены порфириновые гетеродимеры, в которых металлопорфирин и порфирилат P(V) связаны через μ -оксомостик [93–95].

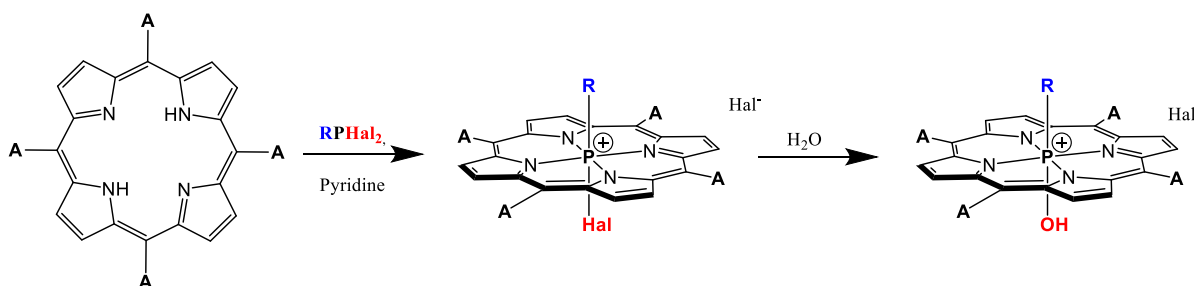


Схема 18. Получение разнолигандных порфирилатов фосфора(V).

2.2. Физико-химические характеристики порфиринов и порфиринов фосфора(V)

2.2.1. Спектроскопия поглощения

Электронная спектроскопия поглощения (ЭСП) для свободных оснований порфиринов и их комплексов как с металлами, так и с фосфором(V) объяснена в рамках четырехорбитальной модели, предложенной Гуттерманом (Рис. 3а) [96–98]. Согласно данной модели изменения интенсивности и энергии переходов связаны со свойствами двух высших заполненных (ВЗМО) и двух низших свободных (НСМО) молекулярных π -орбиталей.

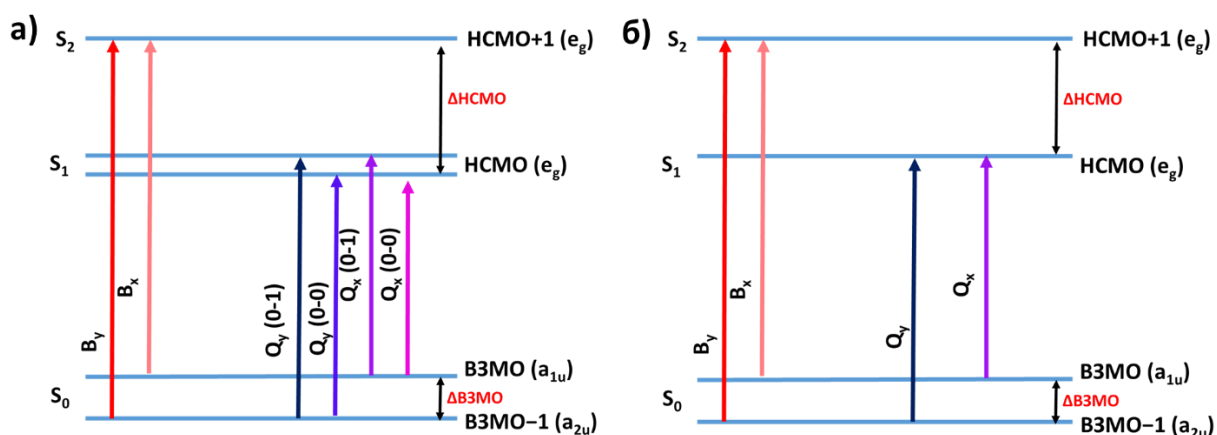


Рис. 3. 4-х орбитальная модель Гуттермана для а) свободных оснований порфиринов, б) комплексов порфиринов.

Для 18-ти электронного полиена $C_{16}H_{16}^{2-}$ орбитали ВЗМО и ВЗМО-1 должны быть вырожденными и иметь симметрию e_u . Наличие симметрии D_{2h} для свободных оснований порфиринов приводит к снятию вырождения e_u – орбиталей на a_{1u} и a_{2u} орбитали. В свою очередь НСМО и НСМО+1 остаются вырожденной парой e_g орбиталей, как и для полиена.

Электронные переходы с ВЗМО и ВЗМО–1 на НСМО+1 (B_x и B_y переходы) наиболее интенсивные по энергии соответствуют разрешенным S_0 – S_2 переходам. Полосы в ЭСП, отвечающие этим переходам, принято называть полосами S_0 ре или В-полосами. Т.к. разница в энергии данных переходов для свободных оснований порфиринов незначительна, полоса S_0 ре проявляется в виде одного пика (Рис. 4) в синей области (обычно около 400-450 нм). Более низкоэнергетические переходы Q_x и Q_y отвечают запрещенным S_0 – S_1

переходам на НСМО, вследствие чего переходы 0-0 Q_x , 0-1 Q_x , 0-0 Q_y 0-1 Q_y проявляются в ЭСП свободных оснований порфиринов в виде четырёх отдельных Q-полос в области 500-750 нм (Рис. 4).

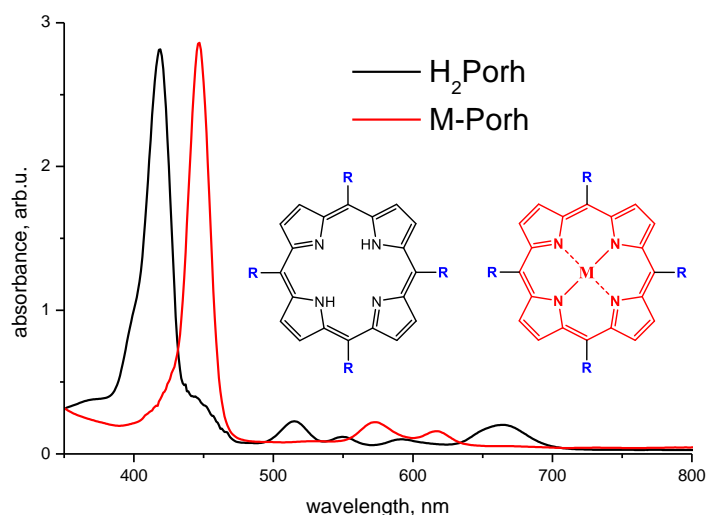


Рис. 4. ЭСП для свободного основания порфирина (черный) и металлопорфирина (красный).

При образовании комплекса порфирина с катионом металла или $P(V)$ происходит повышение симметрии комплекса до D_{4h} (Рис. 3б). Это приводит к снятию вырождения НСМО, вследствие чего Q_x , и Q_y переходы на НСМО проявляются в виде двух Q-полос в диапазоне 550-650 нм (Рис. 4) [99,100].

Для применения в ФДТ и флуоресцентной диагностике необходимы препараты, обладающие поглощением в терапевтическом окне прозрачности биотканей (600-800 нм). Это стимулирует поиск порфиринов, обладающих наиболее высокими коэффициентами экстинкции в данной области спектра. Расширение π -системы при введении в периферические положения ароматических заместителей либо конденсированных нафталиновых колец, приводит к уменьшению щели ВЗМО-НСМО, что в свою очередь способствует смещению Q-полос в красную область [101,102]. К аналогичному эффекту приводит наличие акцепторных групп в β -положениях, например, присутствие $-NO_2$ группы в β -положении комплекса порфирина с Zn расщепляет пару НСМО, тем самым уменьшая щель между ВЗМО и НСМО [103].

Уменьшение щели между ВЗМО и НСМО также можно достичь путем увеличения энергии ВЗМО. К этому приводит введение электронно-донорных групп в *мезо*-положениях [104]. В ряду порфиринов, содержащих от 0 до 4 фенильных заместителей, заметно значительное батохромное смещение Q-полос. Для незамещенного порфирина Q_y (0-1) полоса проявляется при 489 нм в толуоле, а для тетрафенилпорфирина – при 514 нм, что объясняется значительным увеличением энергии ВЗМО. Интересно, что при увеличении числа фенильных групп в *мезо*-положении энергия НСМО и НСМО+1 практически не изменяется [105]. Порфирины, содержащие акцепторные группы в *мезо*-положениях (-COOH, CN, Hal и т.п.), наоборот, характеризуются более низкими величинами энергии ВЗМО и НСМО уровней по сравнению с тетрафенилпорфирином, однако величина щели между ВЗМО и НСМО не значительно отличается [106].

Эффективной стратегией является также сочетание донорных и акцепторных заместителей в молекуле (эффект push-pull). При одновременном присутствии ароматических донорных и акцепторных групп в молекуле порфирина Q-полосы значительно уширяются и проявляются в диапазоне от 500 до 800 нм [107–109]. Более того, молекулы порфиринов, несущие донор электронов в *мезо*-положении и акцептор электронов в β -положении, создают дополнительную уширенную полосу между полосами Core и Q, появляющуюся около 500 нм из-за возбуждения S₀ → S₃ (переход ВЗМО - НСМО+2), что приводит к более эффективному поглощению света [107].

Среди порфиринатов P(V) наиболее подробно исследованы спектральные свойства *мезо*-замещенных комплексов [83]. Для них полосы Core, как правило, проявляются в области 400-460 нм, а Q-полосы – при 500-650 нм. Показано, что присутствие электронно-донорных *мезо*-групп способствует смещению поглощения P(V)-комплексов в красную область относительно комплекса с тетрафенилпорфирином [110]. Введение в *мезо*-положения четырех *m*-метокси-фенильных, 3,4,5-триметокси-фенильных или трифениламиновых заместителей приводит к значительному

внутримолекулярному переносу заряда с донорных *мезо*-групп на акцепторный ион P(V) за счет эффекта push-pull. В случае *мезо*-трифениламин- замещенного комплекса наблюдается проявление полосы переноса заряда, что приводит к панхроматическому поглощению в области от 200 до 800 нм [100].

2.2.2. Фотофизические и фотохимические свойства порфиринов и их комплексов

Для порфиринов и их комплексов известно несколько основных процессов релаксации возбужденных состояний (Рис. 5) [80,111–113]. После поглощения кванта электромагнитного излучения молекула порфирина переходит из основного состояния S_0 в возбужденное S_1 или S_2 .

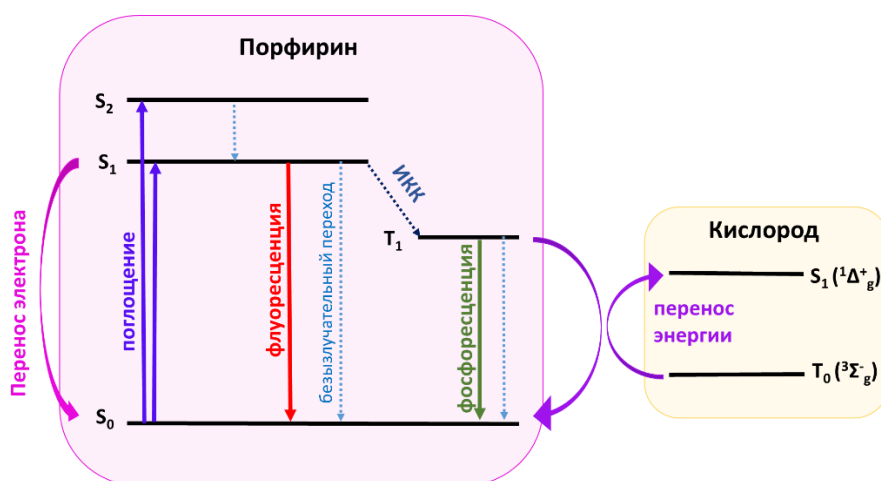


Рис. 5. Диаграмма Яблонского для описания основных возможных электронных переходов в молекулах порфирина и кислорода.

Возвращение в исходное состояние может происходить по пути флуоресценции: S_2-S_0 или S_1-S_0 . Состояние S_2 крайне быстро переходит в S_1 , но тем не менее S_2-S_0 процесс, может быть обнаружен и охарактеризован [111]. Обычно флуоресценция наблюдается в районе 550 – 750 нм и соответствует S_1-S_0 процессам [113,114] (Рис. 6). Однако часть энергии принимает участие в процессе интеркомбинационной конверсии (S_1-T_1), что ведёт к смене мультиплетности электронного состояния порфирина и переходу на

триплетный уровень T_1 (Рис. 6). Переход из состояния T_1 в S_0 может быть осуществлен за счет: 1) фосфоресценции, 2) безызлучательных процессов, 3) процессов передачи энергии/электрона другим молекулам. Важно отметить, что процессы передачи заряда возможны как при пути S_1-S_0 , так и T_1-S_0 .

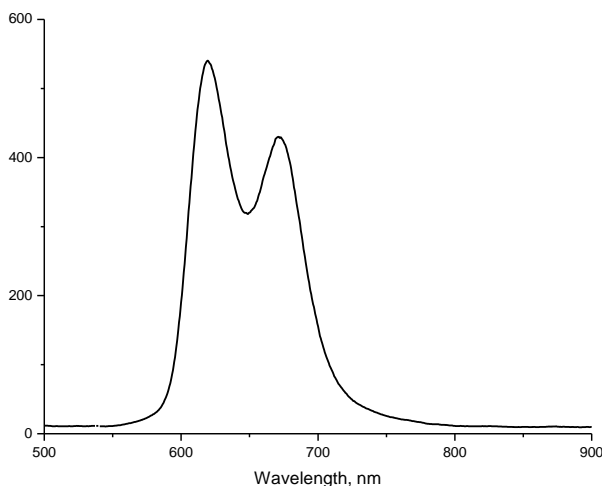


Рис. 6. Типичный спектр флуоресценции для порфиринов и их комплексов.

2.2.2.1. Люминесцентные свойства

Для порфиринов характерна двухполосная флуоресценция в области 600-800 нм, соответствующая переходу S_1-S_0 . Влияние периферийных заместителей невелико как на положение полос флуоресценции, так и на квантовые выходы флуоресценции, которые для порфиринов обычно относительно невысоки и составляют около 0.10-0.20 [113,115,116]. Для металлокомплексов порфиринов также характерна эмиссия в области 600-800 нм, однако на её интенсивность значительное влияние оказывает природа вводимого атома. Было показано, что у комплексов с металлами с заполненными d -оболочками имеет место эффект «тяжелого атома», при этом эффективность флуоресценции уменьшаются, а фосфоресценции - возрастает [114]. При этом порфиринаты $Zn(II)$ обладают как флуоресценцией, так и фосфоресценцией [117]. Отсутствие флуоресценции для комплексов с $Mn(III)$, $Co(III)$, $Ni(II)$ связывают с диамагнитными свойствами металлоцентра [118].

Введение атома фосфора(V) в полость порфирина приводит к некоторому уменьшению квантовых выходов флуоресценции до 0.05-0.12 [88,119], однако влияние не так сильно, как в случае металлокомплексов

переходных металлов. Фотофизические свойства порфиринов фосфора(V) чувствительны к электронной природе аксиальных заместителей. Так, присутствие ароматических колец с донорными группами (-CH₃, -OCH₃, карбазолилвинилнафталимид) в апикальном положении на Р-центре [120–124] приводит к тушению флуоресценции вследствие переноса заряда (путь S₁-S₀) от электронодонорной системы бензольного кольца к положительно заряженной центральной части порфирина.

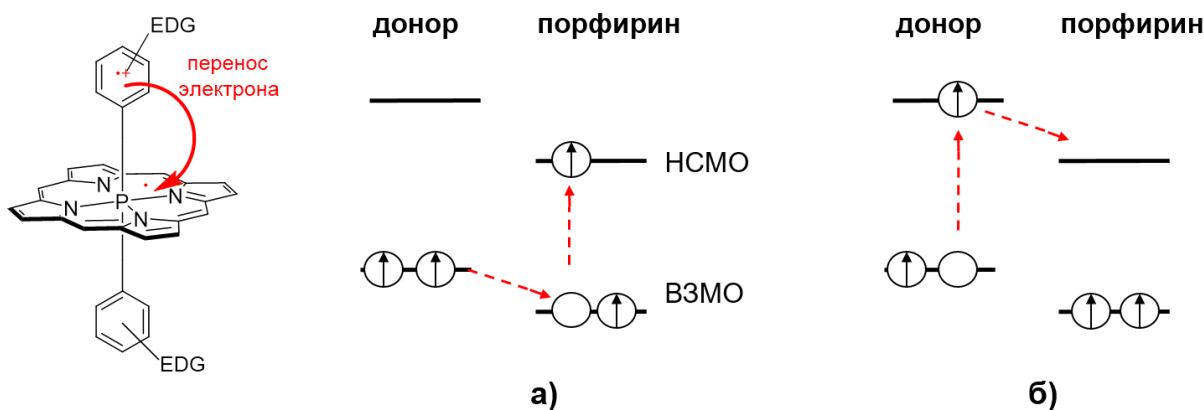


Рис. 7. Релаксационные процессы переноса электрона: а) восстановительный процесс б) окислительный процесс.

Перенос электрона происходит между ВЗМО электронодонорной ароматической системы на НСМО порфирина P(V). Возможен как восстановительный, так и окислительный путь переноса электрона [120]. В первом случае при фотовозбуждении порфирина P(V) происходит перенос электрона с ВЗМО-1 на НСМО, и затем на образовавшуюся вакансию на ВЗМО-1 переходит электрон с ВЗМО донорной системы (Рис. 7а). Во втором случае, наоборот, происходит фотовозбуждение донорной системы и переход электрона с ВЗМО на НСМО донора, откуда уже электрон переходит на НСМО комплекса порфирина (Рис. 7б). Однако, в присутствии акцепторных заместителей (CF₃, CN) в аксиальных или *мезо*- положениях процесс переноса может быть почти полностью подавлен, и фотосенсибилизирующие свойства комплекса могут быть восстановлены [125,126]. Таким образом, изменение электронной плотности на аксиальном лиганде под воздействием внешнего фактора может привести к переключению фотофизических и фотохимических

свойств. Кроме того, для порфиринов Р(V) была продемонстрирована температурная зависимость спектров флуоресценции [127,128], что может быть положено в основу разработки люминесцентных молекулярных термометров на их основе.

2.2.2.2. Генерация синглетного кислорода

Как уже было сказано ранее, одним из путей релаксации из триплетного состояния является процесс передачи энергии/электрона другим молекулам (путь T_1-S_0). Для свободных оснований порфиринов триплетный уровень расположен на 1.2-1.9 эВ выше основного состояния [129,130] и по энергии близок к уровню триплетного кислорода 1O_2 ($^3\Sigma^-_g$). Это дает возможность перевести кислород из триплетного в синглетное состояние 3O_2 ($^1\Delta^+_g$ либо $^1\Sigma^+_g$), которые лежат на 0.98 и 1.6 эВ выше основного 1O_2 состояния соответственно [131]. Данный процесс лежит в основе метода ФДТ, о котором более подробно будет сказано далее. Принято считать, что процесс генерации $^1\Delta^+_g$ синглетного состояния происходит вследствие переноса энергии с T_1 уровня фотосенсибилизатора и называется процессом II типа в ФДТ (Рис. 5).

Порфирины способны генерировать синглетный кислород, однако квантовые выходы генерации синглетного кислорода (Φ_Δ) в значительной степени зависят от природы катиона-комплексообразователя и природы заместителей в макроцикле [132–134]. Так, было показано, что одновременное наличие заместителей с донорными и акцепторными заместителями в порфиринах с эффектом push-pull приводит к заселению триплетных возбужденных состояний с увеличенным временем жизни, что приводит к увеличению квантовых выходов генерации синглетного кислорода [135].

Введение металлоцентра оказывает заметное, но неоднозначное влияние. В ряде работ демонстрируется увеличение Φ_Δ , объясняемое эффектом тяжелого атома. Так, для порфиринов Zn(II) были показаны Φ_Δ в диапазоне 0.70-0.90 [134,136], а наиболее высокие Φ_Δ (0.85-0.95) отмечались для комплексов Pd(II) и Pt(II) [132,137]. Однако в некоторых работах, наоборот, демонстрируется снижение эффективности генерации синглетного

кислорода при введении Pd(II) и Pt(II) в молекулу порфирина практически до нуля [138]. Снижение Φ_{Δ} для комплексов Cu(II) по сравнению со свободными основаниями порфиринов в работе [139] объяснялось уменьшением времени жизни триплетного состояния, а для Zn(II) комплексов – возникновением новых конкурентных путей релаксации [139].

Введение атома P(V) увеличивает Φ_{Δ} по сравнению со свободными основаниями. Так, порфиринат фосфора(V) с фенильными группами в мезо-положении и аксиальными -ОН группами обладает Φ_{Δ} равным 0.77 в CHCl_3 [88], для аналогичного комплекса с аксиальными -OEt группами Φ_{Δ} составляет 0.99 в CHCl_3 [88], а при введении олигоэтиленгликолевых фрагментов Φ_{Δ} составляет 0.60-0.80 в воде [84,140,141]. Высокие квантовые выходы генерации синглетного кислорода (от 0.43 до 0.90) также были показаны для фосфорных комплексов других тетрапирролов: фталоцианинов, порфиразинов, корролазинов и тетрапиразинокорролазинов [142–146].

При условии наличия в молекуле порфирината фосфора(V) ароматических донорных групп в аксиальном положении, происходит активация конкурентных процессов переноса заряда, что снижает генерацию синглетного кислорода практически до нуля [88,147]. Таким образом, для биомедицинских применений наиболее перспективными представляются комплексы порфиринатов фосфора(V) с алифатическими аксиальными группами.

Подводя итог вышесказанному, можно отметить, что порфирины, и в том числе их комплексы с фосфором (V), являются уникальным классом соединений и обладают отличительными фотофизическими характеристиками и широким настраиваемым профилем поглощения, который простирается от ультрафиолетовой (УФ) области до ближней инфракрасной (ИК) области. Следствием возбуждения порфиринов могут быть такие процессы как флуоресценция, фосфоресценция, межсистемная конверсия, в том числе сопровождающаяся генерацией активных форм кислорода (АФК).

2.3. Применение порфиринов и их комплексов в медицине

В настоящее время известно огромное число порфиринов, их производных и аналогов, как обладающих высокой токсичностью, так и абсолютно нетоксичных. Соединения, активные против раковых клеток, являются объектами для терапевтических разработок, тогда как нетоксичные соединения – для диагностических.

2.3.1. Диагностика

Порфирины продемонстрировали большой потенциал в области медицинской визуализации благодаря таким свойствам, как высокое накопление в опухоли, эффективная флуоресценция и возможность образования комплексов с металлами. Агент для визуализации должен обеспечивать визуализацию с минимальным фоновым сигналом от клеточной автофлуоресценции и обладать низкой токсичностью. Порфирины и их производные представляют интерес для разных типов биовизуализации, таких как магнитно-резонансная, флуоресцентная, и фотоакустическая. В дальнейших разделах будут более подробно обсуждены каждый из данных видов визуализаций.

2.3.1.1. Магнитно-резонансная томография

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является наиболее распространенным видом медицинской диагностики, позволяющем неинвазивно изучать строение внутренних анатомических структур тела человека и выявлять патологические изменения, в том числе опухолевые. В МРТ порфирины используются в качестве контрастных агентов. Идеальным контрастным агентом является тот, который а) не токсичен, б) способен влиять на радиочастотные импульсы и в) усиливать контраст изображения на МРТ. Поскольку последнее свойство зависит от числа неспаренных электронов и обусловлено свойствами ионов металлов, то в качестве опухолеспецифических контрастных агентов наиболее широко изучались

парамагнитные металлокомплексы порфиринов с медью(II) [148], железом (III) [149,150], марганцем (II) и (III) [151,152], а также гадолинием(III) [153,154]. Поскольку ионный радиус Gd^{3+} составляет около 94 пм, то ион Gd^{3+} располагается вне плоскости порфирина. Комплексы с такой геометрией являются менее прочными и при проведении МРТ могут высвобождать токсичные для организма атомы Gd^{3+} . В ряде работ для получения более прочных комплексов порфирина с Gd^{3+} вводили карбоксильные группы в макроцикл порфирина [155,156] либо использовали порфириноиды с расширенной макроциклической системой [157].

Большая часть работ по применению порфиринов в качестве контрастных агентов для МРТ посвящена изучению комплексов с марганцем(II) и (III). Это обусловлено тем, что ионы Mn^{2+} и Mn^{3+} входят в состав некоторых ферментов, вследствие чего они менее токсичны для организма по сравнению с Gd^{3+} . При этом ионы марганца могут образовывать настолько прочные хелатные связи с порфириновым кольцом с высокой термодинамической и кинетической стабильностью, что деме­таллирование комплексов не наблюдается даже через 9 дней после растворения комплекса $Mn(III)$ в сыворотке крови человека, что больше чем время полного выведения комплекса из организма [151,152].

Большое внимание исследователей уделялось фармакокинетике и изучению токсичности порфиринатов парамагнитных металлов. Было продемонстрировано, что помимо накопления в раковых клетках, комплексы склонны к накоплению в некоторых органах, при этом их биораспределение зависит от липофильности комплексов [158]. Более липофильные комплексы способны к длительному удержанию после накопления в сердце, печени, легких и желудочно-кишечном тракте, а также имеют более медленную экскрецию. При этом более гидрофобные комплексы имеют ограниченное биораспределение и быстрое выведение. Наиболее оптимальные характеристики распределения и выведения демонстрируют порфиринаты марганца, содержащие в *мезо*-положениях одновременно *n*-фенилсульфатные

группы и *n*-анилин, а также кватернизованные пиридинильные группы (Рис. 8) [151].

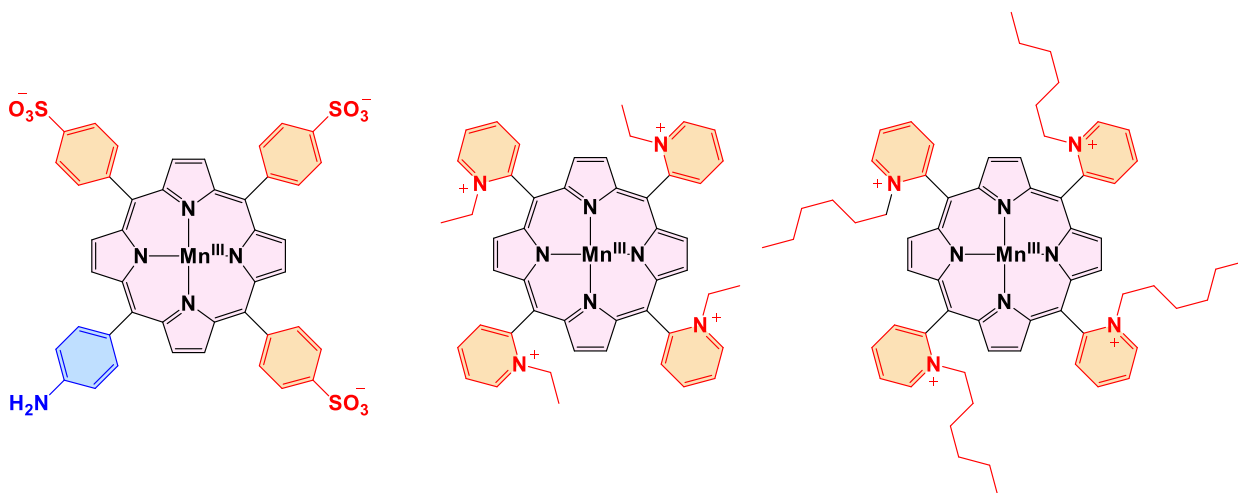


Рис. 8. Порфирилаты Mn(III), продемонстрировавшие наиболее высокие фармакокинетические свойства.

2.3.1.2. Позитронно-эмиссионная томография

Катионные порфирины нашли применение в позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) благодаря своей растворимости в воде и сильным возможностям связывания ДНК. Комплексы ^{68}Ga с катионными (4-метилпиридил)порфиринами продемонстрировали потенциал в качестве радиомеченого производного порфирина для визуализации опухолей (Рис. 9) [159,160].

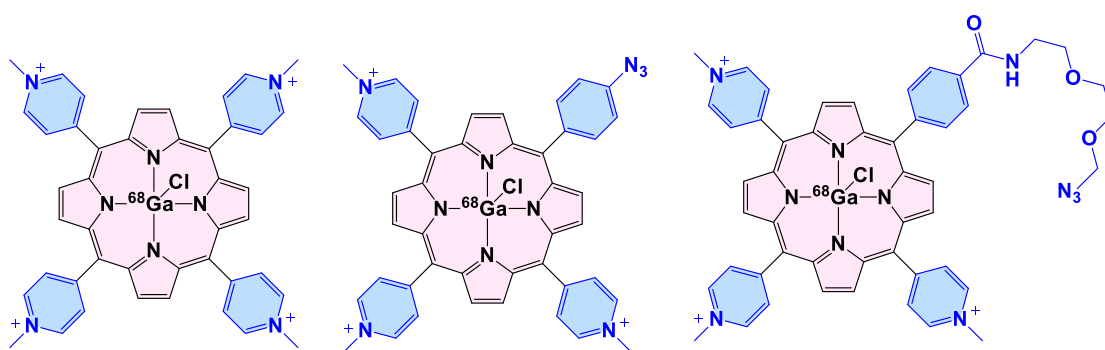


Рис. 9. Комплексы ^{68}Ga с катионными порфиринами, исследуемые для применения в ПЭТ.

Введение ^{64}Cu в порфириновые молекулы также использовалось для разработки зондов для ПЭТ для визуализации рака [161,162]. Использование комплекса ^{64}Cu с порфирин-пептид-фолатом (PPF) (Рис. 10), разработанным ранее как ФДТ-агентом и нацеленным на фолатный рецептор (FR), в качестве

зонда для ПЭТ продемонстрировало перспективы для диагностики FR-положительных опухолей [161]. Благодаря многофункциональным свойствам порфиринов, эффективное и стабильное включение ^{64}Cu в тераностический зонд на основе порфиринов может быть применено с целью оценки накопления фотосенсибилизатора в опухолях [162].

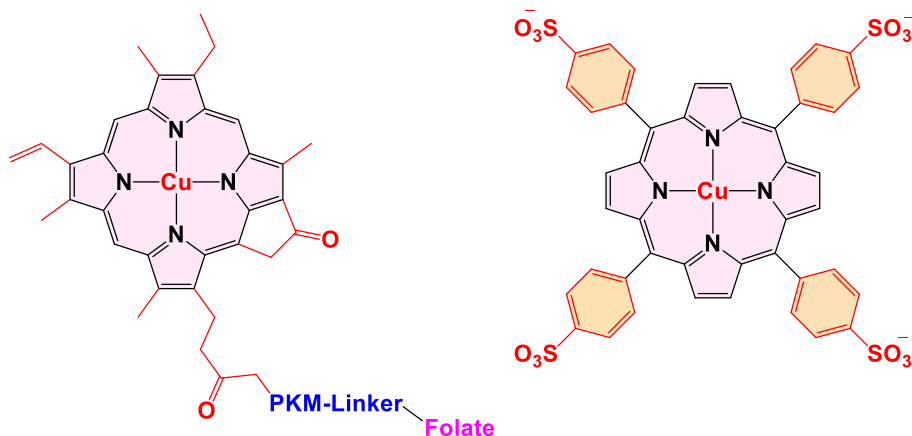


Рис. 10. Комплексы $\text{Cu}(\text{II})$ с порфиринами, исследуемые для применения в ПЭТ.

2.3.1.3. Флуоресцентная визуализация

Флуоресцентная диагностика (ФД) позволяет визуализировать интересующую область органов и тканей с использованием флуоресцентных материалов в качестве меток для молекулярных процессов или структур. Флуоресцентные зонды позволяют повышать контрастность изображения между здоровыми и аномальными тканями за счет того, что интенсивность их флуоресценции значительно выше autofлуоресценции тканей. Она широко используется для экспериментальных наблюдений местоположения и динамики экспрессии генов и белков, молекулярных взаимодействий в клетках и тканях и др. Применение ФД, несмотря на недостатки, связанные с ограничением глубины диагностики в результате рассеивания и поглощения света в тканях организма, имеет ряд преимуществ в сравнении с другими методами диагностики. К ним относится неинвазивность, высокая чувствительность и возможность осуществлять непрерывный мониторинг в режиме реального времени при условии близкого расположения опухоли к

поверхности тела, а также относительная простота используемого оборудования.

Если в качестве флуорофоров используются фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (ФДТ), то помимо флуоресценции (переход S_1-S_0) из S_1 происходит конкурентный процесс переноса энергии на триплетный уровень T_1 с последующей генерацией активных форм кислорода. Такой метод представляет собой комбинацию методов ФДТ и ФД и называется тераностикой.

Как уже отмечалось ранее, порфирины и их производные, с одной стороны, обладают способностью накапливаться в опухолях, а с другой – обладают эффективной флуоресценцией, что делает их перспективными объектами для методов флуоресцентной визуализации. В настоящее время наиболее часто в клинической практике используется эндогенный протопорфрин IX (Рис. 11), метаболит 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК, «Аласенс» ®), который испускает красную флуоресценцию примерно на 635 нм и применяется для диагностики опухолей мозга, полости рта, рака кожи, мочевого пузыря и яичников [163].

Помимо 5-АЛК, также используются натриевые соли гематопорфирина (первого из клинически одобренных фотосенсибилизаторов). Препараты на его основе разрешены для диагностики различных видов рака: кожи, верхних дыхательных путей, бронхов, полости рта, пищевода, желудка, прямой кишки, шейки матки и др. Однако по сравнению с 5-АЛК гематопорфин имеет значительно более длительный период выведения (до 6-8 недель), а также он обладает более слабой флуоресценцией [164,165].

На основе комплекса 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирина с иттербием была разработана фармакологическая композиция Флюроскан®, люминесцирующая в ближнем ИК (БИК) диапазоне. Флюроскан оказался эффективен при диагностике новообразований кожи (базалиом, кератом) в БИК диапазоне, при этом обладая низкой световой токсичностью и как следствие отсутствием побочной светочувствительности кожи.

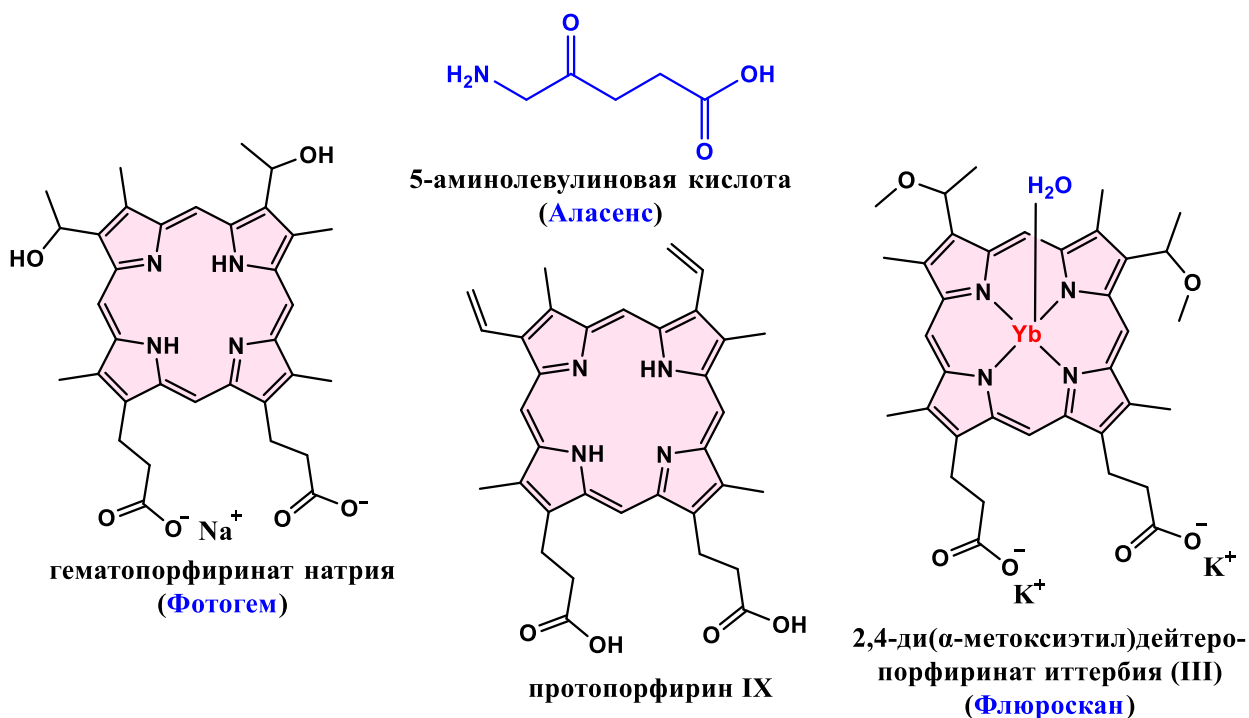


Рис. 11. Препараты для флуоресцентной диагностики и ФДТ.

Комбинация как липофильных, так и гидрофильных фрагментов в несимметричных порфиринах и их металлокомплексах типа A_2B_2 и A_3B обеспечивает проницаемость ФД-агентов через клеточные стенки и их накопление в опухолевых клетках, что важно для проведения эффективной ФД [166]. Так, в исследованиях *in vitro* была показана возможность проведения флуоресцентной диагностики с помощью несимметричных порфиринов, содержащих в мезо-положениях *n*-карбоксиметилфенил-, 4-карбоксиметилфенил-3-метоксифенил-, 4-гидрокси-3-метоксифенил-, 2-гидрокси-3-метоксифенил- фрагменты (Рис. 12) на клеточных линиях карциномы толстой кишки человека HT-29 [167], фибробластов мыши L929 [167], кератиноцитов HaCaT [168], моноцитов периферической крови человека [166].

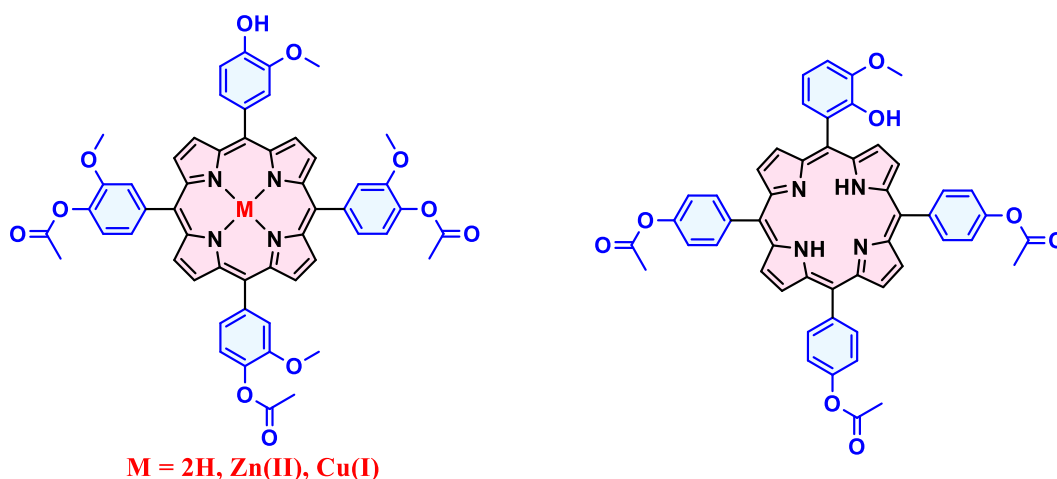


Рис. 12. Несимметричные порфирины и их металлокомплексы, исследованные как препараты для ФД.

В ряде работ была также продемонстрирована возможность проведения ФД с порфиринами, включенными в наночастицы [15]. Так, кольцевые наночастицы на основе соединений кремния, содержащие тетра(*n*-карбоксифенил)порфирин (Рис. 13а) позволяли обнаруживать опухоль *in vivo*, используя излучения в ближнем инфракрасном диапазоне. При этом такие наночастицы постепенно накапливались в опухоли в течение первых 6 ч после инъекции, затем оставались на постоянном уровне в течение последующих 6 ч, и в последствии постепенно мигрировали из опухоли и рассеивались по всему телу [169]. При введении тетра(*n*-карбоксифенил)порфирина в виде гидрогеля можно наблюдать его флуоресценцию в течение 1 дня. Через 9 дней остаточные сигналы флуоресценции наблюдаются в коже в области введения геля, но в сердце, печени, селезенке, легких и почках флуоресценция порфирина не была обнаружена [170]. На примере гидрогеля с перекрестными связями между карбоксифенильными группами порфирина и амино-группами ПЭГ-диамина (Рис. 13б) была продемонстрирована возможность флуоресцентного мониторинга, а также хирургической резекции под контролем изображения в реальном времени с использованием недорогого прототипа флуоресцентной камеры [171]. Кроме того, интенсивную флуоресценцию в клетках рака шейки матки HeLa и низкую темную

токсичность демонстрируют наночастицы на основе порфиринов цинка(II) типа A_2B_2 (Рис. 13в) [172].

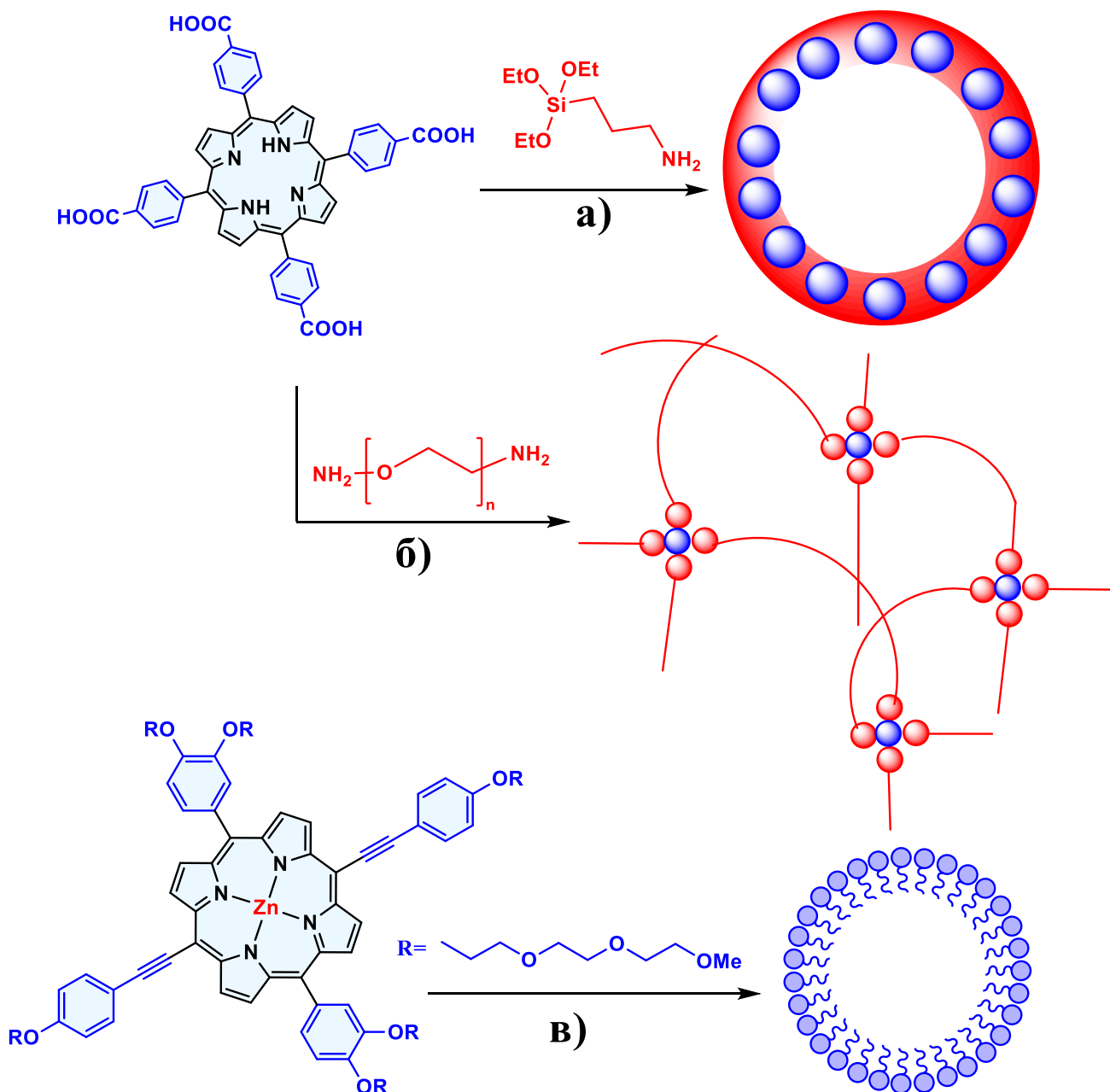


Рис. 13. Наночастицы на основе производных кремния и тетра-мезо-замещенных порфиринов для ФД.

Как было упомянуто ранее, раковые клетки склонны поглощать больше глюкозы и других сахаридов, чем нормальные клетки, что стимулирует исследования порфиринов, конъюгированных с сахарами [173]. Было показано, что порфирины с конденсированными галактозными [174], глюкозными и маннозными [175] фрагментами (Рис. 14), накапливаясь в клетках, способны флуоресцировать внутри них, а также проявлять

фотоцитотоксическую активность. При этом проникновение в клетки происходит преимущественно за счет специфических взаимодействий гликоконъюгированных порфиринов с мембраной. Фторгликозилированные порфирины проявляют флуоресцентные свойства для оптической визуализации, а также демонстрируют селективность по отношению к клеткам злокачественной меланомы (Рис. 14) [176]. Это дает возможность использовать подобные структуры в тераностике.

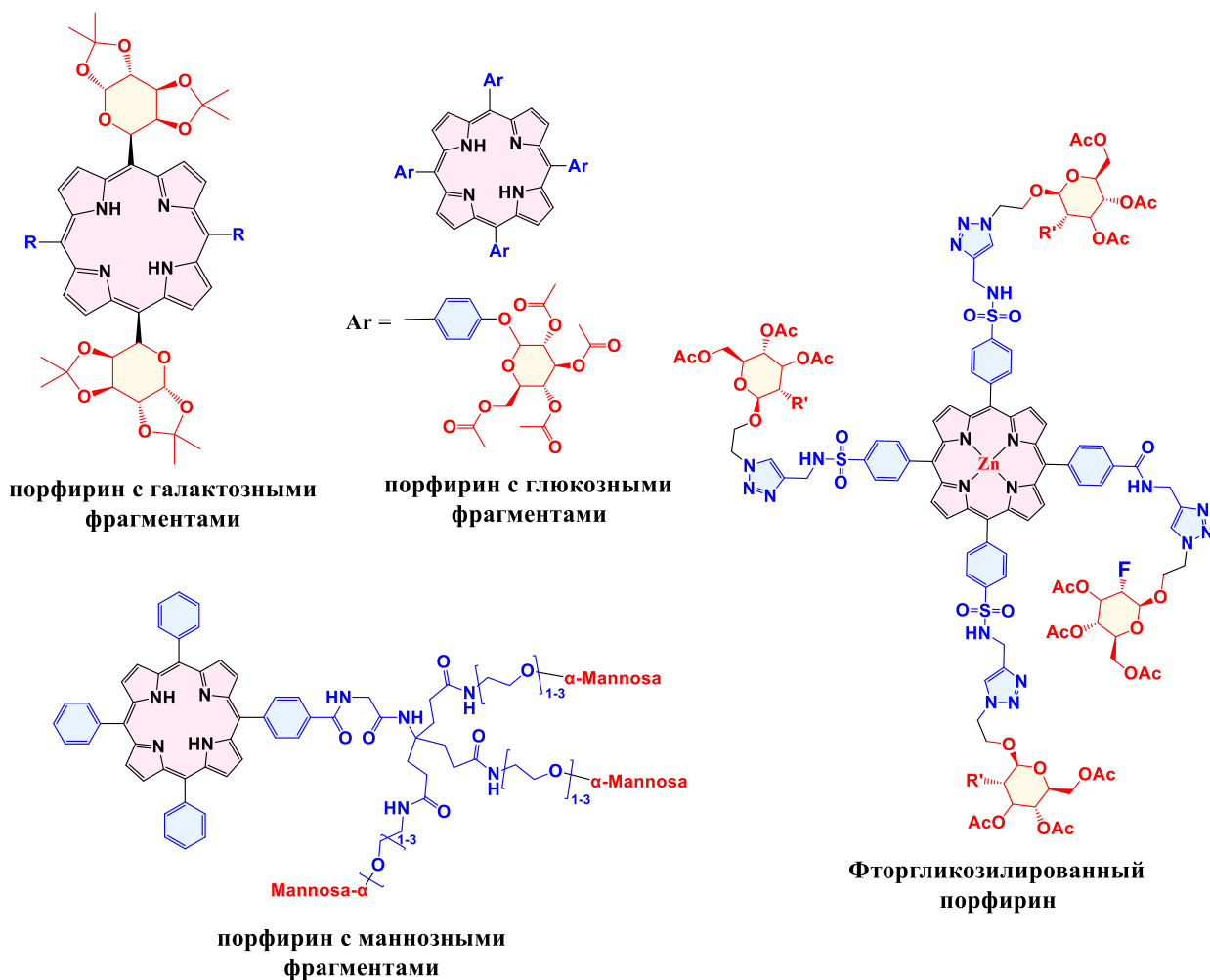


Рис. 14. Глюкопроизводные порфиринов для ФД.

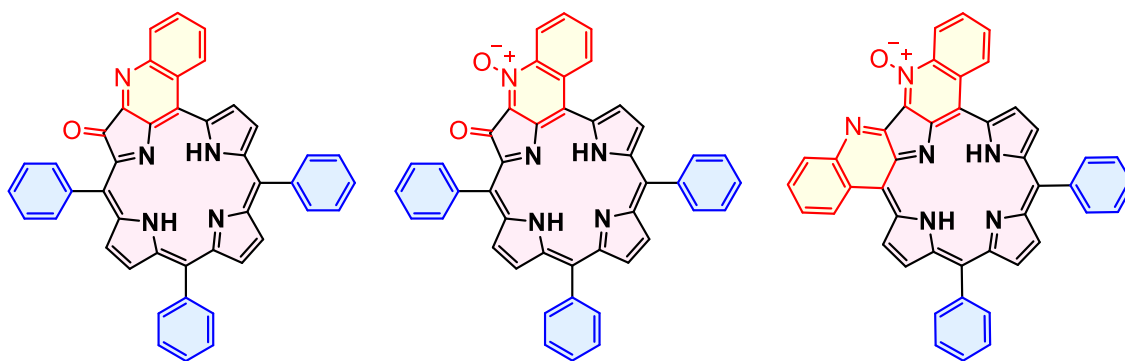
2.3.1.4. Фотоакустическая визуализация

Фотоакустическая визуализация (ФАВ) – это гибридный метод визуализации, объединяющий облучение светом и ультразвуковое обнаружение с высоким разрешением в биологических тканях на глубине до нескольких сантиметров. Поскольку звук рассеивается в 1000 раз меньше, чем

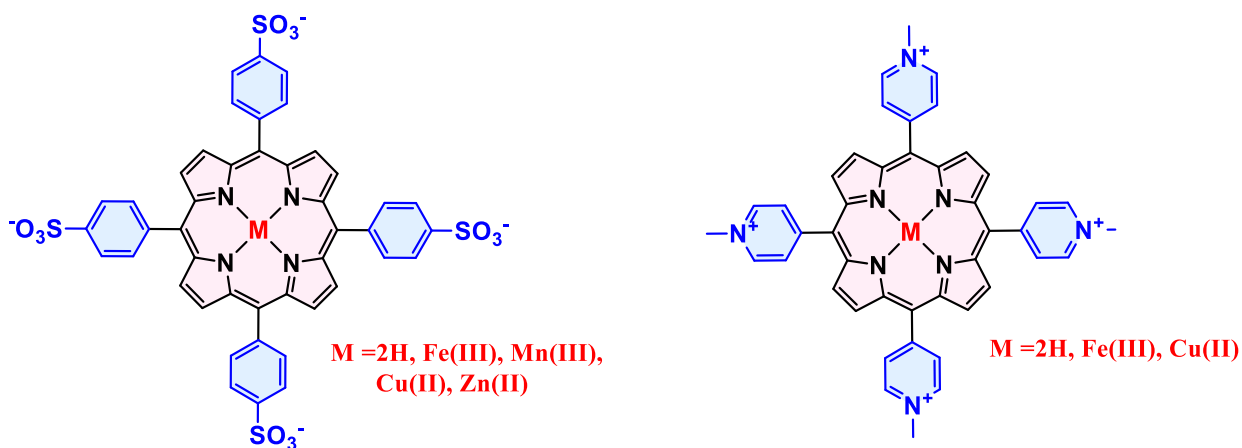
свет, акустический сигнал распространяется в биологической ткани гораздо дальше без значительного затухания [177].

Фотоакустическая визуализация в основном использует собственное оптическое поглощение хромофоров в тканях человека, таких как гемоглобин, меланин, липиды и вода. Поскольку каждый из этих хромофоров демонстрирует свои собственные характерные спектры поглощения, ФАВ на нескольких длинах волн позволяет проводить их относительную количественную оценку и помогает исследовать физиологические изменения при расстройствах, чтобы понять механизм, стоящий за ними, и как их можно эффективно лечить [177]. Различные экзогенные контрастные агенты также могут быть использованы для усиления ФАВ для лучшего контраста и более глубокого изображения. В настоящее время клинически одобренными контрастами для ФАВ являются метиленовый синий и индоцианин зеленый, однако порфирины активно изучаются как перспективные фотоакустические агенты.

Было показано, что хинолин-аннелированные производные порфиринов способны поглощать свет в ближнем ИК-диапазоне и вызывать 2,5-кратное улучшение контраста РА по сравнению с индоцианином зеленым (Рис. 15) [178]. Металлирование порфиринов такими ионами, как Fe(III), Mn(III), Cu(II) и Zn(II) способствует увеличению амплитуды фотоакустического сигнала по сравнению со свободными основаниями порфиринов, что было продемонстрировано на примере тетра(сульфофенил)- и тетра(N-метилпиридиний)-порфиринов (Рис. 15) [179].



хинолин-аннелированные порфирины



металлопорфирины

Рис. 15. Хинолин-аннелированные порфирины (верхний ряд) и порфирилаты металлов (нижний ряд), показавшие эффективность для ФАВ.

Также чувствительными фотоакустическими визуализирующими агентами для картирования являются наночастицы на основе порфиринов [180]. В том числе, было показано, что порфисомы (Рис. 16 а) способны эффективно накапливаться в опухолях мышей с ксенотрансплантатами, а лазерное облучение вызывало фототермическую абляцию опухоли [71]. Нанокapли на основе липида и порфирина с перфторбутановым ядром (Рис. 16 б) продемонстрировали сильный ультразвуковой и фотоакустический контраст при визуализации *in vivo* опухоли фибросаркомы человека HT1080 в хориоаллантаисной мембране куриного эмбриона [181].

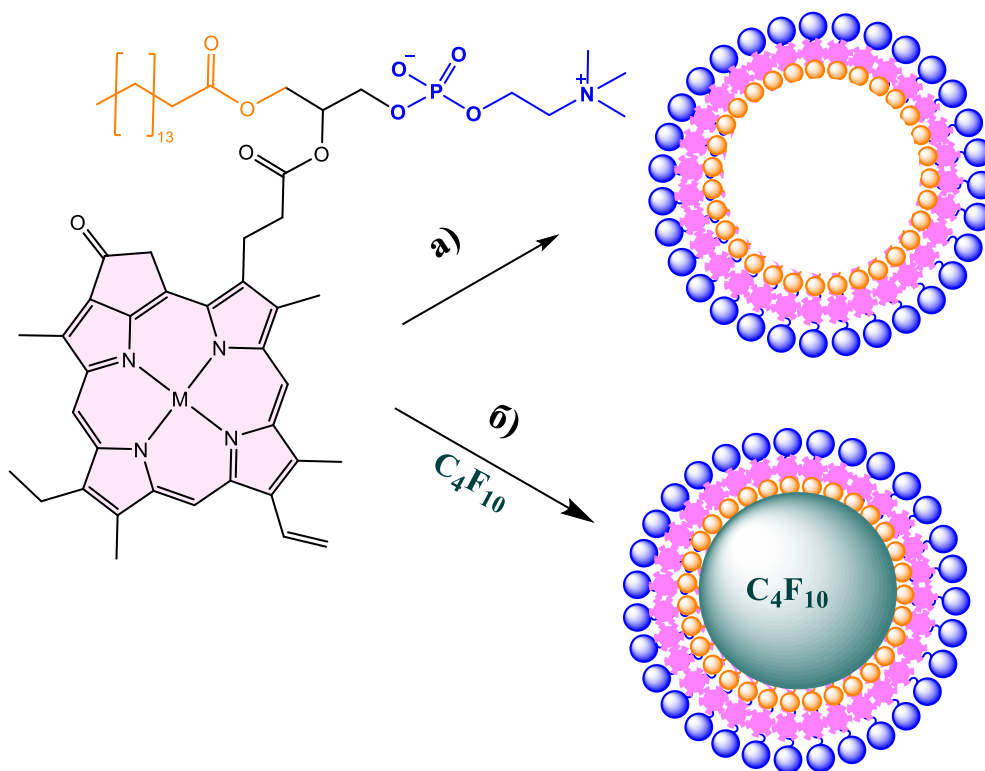


Рис. 16. Порфисомы на основе пиррофеофорбида.

2.3.2. Терапия

2.3.2.1. Фотодинамическая терапия

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой метод избирательного воздействия на опухолевые клетки посредством фотоактивируемой цитотоксической активности. ФДТ отличается малой инвазивностью, высокой избирательностью, низкой темновой токсичностью вводимых фотосенсибилизаторов, возможность проведения ранней диагностики и терапии.

Данный метод включает в себя три основных компонента – это свет (источник лазерного излучения), кислород и фотосенсибилизатор (ФС). ФС при поглощении кванта света переходит из основного S_0 в возбужденное S_1 состояние (Рис. 17), из которого в результате внутреннего комбинационного рассеяния оказывается возможен переход на триплетный уровень T_1 . Путем электронного трансфера из уровня T_1 может происходить генерация активных форм кислорода (АФК), прежде всего представленных гидроксильным радикалом ($\text{HO}\cdot$), гидроксид-ионом (HO^-), кислород-радикалом ($\text{O}_2^{2\cdot}$),

супероксид-анионом ($O_2^{\cdot-}$), пероксид-ионом (O_2^{2-}) и некоторыми другими. Данный процесс называется процессом 1-го типа или I маршрутом ФДТ. В ином случае возможен процесс переноса энергии из состояния T_1 , приводящий к возбуждению молекулы кислорода из триплетного в синглетное состояние (процесс 2-го типа или II маршрут).

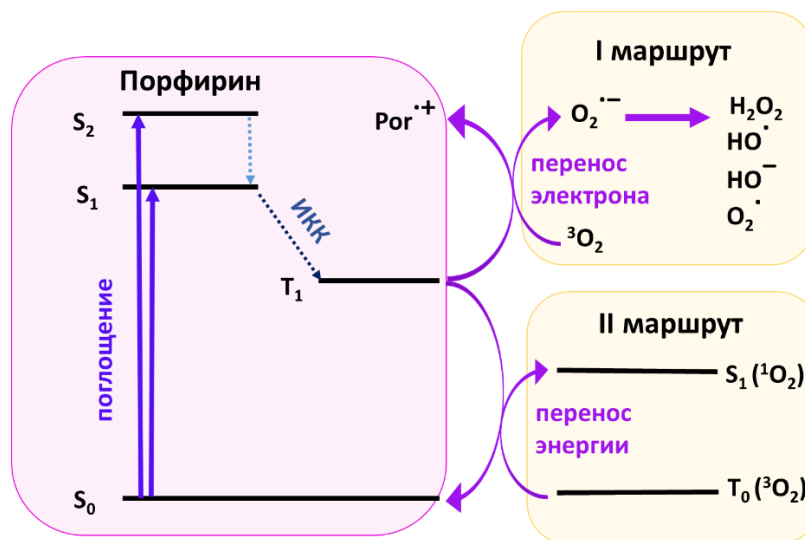


Рис. 17. Диаграмма энергетических состояний, показывающая основные электронные переходы при действии света на ФС.

Образующиеся по 1-му и 2-му типу АФК могут окислять макромолекулярные компоненты клетки и вызывать окислительный стресс и клеточную гибель опухолевых клеток напрямую, через сосудистую сеть, либо путем активации иммунного ответа.

В настоящее время известно несколько путей клеточной гибели, которые могут запускаться в клетке как индивидуально, так и несколько одновременно. Наиболее изученными являются апоптоз, некроз и аутофагия. Также в последние несколько лет были открыты такие механизмы как парптоз, партанатоз, митотическая катастрофа, пироптоз, некроптоз и ферроптоз [182]. Краткая характеристика каждого из указанных путей представлена в таблице 2. Тем не менее, в большинстве работ изучается вопрос о преимущественном протекании процесса апоптоза или некроза при ФДТ, тогда как иные механизмы не упоминаются. Для ФС порфиринового типа апоптоз является преимущественным способом разрушения клеток по сравнению с некрозом,

что было продемонстрировано на различных раковых клетках в испытаниях *in vitro* и *in vivo* [183–185].

Таблица 2. Описание различных путей клеточной гибели [182].

Путь клеточной гибели	Краткая характеристика процесса
Апоптоз	АФК, производимые фотосенсибилизаторами, могут побудить митохондрии к высвобождению цитохрома С, который затем разрушает каспазу-3, что запускает процесс каскада каспаз и апоптоз опухолевых клеток [11]. Апоптоз является запрограммированным типом клеточной смерти и характеризуется сжатием клетки, фрагментацией ДНК, образованием апоптотических телец и поглощением клетками-макрофагами. Однако при этом возможно высвобождение супероксиддисмутазы Mn-SOD из митохондриального матрикса [186], проявляющей антиоксидантные свойства и отвечающей за защитные реакции клетки, что в дальнейшем может способствовать снижению эффективности лечения.
Некроз	Является непрограммируемым механизмом клеточной гибели и происходит вследствие разрушения плазматической мембраны под действием ФС.
Аутофагия	Является лизосомальным путем деградации внутриклеточных органелл и белков, при котором клетка начинает расщеплять свои собственные компоненты, что может приводить к гибели клетки или повышению ее чувствительности к другим видам лечения.

Параптоз	Может быть инициирован во время развития нейронов мутациями в домене инсулиноподобного фактора роста, а также митоген-активируемыми протеинкиназами (МАПК). Параптоз сопровождается образованием вакуолей с однослойной мембраной и набуханием митохондрий и эндоплазматического ретикулума (ЭПР).
Партанатос	Представляет собой связанную с митохондриями гибель клеток, не зависящую от активности каспаз и характеризующуюся гиперактивацией специфического компонента ответа на повреждение ДНК, а именно поли(АДФ-рибоза) полимеразы 1 (PARP1).
Митотическая катастрофа	Генерируемые АФК способны разрушать компоненты цитоскелета клетки, главным образом микротрубочки, что приводит к нарушению процесса митоза вследствие неправильной сегрегации хромосом и неудавшемуся делению клеток. Противопухольный иммунный ответ вызывается при этом за счет кларетикулина (одного из DAMP). Его выделению предшествует фосфорилирование eIF2 α микротрубочковыми ядрами и ингибиторами актинового цитоскелета.
Пироптоз	Связан с активацией одной или нескольких каспаз (каспаза 1, каспаза 3, каспаза 4, каспаза 5), что приводит к образованию специфических инфламмасом. Это приводит к увеличению притока воды и нарушению ионного градиента, что вызывает отек клеток, разрыв мембраны и высвобождение воспалительного внутриклеточного содержимого, аналогично некрозу.

Некроптоз	Представляет собой программируемую гибель клеток, протекающую с морфологическими проявлениями, аналогичными некрозу, но при этом индуцированный внешними или внутренними по отношению к клетке причинами посредством рецепторов смерти или рецепторов распознавания патогенов, включая толл-подобные рецепторы (TLR) и Z-ДНК связывающий белок 1 (ZBP1).
Ферроптоз	Является следствием специфических нарушений внутриклеточного микроокружения, и характеризуется сильной активацией перекисного окисления липидов, которое зависит от образования АФК и доступности железа в клетках. Может сопровождаться высвобождением иммуностимулирующих DAMP.

Следует отметить, что при внутривенном введении ФДТ-препаратов фотосенсибилизатор накапливается не только в клетках опухоли, но и значительное его количество остается в сосудистой сети, питающей опухоль. Вследствие чего в результате фотодинамической реакции происходит разрушение эндотелия кровеносных сосудов, активация тромбоцитов с высвобождением тромбоксана и агрегация тромбоцитов, образование пристеночных и окклюзирующих тромбов, сдавливание капилляров в результате отека [187]. Все это приводит к нарушению кровотока в опухолевую ткань вплоть до полного его прекращения с развитием некроза ткани.

В клинической практике в качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ успешно применяются натриевые соли гематопорфирина («Photofrin II» ®, «Фотогем» ®) (Рис. 18), а также эндогенный протопорфирин IX, который синтезируется в организме из предшественника – 5-аминолевуленовой кислоты («Аласенс» ®) или его гексилового эфира («Гексасенс» ®). На

примере Фотогема было показано, что продукты его фотодеструкции являются менее токсичными, чем исходная молекула [188].

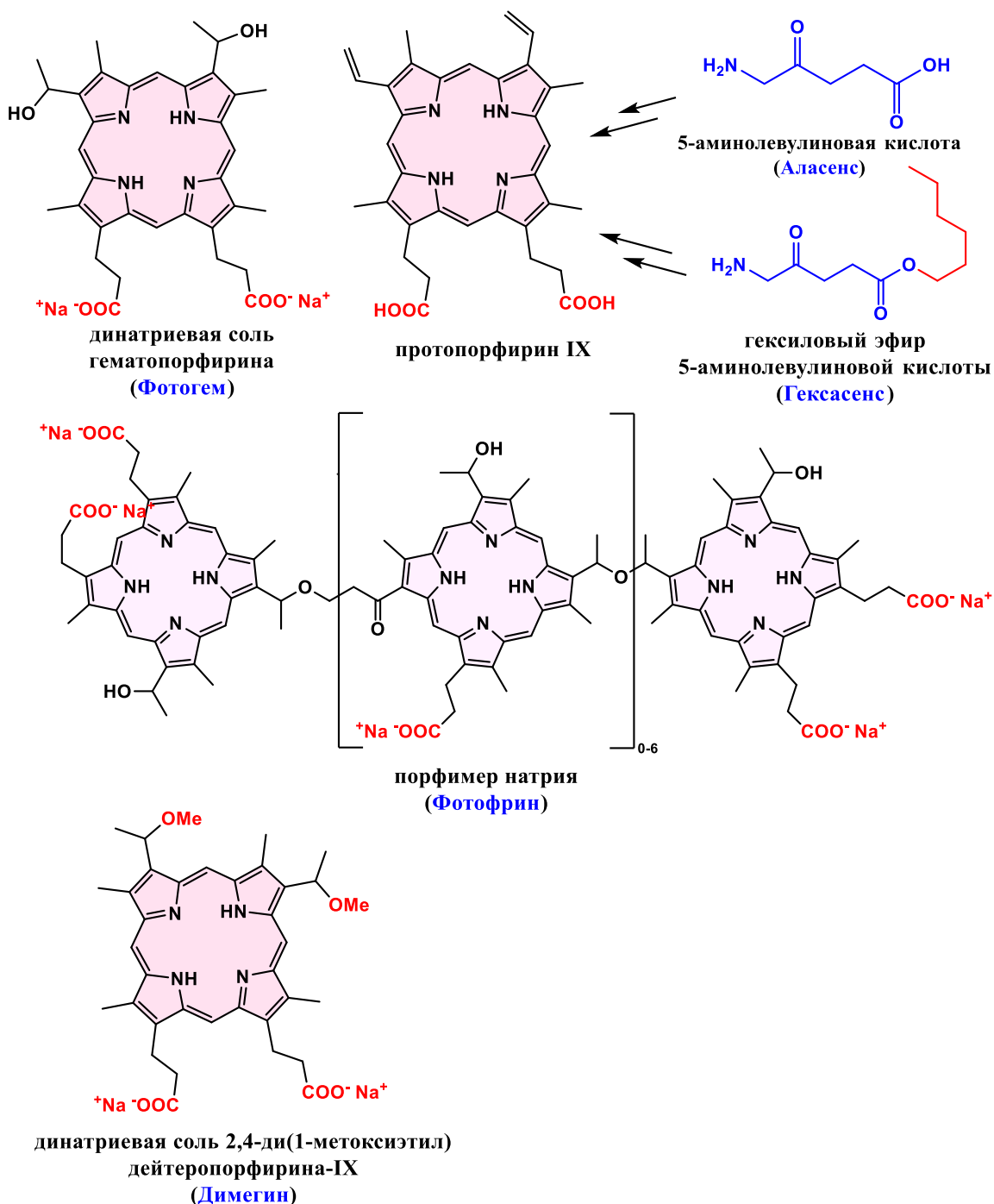


Рис. 18. Примеры препаратов для ФДТ порфиринового ряда.

Также применяются препараты на основе аналогов порфиринов: фталоцианинов («Фотосенс» ®, «Фталосенс» ®), хлоринов («Фотодитазин» ®, «Радахлорин» ®, «Фотолон» ®, «Фоторан Еб» ®, «Тоокад» ®, «Foscan» ®), бактериохлоринов («Бактериосенс» ®) (Рис. 19. Примеры препаратов для ФДТ фталоцианинового, хлоринового и бактериохлоринового рядов).

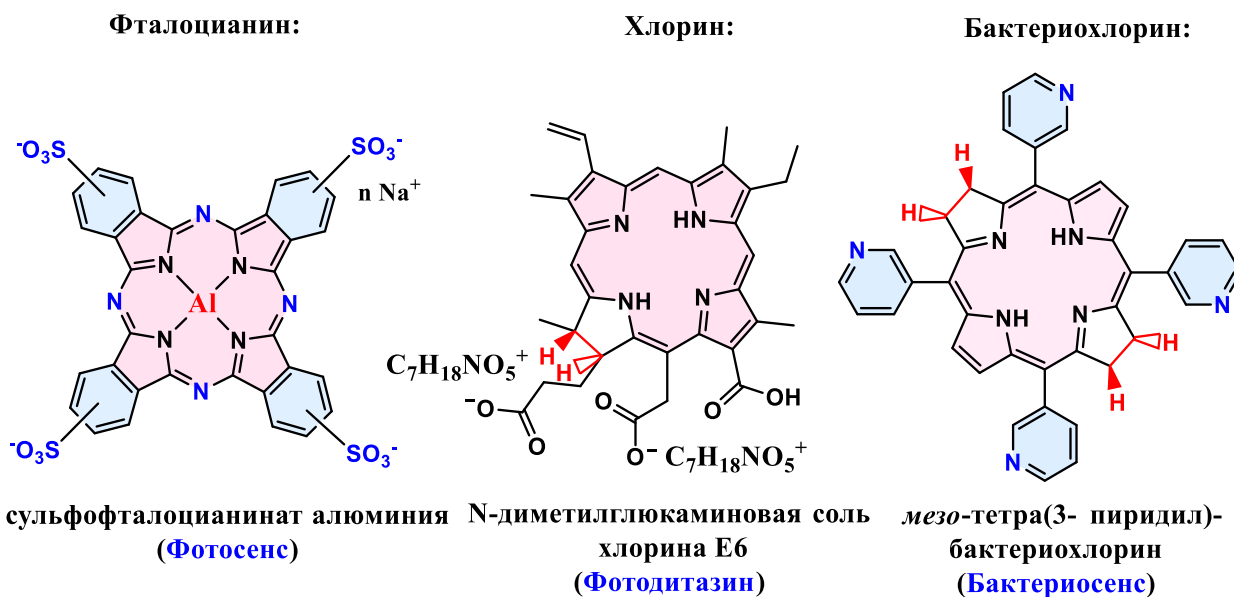


Рис. 19. Примеры препаратов для ФДТ фталоцианинового, хлоринового и бактериохлоринового рядов.

Поиск новых ФС является сложной задачей, существует относительно небольшое количество веществ, эффективно используемых в ФДТ. Идеальный ФС должен быть водорастворимым, нетоксичным, иметь четко определенный химический состав, поглощать свет в области 600-800 нм, преимущественно поглощаться опухолевыми клетками по сравнению с нормальными, проявлять флуоресценцию, для его обнаружения, и быть эффективным генератором цитотоксических форм кислорода.

Препараты, на основе порфириновых ФС были первыми клинически одобренными, однако они имеют относительно невысокое поглощение в окне прозрачности биологических тканей по сравнению с фталоциановыми и хлориновыми производными, а также ограниченную растворимость в воде. Увеличение растворимости зачастую обеспечивают путем наличия в порфиринах заряженных анионных групп, например карбоксильных в «Фотофрине»® и производном дейтеропорфирина-IX под названием «Димегин»® (не прошел клинических испытаний). Однако в этом случае может возникнуть проблема с самоагрегацией подобных заряженных порфиринов. Для таких молекул, склонных к агрегации, предлагается

использовать в качестве дезагрегирующего компонента липосомальные частицы и нановезикулы. Такой подход, например, был реализован для препарата «Визудин» ®, представляющего собой липосомальное производное бензопорфирина.

В России с 2015 г. не проводилось клинических испытаний новых порфириновых фотосенсибилизаторов для ФДТ, однако в мире опубликовано большое число работ по поиску и оценке токсического и фототоксического эффекта порфиринов на различных линиях клеток. Основной характеристикой эффективности служит такой параметр, как IC_{50} – концентрация, ингибирующая на 50% тот или иной биологический процесс, в частности рост клеток. Сравнивая значения IC_{50} в разных условиях (темновых и при облучении светом), можно судить об эффективности фотосенсибилизатора. Наилучшим вариантом является случай, когда IC_{50} в темновых условиях высокое (т.е. темновая цитотоксичность - низкая), а при облучении светом IC_{50} – низкое (т.е. фотоцитотоксичность - высокая). Для наиболее часто применяемых в клинической практике препаратов значения IC_{50} на некоторых линиях клеток приведены в таблице 3.

Таблица 3. IC₅₀ в темновых и световых условиях (мкМ) для различных линий клеток и клинически одобренных фотосенсибилизаторов.

Название препарата	Тип макроцикла	Условия	Клеточная линия				Ссылка
			HEp-2	VERO	McCoy		
Фотогем	Порфирин	темн	2.5	5.7			[189]
		660 нм, 25мВ/см ² 14 мин	1.4	5			
		темн	12.8	20.8	12.5		[190]
		660 нм, 23 Дж/см ²	5.6	12.5	7.6		
			HeLa				
Аласенс	Порфирин	темн	>200				[191]
		420 нм, 9,27 Дж см ⁻²	154				
			GL261				
Фотодитазин	Хлорин	630 нм, 20 Дж/см ²	0.8				[192]
			HeLa	SW480	A549	SGC 7901	
Фотофрин		темн	13.77	18.25	>50	>50	[193]
		Нг-лампа выс. давления (50 Вт), 13 см	0.145	0.231	0.5	3.86	
Фотосенс	Фталоцианин	630 нм, 20 Дж/см ²	0.96				[192]
			HEp-2	A-549	Colo26		
		640-1000 нм, 12.5-13.0 мВ/см ² 15 мин	2.4	3.2	28		[194]

Среди порфиринов большое внимание уделяется изучению тетра-мезо-замещенного порфирина с фенилсульфатными группами TSPP (Рис. 20а)

ввиду его доступности. Такой порфирин в виде тетранатриевой соли показал себя хорошим генератором цитотоксических АФК с квантовыми выходами генерации синглетного кислорода 0.60 в воде и 0.70 в спирте [195,196] и $IC_{50} = 6-25$ мкМ для различных клеточных линий [197]. Близкие значения фотоцитотоксичности были продемонстрированы для тетра-замещенных порфиринов с *p*-гидроксифенильной группой ($IC_{50} = 0.5 - 2.0$ мкМ, Рис. 20б), тогда как введение *p*-карбоксифенильных групп приводит к существенно более низкой токсичности ($IC_{50} = 49 - 89$ мкМ, Рис. 20в) [198]. Было также показано, что при использовании TSPP (Рис. 20а), после облучения внутриопухолевый окислительный стресс коррелирует с накоплением TSPP в опухоли и приводит к митохондриально-опосредованному апатозу.

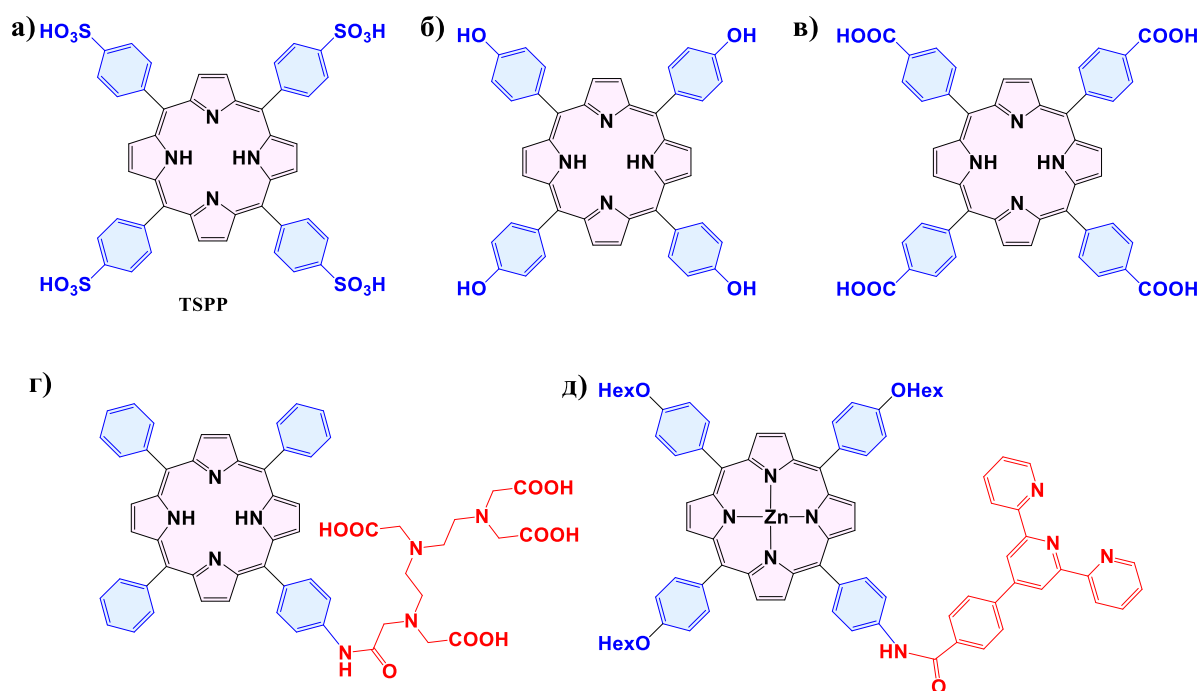


Рис. 20. Тетра-мезо-замещенные порфирины, продемонстрировавшие микромолярную фотоцитотоксичность.

Исследования показали, что ФС с более чем двумя отрицательными зарядами также могут поглощаться клетками и затем накапливаться в основном в лизосомах [199,200], в то время как катионные порфирины более склонны к накоплению в митохондриях и плазматической мембране [201,202]. Ковалентное пришивание диэтилентриаминопентауксусной кислоты к мезо-замещенному несимметричному порфирину (Рис. 20г) позволило получить

конъюгат обладающим цитотоксическим действием даже на резистентные опухолевые клетки, экспрессирующие фенотип MDR [203]. Перспективность для применения в ФДТ также продемонстрировали конъюгаты АЗВ-порфирина (Рис. 20 д), содержащие амидную связь между макроциклом и терпиридиновым фрагментом. Введение амидной связи вместо эфирной позволило в 2-2.5 раза увеличить цитотоксический эффект в отношении клеток рака гортани человека Нер2 [204]. Кроме того, разработка конъюгатов порфиринов с цитотоксически активными группами или специфическими линкерами позволяет значительно улучшить как селективность, так и эффективность противораковой активности [205,206].

Концевые заряды боковых цепей могут существенно влиять на генерацию порфирином АФК как по I маршруту, так и по II маршруту [207]. Введение катионных заряженных групп, таких как $-\text{NH}_3^+$, имидазоль-N-ил, пиридиний-4-ил, способствует не только увеличению растворимости порфиринов в воде, но и увеличению фотоцитотоксического эффекта [207–210], а также более быстрому накоплению внутри клеток [211]. Для порфиринов, содержащих одну аминоксильную или пиридинильную группу в *мезо*-положении (Рис. 21 а, б), IC_{50} составляют около 100 мкМ относительно Нер-2, тогда как для их кватернизованных аналогов (Рис. 21 в, г) фототоксичность значительно выше (IC_{50} от 2 до 38 мкМ относительно Нер-2) [211]. Более того, в работе [201] было показано, что введение $\text{Zn}(\text{II})$ в полость макроцикла тетра-кватернизованного порфирина (Рис. 21 г, д) дополнительно увеличивает фототоксичность, при том, что квантовые выходы генерации синглетного кислорода незначительно отличаются для свободного порфирина и его комплекса. Также в отношении клеток эмбриональной почки человека НЕК 293Т было показано, что к увеличению цитотоксического эффекта в темноте может приводить не только введение Zn , но и получение димеров порфиринов [212]. Предположительно, более высокая эффективность катионных порфиринов связана с тем, что они электростатически взаимодействуют с отрицательными зарядами, присутствующими на

мембранах клеток, облегчая их проникновение, и, следовательно, увеличивая их эффективность в ФДТ [213,214]. При этом они также способны ингибировать активность пептидазы протеасомы гораздо эффективнее, чем соответствующие анионные производные [215]. Накапливаясь в митохондриях, катионные порфирины способны не только запускать процесс апоптоза при высвобождении цитохрома С, но и повреждать митохондриальные ДНК [216,217].

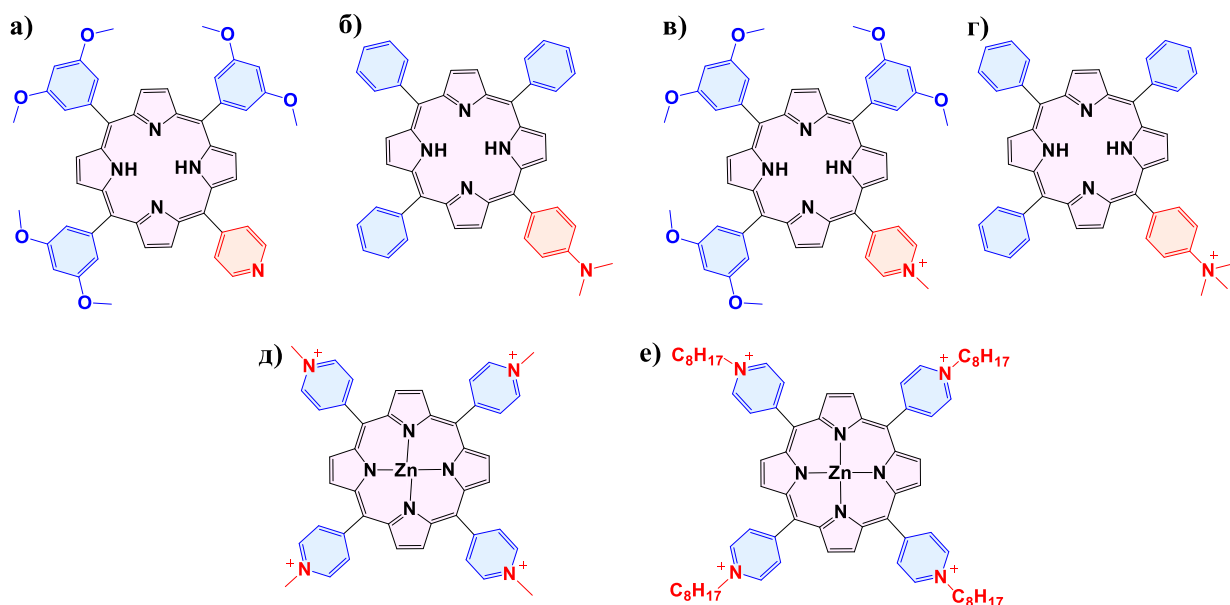


Рис. 21. Нейтральные (а, б) и кватернизованные (в-е) производные порфиринов.

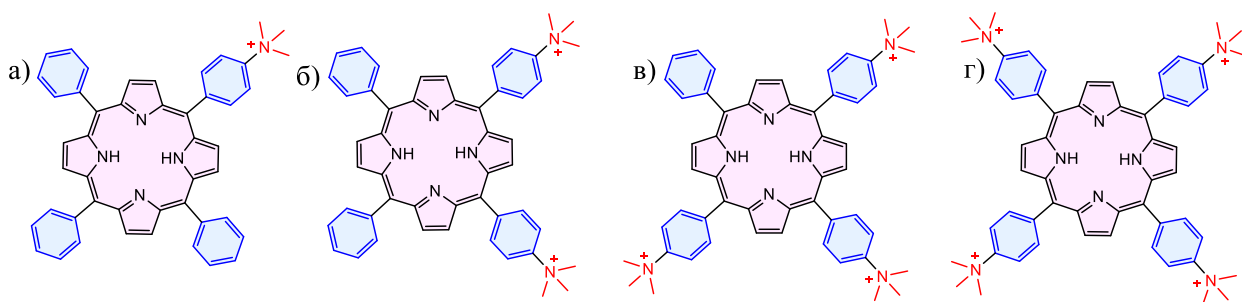


Рис. 22. Порфирины с разным числом катионных $-C_6H_4-N(Me)_3^+$ групп.

Было продемонстрировано, что в зависимости от числа катионных $-C_6H_4-N(Me)_3^+$ групп в структуре порфирина меняется способность к внутриклеточному накоплению, локализации и цитотоксичности [218]. Также расположение заряженных мезо-заместителей оказывает влияние на итоговую липофильность молекулы. Следует отметить, что оптимальный баланс липофильности и гидрофильности является крайне

важным параметром. Липофильность обеспечивает проникновение порфиринов через клеточную мембрану, а гидрофильность – водорастворимость. Так, липофильные порфирины демонстрируют высокую противораковую активность [210,211,219]. Поляризованные порфирины (с одной и двумя соседними катионными $-C_6H_4-N(Me)_3^+$ группами (Рис. 22 а, б)) имеют более низкие значения IC_{50} (2-3 мкМ) против НEr-2, чем порфирины с тремя и четырьмя катионными группами (Рис. 22 в, г)) [218]. Для увеличения полярности порфиринов эффективным оказалось введение к трем катионным группам одной анионной, например *n*-карбоксиметилфенильной, что приводит к значительному увеличению фотоцитотоксичности с сохранением высокого индекса фототоксичности [193]. Единого мнения о механизме клеточной смерти после ФДТ с применением катионных порфиринов на данный момент нет, в некоторых работах предполагается, что основным путем является некроз [220–223], в других же демонстрируется апоптоз [219,224–226]

Кроме того, на эффективность накопления влияет размер и положение заместителя. Так, *мезо*-производные показывают более высокое накопление в раковых клетках, чем β -производные. При этом, порфирины с менее объемными заместителями накапливаются лучше, чем более объемными [227]. Однако в случае введения в качестве заместителей рецепторов эпидермального фактора роста, антител и других биомолекул таргетного действия можно добиться не только увеличения накопления, но и комбинированного терапевтического действия [206,228].

Несмотря на перспективное сочетание водорастворимости и высоких фотосенсибилизационных характеристик порфиринов фосфора(V), данные о их цитотоксической активности немногочисленны, они представлены лишь в нескольких работах [127,229,230]. Так, тетрафенилпорфириноваты P(V) с аксиальными полиэтиленгликолевыми (Рис. 23а) группами демонстрирует крайне высокую фототоксичность на линии клеток HeLa ($IC_{50} = 27-53$ нМ) при облучении светом $\lambda > 610$ нм и световой дозе 7.4 Дж/см² [229]. Порфириноваты

P(V) с метоксифенильными и диметоксифенильными *мезо*-заместителями (Рис. 23 б, в) также показывают наномолярную фотоцитотоксичность ($IC_{50} = 33-58$ нМ) при облучении светом $\lambda > 500$ нм и световой дозе 15 Дж/см² [230].

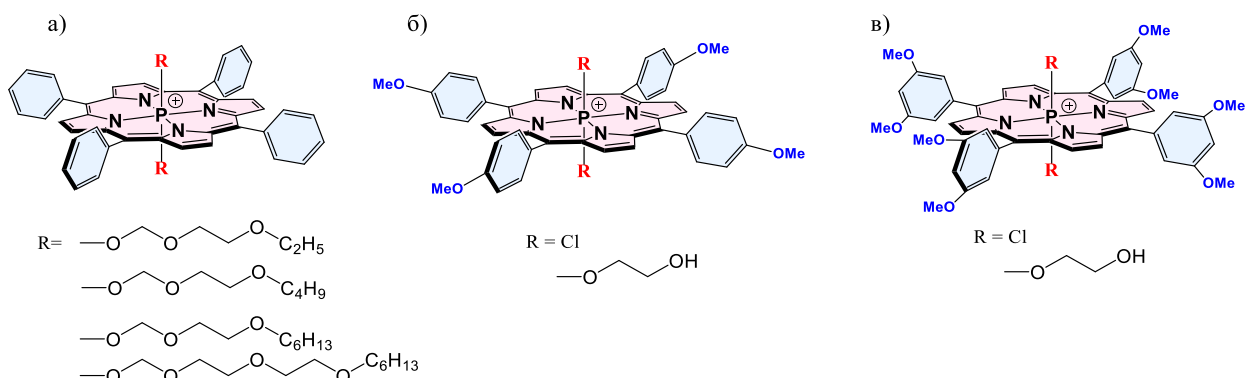


Рис. 23. Порфирины фосфора(V), для которых была изучена фотоцитотоксичность.

2.3.2.1.1. Антибактериальная ФДТ

Принципы ФДТ были также успешно применены в борьбе с бактериальными инфекциями. Рост числа бактерий, резистентных ко всем видам антибиотиков, является одной из важных проблем современности, в связи с чем антибактериальная фотодинамическая терапия (аФДТ) представляется перспективным методом. Суть метода аФДТ состоит в использовании нетоксичных фотосенсибилизаторов, обеспечивающих генерацию активных форм кислорода – радикалов или синглетного кислорода, взаимодействие с которыми приводит к окислительному стрессу и гибели микроорганизмов [231].

Исследования механизмов окислительного стресса при аФДТ показывают, что повреждение может происходить как на поверхности, так и внутри клеток [232]. Недавние исследования позволяют предположить, что к усилению способности убивать бактерии должно приводить накопление фотосенсибилизаторов в липидной мембране [233]. Несколько сообщений показали, что аФДТ эффективна против традиционных резистентных штаммов в клинических испытаниях [234,235] на животных моделях [236] и *in vitro* [237,238]. Например, испытания *in vitro* показали, что аФДТ эффективно

уничтожает клинический изолят *Pseudomonas aeruginosa*, который считается одним из жизнеугрожающих нозокомиальных возбудителей [239]

Порфирины являются перспективными антибактериальными препаратами, причем при возбуждении молекул порфиринов светом с длиной волны 405–550 нм наблюдается наибольшая бактерицидная эффективность [76,240,241]. Порфирины с суммарным катионным зарядом эффективно убивают как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии из-за повышенной эффективности связывания с клеточной мембраной и их поглощения бактериальными клетками [242]. На примере катионных порфиринов также было показано, что они связываются с различными локусами на наружной мембране бактериальных клеток посредством ионных взаимодействий. Практически полное проникновение комплексов через мембрану внутрь клетки, где комплексы оказывают на нее токсическое воздействие при облучении, делает порфирины перспективными фотосенсибилизаторами для воздействия на различные патогены [242,243].

Сравнение антимикробной активности тетра-*мезо*-замещенных порфиринов и их цинковых и фосфорных комплексов показало, что наиболее перспективны в применении порфиринаты фосфора(V), поскольку он обладает высокой противомикробной активностью в отношении вездесущего патогена *Streptococcus pyogenes* [244]. В работе [245] была показана высокая антимикробная активность порфиринатов фосфора(V), не уступающая уровню используемых в настоящее время антимикробных агентов, как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий. Исследования факторов, определяющих фотосенсибилизационные свойства порфиринатов фосфора(V) для аФДТ [245] показывают, что антибактериальные свойства данных объектов зависят не только от эффективности генерации синглетного кислорода, но и от ряда других факторов, таких как ориентация молекул порфиринатов фосфора(V) в липидном бислое и глубина проникновения в мембрану клетки.

2.3.2.2. Фототермическая терапия

При фототермической терапии (ФТТ) происходит активация светом фотосенсибилизатора, который затем преобразует световую энергию в тепловую, что вызывает гипертермическую гибель клеток. Различные фототермические агенты, такие как наночастицы золота, углеродные нанотрубки, наноленты черного фосфора, наночастицы палладия, восстановленный оксид графена и другие, могут преобразовывать световую энергию в тепло. Более того, эти агенты широко используются для лечения многих заболеваний с использованием ФТТ в качестве терапевтического подхода; этот общий процесс описывается в клинических условиях как терапия на основе гипертермии [246]. Другие методы, такие как лучевая терапия, иммунотерапия и химиотерапия, также широко используются в сочетании с ФТТ для получения синергетического эффекта, который значительно усиливает терапевтический ответ [247,248]. В том числе, продемонстрировано, что ФТТ способен эффективно предотвращать метастазирование рака костей, легких, лимфатических узлов [249–251].

В исследованиях [252,253] было показано, что путь гибели клеток при фототермической терапии сильно зависит от температуры. Так, при 43°C противораковый эффект будет наименее выраженным, в равной степени вызванный апоптозом, некроптозом и некрозом, в то время как при повышении температуры до 46°C увеличивается гибель клеток путем некроптоза, а при достижении более высокой температуры около 49°C, преобладающим путем становится некроз.

Порфириновые производные также изучались для применения в ФТТ, причем, поскольку порфирины способны генерировать активные формы кислорода, их цитотоксическое действие зачастую было обусловлено комбинированием эффектов ФДТ и ФТТ [254–256]. Так, комплексы Ir(III) (Рис. 24 а, б), сочетая ФДТ и ФТТ эффекты, также оказались эффективны в экспериментах *in vivo* [257]. Конъюгированный полимер на основе порфирина Zn(II) (Рис. 24 в), напротив, демонстрирует ФТТ эффективность

при *in vitro* и *in vivo* против рака молочной железы MDA-MB-231, но при этом не обладает способностью генерировать синглетный кислород [258].

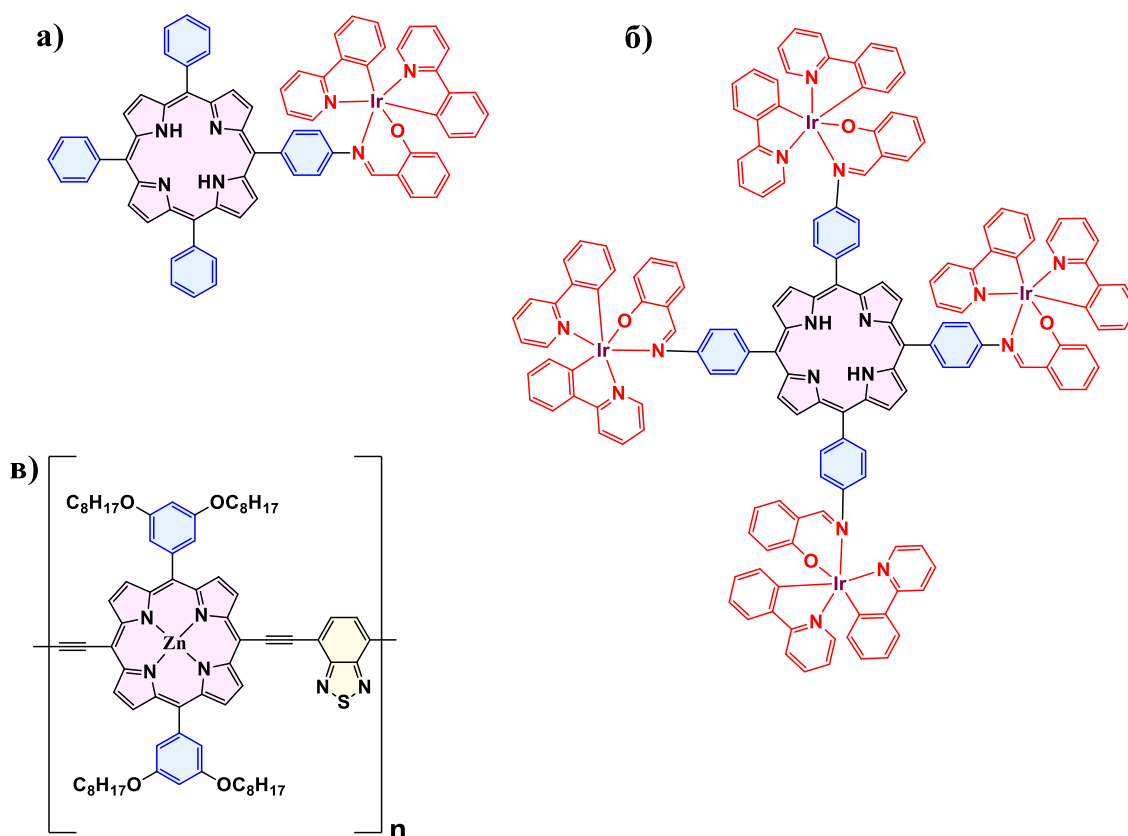


Рис. 24. Металлопроизводные порфиринов, проявившие свойства эффективных ФТТ-агентов.

В большинстве случаев при изучении ФТТ эффекта порфириновые производные используют в виде наночастиц, что позволяет дополнительно bathochromно смещать поглощение в область терапевтического окна прозрачности и увеличивать растворимость. Например, порфирин, содержащий фенилкарбамидные *мезо*-группы и включенный в наночастицы (Рис. 25), оказался эффективным против множественной миеломы, которая устойчива к химиотерапии и считается практически неизлечимой [254]. Нанесение на подложку оксида графена тетра(4-метилфенил)порфирина позволило увеличить эффективность фототермического преобразования с 33% (для оксида графена) до 89% [258].

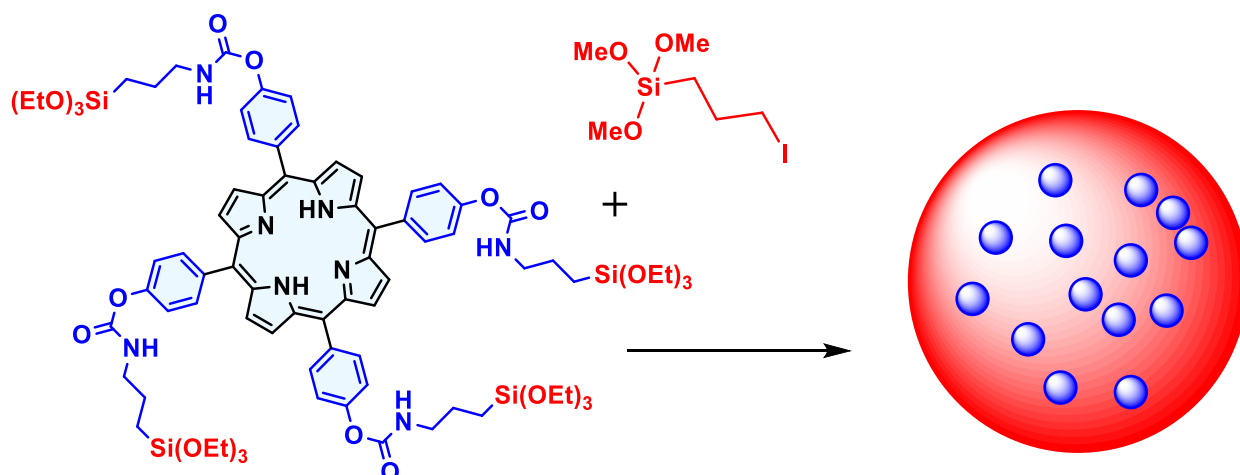


Рис. 25. Порфилин, включенный в наночастицы, продемонстрировавший ФТТ-эффект против множественной миеломы.

Интересные результаты были продемонстрированы для тетра(метилпиридиний)порфирина, который демонстрирует аФДТ эффект по отношению к аэробным бактериям. Более того, он может быть восстановлен факультативными анаэробами в гипоксических средах до флорина, обладая способностью к фототермическому преобразованию в ближнем инфракрасном диапазоне и демонстрируя значимую антимикробную активность при ФТТ [259]. Было также показано, что порфисомы являются агентами ФТТ для эффективной абляции опухолей как в гипероксических, так и в гипоксических условиях [260,261]. Таким образом, порфирины являются достаточно интересными объектами для изучения в качестве ФТТ-агентов.

2.3.2.3. Сонодинамическая терапия

Альтернативным способом генерации АФК является воздействие ультразвука (УЗ) на соносенсибилизатор. Данный процесс лежит в основе метода сонодинамической терапии (СДТ). УЗ способен проникать через ткани на большую глубину по сравнению со светом, что позволяет лечить глубоко расположенные и крупные опухоли, тогда как ФДТ используют преимущественно для небольших и плоских опухолей.

Рассматривая более подробно принцип СДТ, необходимо остановиться на том, что при УЗ-воздействии параллельно реализуются два механизма.

Первый механизм обусловлен прямым воздействием акустической кавитации на клеточные структуры, а второй – воздействием на соносенсибилизатор, который затем генерирует АФК, оказывающие токсическое воздействие на клетки.

Акустическая кавитация включает образование, рост и разрушение пузырей в ответ на УЗ-импульс. В результате кавитационных событий в системе возникают свободно-радикальные процессы, ударные волны, кумулятивные струи и ряд других явлений, локализованных в областях схлопывания кавитационных пузырьков. При увеличении интенсивности УЗ выше определенного порога давления происходит разрушение пузырьков. Этот процесс сопровождается высвобождением энергии в виде ударной волны, механическая энергия которой способна разрушать клеточные мембраны [262,263]. Однако схлопывание кавитационных пузырьков может приводить к преобразованию акустической энергии не только в механическую, но и в тепловую, вызывающую локальный нагрев клеток, а также вызывать сонолюминесценцию. Испускаемая люминесценция может быть поглощена соносенсибилизатором, который затем, переходя в триплетное состояние, способен генерировать АФК по I или II пути [264]. При этом возможно управление механизмами посредством выбора режима подачи УЗ-импульсов. При использовании высокой интенсивности ультразвука повышается доля термической абляции, вызывающей некроз тканей [264]. При использовании же более коротких ультразвуковых импульсов (порядка мкс) и менее высоких интенсивностей (<10 МПа и <10 Вт/см²) реализуется сенсibilизатор-опосредованный механизм [265,266].

Большинство изученных соносенсибилизаторов в СДТ представляют собой уже зарекомендовавшие себя в противораковой терапии препараты: амсакрин, метранидазол, блеомицин, цисплатин, 5-фторурацил и др., однако в большей степени привлекательны для СДТ оказались фотосенсибилизаторы («Фотогем»®), «Аласенс»®, «Фотодитазин»® и т.д.) [264,267]. В случае фотосенсибилизаторов, для применения в СДТ их дополнительно

конъюгируют с наночастицами, нанотрубками, MOF-структурами и др [268]. Загрузка мезо-тетра(4-сульфофенил)порфирина (TSPP) в наночастицы полиметилметакрилата (Рис. 26 а) позволила повысить соносенсибилизированную генерацию АФК [269], а введение протопорфирина в наночастицы SiO₂ (Рис. 26 б) увеличило накопление такого соносенсибилизатора в опухоли [270]. Конъюгированный с нанотрубками порфирин с мезо-фенилкарбамидным фрагментом (Рис. 26 в) оказался эффективен против клеток рака толстой кишки HT-29 при УЗ-облучении малой мощности, при этом не обладая системной токсичностью [271].

Большое внимание также уделяется изучению порфиринов, загруженных в липосомы. Было показано, что липосомальный протопорфиринат Cu(II) (Рис. 27 а) способен генерировать большое количество АФК (¹O₂, O₂⁻, ·OH) и демонстрирует значительный СДТ-эффект против клеток и ксенотрансплантата опухоли 4T1 [272]. Липосомальный препарат, с включенным в мембрану порфирином (Рис. 27 б) оказался эффективен против человеческой глиобластомы U87 как *in vitro*, так и *in vivo* [273].

Порфириновые комплексы марганца и меди (Рис. 27 а) продемонстрировали хороший СДТ эффект, а также продемонстрировали возможность мониторинга накопления в опухоли в реальном времени, тем самым открывая возможности для тераностической СДТ [272,274]. Водорастворимый соносенсибилизатор на основе порфирината Ir(III) (Рис. 27 в) не только оказался способен генерировать синглетный кислород под воздействием УЗ-излучения, но и продемонстрировал выдающиеся способности активироваться УЗ на глубине более 10 см в тканях. Интересно, что под воздействием УЗ-излучения такой комплекс окисляет внутриклеточный НАД-Н и проявляет высокую соноцитотоксичность как *in vitro*, так и *in vivo* [275].

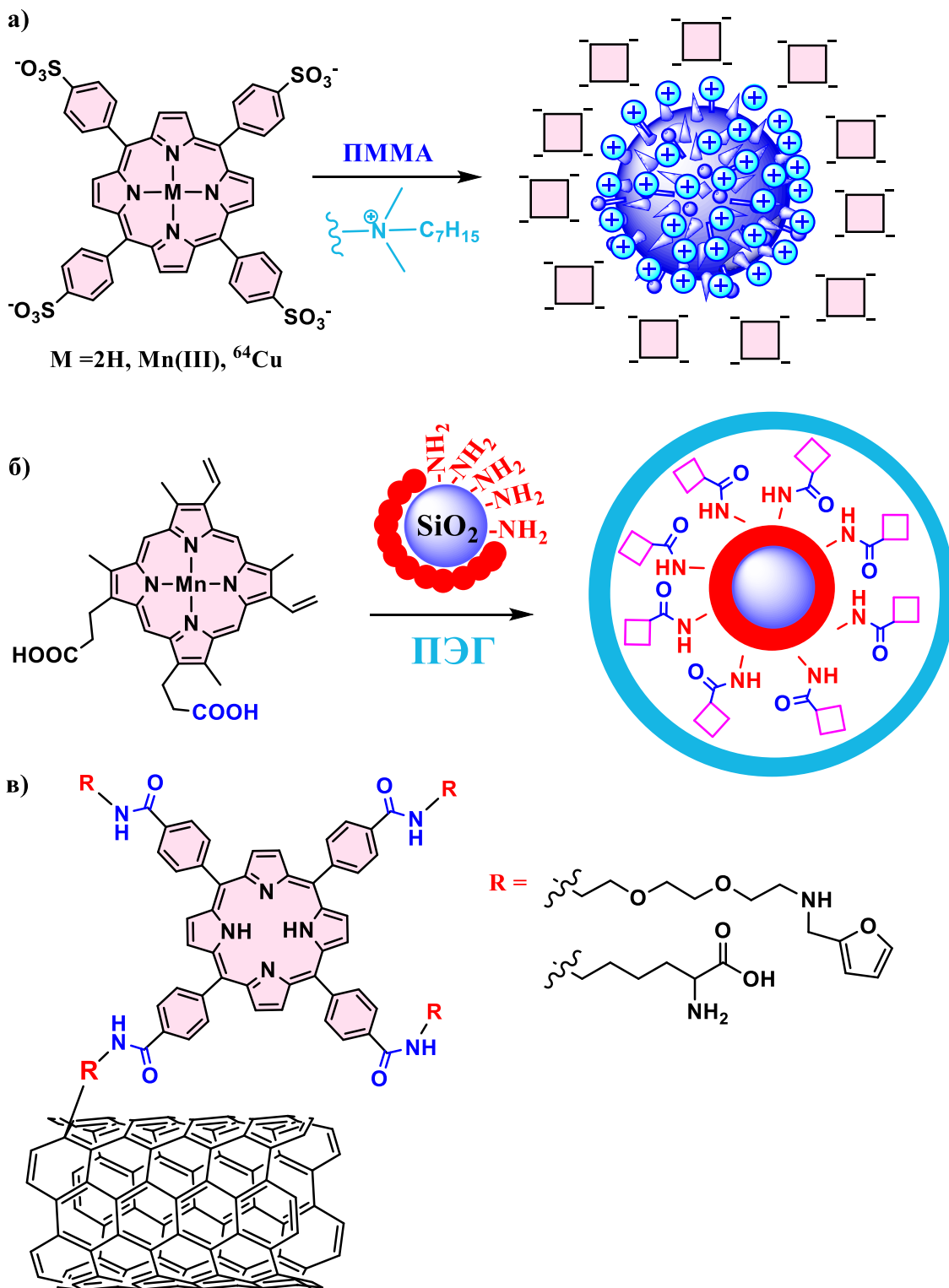


Рис. 26. Схематичное изображение структуры конъюгатов порфиринов с наночастицами и нанотрубками, показавшими эффективность в качестве СДТ-агентов.

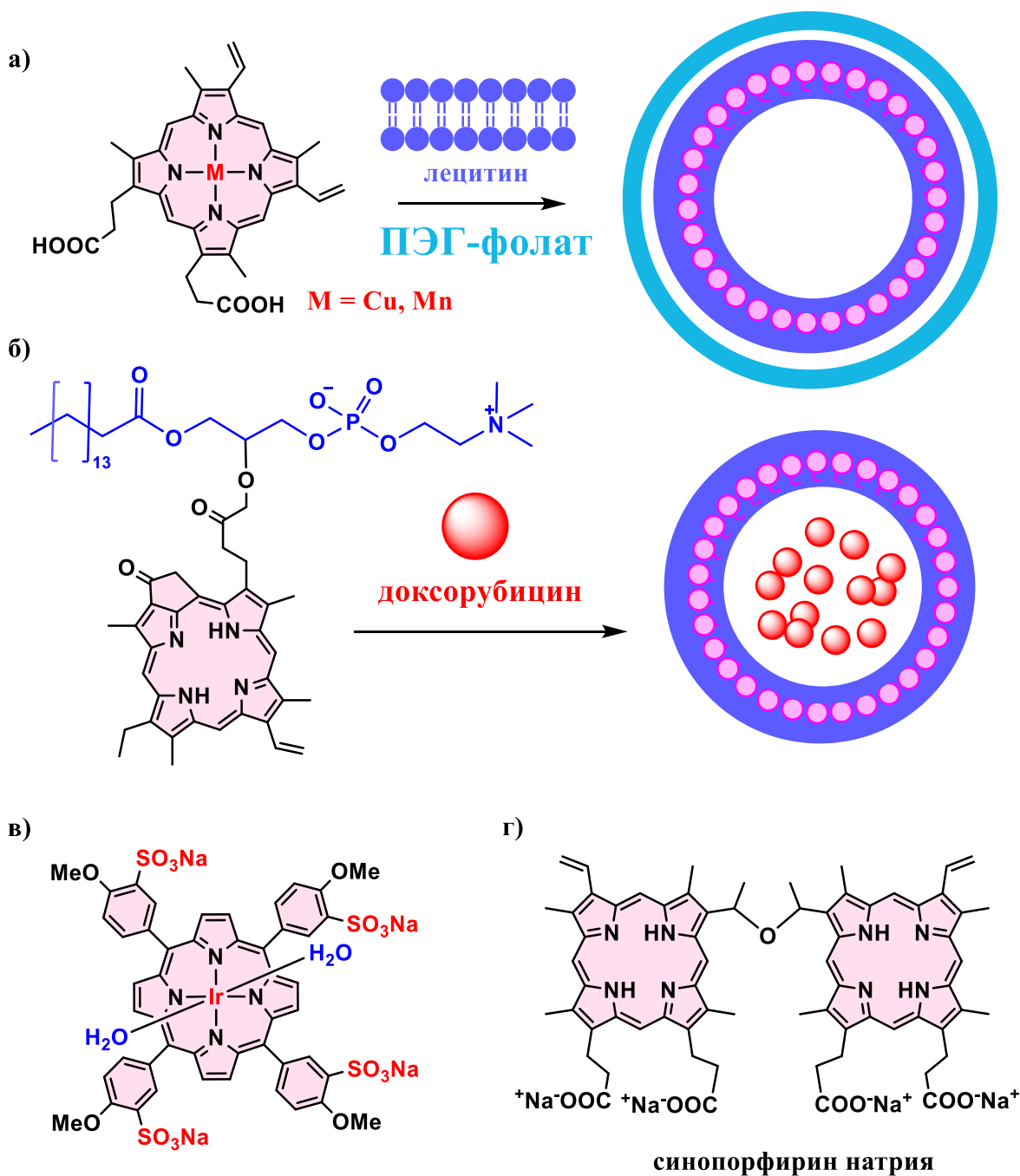


Рис. 27. СДТ-агенты на основе липосомальных порфиринов (а, б) и иридиевого комплекса (в).

Однако в некоторых работах сообщается о сонотоксичности неконъюгированных производных порфиринов. Например, натриевая соль производного протопорфирина IX (Рис. 18) продемонстрировала значительную сонотоксичность против различных линий раковых клеток [276–278], в том числе, было продемонстрировано, что протопорфирин IX вызывает апоптоз клеток глиомы головного мозга [279]. Также было показано ингибирование роста опухоли с использованием УЗ после введения 5-АЛК

(Аласенс, Рис. 18) мышам [272,280]. Одним из наиболее перспективных соносенсибилизаторов, способных к генерации АФК, представляется синопорфин натрия (Рис. 27 г). Такой порфирин продемонстрировал потенциал в лечении глиобластомы [281], лейкомии [281], меланомы [282] и ряда других видов рака.

2.3.2.4. Фотоиммуноterapia

Помимо повреждения клеток действием АФК возможна также активация иммунного ответа под воздействием света на конъюгат иммунотерапевтического агента и фотосенсибилизатора. Такой подход представляет собой сочетание фотодинамической терапии и иммунотерапии и носит название фотоиммуноterapia (ФИТ). Фототерапия, как перспективный метод лечения, может эффективно убивать опухолевые клетки, но она не способна лечить метастазы. А иммуноterapia, наоборот, способна вызывать системный противоопухолевый иммунный ответ, но относительно неэффективна при абляции первичных опухолей. В связи с этим их комбинирование представляется весьма перспективным двухсторонним методом лечения опухолей [283,284].

В качестве иммунотерапевтического агента часто используются антитела – они играют двойную роль в ФИТ. С одной стороны, они усиливают селективность конъюгатов к опухолевым клеткам по сравнению со здоровыми, тем самым осуществляя адресную доставку фотосенсибилизаторов, оказывающих цитотоксическое воздействие. А с другой стороны, антитела усиливают узнаваемость опухолевых антигенных детерминант для иммунной системы, тем самым активируя иммунный ответ [285]. Так, моноклональные антитела способны взаимодействовать с антигенными фрагментами клеточной мембраны раковых клеток таким образом, что клетки становятся более узнаваемыми для иммунной системы организма. Гибель измененных клеток приводит к подаче сигнала на стволовые клетки человека, являющихся своеобразными «запасниками»

организма, инициирующими образование новых клеток (например, в случае массовых повреждений тканей). На месте разрушенных клеток появляются новые, здоровые клетки. Одновременно происходит активация обменных процессов в клетках, повышается уровень иммунной защиты организма в целом. [286].

Другой тип иммунотерапевтических агентов - иммуноадьюванты. Они могут усилить захват и презентацию антигена, что усилит последующий системный иммунный ответ [287,288]. Ингибиторы контрольных точек (антитела против PD-L1, антитела против CTLA-4 или малые молекулярные ингибиторы IDO) могут дополнительно повысить эффективность лечения, блокируя иммуносупрессивные рецепторы на поверхности клеток, восстанавливая цитотоксическую функцию опухолеспецифических Т-клеток [289]. Индуцированная гибель опухолевых клеток сопровождается высвобождением антигенов, DAMP (кальретикулин (CRT), высокомолекулярный групповой бокс 1 (HMGB-1), аденозинтрифосфат (АТФ) и др.) и провоспалительных цитокинов (интерлейкин-2 (ИЛ-2), интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-12 (ИЛ-12), интерферон-гамма (ИНФ- γ), фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α) и др.), которые захватываются незрелыми дендритными клетками [290][291]. Это приводит к их активации и быстрому созреванию. Зрелые дендритные клетки мигрируют в лимфатические узлы, где они представляют опухолевые антигены в комплексе с молекулами класса I и II МНС Т-лимфоцитам.

Ряд фотосенсибилизаторов (Фотогем, Фотофрин, Аласенс, Фотосенс, Радахлорин и др.) и различные иммунотерапевтические агенты использовались для ФИТ. Химическое связывание гематопорфирина с моноклональными антителами, направленными на миосаркому М-1 увеличивало специфичность воздействия ФИТ-эффекта на опухоль М-1, при этом не оказывая ингибирования роста опухоли лимфомы EL4 [292], тогда как связывание гематопорфирина с иммуноадьювантом, усиливало

противоопухолевый иммунитет, генерируя антигены, ассоциированные с опухолью [293].

Единичные исследования подтверждают способность производных гематопорфирина (Рис. 18) снижать экспрессию антигенов [294,295], и индуцировать DAMP [296], однако конъюгирование с иммунотерапевтическими агентами в значительной степени увеличивает противоопухолевый эффект [292]. Так например, конъюгат моно(*n*-фениламин)трифенилпорфирина (Рис. 28 а) и овальбумина (иммуностимулирующего антигена OVA) могут не только удалять первичную опухоль, но и вызывать иммуногенную гибель клеток меланомы путем активации Т-лимфоцитов [297]. Комбинация порфиринизотиоцианата (Рис. 28 б,в) и моноклональных антител позволила получить стабильный в сыворотке крови конъюгат, имеющий более высокий уровень фототоксичности по сравнению с исходным антителом [56]. Также было показано, что наночастицы являются эффективными носителями для конъюгатов порфирин-иммуноагент. Например, наночастицы SiO₂ с включенными тетрафенилпорфирином цинка (Рис. 28 г) и адьювантом R837 оказались эффективны против первичных опухолей у мышей 4Т1, в том числе подавляя отдаленные метастазы из-за сильного иммунного ответа [298]. R837 активирует Toll-подобный рецептор (TLR7) во внутренней мембране эндосомы для содействия созреванию дендритных клеток костномозгового происхождения, что приводит к усилению презентации антигена. Также был разработан наноадьювант на основе порфирина (Рис. 28 д) и R837 в липосомальной форме, который оказался чувствителен к рН среды: цитотоксическое ФДТ действие совместно с высвобождением R837 активировалось в кислой среде, характерной для раковых клеток [299]. Липосомальная форма конъюгата порфирина (Рис. 28 е) и ингибитора IDO показала пролонгированную циркуляцию в крови и повышенное накопление в опухоли у мышей 4Т1, эффективно ингибируя рост опухоли и снижение фототоксичности для нормальных тканей [300].

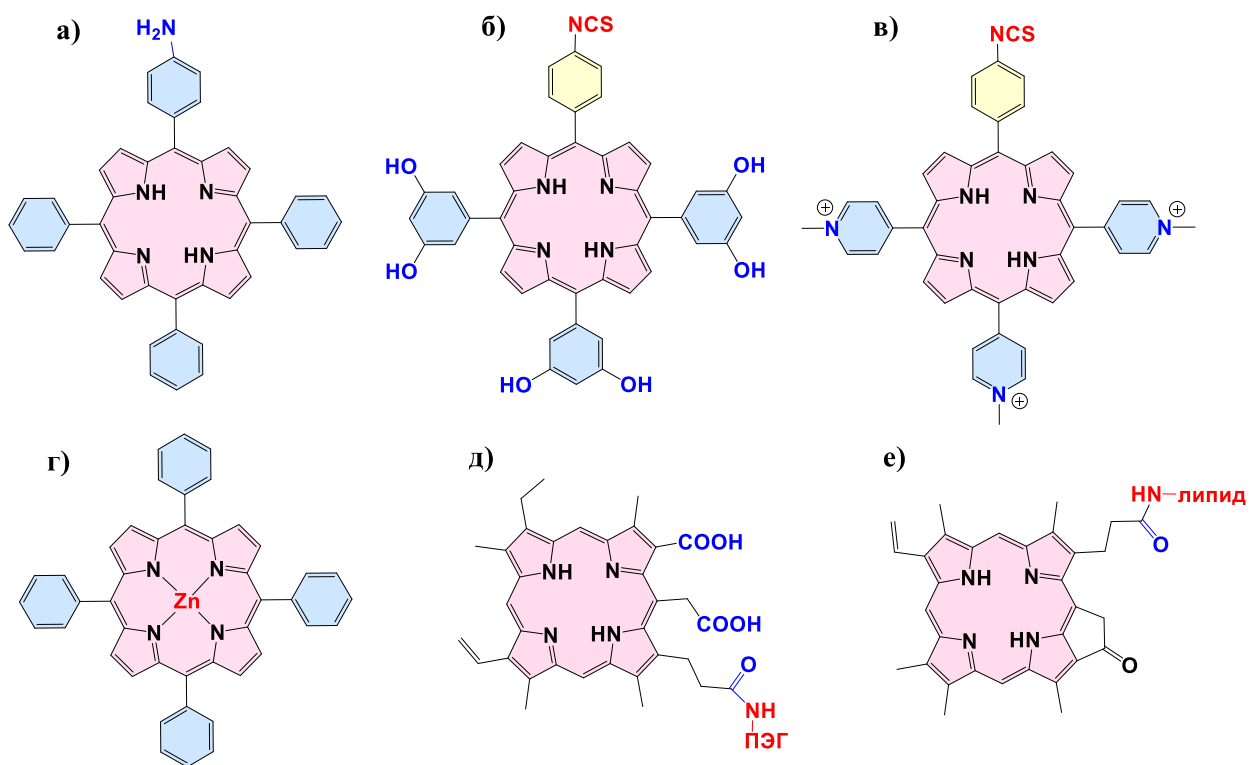


Рис. 28. Порфирины, входящие в состав конъюгатов, продемонстрировавших эффективность в фотоиммунотерапевтическом подходе.

2.4. Постановка задачи

Проведенный анализ литературных данных свидетельствует о значительных перспективах применения порфиринов в биомедицинских приложениях. Среди всего разнообразия производных порфиринов одними из наиболее перспективных объектов представляются катионные водорастворимые комплексы с фосфором(V), благодаря возможности управления их физико-химическими свойствами путем варьирования как заместителей в макроцкле, так и аксиальных лигандов. Однако их химия по-прежнему остается относительно мало изученной: к моменту постановки задачи данной диссертационной работы были описаны подходы к синтезу таких соединений и опубликовано несколько работ, посвященных исследованию фотосенсибилизационных и биологических свойств отдельных порфиринатов P(V). При этом актуальной задачей остается систематическое исследование влияния структуры комплексов на их фотофизические, фотохимические или биологические свойства.

Таким образом, *целью данного диссертационного исследования стали разработка подходов к получению серии водорастворимых порфиринатов фосфора(V) и выявление зависимости их фотофизических, фотохимических и цитотоксических свойств от особенностей их строения и свойств среды.*

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Получение порфиринов фосфора(V)

В соответствии с целью работы, для сравнения фотофизических, фотохимических свойств и биологической активности порфиринов фосфора(V) с *мезо*-заместителями различной электронной природы на первом этапе были получены свободные основания порфиринов, содержащие *мезо*-фенильные и *мезо*-пиридилные группы в соотношениях от 4:0 до 0:4 (**1-6**) по методу Адлера (Схема 19). Дальнейшее разделение порфиринов и их очистка проводилась с помощью метода колоночной хроматографии на силикагеле.

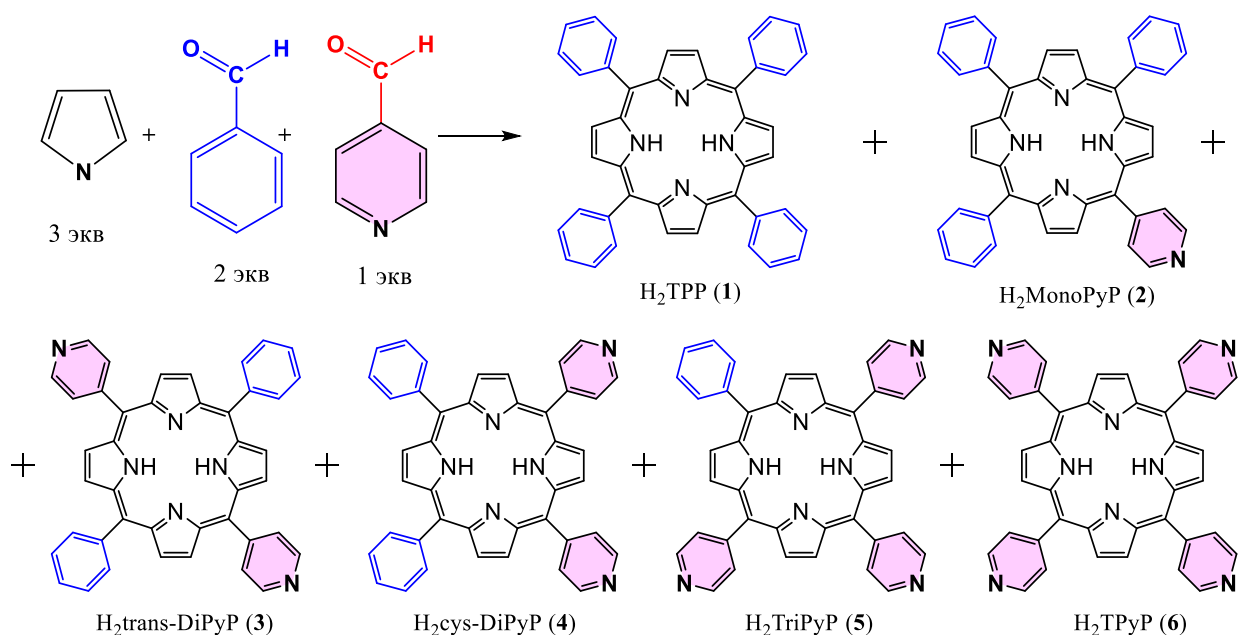


Схема 19. Получение свободных оснований порфиринов 1-6.

На следующем этапе на основе порфиринов **1-6**, а также тетра-(*n*-метилфенил)- (**7**), тетра-(*n*-метоксифенил)- (**8**), тетра-(*n*-*трет*-бутилфенил)- (**9**), тетра-(*n*-карбоксиметилфенил)- (**10**) и тетра-(*n*-цианофенил)-(**10**) порфиринов была получена серия комплексов с аксиальными –OEt лигандами **1-OEt – 11-OEt**, с аксиальными –OH группами **1-OH – 3-OH** и комплекс монопиридил-трифенил-порфирирата P(V) с аксиальными гидроксипропильными группами **2-OPrOH** (Рис. 29).

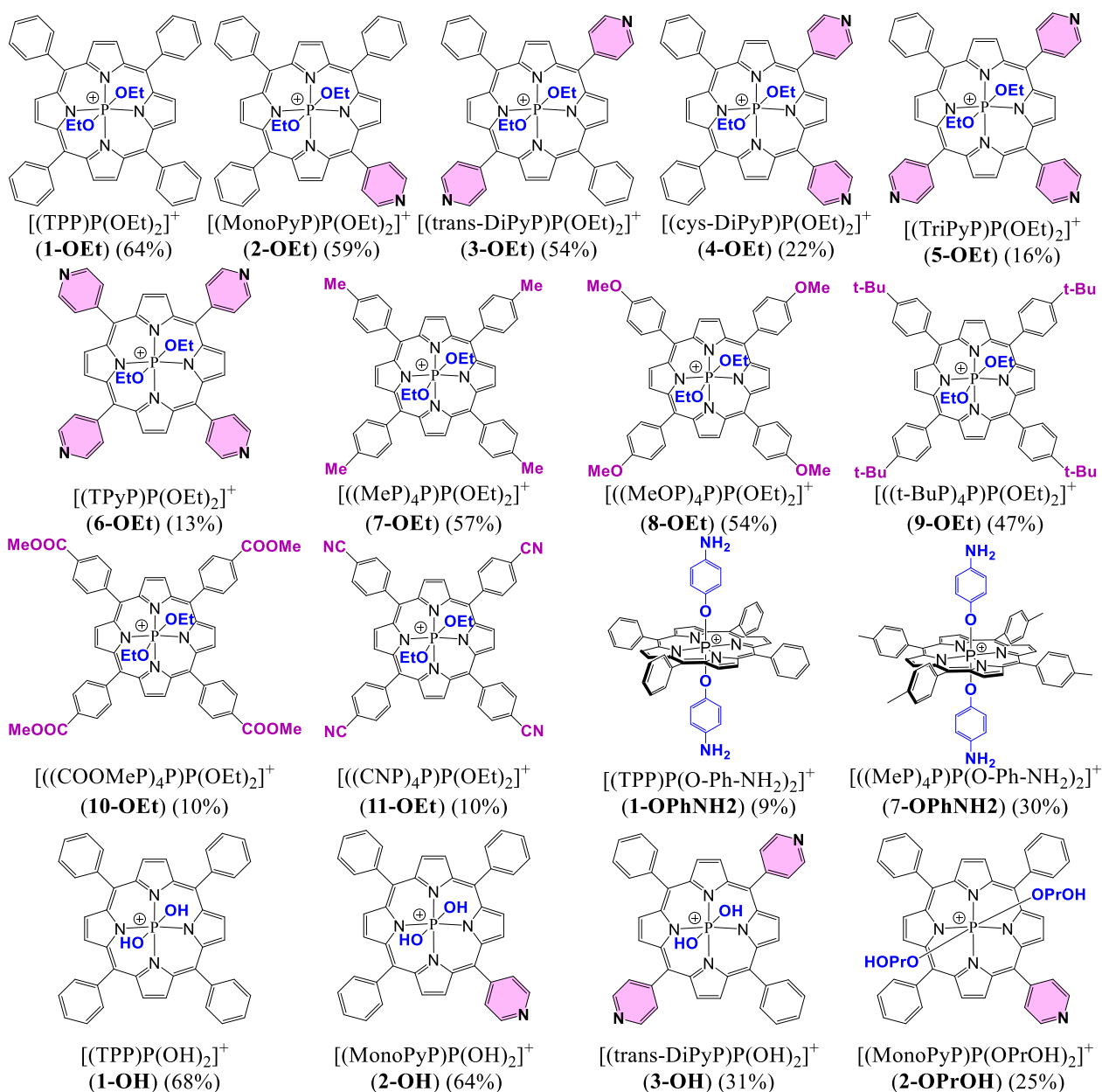


Рис. 29. Полученные в данной работе порфирилаты фосфора(V). Для всех соединений противоионом является Br^- . В скобках указаны выходы в реакции введения фосфора(V) в свободные основания порфиринов.

Влияние электронной природы мезо-заместителей в структуре порфиринов на их реакционную способность в реакциях введения атома фосфора(V) в полости макроциклов оценивалось при получении серии этокси-комплексов **1-OEt** – **11-OEt**. Общая методика получения комплексов **1-OEt** – **11-OEt** была аналогична для всех свободных оснований порфиринов (**1-11**) и основана на разработанной ранее в нашей группе методике [88]. На первой стадии порфирины смешивали с POBr_3 , при этом в качестве промежуточных продуктов образовывались дибромпорфирилаты фосфора

(V), которые без выделения после остывания реакционной смеси смешивали с EtOH на второй стадии (Схема 20).

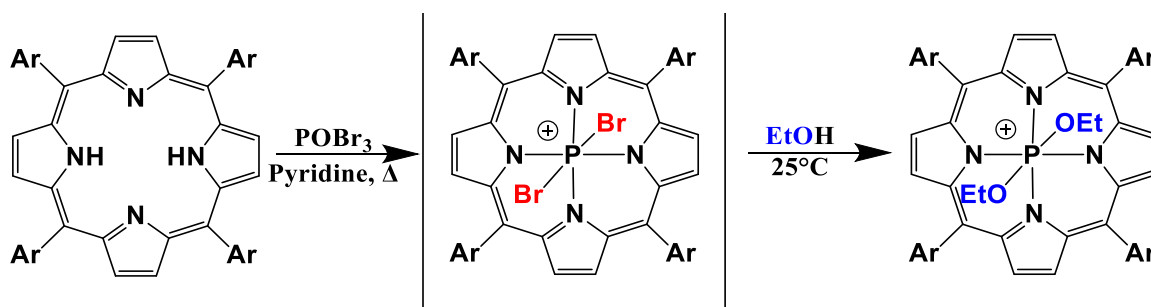


Схема 20. Получение порфиринов фосфора(V).

Полноту протекания процессов на каждой стадии контролировали с помощью электронной спектроскопии поглощения (Рис. 30). При образовании промежуточного дибром-порфирилата P(V) полоса Soret свободных оснований порфиринов смещается с 418-419 нм в более длинноволновую область до 447-449 нм, и число Q-полос уменьшается с четырех для свободных оснований до двух для соответствующего комплекса порфирина. При замене аксиальных групп –Br на –OEt на второй стадии наблюдается смещение полос Soret и Q-полос в сторону меньших длин волн.

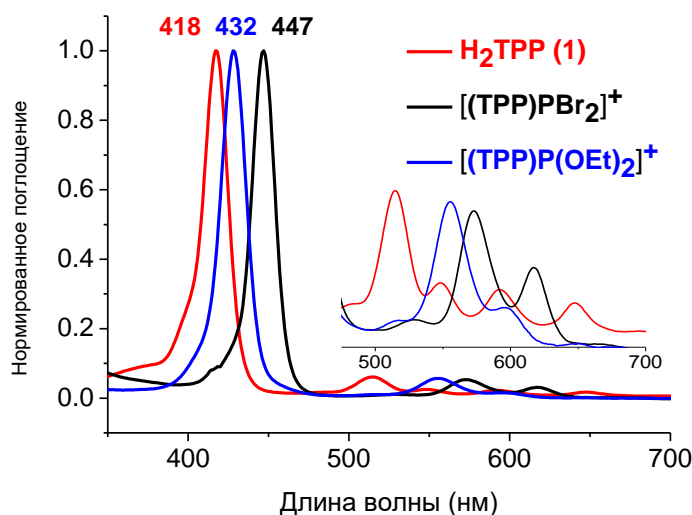
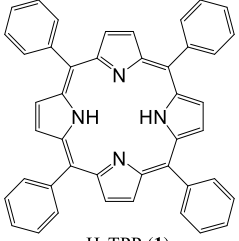
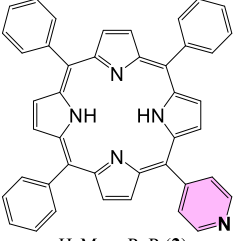
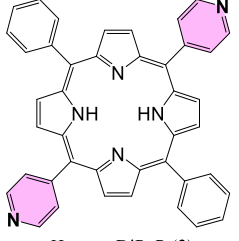
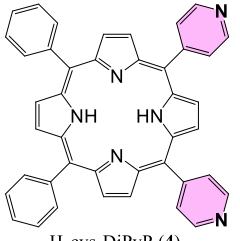
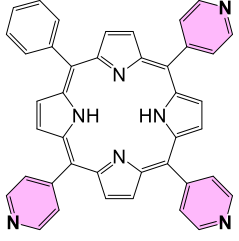
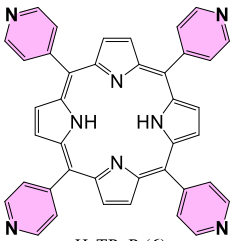
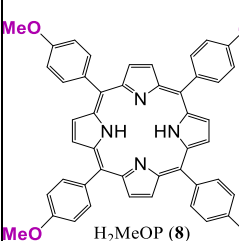
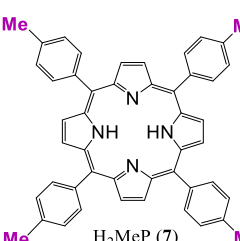
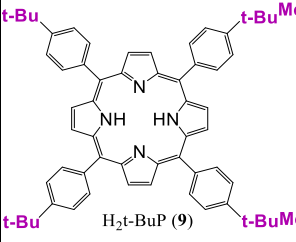
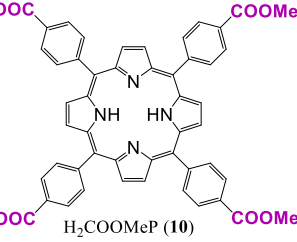
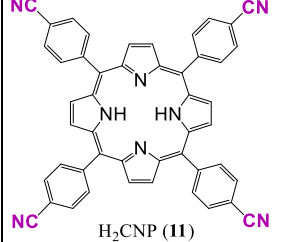


Рис. 30. Изменения в ЭСП в ходе реакции образования комплекса $[(TPP)P(OEt)_2]^+$ (**1-OEt**) в $CHCl_3$.

В данном исследовании варьировалось соотношение лиганд : $POBr_3$ и оценивалось время конверсии в дибром-порфирилат на первой стадии. В

результате для каждого свободного основания порфирина были определены оптимальные условия первой стадии (Таблица 4).

Таблица 4 Оптимальные условия первой стадии (избыток $POBr_3$ и время конверсии) синтеза порфиринов фосфора(V) с аксиальными $-OEt$ лигандами **1-OEt** – **11-OEt**.

Исходный порфирин	 H ₂ TPP (1)	 H ₂ MonoPyP (2)	 H ₂ trans-DiPyP (3)	 H ₂ cys-DiPyP (4)
Условия реакции	25 экв. $POBr_3$, 30 мин.	40 экв. $POBr_3$, 90 мин.	53 экв. $POBr_3$, 90 мин.	50 экв. $POBr_3$, 90 мин.
Выход реакции, %	64	59	54	22
Исходный порфирин	 H ₂ TriPyP (5)	 H ₂ TPyP (6)	 H ₂ MeOP (8)	 H ₂ MeP (7)
Условия реакции	70 экв. $POBr_3$, 120 мин.	90 экв. $POBr_3$, 150 мин.	20 экв. $POBr_3$, 15 мин.	20 экв. $POBr_3$, 30 мин.
Выход реакции, %	16	13	49	57
Исходный порфирин	 H ₂ t-BuP (9)	 H ₂ COOMeP (10)	 H ₂ CNP (11)	
Условия реакции	20 экв. $POBr_3$, 30 мин.	20 экв. $POBr_3$, 120 мин.	40 экв. $POBr_3$, 90 мин.	
Выход реакции, %	32	10	12	

Таким образом, было установлено, что по мере усиления электронно-донорных свойств мезо-заместителей в порфирине уменьшается время конверсии и необходимый избыток $POBr_3$ с одновременным увеличением

выхода целевого продукта. Так, при переходе от порфирина **6** к **1** и снижении числа электроноакцепторных пиридинных групп с 4 до 0 уменьшается необходимый избыток POBr_3 с 90 до 25 экв. и время образования промежуточного дибромпорфирината с 2.5 ч до 30 мин. Кроме того, для получения дибромпорфиринатов с *мезо*-донорными группами при синтезе комплексов **7-OEt** - **9-OEt** достаточно было 20 экв. POBr_3 и 15 мин., в то время как при получении тетрафенил-порфирината P(V) (**1-OEt**) необходимо было использовать 25 экв. POBr_3 и 30 мин., а для тетрапиридил-порфирината (**6-OEt**) – 90 экв. POBr_3 и 150 мин.

Также были предприняты попытки ввести в реакцию порфирин **12** (Схема 21), содержащий наиболее акцепторные пентафторфенильные *мезо*-группы. Однако дибром-порфиринат, образующийся при взаимодействии **12** с POBr_3 , разрушается сразу после образования. По этой причине синтезировать комплекс **12-OEt** не представляется возможным.

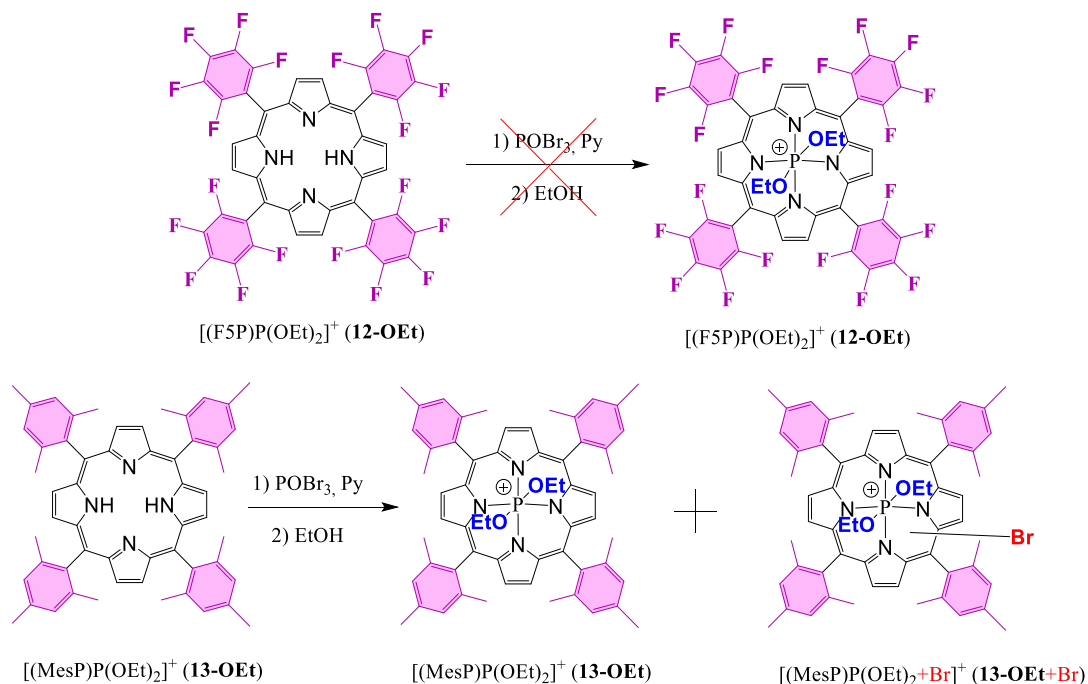


Схема 21. Синтез порфиринатов **12-OEt** и **13-OEt**.

Необычным оказалось поведение тетра(мезитил)порфирина **13** при введении в него фосфора(V). Несмотря на то, что мезитильные группы обладают бóльшим электронодонорным эффектом по сравнению фенильными, метоксифенильными и метилфенильными, для полной

конверсии свободного основания тетра(мезитил)порфирина (**13**) в дибромпорфиринат потребовалось 40 экв. POBr_3 и 120 мин. вместо 25 экв. POBr_3 и 30 мин. для H_2TPP (**1**), что может быть объяснено большей стерической нагруженностью тетра(мезитил)порфирина в сравнении с тетрафенилпорфирином. В ходе реакции помимо целевого продукта **13-OEt** наблюдалось также образование его бромированного по плоскости макроцикла порфирина аналога (Схема 21), не отделимого хроматографически, на что указывали данные MALDI TOF масс-спектрометрии (Рис. 31). При уменьшении количества используемого POBr_3 с 40 до 20 экв. время конверсии увеличивалось с 120 до 150 мин, а побочный продукт также обнаруживался в реакционной массе. В следствие этого выделить в индивидуальном виде и изучить свойства комплекса **13-OEt** не удалось.

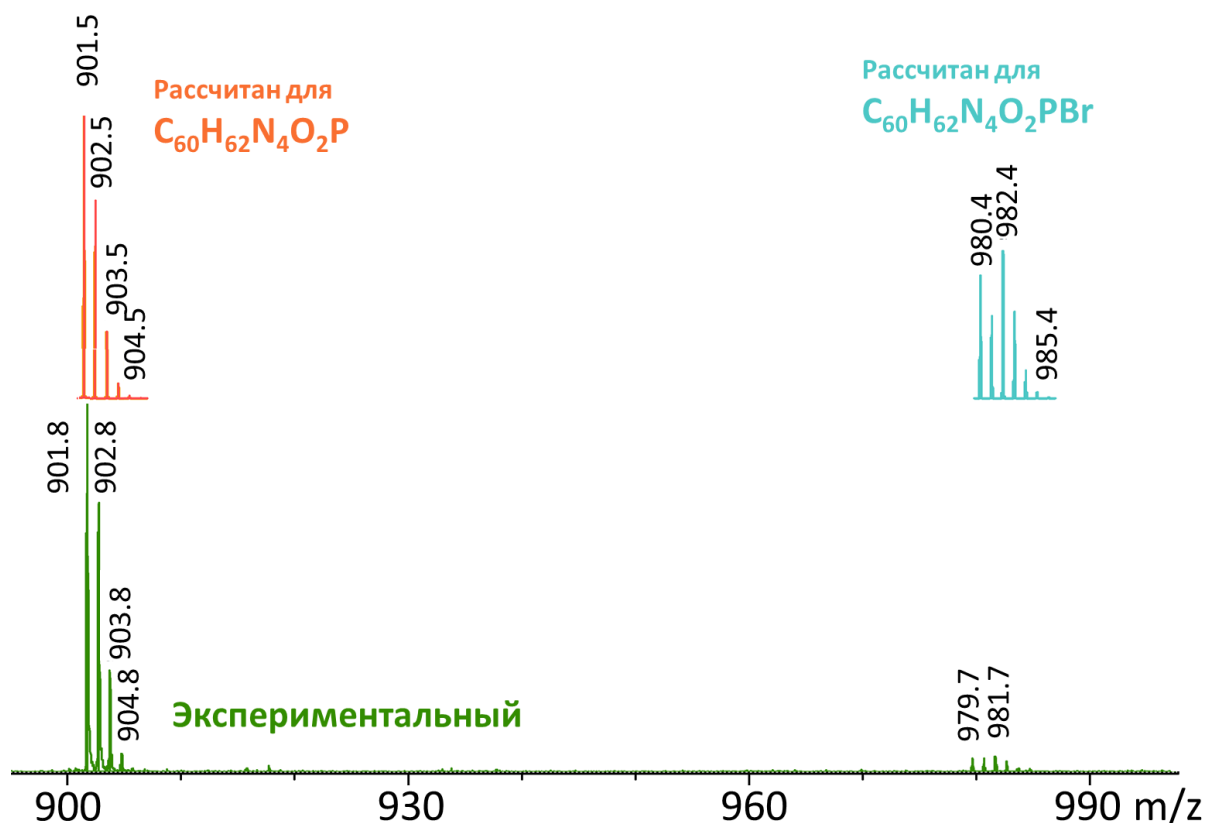


Рис. 31. MALDI TOF масс-спектр неразделимой смеси **13-OEt** и его бромированного аналога (зеленый), расчетные спектры для **13-OEt**. (оранжевый) и **13-OEt+Br** (голубой).

Для изучения влияния природы аксиальных лигандов на физико-химические и цитотоксические свойства также был получен ряд комплексов с аксиальными $-\text{OH}$ группами **1-OH – 3-OH** и монопиридил-порфирилат с аксиальными гидроксипропильными группами **2-OPrOH** (Схема 22). Для этого использовали оптимизированные условия получения соответствующих дибромпорфирилатов, к которым затем добавляли воду либо 1,3-пропандиол для замещения бромид-ионов на $-\text{OH}$ или $-\text{OPrOH}$, соответственно.

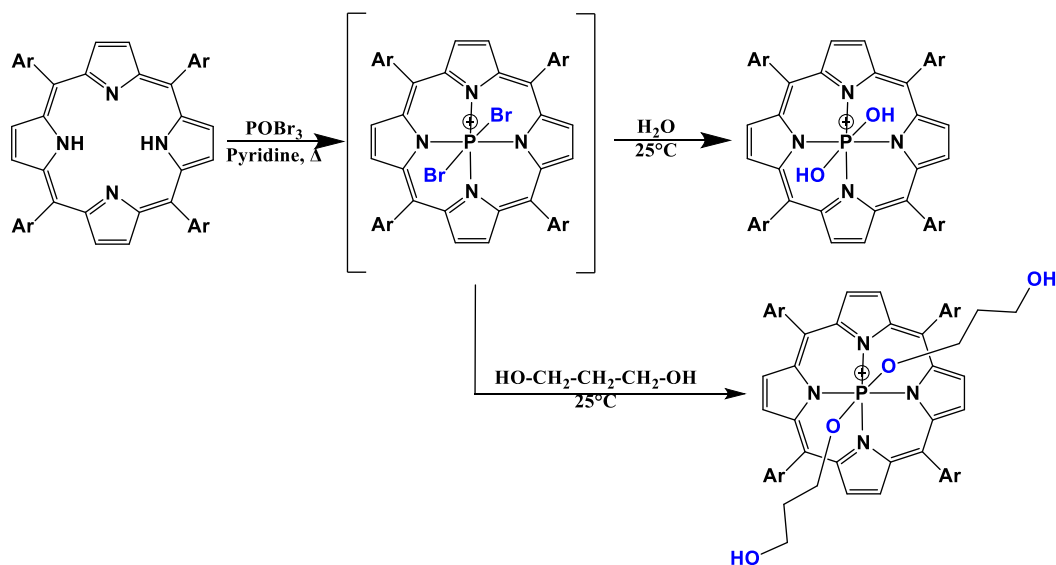


Схема 22. Получение порфирилатов P(V) с аксиальными $-\text{OH}$ и $-\text{OPrOH}$ группами.

Для очистки всех полученных соединений использовался метод колоночной хроматографии на окиси алюминия с градиентным элюированием CH_2Cl_2 , содержащим EtOH (от 0 до 5%). При использовании в качестве сорбента силикагеля и MeOH в составе элюента наблюдалось замещение аксиальных групп в целевых соединениях на группы $-\text{OMe}$. Об этом свидетельствовали данные ЯМР-спектроскопии и MALDI TOF масс-спектрометрии.

Все полученные соединения были охарактеризованы набором физико-химических методов: ЭСП, ^1H и ^{31}P ЯМР-спектроскопии и MALDI TOF масс-спектрометрии.

Высокая ароматичность порфиринового макроцикла обуславливает эффект кольцевого тока, что отражается на химических сдвигах протонов в ^1H ЯМР спектрах тетра-мезо-замещенных порфирилатов фосфора(V). Сигналы

восьми β -пиррольных протонов порфиринового макроцикла смещены в область 8.80 – 9.16 м.д., число сигналов зависит от симметрии комплекса (Рис. 32). Так, для комплексов, содержащих одинаковые заместители в мезо-положениях **1-OEt**, **6-OEt** – **11-OEt**, сигналы эквивалентных β -пиррольных протонов проявляются как один дублет, а для комплексов, содержащих два типа мезо-заместителей **2-OEt** – **5-OEt**, **2-OH** – **3-OH**, наблюдается два дублета, один из которых соответствует двум β -пиррольным протонам, а другой – шести. Сигналы протонов ароматических мезо-групп проявляются в виде нескольких мультиплетов в области 7.2 – 9.0 м.д.

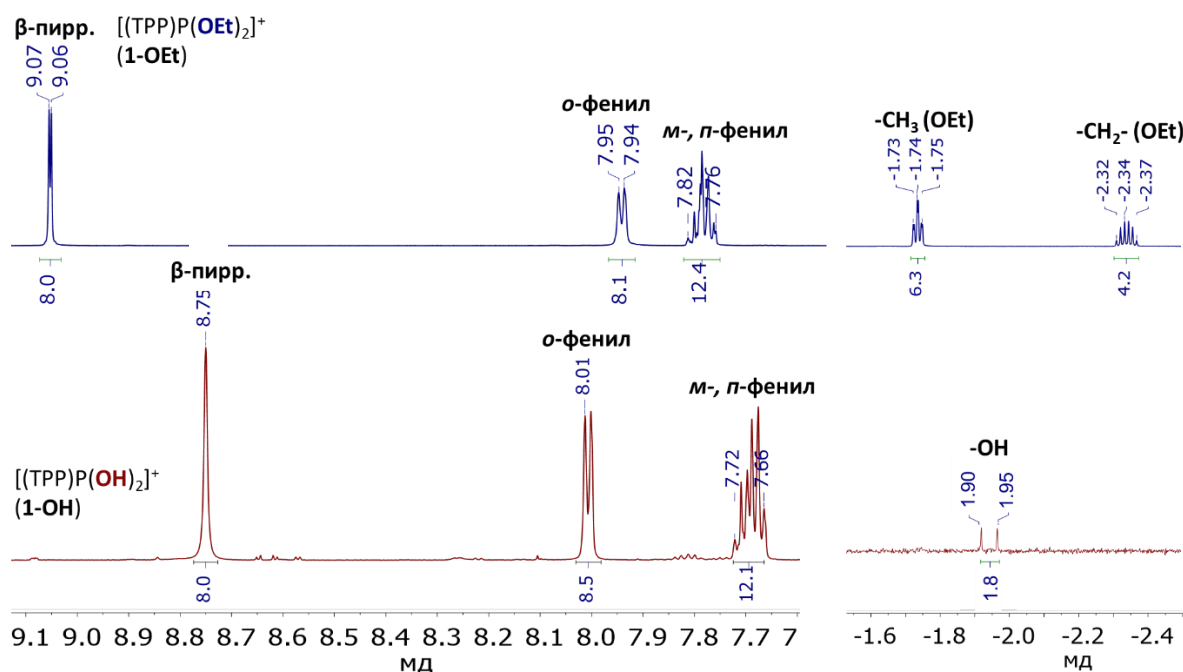


Рис. 32. ^1H ЯМР спектр (CDCl_3 , 600 МГц) $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ (**1-OEt**) и $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OH})_2]^+$ (**1-OH**). Часть спектра опущена для наглядности.

Положение сигналов аксиальных лигандов в ^1H ЯМР спектрах порфиринов фосфора (V) является характерным. Протоны аксиальных лигандов располагаются в поле экранирования порфиринового макроцикла, вследствие чего их сигналы смещены в область сильного поля. Сигналы протонов аксиальных $-\text{OH}$ и $-\text{OEt}$ лигандов наблюдаются в области отрицательных значений. Дублет квадруплетов $-\text{CH}_2$ фрагмента аксиальной

этокси- группы проявляется при $\sim -2.35 - -2.33$ м.д., а триплет дублетов $-CH_3$ фрагмента – в области $\sim -1.79--1.74$ м.д. Данная форма сигналов обусловлена спин-спиновым взаимодействием с центральным атомом фосфора. Интенсивность сигналов аксиальных $-OH$ групп ($-1.90 - -1.95$ м.д.) часто оказывается значительно заниженной, т.к. данные протоны могут находиться в обмене с растворителем.

^{31}P ЯМР спектроскопия является удобным инструментом для определения природы аксиальных лигандов. Мезо-заместители в структуре макроцикла не оказывают на химический сдвиг ^{31}P значительного влияния, тогда как заместители в апикальном положении к ^{31}P определяют положение сигналов в ^{31}P ЯМР спектрах (Таблица 5).

Таблица 5 Химический сдвиг ^{31}P в порфиринатах фосфора(V) $[(TPP)P(R_1)(R_2)]^+$ в зависимости от природы аксиальных лигандов R_1, R_2 .

Аксиальные лиганды R_1, R_2	Химический сдвиг, δ , м.д (CDCl ₃ , 162 МГц).
$R_1 = R_2 = OEt$	-180
$R_1 = OEt, R_2 = OMe$	-179
$R_1 = R_2 = OMe$	-178
$R_1 = OEt, R_2 = OH$	-185
$R_1 = OMe, R_2 = OH$	-184
$R_1 = R_2 = OH$	-193
$R_1 = R_2 = p-O-Ph-NH_2$	-189
$R_1 = R_2 = p-NH-Ph-OH$	-194

Влияние аксиальных лигандов было продемонстрировано на примере тетрафенилпорфиринов P(V) с различными аксиальными лигандами (Таблица 5). Химические сдвиги для диэтокси- $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ и диметокси- $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OMe})_2]^+$ комплексов наблюдаются при -180 и -178 м.д. соответственно, а для $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OH})_2]^+$ -при -193 м.д. Сигналы фосфора (V) в разнолигандных порфиринатах, таких как $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OEt})(\text{OMe})]^+$, $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OEt})(\text{OH})]^+$, $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OMe})(\text{OH})]^+$, занимают промежуточное положение между сигналами соответствующих комплексов с одним типом аксиальных лигандов. Таким образом, по мере уменьшения донорной способности аксиальных групп сигнал фосфора сильнее смещается в область сильного поля.

Как было описано в литературном обзоре (раздел 2.2.2.1), введение электронно-донорных ароматических аксиальных лигандов в порфиринаты P(V) приводит к явлению переноса заряда и, как следствие, тушению флуоресценции и отсутствию генерации синглетного кислорода [88]. Однако, в случае комплексов с электронно-акцепторными ароматическими аксиальными лигандами такого не происходит [126]. Таким образом, на основании литературных данных было выдвинуто предположение, что изменение электронной плотности на аксиальном лиганде будет переключать фотохимические свойства порфирина. Для проверки этого предположения было решено разработать методику синтеза порфирината фосфора(V), содержащего в качестве аксиальной группы *n*-аминофенольный фрагмент и исследовать возможность управления его фотофизическими свойствами при изменении pH среды.

Однако для получения комплекса тетрафенилпорфирината фосфора (V) с *n*-аминофенольной группой в качестве аксиального лиганда **1-O_nPhNH₂** использовавшаяся ранее методика (Схема 23) оказалась неприменимой, поскольку после добавления *n*-аминофенола к остывшей реакционной массе (~25°C), содержащей дибромпорфиринат P(V), в ¹H ЯМР спектре реакционной

массы не наблюдалось сигналов протонов аксиальных фенильного фрагмента и аминогруппы целевого соединения.

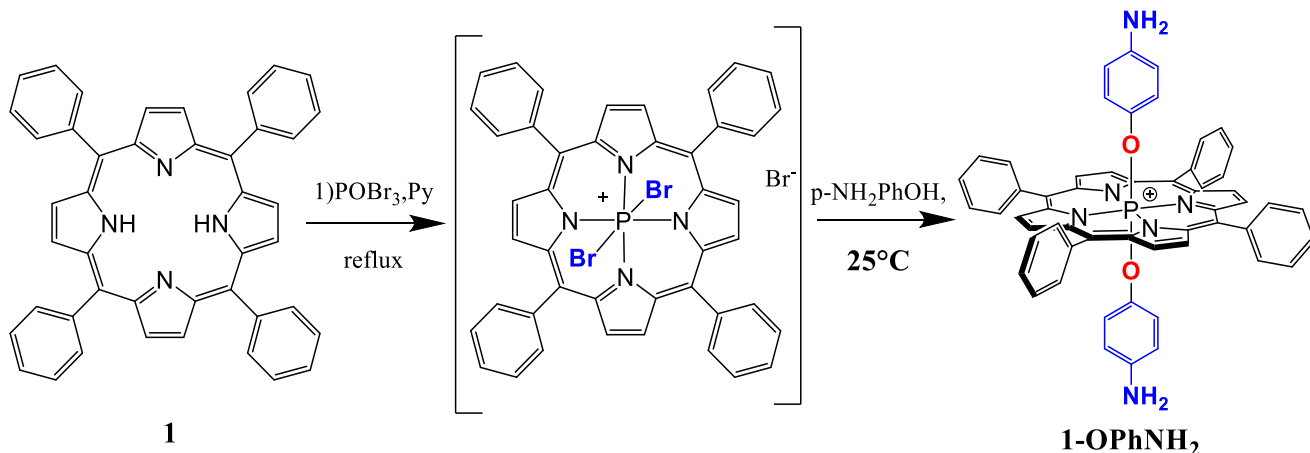


Схема 23. Предлагаемая схема синтеза комплекса **1-OPhNH₂**.

Альтернативным способом получения порфиринов P(V) с аксиальными лигандами, содержащими ароматический является замещение атома –Cl в дихлорпорфиринате фосфора (V) при кипячении в пиридине с ароматическим соединением [88]. Достоинством данной методики является то, что дихлор-порфиринат P(V) в отличие от дибром-производного может быть выделен в индивидуальном виде и очищен перед введением в последующие реакции. Однако при кипячении тетрафенилпорфирината P(V) с аксиальными –Cl группами с *p*-аминофенолом вместо замещения аксиальных лигандов наблюдалось разрушение комплекса и высвобождение свободного основания тетрафенилпорфирина **1** (Схема 24).

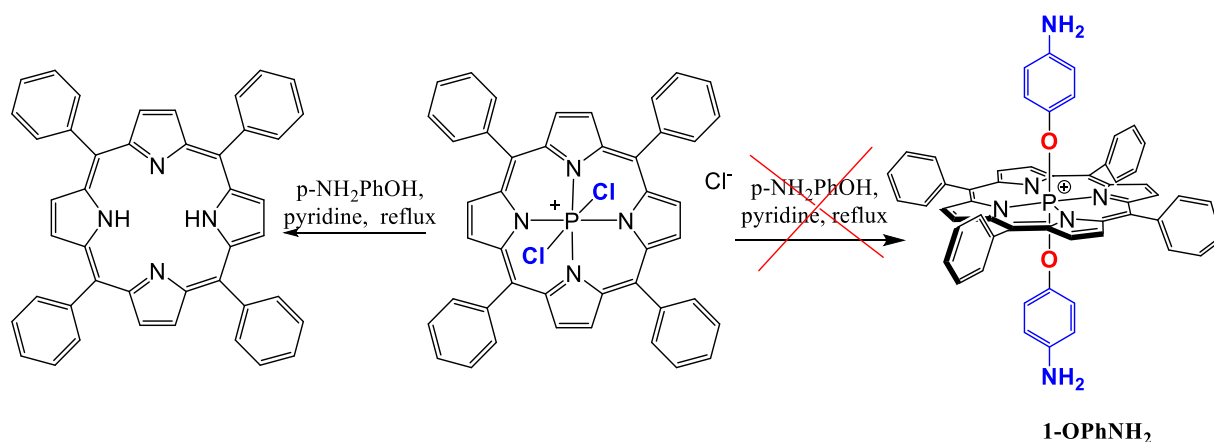


Схема 24. Подход к получению комплекса **1-OPhNH₂** из дихлор-(тетрафенил-порфирината) P(V).

Можно предположить, что реакция замещения аксиальных лигандов на фрагмент *n*-аминофенола требует более мягких условий. Для комплексов порфиринов с P(V) известно, что аксиальный –OH лиганд можно заместить на –Br при действии SOBr₂ в CH₂Cl₂ (Схема 25) [88]. Такая комбинация реагента и растворителя позволяет легко удалить побочные продукты реакции упариванием реакционной массы под вакуумом. Однако в данном случае в ЭСП не наблюдалось образования промежуточного дибром-производного.

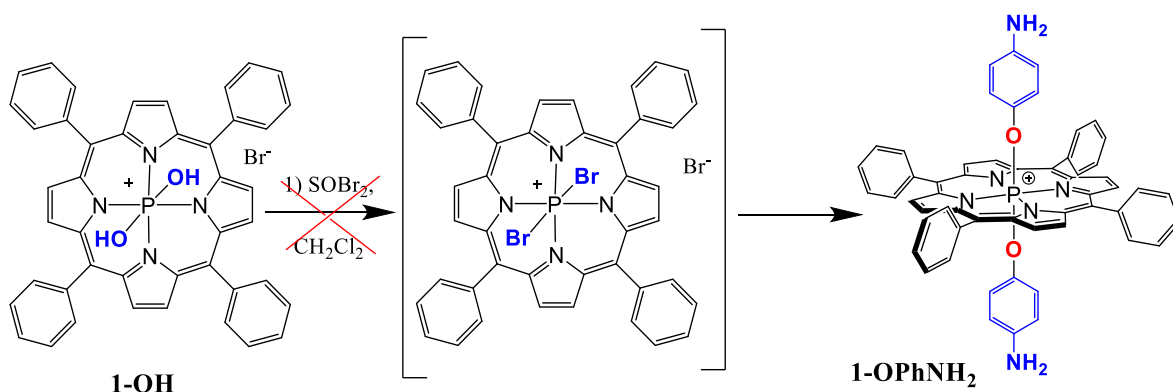


Схема 25. Подход к получению комплекса **1-OPhNH₂** из дигидрокси(тетрафенил)порфирина фосфора (V) **1-OH**.

Поскольку применение известных методик не позволило получить желаемый продукт, было решено модифицировать методику, ранее использовавшуюся нами получения комплексов **1-OEt** и **1-OH**. Введение *n*-аминофенола (Схема 26) предварительно растворенного в небольшом количестве пиридина, в горячую реакционную массу сразу после достижения полной конверсии H₂TRP (**1**) в [(TRP)PBr₂]⁺ позволило получить смесь двух продуктов, на что указывало наличие двух сигналов при -189.7 м.д. и -194.4 м.д. (Рис. 33) в ³¹P ЯМР спектре реакционной массы и два дублета β-пиррольных протонов при 8.98 и 8.92 м.д. в ¹H ЯМР спектре реакционной массы (Рис. 34).

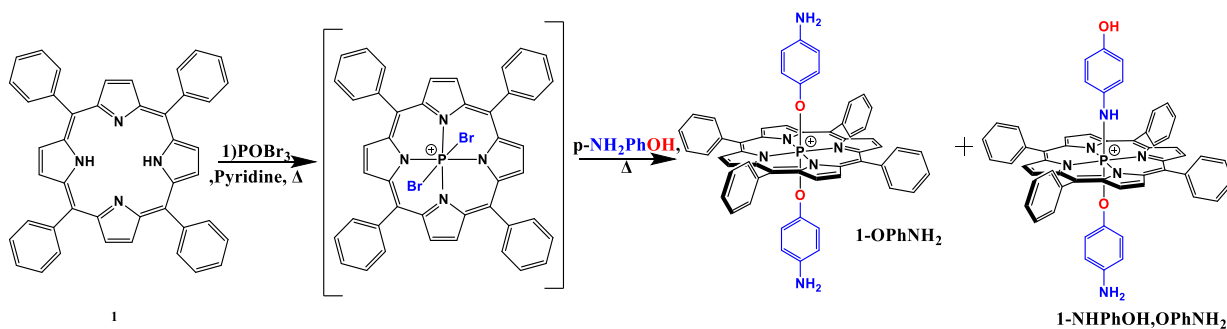


Схема 26. Получение комплекса **1-OPhNH₂** путем замещения аксиального лиганда брома на *p*-аминофенол при температуре кипения пиридина.

Последующее хроматографическое разделение позволило выделить два комплекса, отличающихся способом координации аксиального лиганда: комплекс **1-OPhNH₂** и изомерный комплекс **1-NHPhOH,OPhNH₂**, в соотношении 2 : 1 (Схема 26). Преобладающий продукт **1-OPhNH₂** был выделен в результате многократной колоночной хроматографии с выходом 9%, однако его изомерный комплекс выделить в чистом виде не удалось.

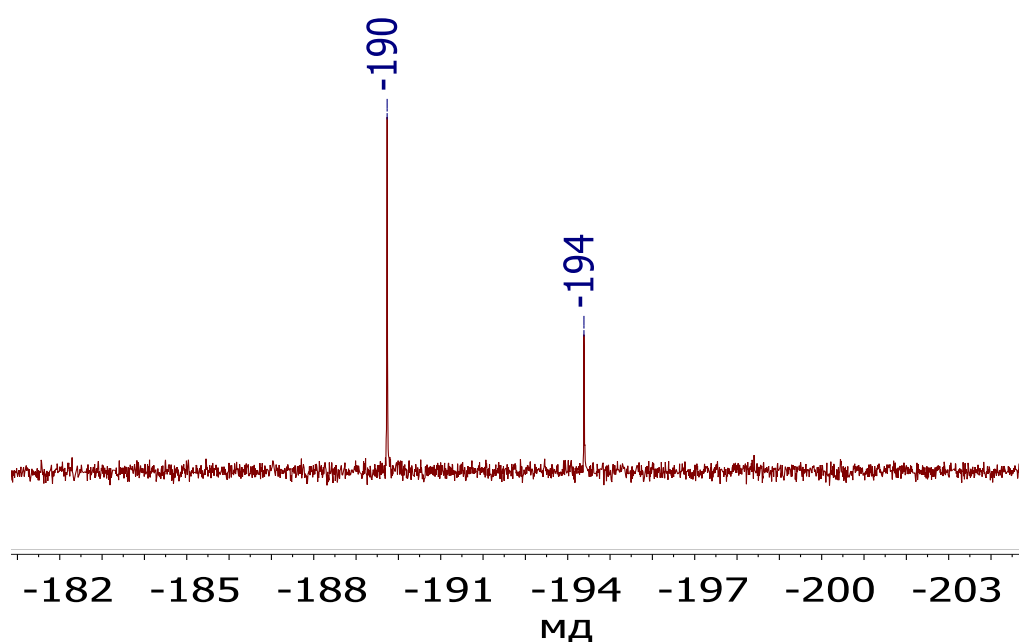


Рис. 33. ³¹P ЯМР спектр (CDCl₃, 243 МГц) реакционной массы, содержащей два изомерных порфирина P(V) с *p*-аминофенольными аксиальными лигандами **1-OPhNH₂** и **1-NHPhOH,OPhNH₂**.

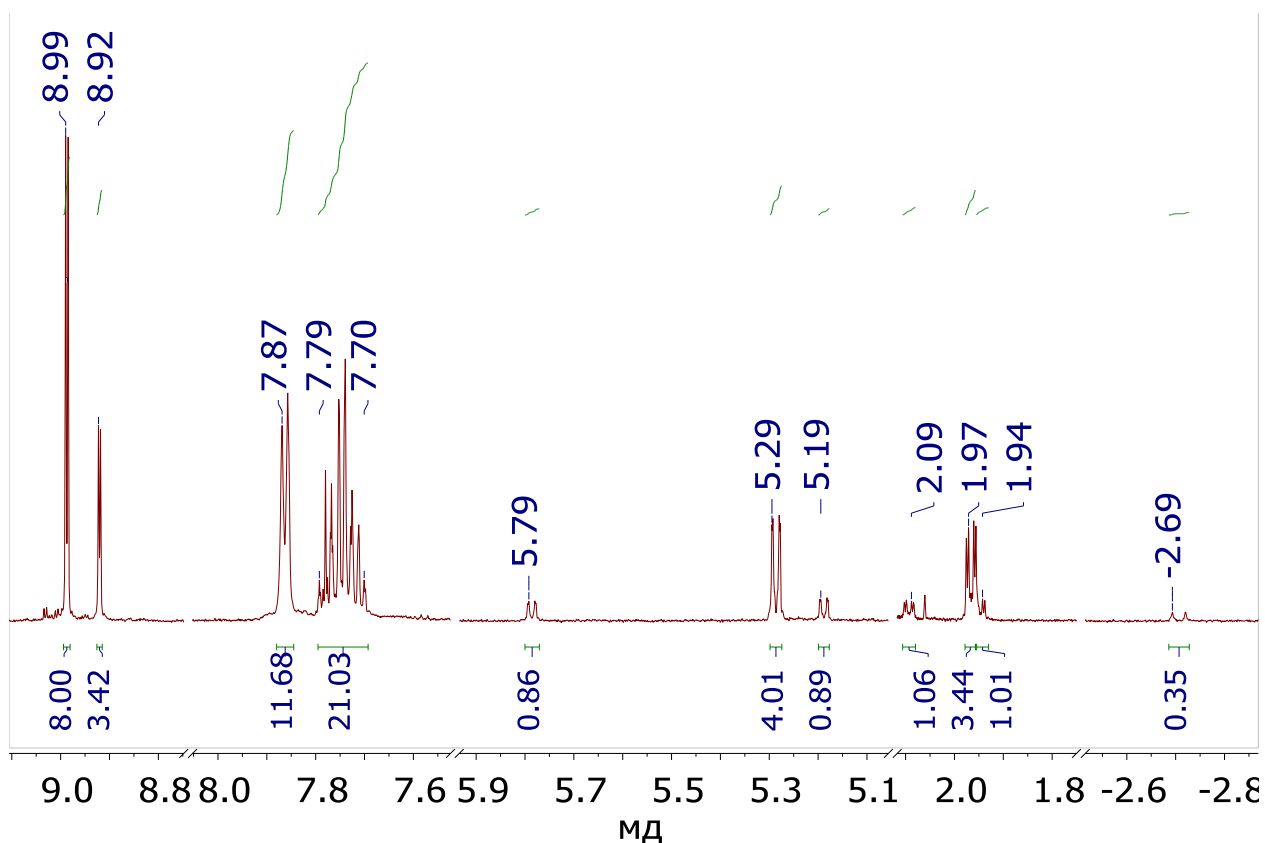


Рис. 34. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) реакционной массы, содержащей два изомерных порфирина $\text{P}(\text{V})$ с n -аминофенольными аксиальными лигандами **1-OPhNH₂** и **1-NHPhOH,OPhNH₂**. Часть спектра опущена для наглядности.

Подтверждение способа координации аксиальных лигандов и отнесение сигналов протонов в ^1H ЯМР спектре (Рис. 34) для преобладающего продукта **1-OPhNH₂** осуществлялась с помощью ^1H - ^{15}N НМВС спектра (Рис. 35). Более слабый сигнал в ^{15}N ЯМР спектре около 200 м.д. коррелирует с дублетом β -пиррольных протонов порфиринового кольца. При этом меньший по интенсивности сигнал аминогруппы, смещенный в область более сильного поля, коррелирует с дублетом при 5.29 м.д., соответствующим m -H фенильной группы аксиального лиганда, что свидетельствует о координации n -аминофенола через атом кислорода (продукт **1-OPhNH₂**).

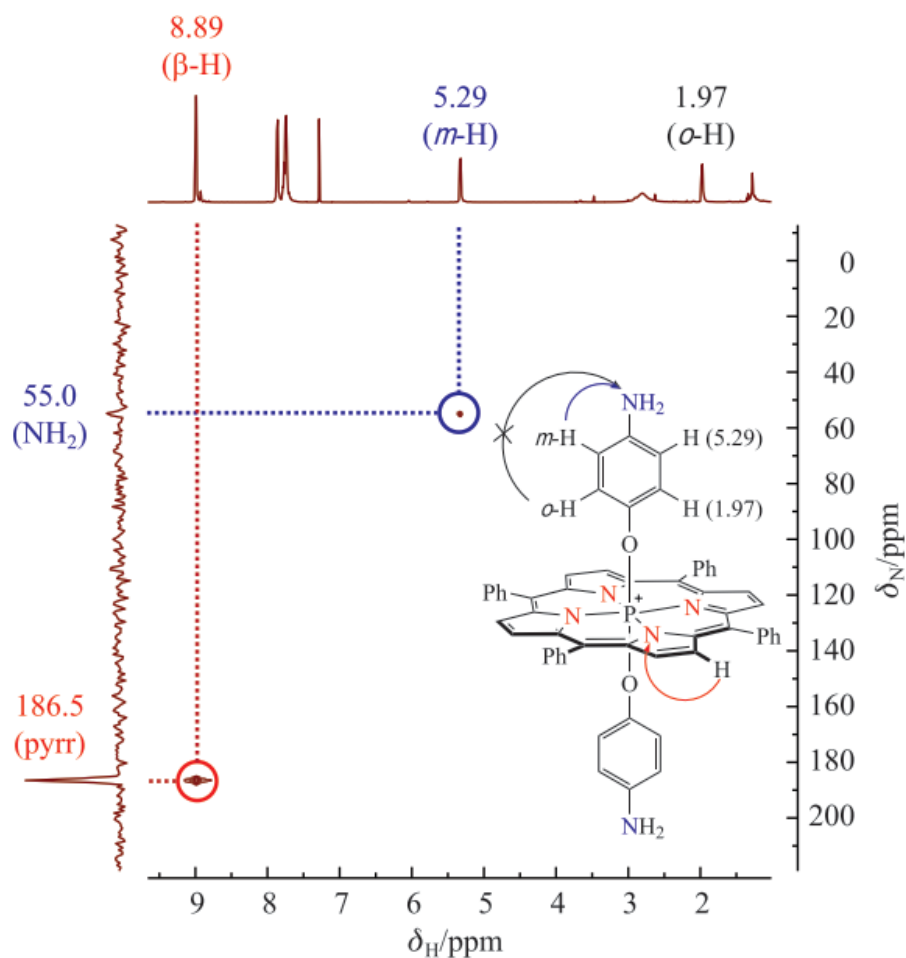


Рис. 35. ^1H - ^{15}N HMBC спектр (CDCl_3 , 600 МГц) комплекса **1-OPhNH₂**.

Сигналы протонов аксиального *n*-аминофенольного лиганда в **1-OPhNH₂** смещены в область сильного поля по сравнению со спектром *n*-аминофенола. Положение сигналов аксиальных протонов зависит от способа координации *n*-аминофенольной группы (Рис. 34). Для комплекса $[(\text{TPP})\text{P}(\text{O-Ph-NH}_2)_2]^+$ (**1-OPhNH₂**) дублет дублетов четырех *мета*-протонов фенильного фрагмента аксиального лиганда наблюдается в области 5.29 м.д., а дублет дублетов четырех *орто*-протонов – в области 1.97 м.д. Сигналы протонов –NH₂ фрагмента не проявляются вследствие процессов обмена.

Используя разработанную методику, также был получен комплекс тетра(*n*-метилфенил)-порфирина P(V) с *n*-аминофенольными аксиальными лигандами **7-OPhNH₂** (Схема 27). При этом в обоих случаях происходит образование смеси продуктов, отличающихся способом присоединения *n*-

аминофенольной группы к атому P(V). Причем комплексы **7-OPhNH₂** и **7-NHPhOH,OPhNH₂** образуются с более высокими выходами (30% и 23%, соответственно) по сравнению с **1-OPhNH₂**.

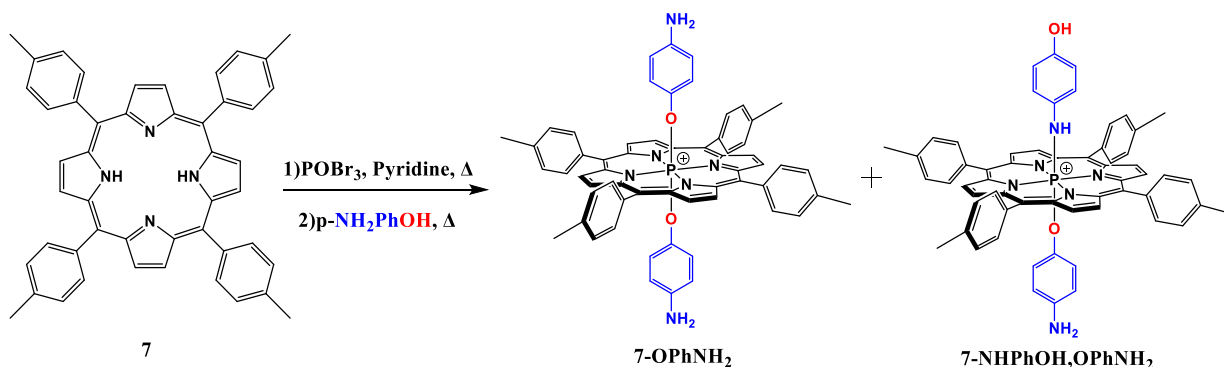


Схема 27. Получение комплекса **7-OPhNH₂**.

3.2. Оптические и флуоресцентные свойства

Вид электронных спектров поглощения (ЭСП) растворов порфиринов фосфора(V) в EtOH типичен для комплексов порфиринов. В области 420-450 нм наблюдается наиболее интенсивная полоса, называемая полосой Soret, а в диапазоне 550-650 нм проявляются две менее интенсивные полосы (Q_x и Q_y – полосы). По мере увеличения донорных свойств мезо-заместителей максимумы полос батохромно смещаются. Так, положение полосы Soret раствора [(TPyP)P(OEt)₂]⁺ в EtOH составляет 425 нм, для [(TRP)P(OEt)₂]⁺ – 429 нм, а максимальный сдвиг полосы Soret наблюдается для [(MeOP)P(OEt)₂]⁺ при 445 нм (Рис. 36, Таблица 6). Влияние аксиальных групп на положение полос в ЭСП было показано на ряду монопиридил-порфиринов с аксиальными лигандами –OEt, –OPrOH и –OH. В ряду **2-OPrOH – 2-OEt – 2-OH** Soret и Q-полосы смещаются гипсохромно (Рис. 36). Так, полосы Soret для растворов комплексов **2-OPrOH, 2-OEt** и **2-OH** в EtOH наблюдаются при 429, 426 и 424 нм, соответственно.

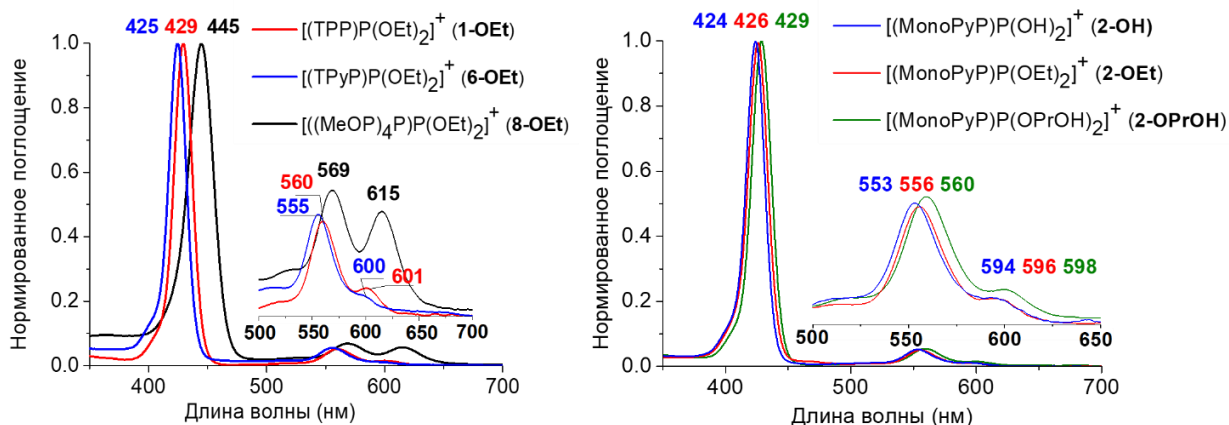


Рис. 36. Нормированные электронные спектры поглощения растворов порфиринов фосфора(V) в EtOH.

Также для растворов порфиринов P(V) была изучена флуоресценция. В спектрах эмиссии для них характерно наличие двух полос в области 600-800 нм, отвечающих S_0-S_1 электронному переходу. Квантовые выходы флуоресценции (Φ_F) полученных соединений определяли в EtOH сравнительным методом с использованием тетрафенилпорфирина H_2TPP в качестве стандарта ($\Phi_{st} = 0,11$ в толуоле [301]). Квантовый выход флуоресценции рассчитывали по уравнению:

$$\Phi_F = \Phi_{st} \frac{F A_{st} n^2}{F_{st} A n_{st}^2}$$

где Φ_F , Φ_{st} – квантовые выходы флуоресценции; F , F_{st} – площади под кривыми спектров эмиссии; A , A_{st} – величины поглощения на частоте возбуждения; n , n_{st} – коэффициенты преломления растворителей для исследуемого вещества и стандарта соответственно.

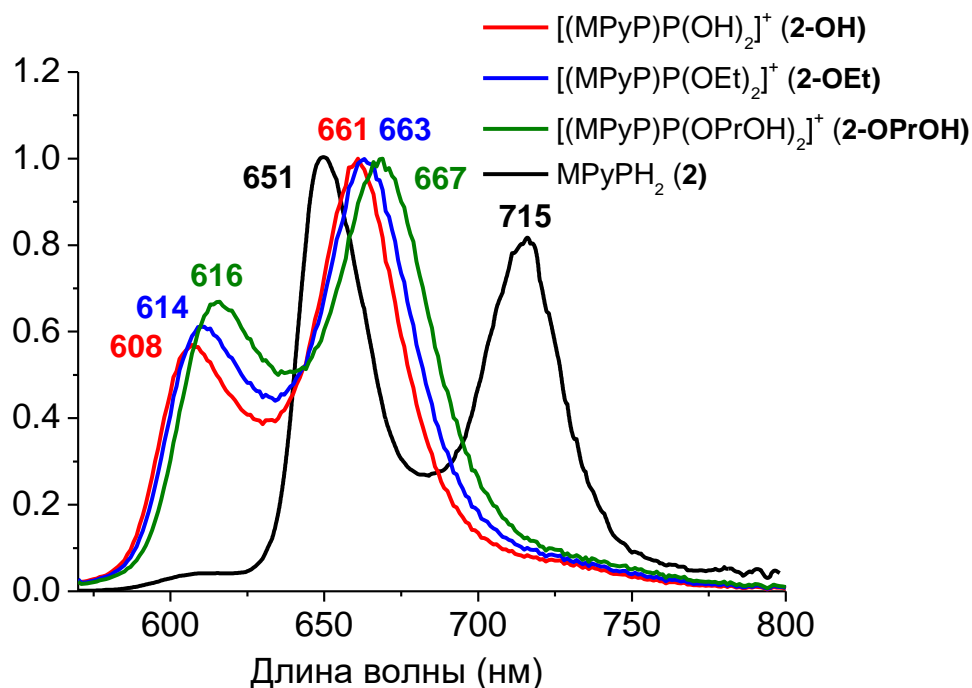


Рис. 37. Нормированные спектры эмиссии порфирина **2** и его комплексов P(V) **2-OH**, **2-OEt** и **2-OPrOH** в EtOH.

Сравнивая свободные основания порфиринов **1-3** с их фосфорными комплексами **1-OEt – 3-OEt** и **1-OH – 3-OH** (Рис. 37), можно отметить, что полосы эмиссии порфиринов P(V) гипсохромно смещены на 50-75 нм по сравнению с порфиринами **1-3**. Также стоит отметить, что для порфиринов **1-3** длинноволновая полоса более интенсивна, чем коротковолновая, тогда как для комплексов P(V) наблюдается обратный эффект. При этом квантовые выходы флуоресценции для свободных оснований **1-3** выше, чем для их комплексов **1-OEt – 3-OEt** и **1-OH – 3-OH** (Таблица 6). Так, для раствора порфирина **2** в EtOH Φ_F составил 0.32, в тоже время для его комплекса P(V) с аксиальными – OH группами **2-OH** Φ_F оказался равен 0.15, а для комплекса с аксиальными – OEt группами **2-OEt** $\Phi_F = 0.11$.

Таблица 6. Фотофизические свойства порфиринов **1-3** и всех полученных порфиринов фосфора(V) в EtOH.

Соединение	$\lambda_{\text{Soret}}, \lambda_{\text{Q}}, \text{нм}^*$	$\lambda_{\text{F}}, \text{нм}$	Φ_{F}
1 H ₂ TPP	413, 511, 545, 589, 647	652, 716	0.23
2 H ₂ MonoPyP	414, 511, 546, 588, 646	651, 715	0.32
3 H ₂ trans-DiPyP	414, 512, 546, 592, 646	650, 714	0.16
1-OH [(TPP)P(OH) ₂] ⁺	425, 555, 596	608, 661	0.15
2-OH [(MonoPyP)P(OH) ₂] ⁺	424, 553, 594	608, 660	0.15
3-OH [(trans-DiPyP)P(OH) ₂] ⁺	423, 555, 589	607, 659	0.11
2-OPrOH [(MonoPyP)P(OPrOH) ₂] ⁺	429, 560, 598	616, 667	0.11
1-OEt [(TPP)P(OEt) ₂] ⁺	429, 560, 601	615, 669	0.10
2-OEt [(MonoPyP)P(OEt) ₂] ⁺	426, 558, 595	614, 663	0.11
3-OEt [(trans-DiPyP)P(OEt) ₂] ⁺	427, 556, 595	614, 667	0.09
4-OEt [(cys-DiPyP)P(OEt) ₂] ⁺	427, 558, 600	614, 667	0.07
5-OEt [(TriPyP)P(OEt) ₂] ⁺	421, 552, 593	607, 658	0.09
6-OEt [(TPyP)P(OEt) ₂] ⁺	425, 555, 600	612, 664	0.02
7-OEt [(MeP) ₄ P(OEt) ₂] ⁺	434, 562, 605	621, 674	0.15
8-OEt [(MeOP) ₄ P(OEt) ₂] ⁺	445, 569, 615	638, 697	0.13
9-OEt [(t-BuP) ₄ P(OEt) ₂] ⁺	435, 563, 608	623, 675	0.22
10-OEt [(COOMeP) ₄ P(OEt) ₂] ⁺	429, 558, 600	615, 667	0.17
11-OEt [(CNP) ₄ P(OEt) ₂] ⁺	428, 558, 596	613, 665	0.13
1-OPhNH₂ [(TPP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺	425, 559, 606	614, 668	<0.01
1-OPhNH₂+2H⁺ [(TPP)P(O-Ph-NH ₃ ⁺) ₂] ⁺	429, 570, 608	621, 673	0.04
7-OPhNH₂ [(MeP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺	436, 565, 609	619, 671	<0.01
7-OPhNH₂+2H⁺ [(MeP)P(O-Ph-NH ₃ ⁺) ₂] ⁺	440, 566, 610	627, 680	0.05

* Положение полос поглощения и коэф. ффициенты экстинкции растворов в CHCl₃ приведены в экспериментальной части.

Как в ЭСП, так и в спектрах флуоресценции в ряду **1-OEt** – **11-OEt** по мере увеличения донорной способности *мезо*-заместителей максимумы полос смещаются в красную область. Так для [((CNP)₄P)P(OEt)₂]⁺ (**11-OEt**) полосы наблюдаются при 613 и 665 нм, для [(TPP)P(OEt)₂]⁺ (**1-OEt**) - 415 и 669 нм, а для [((MeOP)₄P)P(OEt)₂]⁺ (**8-OEt**) – 438 и 697 нм (Таблица 6). При этом заметной корреляции между квантовыми выходами флуоресценции и электронным эффектом *мезо*-заместителей не было выявлено. Для комплексов с аксиальными –OEt группами квантовые выходы находятся в диапазоне от 0.09 (для **3-OEt**) до 0.22 (для **9-OEt**).

Оценивая влияние аксиальных групп, можно отметить, что полосы эмиссии дигидрокси-комплексов **1-OH** – **3-OH** (607-608 нм и 659-661 нм) смещены гипсохромно по сравнению с диэтокси-комплексами **1-OEt** – **3-OEt** (614-615 нм и 663-669 нм). При этом квантовые выходы флуоресценции для

комплексов **1-ОН – 3-ОН** ($\Phi_F = 0.11-0.15$) и **1-OEt – 3-OEt** ($\Phi_F = 0.09-0.11$) отличаются незначительно.

3.3. Зависимость оптических и флуоресцентных свойств от pH

Было обнаружено, что для некоторых комплексов оптические и люминесцентные свойства зависят от pH среды. Для комплексов **1-ОН** и **2-ОН** группами, это обусловлено протонированием и депротонированием аксиальных –ОН групп (Рис. 38), по аналогии с комплексами порфиразинов [302] и фталоцианинов [145] с фосфором(V). Кроме того, при наличии в молекуле атома азота, способного к протонированию (*мезо*-пиридилные фрагменты, аксиальные –O-Ph-NH₂ группы), возможно образование N-протонированных форм (Рис. 38). Для изучения диапазонов pH-индуцированных переходов между такими формами в воде было проведено спектрофотометрическое и спектрофлуориметрическое pH-титрование.

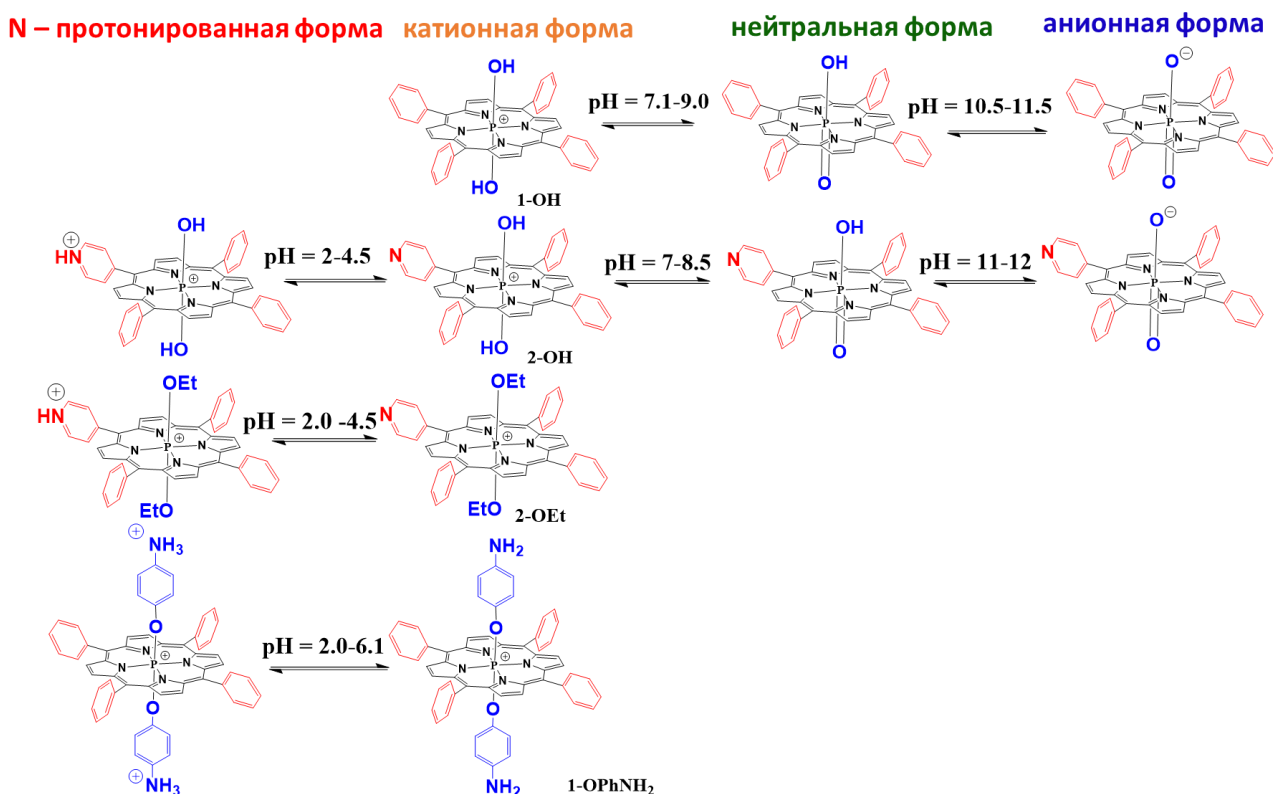


Рис. 38. Кислотно-основные формы порфиринов фосфора(V) и диапазоны pH переходов между ними.

Для комплексов с аксиальными –ОН группами и/или мезо-пиридинскими фрагментами по мере увеличения рН полосы поглощения и эмиссии смещаются гипсохромно (Рис. 39). При этом в ЭСП сдвиг полосы Соре при переходе между формами составляет 1-2 нм, тогда как в спектрах флуоресценции полосы смещаются на 7-10 нм, как показано на примере комплекса **2-ОН** (Рис. 39). По этой причине зависимость положения максимумов полос эмиссии от рН оказалась более наглядной для определения диапазонов рН переходов между формами.

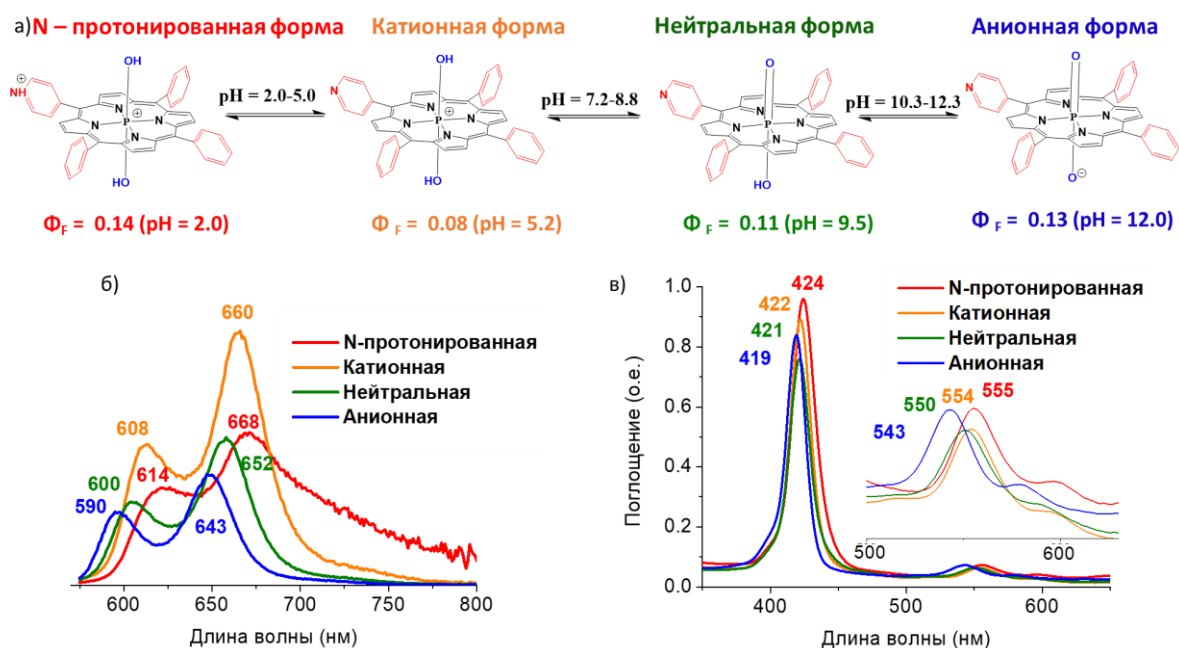


Рис. 39. Кислотно-основные формы комплекса **2-ОН** в H_2O (а) их спектры эмиссии (б) и поглощения (в) в H_2O .

На зависимости максимумов полос эмиссии водного раствора $[(TPP)P(OH)_2]^+$ (**1-ОН**) от рН наблюдалось три плато (Рис. 40 а), которые соответствуют трем различным формам (Рис. 38): катионной (рН < 7.1), нейтральной (рН = 9.0 – 10.6) и анионной (рН > 12.5).

Изменение рН от 1.2 до 7.1 приводит к уменьшению интенсивности эмиссии без сдвига максимумов полос эмиссии (Рис. 40 б). В диапазоне рН от 7.1 до 9.0 наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг полос эмиссии (Рис. 40 в), соответствующий переходу **1-ОН** в нейтральную форму, которая существует в индивидуальном виде при рН от 9.0 до 10.6. Последующее добавление КОН до рН 12.5 приводит ко второму гипсохромному сдвигу с

увеличением интенсивности полос эмиссии, что соответствует образованию анионной формы (Рис. 40 г).

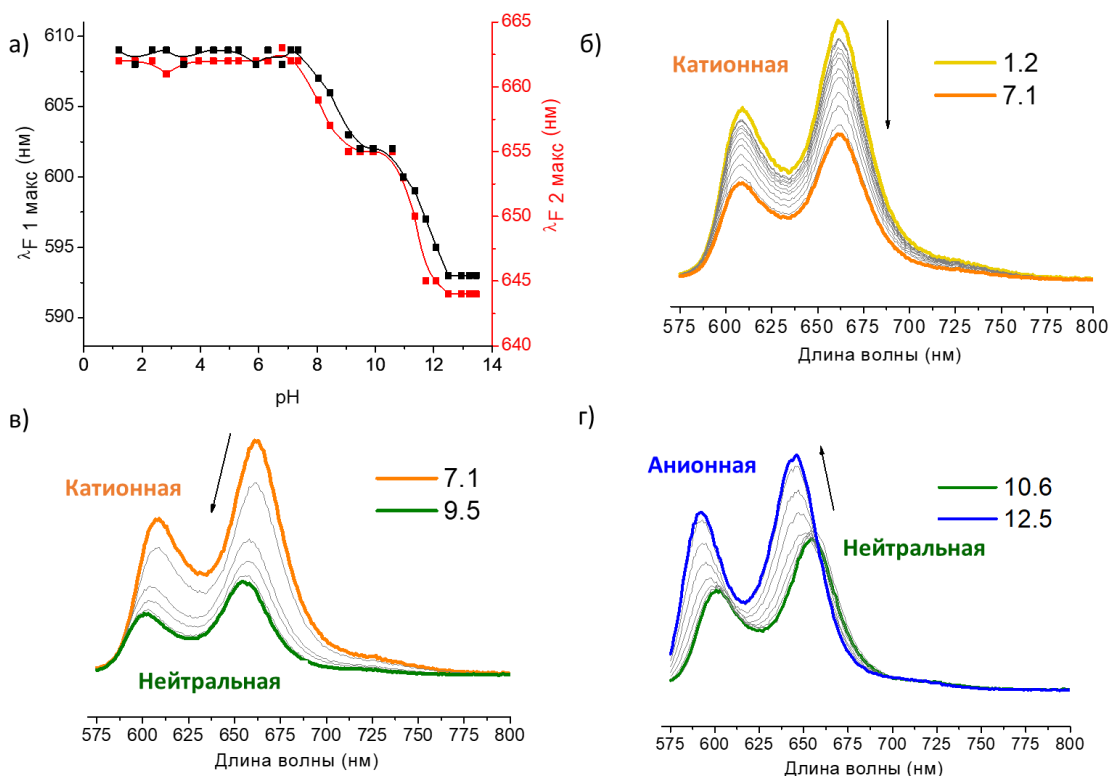


Рис. 40. Зависимости максимумов полос эмиссии от рН для **1-OH** (а); Спектр эмиссии **1-OH** в H_2O ($C = 1.2 \cdot 10^{-6} M$) при рН = 1.2 – 7.1 (б), 7.1 – 9.0 (в) и 10.6 – 12.5 (г).

Для $[(MPyP)P(OH)_2]^+$ (**2-OH**) возможно протонирование как аксиальных ОН-групп, так и мезо-пиридильного фрагмента. В процессе спектрофлуориметрического титрования водного раствора **2-OH** наблюдалось четыре плато и три перехода (рН = 2.0-5.0, 7.2-8.8 и 10.3-12.3) на зависимости максимумов полос эмиссии от рН (Рис. 41 а). По сравнению с **1-OH**, комплекс **2-OH** имеет дополнительный переход в диапазоне рН от 2.0 до 5.0 (Рис. 41б)

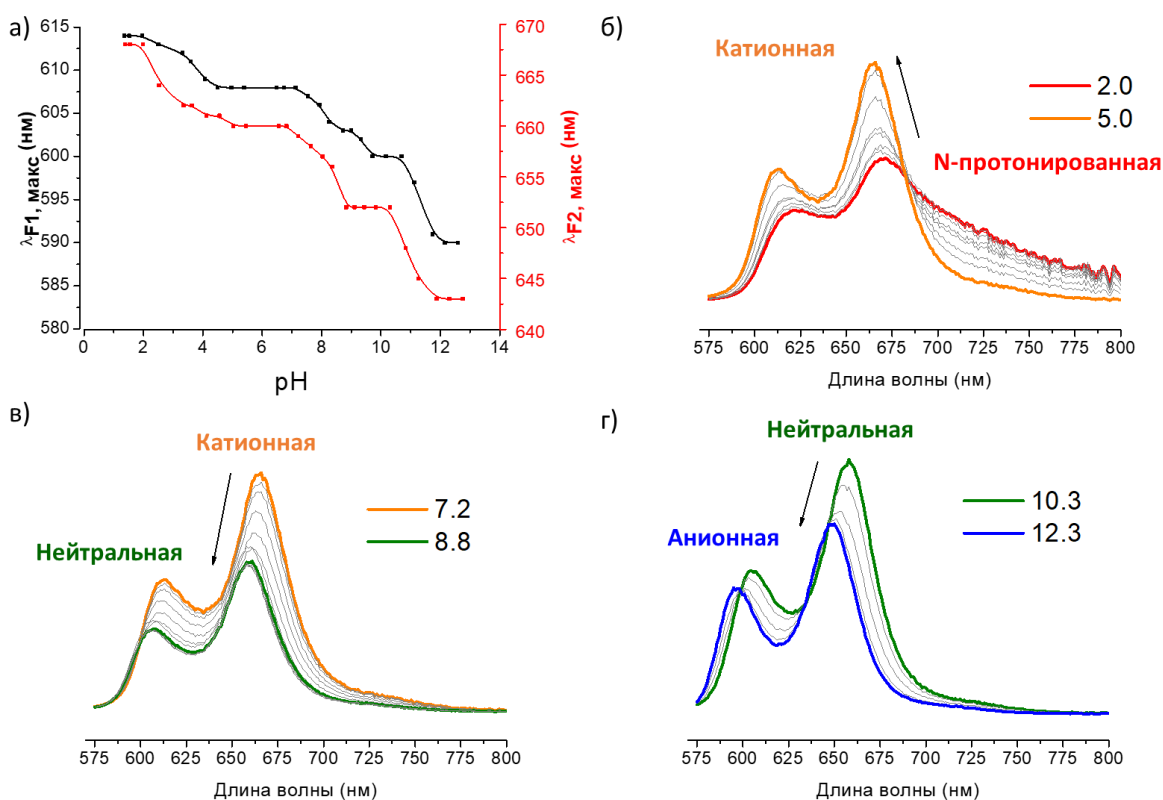


Рис. 41. Зависимости максимумов полос эмиссии от рН для $[(MPyP)P(OH)_2]^+$ (**2-OH**) (а); спектр эмиссии **2-OH** в H_2O ($C = 5.1 \cdot 10^{-6} M$) при рН = 2.0 – 5.0 (б), 7.2 – 8.8 (в) и 10.3 – 12.3 (г).

Для того, чтобы определить, соответствует ли этот переход депротонированию аксиальной –ОН группы или NH-протона мезо-пиридильной группы, было проведено спектрофлуориметрическое титрование для аналогичного комплекса $[(MPyP)P(OEt)_2]^+$ (**2-OEt**) с аксиальными –OEt лигандами.

Для $[(MPyP)P(OEt)_2]^+$ (**2-OEt**) возможен только один рН переход, соответствующий протонированию мезо-пиридильного азота (Рис. 38). Было показано, что данный процесс для **2-OEt** происходит в диапазоне рН от 2.0 до 4.6 и сопровождается увеличением интенсивности и гипсохромным сдвигом полос эмиссии (Рис. 42а,б). На основании этого можно сделать вывод, что для комплекса **2-OH** протонирование мезо-пиридильного атома азота происходит при более низких рН, чем протонирование аксиальных ОН-групп (Рис. 41б-г).

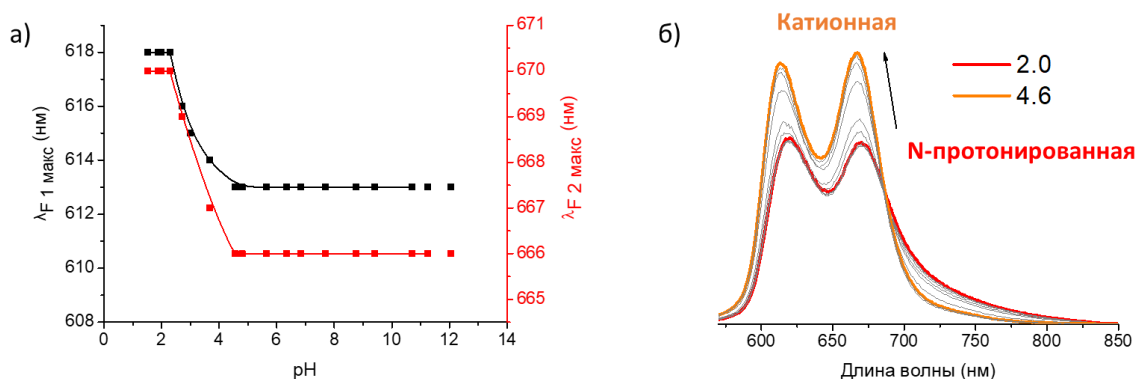


Рис. 42. Зависимости максимумов полос эмиссии от рН для $[(MPyP)P(OEt)_2]^+$ (**2-OEt**) (а); спектр эмиссии **2-OEt** в H_2O ($C = 5.5 \cdot 10^{-6} M$) при рН = 2.0 – 4.6 (б).

Дополнительно была изучена зависимость электронных спектров поглощения (ЭСП) от рН методом спектрофотометрического титрования, однако спектры поглощения оказались менее чувствительны к изменению рН: по мере увеличения кислотности среды наблюдались незначительные гипсохромные сдвиги в ЭСП комплексов **1-ОН**, **2-ОН**, **2-OEt**. Максимумы полос поглощения комплексов **1-ОН**, **2-ОН**, **2-OEt** в воде в различных формах представлены в таблице 7 и на рисунках 39, 43 и 44 соответственно.

Таблица 7. Оптические и фотофизические свойства комплексов **1-ОН**, **2-ОН**, **2-OEt**.

	Формы $[(TPP)P(OH)_2]^+$ (1-ОН)			
		Катионная	Нейтральная	Анионная
λ_A , нм, H_2O		423, 556, 596	422, 551, 592	420, 544, 590
λ_F , нм, H_2O		609, 662	602, 655	593, 644
Φ_F , H_2O		0.16	0.07	0.12
	Формы $[(MPyP)P(OH)_2]^+$ (2-ОН)			
	N-протонированная	Катионная	Нейтральная	Анионная
λ_A , нм, H_2O	424, 555, 614	422, 554, 608	421, 550, 600	419, 543, 586
λ_F , нм, H_2O	614, 668	608, 660	600, 662	590, 643
Φ_F , H_2O	0.14	0.08	0.11	0.13
	Формы $[(MPyP)P(OEt)_2]^+$ (2-OEt)			
	N-протонированная	Катионная		
λ_A , нм, H_2O	429, 559, 602	427, 558, 599		
λ_F , нм, H_2O	618, 670	613, 666		
Φ_F , H_2O	0.18	0.16		

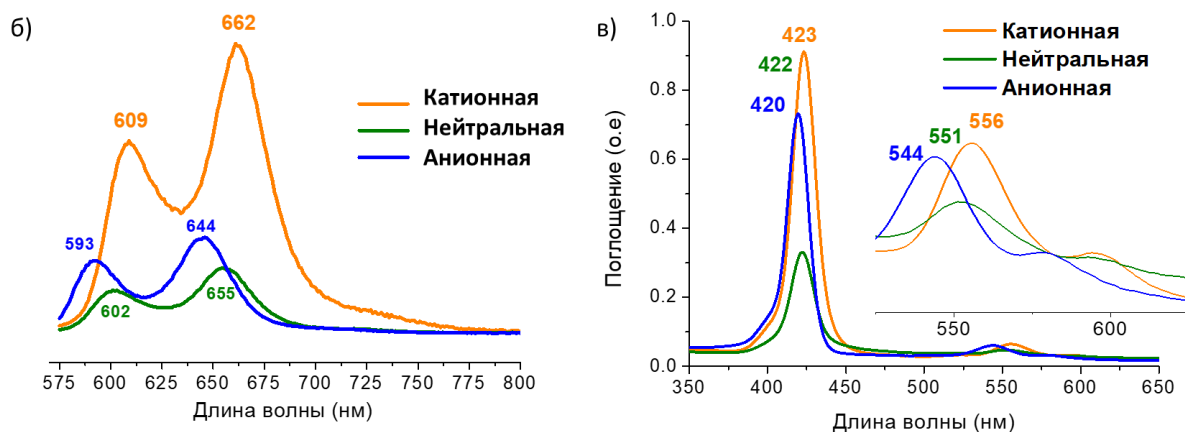
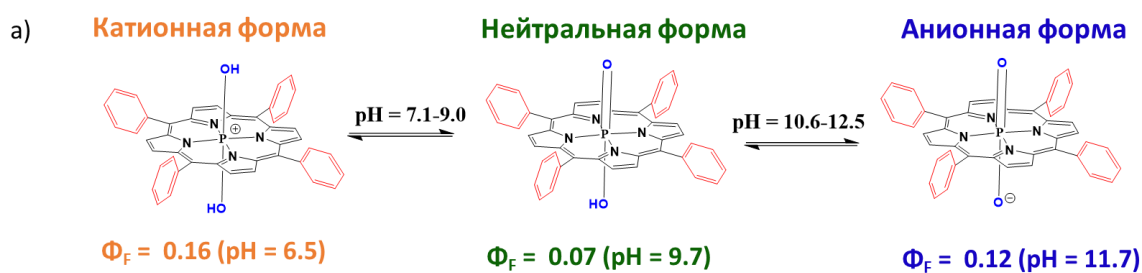


Рис. 43. Кислотно-основные формы комплекса **1-OH** в H_2O (а); их спектры эмиссии (б) и поглощения (в).

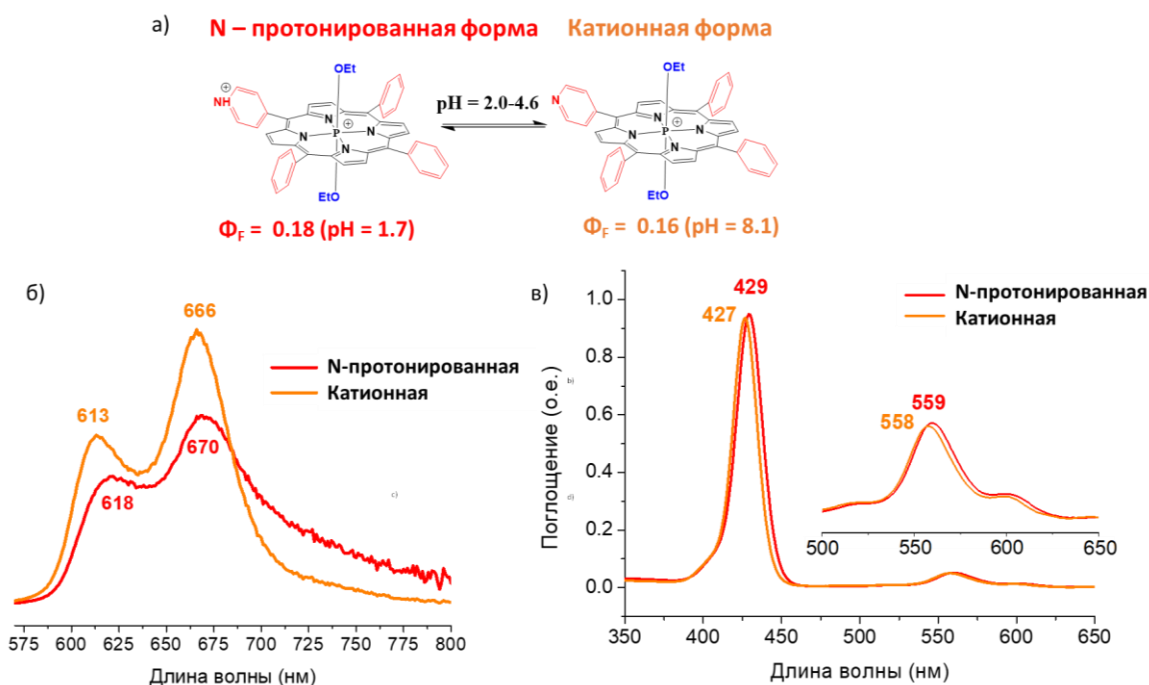


Рис. 44. Кислотно-основные формы комплекса **2-OEt** в H_2O (а); их спектры эмиссии (б) и поглощения (в).

Таким образом, для порфиринов Р(V) с аксиальными $-\text{OH}$ группами положение полос эмиссии чувствительно к кислотности среды в диапазоне рН

= 7.1-12.5. Введение N-содержащих мезо-пиридинных групп позволяет расширить диапазон чувствительности. Так, для монопиридил-порфирина P(V) спектр эмиссии зависит от pH в пределах диапазона pH от 2.0 до 12.3.

Чувствительность оптических и флуоресцентных свойств к pH также продемонстрировали комплексы порфиринов фосфора(V) с аксиальными *n*-аминофенольными лигандами **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂**. При уменьшении pH в случае тетрафенил-порфирина P(V) **1-OPhNH₂** происходит протонирование его апикального –NH₂ фрагмента, что приводит к батохромному сдвигу полосы Sore на 9 нм (Рис. 45 а). В тоже время в случае тетра(*n*-метилфенил)порфирина P(V) **7-OPhNH₂** уменьшение pH приводит, наоборот, к гипсохромному сдвигу на 4 нм (Рис. 45 б).

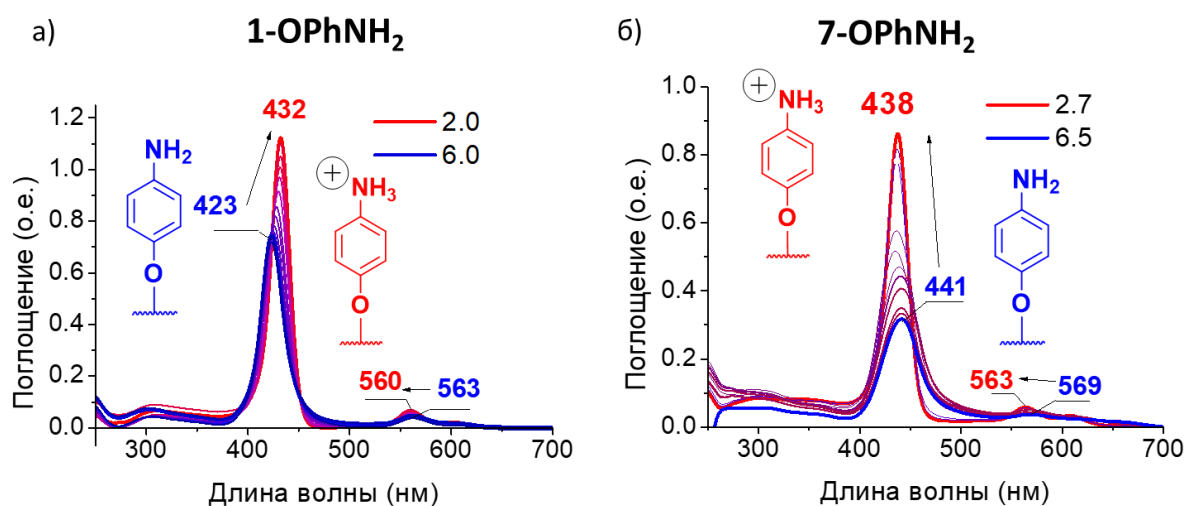


Рис. 45. ЭСП **1-OPhNH₂** в H₂O (pH=2.0-6.1) (а), ЭСП **7-OPhNH₂** в H₂O (pH=3.0-6.5) (б).

Диапазоны pH-переходов между формами для обоих комплексов довольно близки. Так, для **1-OPhNH₂** переход происходит между pH 2.0 и 6.1, а в случае комплекса с более донорными мезо-группами **7-OPhNH₂** – между 2.7 и 6.5 (Рис. 46). Исходя из чего можно сделать вывод, что введение более электронно-донорных групп в мезо-положения порфирина P(V) приводит к незначительному смещению диапазона pH перехода.

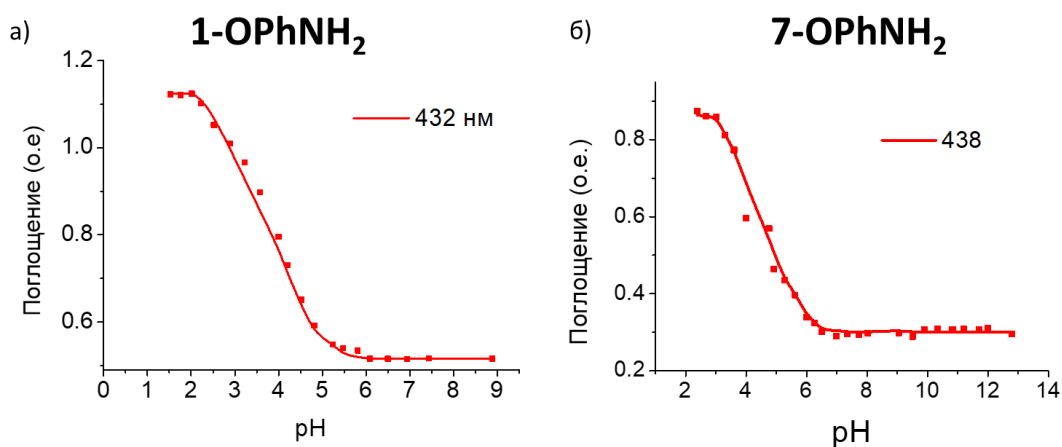


Рис. 46. Зависимость интенсивности поглощения **1-OPhNH₂** при 432 нм от pH (а), зависимость интенсивности поглощения **7-OPhNH₂** при 438 нм от pH (б).

В основной форме оба комплекса **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂** не проявляют флуоресцентных свойств, вследствие переноса заряда от электронодонорных аксиальных лигандов на электронодефицитный центральный атом фосфора (Схема 28). Однако при переходе к кислым формам **1-OPhNH₂+2H⁺** и **7-OPhNH₂+2H⁺** изменяется электронный эффект аксиального лиганда с донорного на акцепторный, что блокирует перенос заряда и приводит к разгаранию флуоресценции (Рис. 47).

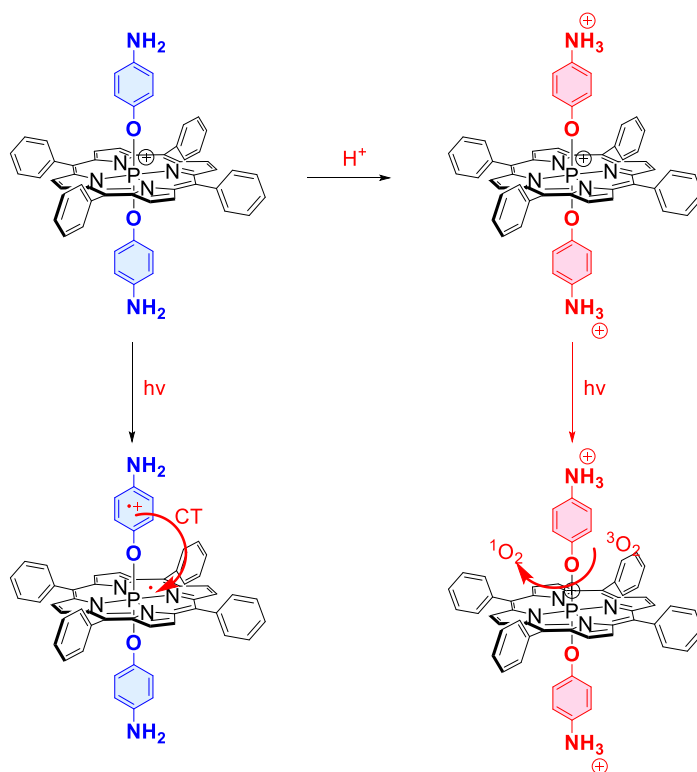


Схема 28. Предполагаемая схема переключения свойств **1-OPhNH₂**

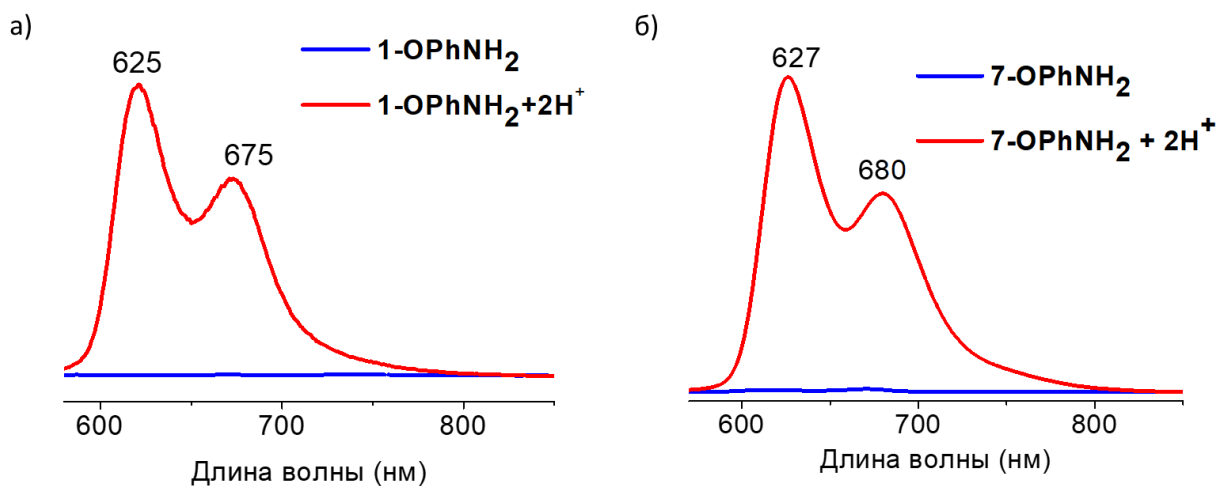


Рис. 47. Спектры эмиссии **1-OPhNH₂** и **1-OPhNH₂+2H⁺** в H₂O (а), спектры эмиссии **7-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂+2H⁺** в H₂O (б).

С помощью квантово-химических расчетов, выполненных на уровне теории DFT CAM-B3LYP/6-31G(d) для **1-OPhNH₂** и **1-OPhNH₂+2H⁺** было показано, что пара НСМО обеих форм локализуется на порфириновом макроцикле, но для основной формы **1-OPhNH₂** ВЗМО делокализованы как на порфириновом, так и на аксиальных лигандах (Рис. 48). В результате, электронные возбуждения, соответствующие полосам Sore и Q в спектре поглощения **1-OPhNH₂** соответствуют переносу заряда с лигандов на макроцикл. Однако, при переходе в кислую форму **1-OPhNH₂+2H⁺**, обе пары ВЗМО-1/ВЗМО и НСМО/НСМО+1 локализируются только на порфириновом макроцикле, что блокирует перенос заряда и приводит к разгаранию флуоресценции.

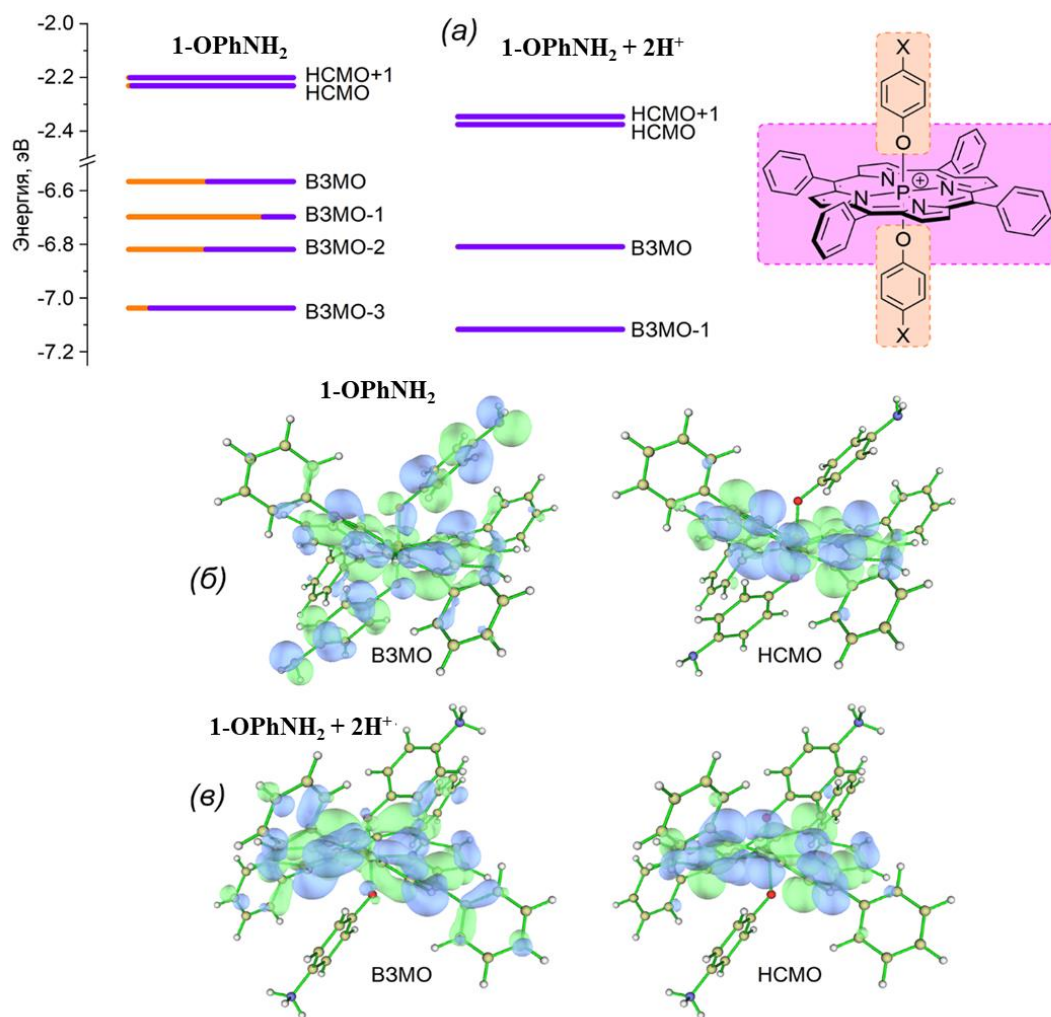


Рис. 48. (а) – Диаграмма граничных молекулярных орбиталей комплексов $1-NH_2$ и $1-NH_2+2H^+$; вклады фрагментов молекул в молекулярные орбитали обозначены оранжевым цветом для аксиальных лигандов и фиолетовым – для порфиринового макроцикла. (б, с) – форма высших занятых и низших свободных молекулярных орбиталей комплексов $1-NH_2$ и $1-NH_2+2H^+$.

Таким образом, комплексы **1-ОН**, **2-ОН**, **2-ОEt**, **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂** демонстрируют зависимость оптических- и флуоресцентных свойств от рН, что делает их потенциальными рН-сенсорами в широком диапазоне рН, причем, необходимый диапазон рН может быть настроен путем выбора мезо-заместителей и аксиальных лигандов в порфиринате P(V).

3.4. Фотохимические свойства

Оценка эффективности генерации синглетного кислорода (SO) проводилась в EtOH с использованием 1,3-дифенилизобензофурана (ДФБФ) в качестве химической ловушки и метиленового голубого в качестве стандарта

($\Phi_{\Delta} = 0.57$ в EtOH [303]). Квантовые выходы генерации синглетного кислорода (Φ_{Δ}) были рассчитаны по уравнению:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta st} \frac{R \times I_{st}}{R_{st} \times I},$$

где Φ_{Δ} , $\Phi_{\Delta st}$ – квантовые выходы; R , R_{st} – скорости обесцвечивания ДФБФ; I , I_{st} – интегральные поглощения для измеряемого образца и стандарта соответственно.

Порфирилаты P(V) демонстрируют более высокие Φ_{Δ} по сравнению со свободными основаниями порфиринов (Таблица 8). Оценивая влияние аксиальных групп, можно отметить, что Φ_{Δ} увеличивается в ряду монопиридил-порфиринов: **2-OH** (0.60) < **2-OPrOH** (0.66) < **2-OEt** (0.77). При этом увеличение акцепторной силы *мезо*-заместителей в ряду **1-OEt** – **6-OEt** приводит к снижению квантовых выходов генерации SO от 0.87 для **1-OEt** до 0.39 для **6-OEt**. Однако при переходе от *мезо*-тетрафенил-замещенного (**1-OEt**, $\Phi_{\Delta} = 0.87$) к более донорным тетра(*n*-метил-фенил)- (**7-OEt**, $\Phi_{\Delta} = 0.70$), тетра(*n*-метоксифенил)- (**8-OEt**, $\Phi_{\Delta} = 0.74$) и тетра(*n*-третбутилфенил)- (**9-OEt**, $\Phi_{\Delta} = 0.68$) замещенным порифрилатам P(V) не происходит увеличения Φ_{Δ} .

Комплексы **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂**, содержащие *n*-аминофенольные аксиальные лиганды, в основной форме не обладают способностью генерировать синглетный кислород. При переводе их в кислую форму **1-OPhNH₂+2H⁺** и **7-OPhNH₂+2H⁺** эта способность появляется, однако Φ_{Δ} относительно невысоки и составляют 0.11 и 0.20 соответственно.

Таким образом, комплексы **1-OEt** – **4-OEt** и **7-OEt** – **9-OEt** наиболее эффективно способны генерировать синглетный кислород

Таблица 8. Квантовые выходы генерации синглетного кислорода (Φ_{Δ}) и относительная скорость фоторазложения (r_{rel}) для порфиринов **1-3** и порфиринов фосфора(V) в EtOH.

Соединение	Φ_{Δ}	r_{rel} M/s·10 ⁵
H ₂ TPP		
H ₂ MonoPyP		
H ₂ trans-DiPyP		
[(TPP)P(OH) ₂] ⁺		
[(MonoPyP)P(OH) ₂] ⁺		
[(trans-DiPyP)P(OH) ₂] ⁺		
[(MonoPyP)P(OPrOH) ₂] ⁺		
[(TPP)P(OEt) ₂] ⁺		
[(MonoPyP)P(OEt) ₂] ⁺		
[(trans-DiPyP)P(OEt) ₂] ⁺		
[(cys-DiPyP)P(OEt) ₂] ⁺	0.70	102
[(TriPyP)P(OEt) ₂] ⁺	0.40	368
[(TPyP)P(OEt) ₂] ⁺		1777
[(MeP) ₄ P]P(OEt) ₂] ⁺	0.70	28
[(MeOP) ₄ P]P(OEt) ₂] ⁺	0.74	34
[(t-BuP) ₄ P]P(OEt) ₂] ⁺	0.68	75
[(COOMeP) ₄ P]P(OEt) ₂] ⁺	0.46	212
[(CNP) ₄ P]P(OEt) ₂] ⁺	0.35	112
[(TPP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺	<0.01	17
[(TPP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺ + 2H ⁺	0.11	29
[(MeP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺	<0.01	7
[(MeP)P(O-Ph-NH ₂) ₂] ⁺ + 2H ⁺	0.20	25

¹ в течение 90 мин изменения в интенсивности полос в ЭСП спектре при облучении образца отсутствовали

Для оценки фотостабильности комплексов оценивали относительную скорость реакции фотообесцвечивания при облучении лазером с длиной волны 405 нм в EtOH. Относительную скорость определяли по уравнению:

$$r_{отн} = \frac{C}{t \cdot A}$$

где C – концентрация комплекса в растворе, t – время, C/t – скорость реакции фотообесцвечивания, A – поглощение при 405 нм в начале эксперимента.

Комплексы порфиринов с аксиальными –OEt группами **1-OEt – 3-OEt**, оказываются более устойчивы, чем аналогичные соединения с –OH группами

1-ОН – 3-ОН (Таблица 8). Введение в аксиальное положение с *n*-аминофенольной группы также повышает устойчивость комплексов по сравнению с **1-ОН** и **1-OEt**. Так при облучении в течение 1.5 часов для **1-OPhNH₂** как в основной, так и в протонированной форме уменьшение интенсивности полос в ЭСП спектре не наблюдалось.

Увеличение числа электронно-акцепторных *мезо*-заместителей снижает их фотостабильность. Так, диэтокси-порфирилаты P(V), содержащие акцепторные *мезо*-заместители (от 2 до 4 пиридинных групп, *n*-цианофенильные или *n*-карбоксиметилфенильные) оказываются значительно менее стабильны, чем комплекс **1-OEt** с *мезо*-фенильными группами (Таблица 8). Можно предположить, что *мезо*-заместители, обладающие большим электроноакцепторным эффектом по сравнению с фенильными группами, стягивают электронную плотность с электронодефицитного центрального атома фосфора(V), несущего положительный заряд. Вероятно, это приводит к дестабилизации комплекса и, как следствие, увеличению скорости фотодеструкции.

Комплексы $[(\text{MeP})_4\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ (**7-OEt**), $[(\text{MeOP})_4\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ (**8-OEt**) и $[(\text{t-BuP})_4\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ (**9-OEt**), содержащие донорные *мезо*-заместители, также оказывались в 4-11 раз менее устойчивы, чем $[(\text{TPP})\text{P}(\text{OEt})_2]^+$ (**1-OEt**), хотя для них ожидалась меньшая скорость фотодеструкции по сравнению с **1-OEt**.

3.5. Электрохимические свойства

Известно, что порфирилаты фосфора(V) восстанавливаются при потенциалах $E_{1/2\text{RED}}$ от -0.30 до -1.1 и являются одними из наиболее легко восстанавливаемых комплексов порфиринов, поскольку большинство из порфиринов и их металлокомплексов восстанавливается при потенциалах ниже -1.0 – -1.5 В [104,115,304,305]. В данной работе было изучено влияние электронной природы *мезо*-заместителей на способность порфирилатов фосфора(V) к восстановлению на примере комплексов **1-OEt** - **8-OEt** с помощью циклической вольтамперометрии (ЦВА) (Таблица 9, Рис. 49). Было

показано, что по мере увеличения донорной способности *мезо*-заместителей величина $E_{1/2\text{Red}}$ уменьшается от -0.157 для **6-OEt**, содержащего 4 акцепторные *мезо*-пиридилльные группы, до -0.530 для **8-OEt**, содержащего 4 донорные *мезо*-*n*-метоксифенильные группы.

Таблица 9. Потенциалы полувосстановления комплексов 1-OEt – 8-OEt.

Соединение	1-OEt	2-OEt	3-OEt	4-OEt	5-OEt	6-OEt	7-OEt	8-OEt
$E_{1/2\text{ RED, V}}$	-0.393	-0.340	-0.265	-0.275	-0.238	-0.157	-0.528	-0.530

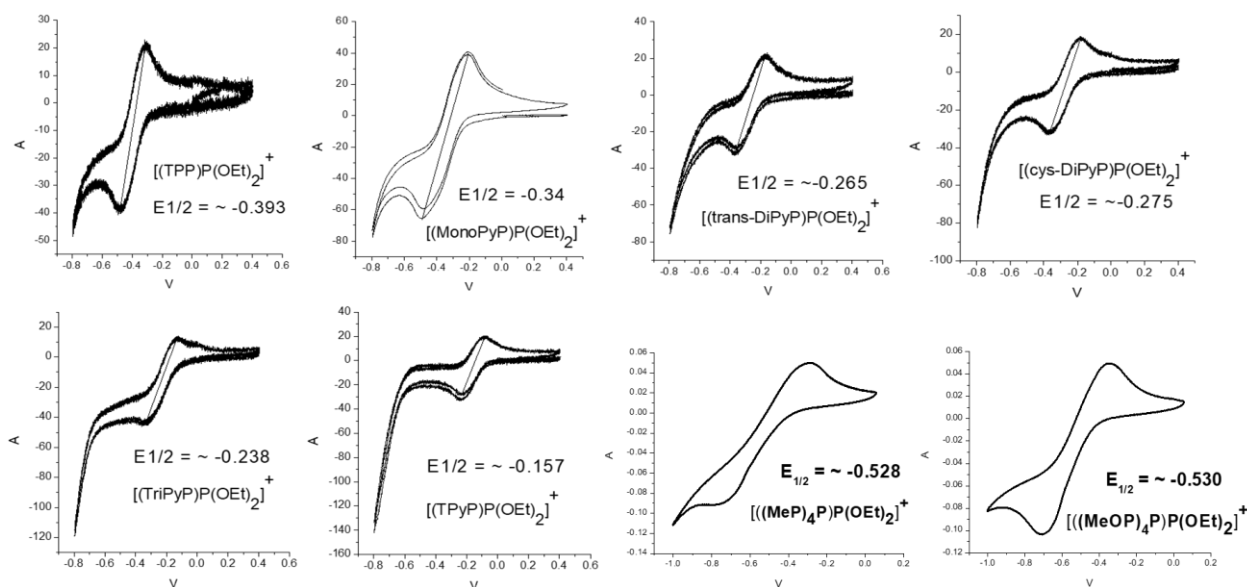


Рис. 49. Циклические вольтамперограммы комплексов 1-OEt – 8-OEt в CHCl_3 .

В спектрах поглощения при электрохимическом восстановлении для **1-OEt - 8-OEt** (Рис. 50) наблюдается появление широкой полосы в области 700-800 нм, что, согласно литературным данным, соответствует образованию π -анион-радикалу порфирина [306]. Одновременно с этим для комплексов **5-OEt** и **6-OEt**, содержащих 3 и 4 акцепторные пиридилльные *мезо*-группы, соответственно, наблюдается также появление полосы при 450-451 нм, которая может быть отнесена к образованию дополнительно анионной формы [306].

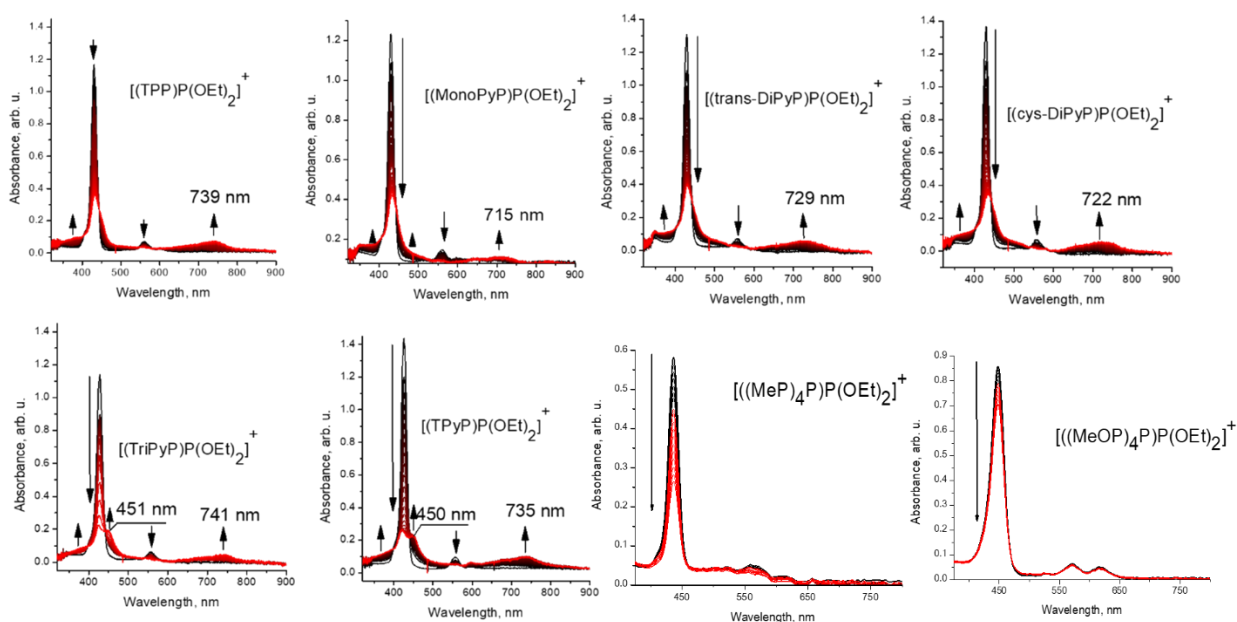


Рис. 50. Изменения в ЭСП в ходе электрохимического восстановления комплексов **1-OEt** – **8-OEt** в $CHCl_3$.

Таким образом, порфирилаты P(V) **1-OEt** - **8-OEt** способны легко восстанавливаться, причем увеличение числа акцепторных групп увеличивает потенциалы восстановления вплоть до -0.157 для **6-OEt**.

3.6. Дефосфорилирование в присутствии белков

Ранее было продемонстрировано, что комплекс $[(MPyP)P(OH)_2]^+$ (**2-OH**) в присутствии клеточных белков способен дефосфорилироваться до соответствующего свободного основания [128]. В данной работе, процесс дефосфорилирования систематически изучался на ряду комплексов **1-OEt** – **3-OEt**, **1-OH** – **3-OH**, **2-OPrOH**, **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂**. Для этого комплексы растворяли в фосфатном буфере (PBS, pH = 7.4) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) и инкубировали при 37°C. На примере комплексов **1-OH** и **3-OH** было показано, что их спектры эмиссии после 2 дней инкубации с белками соответствуют спектрам эмиссии соответствующих свободных оснований порфиринов **1** и **3** (Рис. 51), что указывает на их полное дефосфорилирование.

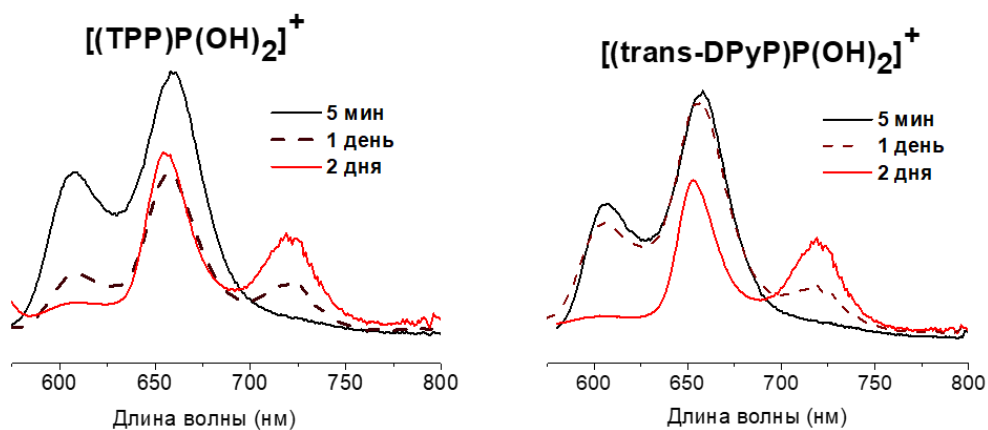


Рис. 51. Изменения спектров эмиссии комплексов **1-OH** и **3-OH** в присутствии *FBS* в течение времени.

Комплексы **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂** также подвергаются дефосфорилированию в PBS в присутствии *FBS*. Поскольку при pH = 7.4, характерному для PBS, оба комплекса **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂** существуют в основной нефлуоресцентной форме, то в их спектрах эмиссии в присутствии *FBS* наблюдалось только увеличение полос интенсивности образующихся свободных оснований (Рис. 52 а,б). Для оценки полноты протекания дефосфорилирования к системам «порфирин + *FBS*» после 2 дней инкубации была добавлена HCl до pH ~2, соответствующего полному переходу **1-OPhNH₂** и **7-OPhNH₂** в протонированную флуоресцентную форму (Рис. 52 в,г). Было установлено, что оба комплекса дефосфорилируются частично в данных условиях. При этом для **1-OPhNH₂** процесс протекает интенсивнее, чем для **7-OPhNH₂**, для которого интенсивность эмиссии комплекса с P(V) значительно выше интенсивности образующегося свободного основания.

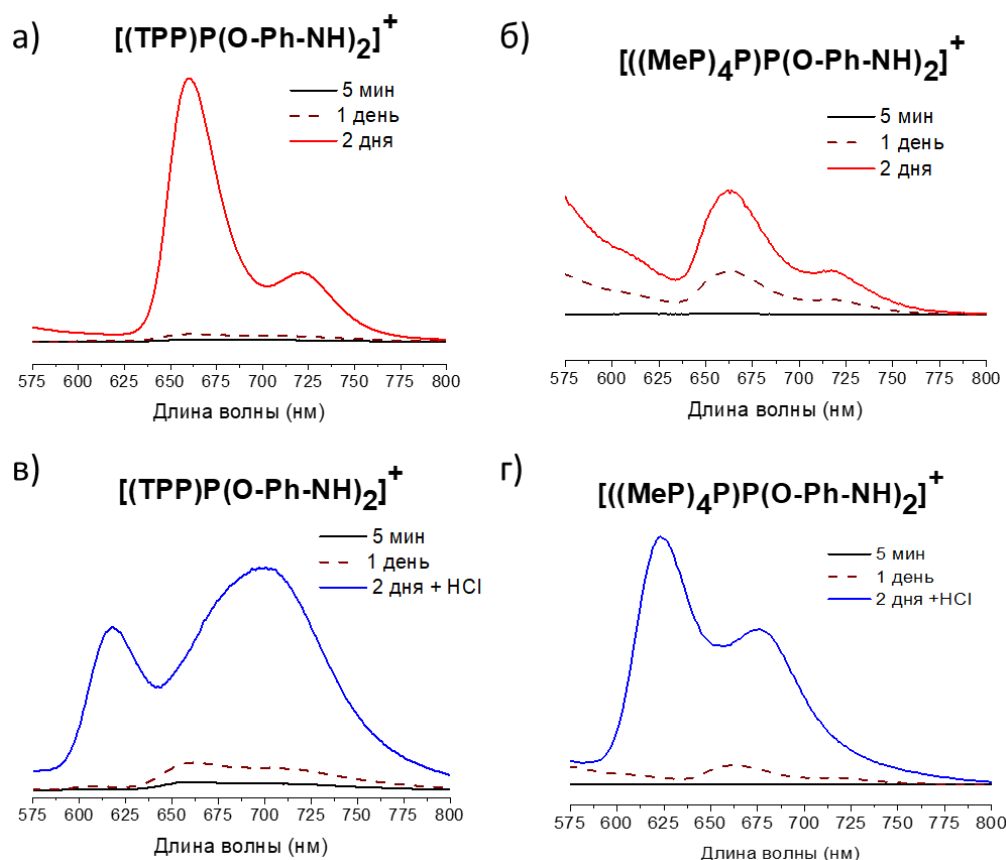


Рис. 52 Изменения спектров эмиссии в присутствии FBS комплексов 1-OPhNH₂ (а) и 7-OPhNH₂ (б) в течение времени. Спектры эмиссии при pH ~2 комплексов 1-OPhNH₂ (в) и 7-OPhNH₂ (г) после 2 дней инкубации с FBS.

При этом, комплексы с аксиальными группами -OEt и -OPrOH не подверглись этому процессу: после 2 дней инкубации наблюдалось только снижение интенсивности полос эмиссии (Рис. 53). Можно предположить, что взаимодействие аксиальных -ОН групп с белками FBS через образование водородных связей приводит к дефосфорилированию комплексов **1-ОН – 3-ОН**, тогда как -OEt и -OPrOH группы с белками не взаимодействуют.

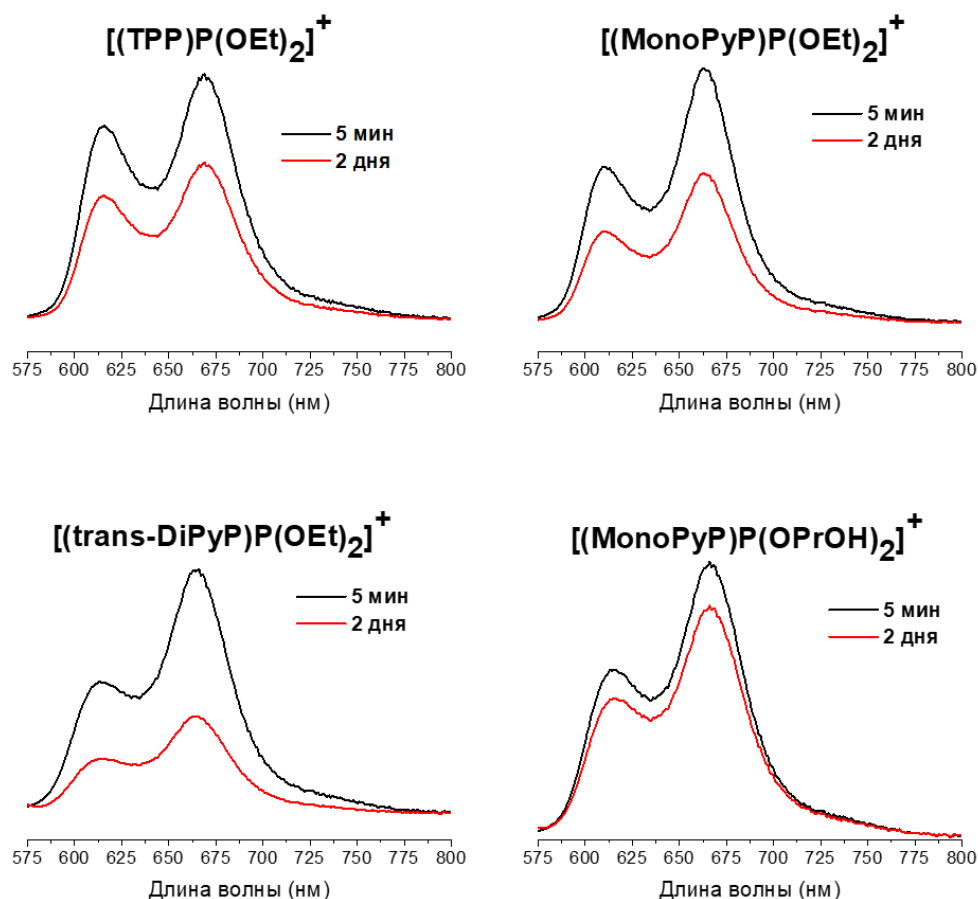


Рис. 53. Изменения спектров эмиссии комплексов **1-OEt – 3-OEt** и **2-OPrOH** в присутствии FBS в течение времени.

Кроме того, способность комплексов к дефосфорилированию была исследована на клетках аденокарциномы легкого человека А-549 (Рис. 54) при инкубации **1-OEt – 3-OEt**, **1-ОН – 3-ОН** и **2-OPrOH** в течении 1 часа. Поскольку было показано, что в растворах эти комплексы взаимодействуют с FBS, а для изучения цитотоксичности используется питательная среда для клеток, содержащая 10% FBS, то изучаемые комплексы инкубировали в клетках А-549 как в присутствии, так и без FBS в среде. Это выполнялось с целью сравнить взаимодействие комплексов непосредственно только с клеточными белками и одновременно с FBS. Было установлено, что **1-ОН – 3-ОН** подвергаются дефосфорилированию внутри клеток как в присутствии, так и без FBS в среде в отличие от -OEt комплексов **1-OEt – 3-OEt**. Интересно отметить, что комплекс **2-OPrOH** частично дефосфорилируется в клетках, то время как при проведении эксперимента в растворе с FBS данный процесс

не наблюдался. Это явление можно объяснить тем, что дефосфорилирование фрагмента –OPrOH происходит из-за большего разнообразия белков в клетках.

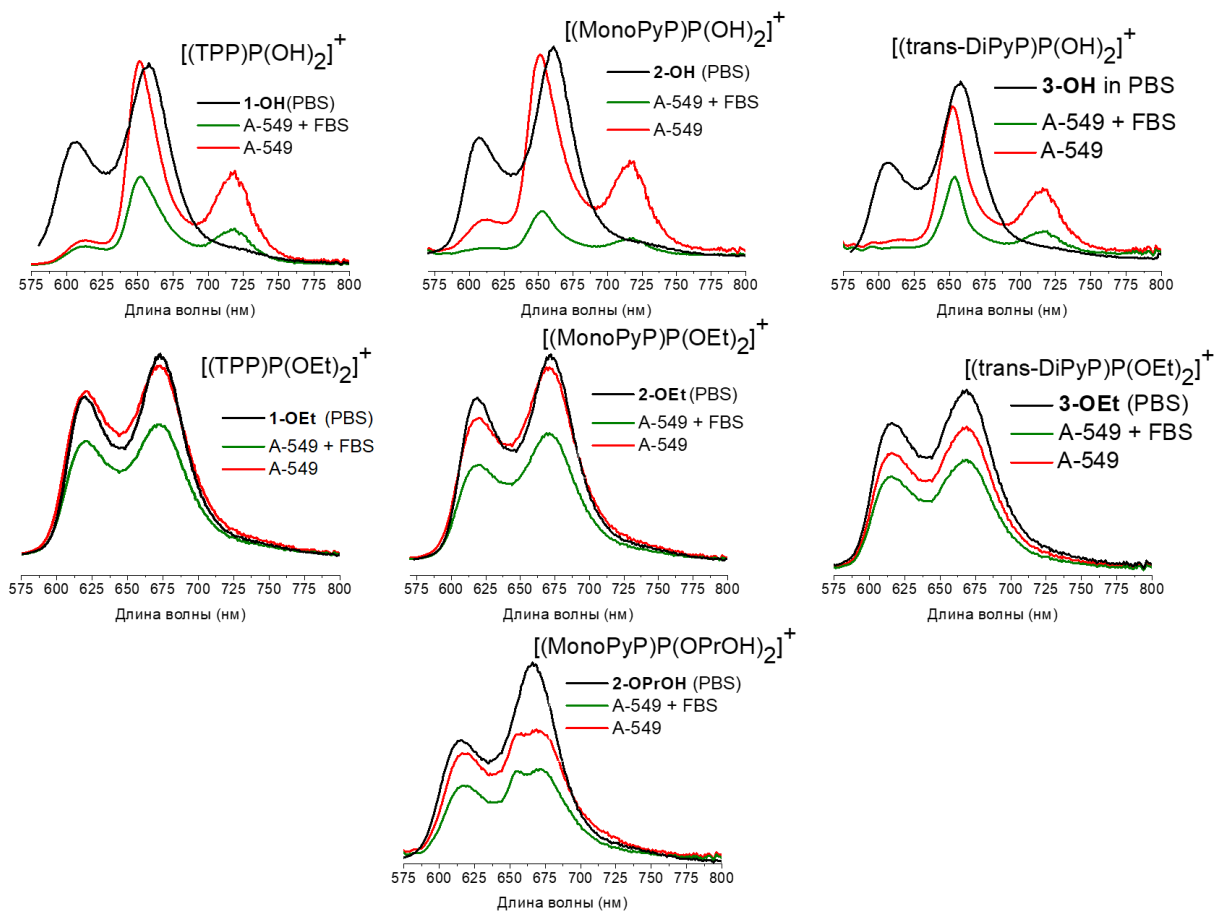


Рис. 54. Спектры эмиссии порфиринов $P(V)$ в PBS (черн.), лизатов клеток в ДМСО после инкубации комплексов в клетках A-549 в присутствии FBS в среде (зел.) и в отсутствие FBS (красн.).

Одновременно с этим дефосфорилирование оказывает влияние на внутриклеточную локализацию в клетках A-549 комплексов **1-OEt** – **3-OEt**, **1-OH** – **3-OH** и **2-OPrOH**, что было продемонстрировано с помощью флуоресцентной визуализации (Рис. 55). Так, соединения **1-OEt** – **3-OEt** имели диффузное регулярное распределение по цитоплазме, в то время как соединения **1-OH** – **3-OH** и **2-OPrOH** образовали локальные агрегаты в органеллах клеток. Учитывая способность соединений **1-OH** – **3-OH** и **2-OPrOH** дефосфорилироваться в присутствии белков, можно предположить, что эти флуоресцирующие области на их конфокальных изображениях соответствуют свободным основаниям **1-3**. Накопление препаратов в органеллах в этом случае можно объяснить потерей растворимости после их

дефосфорилирования (вероятно, при взаимодействии с фосфатазами [307]), тогда как комплексы **1-OEt – 3-OEt** свободно распределяются по пространству клетки, по аналогии с иными катионными порфиринами [308].

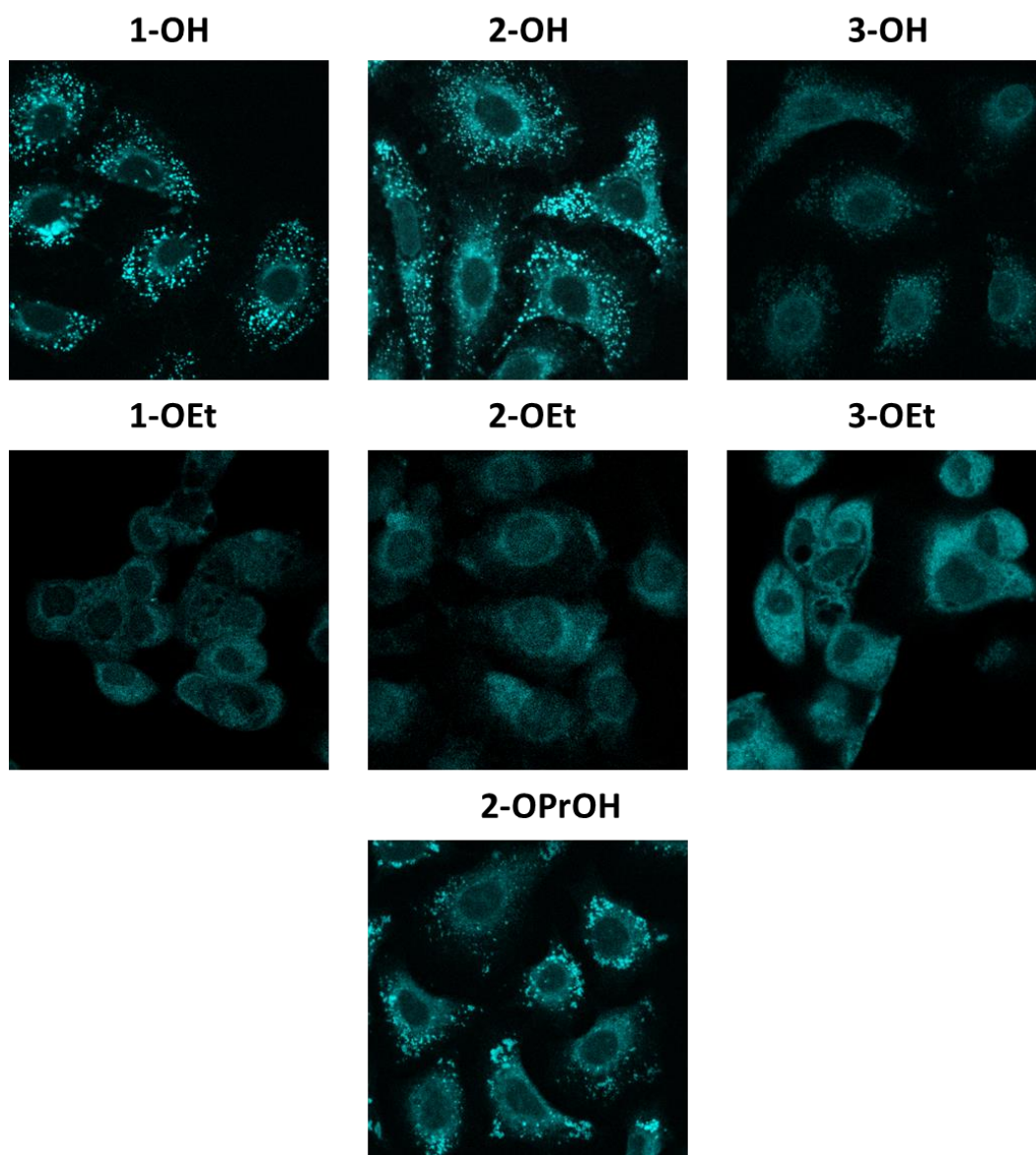


Рис. 55. Флуоресцентные изображения клеток аденокарциномы легкого человека А-549 с 50 мкМ порфиринов Р(V), 1 ч инкубации, возбуждение 405 нм, эмиссия записана при 450-800 нм.

Таким образом, способность гидрокси-порфиринов Р(V) к дефосфорилированию позволяет преодолевать ограниченную растворимость в воде свободных оснований порфиринов и осуществить их доставку в клетку в виде комплексов Р(V).

3.7. Цитотоксические свойства

Согласно докладу ВОЗ, наиболее распространенными видами рака являются рак молочной железы и рак легких. По этой причине для изучения цитотоксических свойств были выбраны клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 и аденокарциномы легких A-549. Исследования проводились на рядах соединений **1-OEt – 3-OEt**, **7-OEt – 9-OEt**, **1-OH – 3-OH** и **2-OPrOH**.

Методом проточной цитометрии была изучена способность исследуемых соединений проникать в клетки аденокарциномы. Для этого была проанализирована флуоресценция клеток MCF-7, обработанных исследуемыми соединениями **1-OEt – 3-OEt**, **7-OEt – 9-OEt**, **1-OH – 3-OH** и **2-OPrOH** в течение 5 мин, 30 мин и 60 мин инкубации (Рис. 56). Было обнаружено, что для комплексов с аксиальными –OEt группами **1-OEt – 3-OEt** и **8-OEt**, а также для комплексов **1-OH**, **3-OH** и **2-OPrOH** достаточно 5 минут инкубации для достижения заметной внутриклеточной флуоресценции, в то время как дальнейшая инкубация приводила лишь к незначительному увеличению флуоресценции (Рис. 56), что указывает на их пассивное накопление через клеточную мембрану. В то же время характер накопления для комплексов **7-OEt** и **2-OH** был более длительным. Так, увеличение времени инкубирования от 5 мин до 30 мин и до 60 мин приводит к значимому увеличению интенсивности внутриклеточной флуоресценции, что может указывать на механизм их активного транспорта через клеточную мембрану. Среди всех изученных комплексов, только комплекс **9-OEt**, содержащий в *мезо-трет*-бутилфенильные фрагменты, не продемонстрировал накопления в клетках.

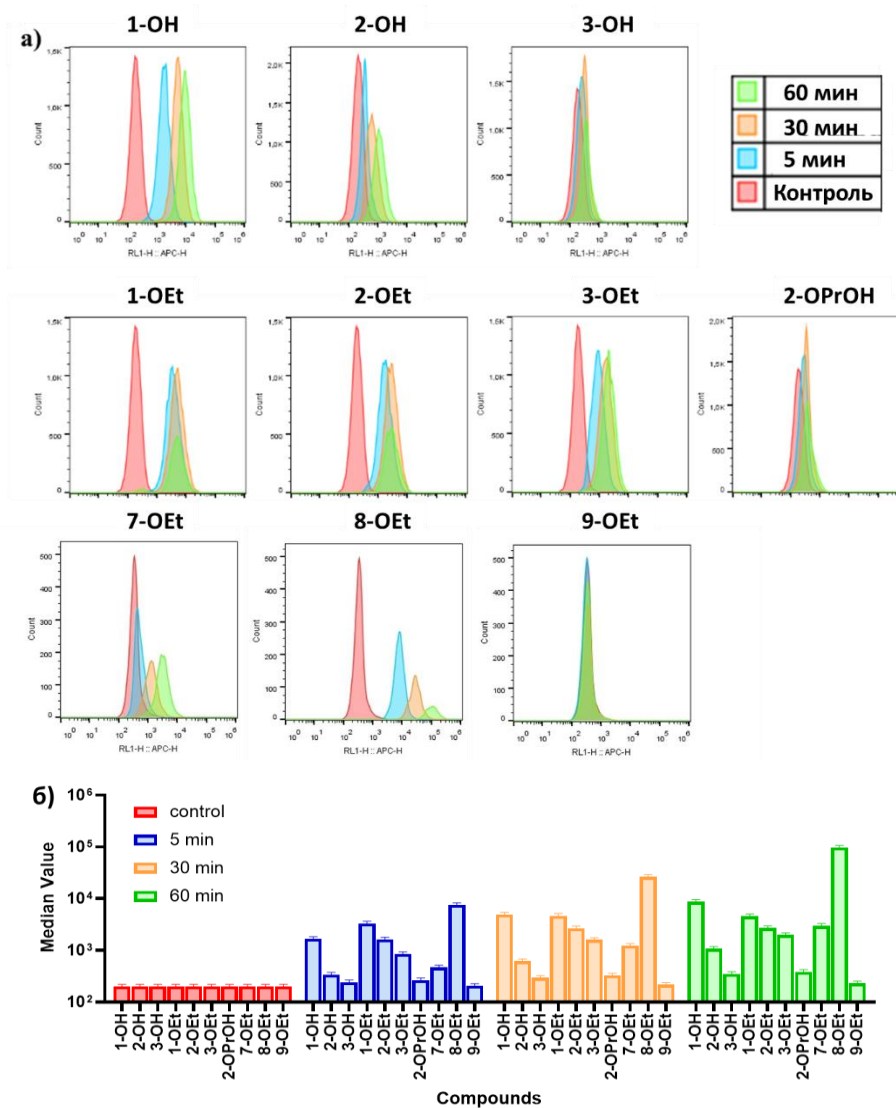


Рис. 56. а) Клеточная флуоресценция через 5, 30 и 60 мин при аккумуляции MCF-7 с 0.5 мкМ растворами порфиринов P(V), б) среднее значение флуоресценции по данным цитометрии.

Цитотоксическая активность исследуемых веществ изучалась в отношении клеток MCF-7 и A-549 при облучении светом 450 нм (Рис. 57, Рис. 58). В таблице 10 представлены установленные значения IC₅₀ в темновых и световых условиях, а также индекс фототоксичности (ИФ), представляющий собой соотношение между IC₅₀ в темновых и световых условиях. Вследствие способности порфиринов P(V), содержащих мезо-метилфенильные (7-OEt) и мезо-метоксифенильные (8-OEt) группы, поглощать свет в области 600-650 нм, была дополнительно изучена их цитотоксическая активность при облучении диодом, излучающим свет в области 600-700 нм и имеющий максимум при 660 нм.

В результате было выявлено, что порфирилаты P(V) с аксиальными лигандами -ОН и -OPrОН демонстрируют субмикромольную световую токсичность по отношению к обеим линиям клеток в отличие от комплексов с аксиальными – OEt группами, проявляющими наномольную световую токсичность (Таблица 10). Более низкая токсичность комплексов с аксиальными –ОН группами может быть объяснена их дефосфорилированием в клетках.

Таблица 10. Темновая и световая цитотоксичность порфирилатов фосфора(V) в отношении клеток A-549 и MCF-7.

Соединение	MCF-7			A-549		
	IC ₅₀ темн, нМ ¹	IC ₅₀ свет 450, нМ ²	ИФ	IC ₅₀ темн, нМ ¹	IC ₅₀ свет 450, нМ ²	ИФ
[(TPP)P(OEt) ₂] ⁺ (1-OEt)	45 ± 20	14.0 ± 4	3.2	46 ± 12	5.7 ± 1.3	8.1
[(MonoPyP)P(OEt) ₂] ⁺ (2-OEt)	42 ± 25	8.9 ± 3.3	4.7	129 ± 25	2.0 ± 1.5	64.5
[(trans-DiPyP)P(OEt) ₂] ⁺ (3-OEt)	100 ± 36	92 ± 20	1.1	265 ± 37	35 ± 8	7.6
[((MeP) ₄ P)P(OEt) ₂] ⁺ (7-OEt)	863 ± 281	170 ± 51	5.1	201.1 ± 4.5	18.5 ± 6.3	10.9
[(MeOP) ₄ P)P(OEt) ₂] ⁺ (8-OEt)	903 ± 290	15 ± 10	60.2	50.5 ± 8.3	0.33 ± 0.04	153
[(t-BuP) ₄ P)P(OEt) ₂] ⁺ (9-OEt)	6921 ± 1042	7970 ± 2091	0.9	33660 ± 4850	30970 ± 3440	1.1
[(TPP)P(OH) ₂] ⁺ (1-OH)	1320 ± 360	71 ± 13	18.6	1532 ± 191	379 ± 35	4.0
[(MonoPyP)P(OH) ₂] ⁺ (2-OH)	7320 ± 860	650 ± 115	11.3	5569 ± 455	496 ± 64	11.2
[(trans-DiPyP)P(OH) ₂] ⁺ (3-OH)	10121 ± 1703	1720 ± 221	5.9	22980 ± 4620	1842 ± 351	12.5
[(MonoPyP)P(OPrOH) ₂] ⁺ (2-OPrOH)	1160 ± 301	101 ± 16	11.5	2802 ± 285	254 ± 26	11.0
Соединение	IC ₅₀ темн, нМ ¹	IC ₅₀ свет 660, нМ ³	ИФ	IC ₅₀ темн, нМ ¹	IC ₅₀ свет 660, нМ ³	ИФ
[((MeP) ₄ P)P(OEt) ₂] ⁺ (7-OEt)	863 ± 281	147 ± 6.1	5.9	201.1 ± 4.5	62.5 ± 1.3	3.2
[(MeOP) ₄ P)P(OEt) ₂] ⁺ (8-OEt)	903 ± 290	14.0 ± 4.6	64.5	50.5 ± 8.3	4.5 ± 4.2	11.2

¹ 72 ч. инкубации, МТТ-тест, ² λ=450 нм, J = 3.5 Дж/см², 72 ч. инкубации, МТТ-тест, ³ λ=660 нм, J = 3.5 Дж/см², 72 ч. инкубации, МТТ-тест

Цитотоксическая активность порфирилатов P(V) коррелирует с уровнем их накопления в клетках. Например, наиболее цитотоксичные **1-OEt**, **2-OEt** и **8-OEt** (IC₅₀ свет = 8.9 - 14.5 нМ в отношении MCF-7) показали более высокие медианные значения накопления (Рис. 5б), тогда как менее токсичные **2-OH**, **3-OH** и **2-OPrOH** (IC₅₀ свет = 101 - 1720 нМ в отношении MCF-7) продемонстрировали более низкое накопление. Комплекс **9-OEt**, не накапливающийся в клетках, ожидаемо продемонстрировал наименьший цитотоксический эффект среди всех изучаемых комплексов, причем значения его световой и темновой токсичности близки между собой для каждой линии

клеток. Однако для комплекса **1-ОН** связь между накоплением и цитотоксичностью сложнее. Так, **1-ОН** показал самое высокое накопление, но умеренную цитотоксичность ($IC_{50} = 1.32 \text{ мкМ}$ в темноте), что можно объяснить его дефосфорилированием внутри клеток и дальнейшей агрегацией.

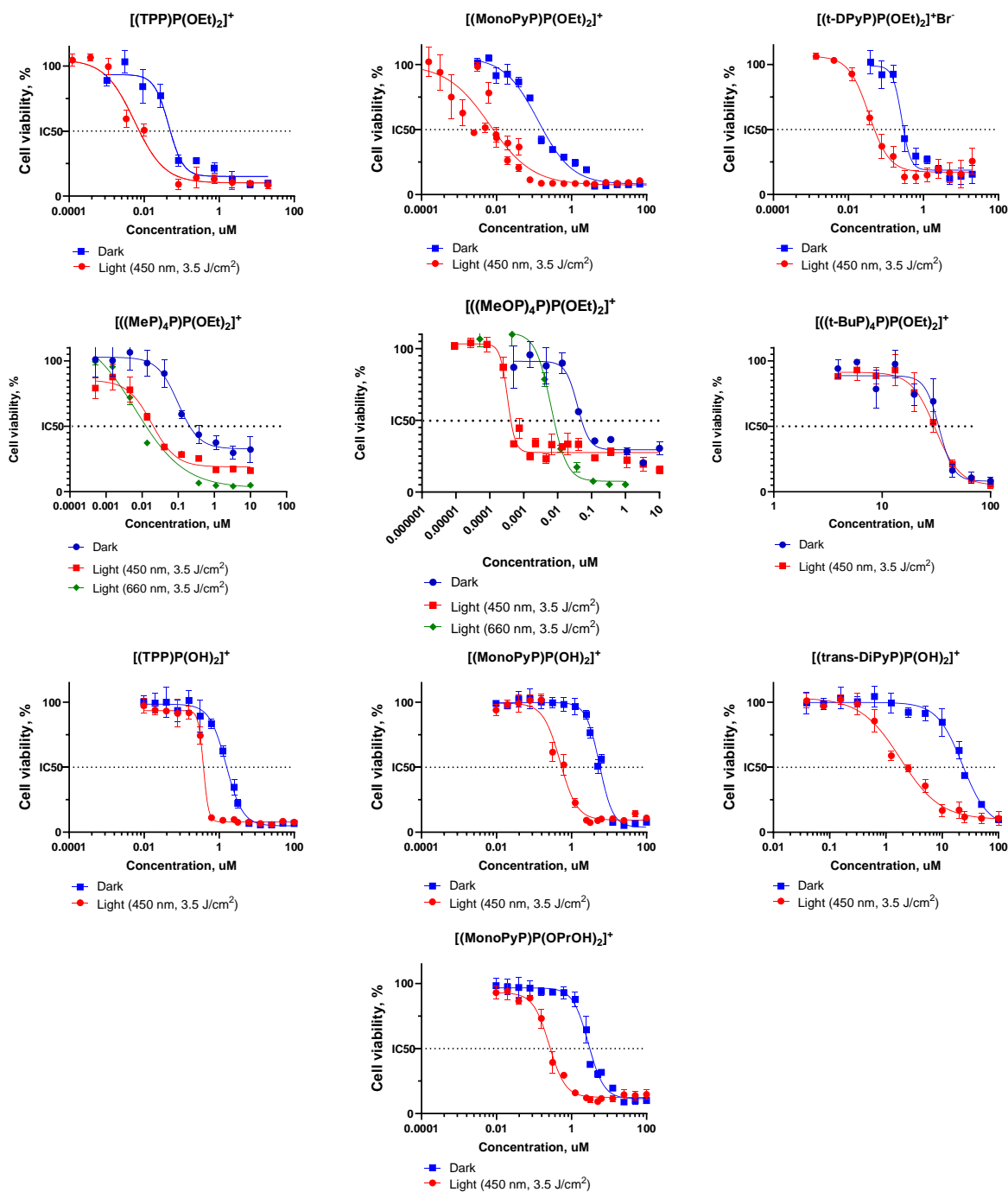


Рис. 57. Кривые темновой токсичности и фототоксичности порфиринов P(V) в культуре клеток аденокарциномы легкого A-549, МТТ тест, 72 ч инкубации.

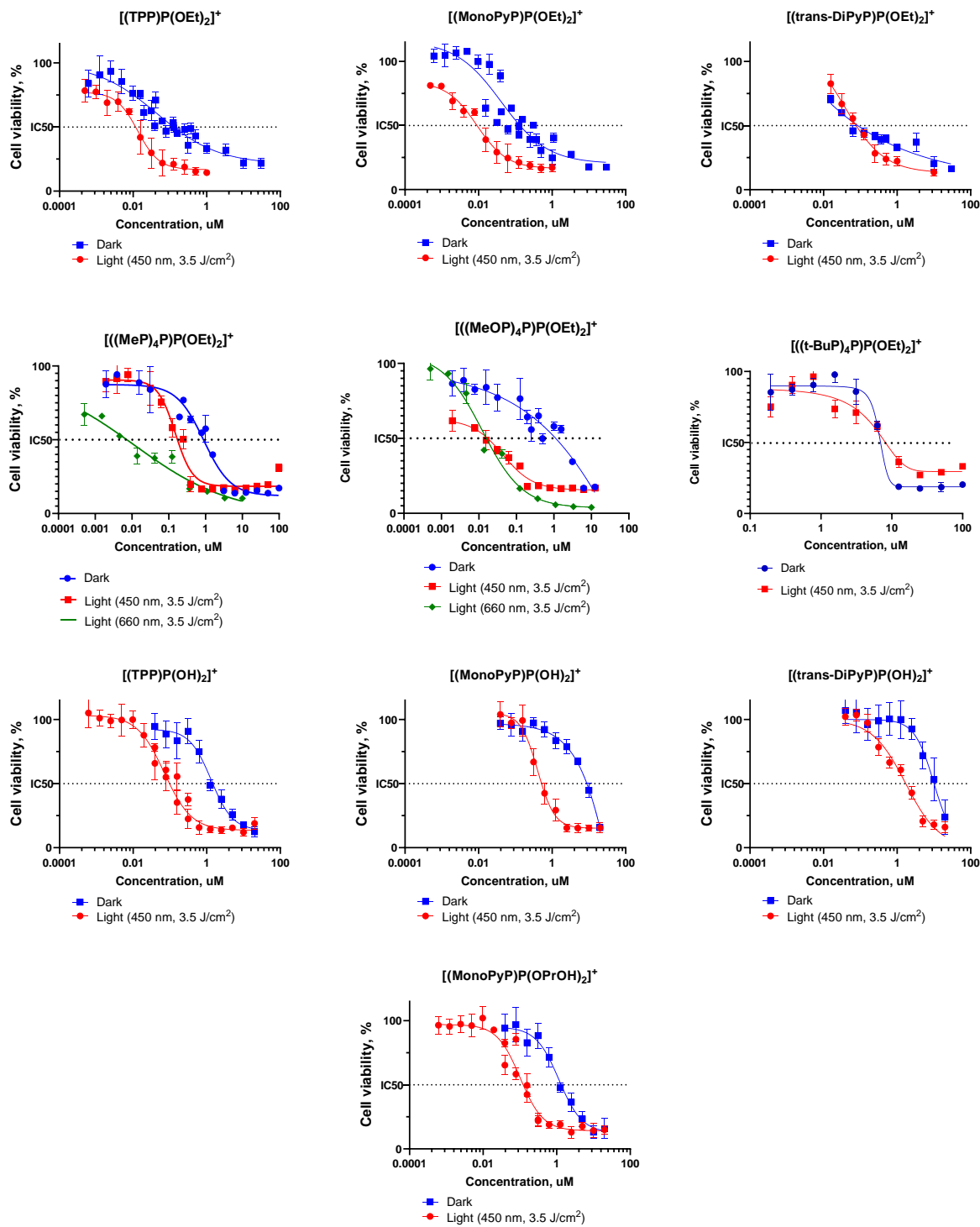


Рис. 58. Кривые темновой токсичности и фототоксичности порфиринов P(V) в культуре клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7, MTT тест, 72 ч инкубации.

В ряду диэтокси-порфиринов P(V) по отношению к клеткам MCF-7 наиболее высокую световую токсичность проявляют **1-OEt**, **2-OEt** и **8-OEt** ($IC_{50\text{ свет}} = 14.0$, 8.9 и 14.5 нМ, соответственно), при этом наиболее высоким индексом фототоксичности обладает **8-OEt**, для которого ИФ=60.2, тогда как для **1-OEt** и **2-OEt** ИФ составляет 3.2 и 4.7 соответственно.

Интересно отметить, что для комплексов **1-OEt-3-OEt**, **1-OH-3-OH** и **2-OPrOH** различие между токсичностью по отношению к A-549 и MCF-7 было незначительным, в то время как **7-OEt** и **8-OEt** продемонстрировали на порядок более низкие значения световой токсичности по отношению к A-549 в сравнении с MCF-7. Более того, комплекс **8-OEt** продемонстрировал рекордное значение световой токсичности против клеток A-549, которое составило 330 пМ и наибольшее значение ИФ = 153.

Важным результатом также является то, что комплексы **7-OEt** и **8-OEt** показали наномолярную световую токсичность при облучении светом 660 нм по отношению к клеткам MCF-7 ($IC_{50\text{ свет}} = 11.3 - 14.5$ нМ) и к клеткам A-549 ($IC_{50\text{ свет}} = 6.4 - 6.5$ нМ) (Таблица 10), что является первым примером фотоцитотоксического эффекта порфиринов P(V) при облучении красным светом. Более того, фотоцитотоксический эффект комплексов **7-OEt** и **8-OEt** многократно превышает эффект препарата Фотосенс® ($IC_{50} = 3.2$ мкМ для A-549, 11.2 Дж/см²).

Таким образом, **1-OEt**, **2-OEt**, **7-OEt** и **8-OEt** являются наиболее фотоцитотоксичными соединениями с наномолярной светоиндуцированной токсичностью и представляются наиболее перспективными для применения в качестве фотосенсибилизаторов.

Дополнительно было исследовано влияние световой дозы на цитотоксичность на примере недефосфорилирующегося комплекса **2-OEt** и дефосфорилирующегося **2-OH** (Рис. 59). Установлено, что при высоких концентрациях (2,5 мкМ для **2-OH** и 10-50 нМ для **2-OEt**) даже низкие дозы света (до 0,3 Дж/см²) вызывают гибель клеток, тогда как при низких концентрациях (0,1 мкМ для **2-OH**) увеличение дозы света до 5,6 Дж/см² не

усиливает цитотоксичность. Однако, если исследуемая концентрация близка к значению IC_{50} , наблюдается четкая зависимость от дозы облучения, что подтверждает светоиндуцированный механизм гибели клеток в обоих случаях.

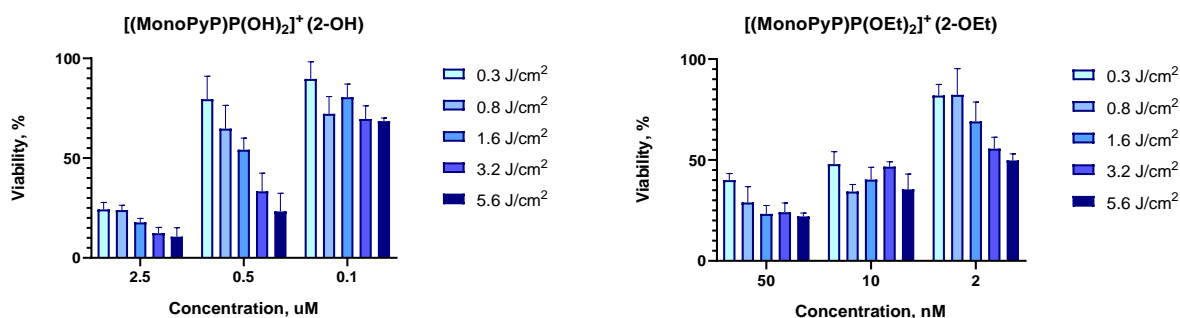


Рис. 59. Выживаемость клеток A-549 при их обработке комплексами **2-OEt** и **2-OH** при различных световых дозах (450 нм), 72 ч, МТТ-тест. В качестве контроля были использованы клетки, не подвергавшиеся обработке (100%).

Поскольку фотоцитотоксический эффект при поглощении света в области терапевтического окна прозрачности тканей (600-800 нм) продемонстрировали только комплексы **7-OEt** и **8-OEt**, для них был более детально исследован механизм клеточной смерти. Для этого на первом этапе было проведено определение АФК в клетках MCF-7 с помощью неспецифичной ловушки 2,7-дихлордигидрофлуоресцеина (DCF) методом проточной цитометрии. Было выявлено, что клетки инкубировавшиеся с DCF и комплексами **7-OEt** и **8-OEt** демонстрируют большую интенсивность флуоресценции по сравнению с клетками, инкубировавшимися только с DCF (Рис. 60).

Для комплекса **8-OEt** при концентрации 0.1 мкМ наблюдается незначительное увеличение интенсивности флуоресценции в темновых условиях. Вместе с тем облучение светом 660 нм (3.5 Дж/см²) приводит к более значимому увеличению интенсивности флуоресценции и снижению числа сигналов, вероятно, из-за высокой токсичности комплекса **8-OEt**. Дальнейшее увеличение концентрации до 0.5 мкМ приводит к увеличению интенсивности сигнала, как в световых, так и в темновых условиях одновременно со снижением числа сигналов. При концентрации 1 мкМ комплекса **8-OEt** число сигналов флуоресценции клеток крайне мало.

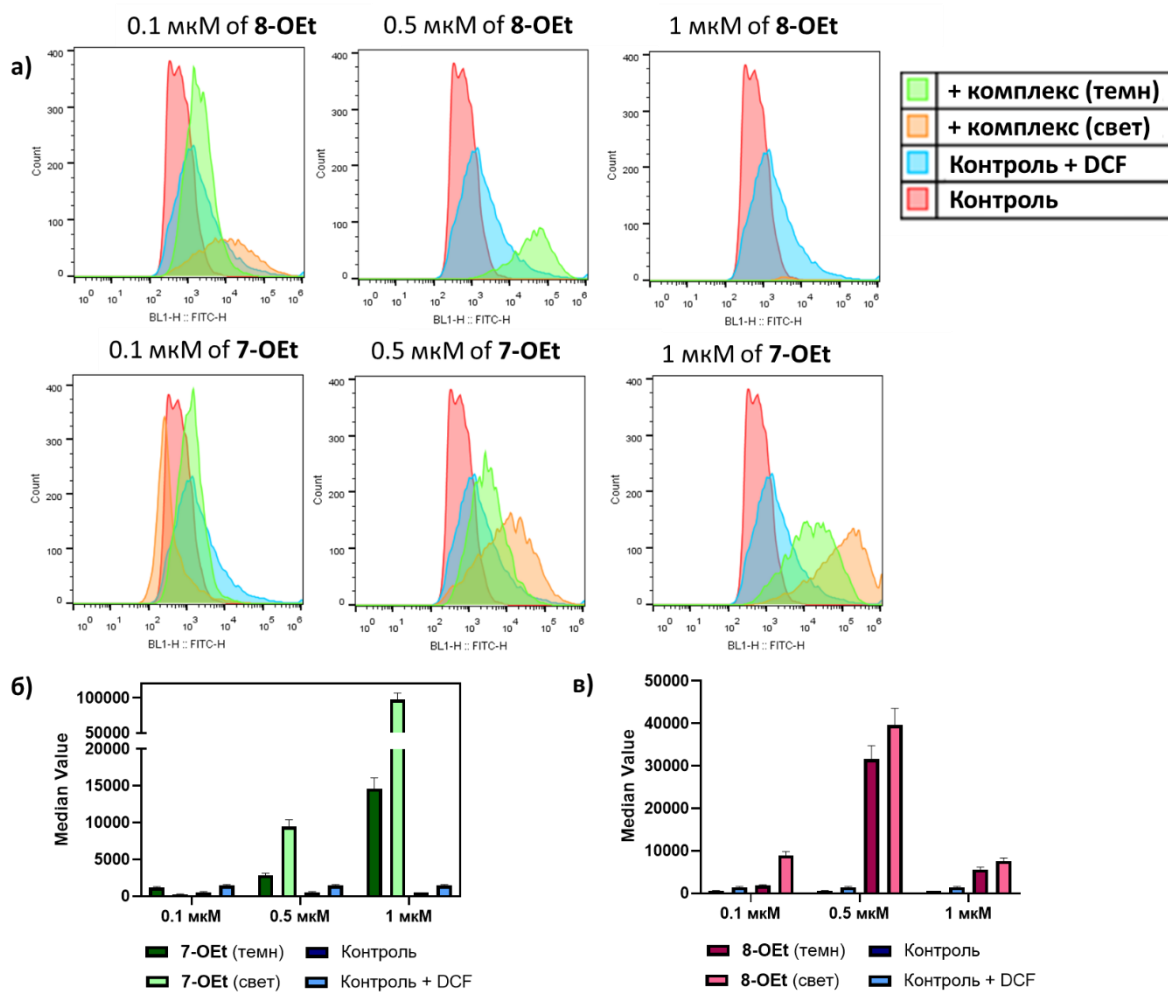


Рис. 60. а) Клеточная флуоресценция клеток MCF-7, при их инкубации с DCF и 0.1 мкМ, 0.5 мкМ и 1 мкМ растворами порфиринов *P(V)* 7-OEt и 8-OEt, среднее значение флуоресценции по данным цитометрии для б) 7-OEt и в) 8-OEt.

Комплекс 7-OEt по сравнению с 8-OEt менее токсичен, и поэтому для него концентрация 0.1 мкМ является недостаточной для увеличения уровня флуоресценции в клетках и обнаружения генерации АФК. Однако при концентрациях 0.5 мкМ и 1 мкМ наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции как в световых, так и в темновых условиях.

Таким образом, согласно полученным данным, комплексы 7-OEt и 8-OEt способны генерировать активные формы кислорода в клетках, как в темновых, так и в световых условиях. Поскольку при облучении светом уровень внутриклеточной флуоресценции был выше, чем в темноте, то можно утверждать, что в световых условиях уровень генерации АФК выше, чем в темновых. При этом увеличение концентрации комплексов приводит к соответствующему увеличению интенсивности флуоресцентности,

подтверждая влияние P(V) порфиринов на формирование активных форм кислорода. Полученные данные могут объяснить темную токсичность комплексов и увеличение цитотоксического эффекта под действием света.

Ранее было показано, что АФК в клетках могут продуцироваться гемом в трансмембранном домене НАДФ-Н-оксидаз, при переносе на него электрона с флавинадениндинуклеотида (ФАД), расположенного в дегидрогеназном домене НАДФ-Н-оксидаз [193]. Можно предположить, что образование АФК в темновых условиях под действием комплексов **7-OEt** и **8-OEt** реализуется за счет аналогичного механизма с участием порфиринов P(V), поскольку было показано, что они способны легко восстанавливаться (раздел 3.5).

Для исследования механизма световой токсичности на следующем этапе было проведено определение пути клеточной смерти клеток MCF-7, индуцированной действием комплексов **7-OEt** и **8-OEt**. В настоящее время наиболее доказательным методом выявления апоптотических клеток является дифференциальное окрашивание мембраны флуоресцентно-меченым белком аннексином V, который аффинно связывается с полярной частью фосфатидилсерина. Это оказывается возможным поскольку в процессе апоптоза происходит изменение клеточной мембраны, что приводит к распределению фосфатидилсерина не только на внутренней, но и внешней стороне цитоплазматической мембраны клеток. Для проведения цитометрического анализа клетки MCF-7 инкубировались с 0.1 мкМ растворами порфиринов P(V) **7-OEt** и **8-OEt** в течение 1 ч в присутствии аннексина V (Ann) и пропидия йодида (PI, для выявления некротических клеток) (Рис. 61, 62, Таблицы 11, 12). Полученные данные указывают на то, что порфирины P(V) способны индуцировать ранний и поздний апоптоз как в световых, так и в темновых условиях. При этом после облучения клеток с порфиринами P(V) светом 660 нм наблюдалось снижение суммарного процента клеток, что может свидетельствовать о скрытом некрозе.

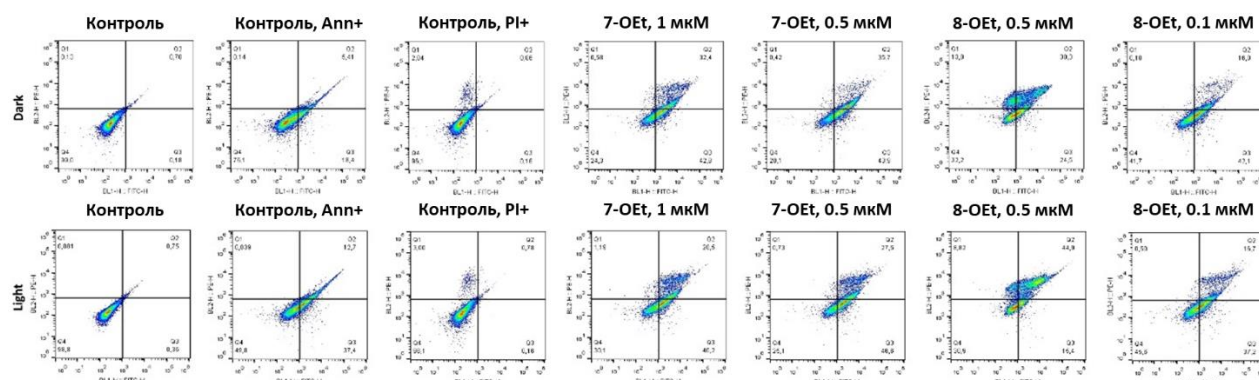


Рис. 61. Окрашивание клеток аденокарциномы легкого человека A-549 на апоптоз (аннексин-FITC) и некроз (PI).

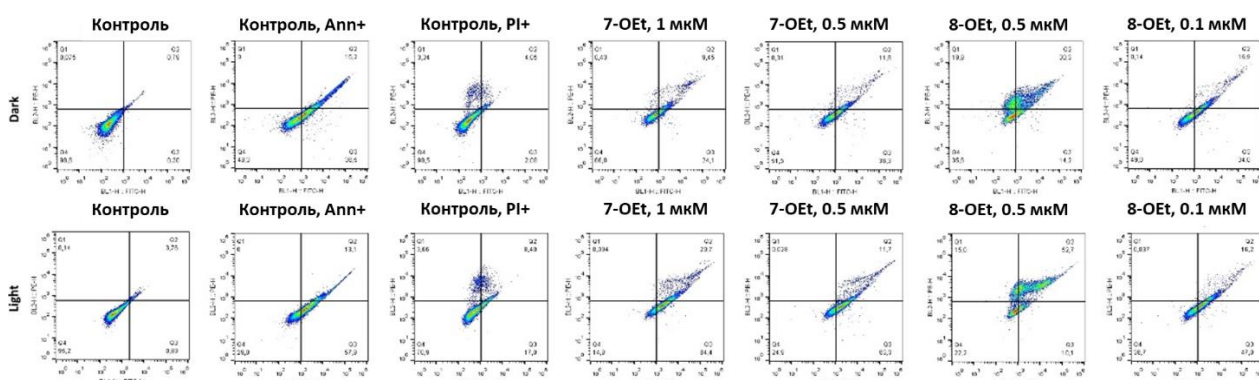


Рис. 62. Окрашивание клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 на апоптоз (аннексин-FITC) и некроз (PI).

Таблица 11. Процент клеток, находящихся в стадии раннего апоптоза, некроза и позднего апоптоза; клетки аденокарциномы легкого человека A-549.

	Темн.					Свет.				
	Общий %	Ann-, PI-	Ann+, PI-	Ann-, PI+	Ann+, PI+	Общий %	Ann-, PI-	Ann+, PI-	Ann-, PI+	Ann+, PI+
Контроль	95.5	99	0.18	0.13	0.70	95.4	98.9	0.36	0.08	0.75
Контроль, Ann+	88.6	76.1	18.4	0.14	5.41	89.0	49.8	37.4	0.04	12.7
Контроль, PI+	88.8	96.1	0.16	2.85	0.86	81.7	96.1	0.16	3.00	0.78
7-OEt, 1 мкМ	83.0	24.3	42.8	0.58	32.4	74.2	30.1	40.2	1.19	28.5
7-OEt, 0.5 мкМ	83.1	20.1	43.9	0.42	35.7	78.3	25.1	46.6	0.73	27.5
8-OEt, 0.5 мкМ	74.0	32.2	24.5	13.0	30.3	58.5	30.9	15.4	8.82	44.9
8-OEt, 0.1 мкМ	82.5	41.7	42.1	0.16	16.0	79.6	45.6	37.2	0.50	16.7

Таблица 12. Процент клеток, находящихся в стадии раннего апоптоза, некроза и позднего апоптоза; клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7

	Темн.					Свет.				
	Общий %	Апп-, PI-		Общий %	Апп-, PI-		Общий %	Апп-, PI-		Общий %
Контроль	93.5	98.8	0.0	0.08	0.79	97.2	95.2	0.99	0.14	3.76
Контроль, Апп+	96.3	48.3	36.5	0	15.2	92.6	29.0	57.9	0	13.1
Контроль, PI+	96.5	90.5	2.09	3.34	4.05	92.8	70.9	17.0	3.66	8.40
7-OEt , 1 мкМ	93.6	66.0	24.1	0.43	9.45	90.7	14.8	64.4	0.09	20.7
7-OEt , 0.5 мкМ	94.4	51.5	36.3	0.31	11.8	89.0	24.9	63.3	0.03	11.7
8-OEt , 0.5 мкМ	51.4	35.6	14.2	19.9	30.3	43.8	22.2	10.1	15.0	52.7
8-OEt , 0.1 мкМ	95.0	49.0	34.0	0.14	16.9	95.0	36.7	47.0	0.04	16.2

Апоптоз часто ассоциируется с митохондриями, поскольку высвобождение митохондриальных белков активирует протеазы каспазы, которые управляют гибелью клеток [309]. Для установления, является ли наблюдаемый апоптоз митохондриально-опосредованным, было проведено цитометрическое изучение митохондриальной дисфункции клеток. Для этого клетки MCF-7 инкубировали с комплексами **7-OEt** и **8-OEt** в присутствии потенциометрического карбонилцианинового красителя JC-1. Данный краситель способен флуоресцировать в двух областях спектра в зависимости от его локальной концентрации: при концентрациях JC-1, достигаемых в активных митохондриях, его молекулы агрегируют, образуя олигомерные структуры, флуоресцирующие в красной области спектра ($\lambda_{\max} = 590$ нм) и наблюдающиеся в флуоресцентном канале FL2. При низкой локальной концентрации JC-1 происходит разрушение агрегатов красителя, что приводит к сдвигу максимума спектра флуоресценции в зеленую область ($\lambda_{\max} = 527$ нм), что можно наблюдать в флуоресцентном канале FL1. При инкубировании клеток MCF-7 с 0.1 мкМ, 0.5 мкМ и 1 мкМ растворами комплексов **7-OEt** и **8-OEt** при облучении их светом 660 нм отношение интенсивности флуоресценции в канале FL1 к FL2 увеличивается (Рис. 63), что указывает на

взаимодействие порфиринов Р(V) с митохондриями, в результате чего происходит нарушение проницаемости мембраны митохондрий и уменьшение количества активных митохондрий.

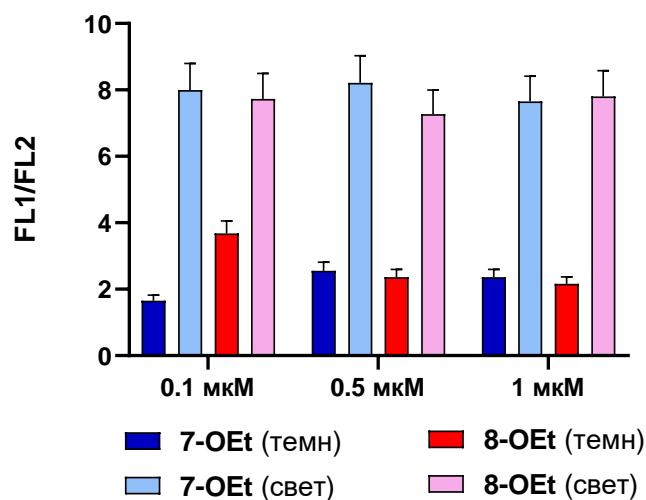


Рис. 63. Отношение средней интенсивности флуоресценции в канале FL2 к интенсивности флуоресценции в канале FL1 для клеток MCF-7, инкубированных с 0.1 мкМ, 0.5 мкМ и 1 мкМ комплексов 7-OEt и 8-OEt в присутствии JC-1.

Также было оценено распределение комплексов 7-OEt и 8-OEt внутри клетки и в сравнении с расположением митохондрий, помеченных митохондриальным красителем MitoTracker. Было установлено, что комплексы 7-OEt и 8-OEt диффузно распределены внутри цитоплазмы, и выраженной колокализации с митохондриями не было выявлено (Рис. 64).

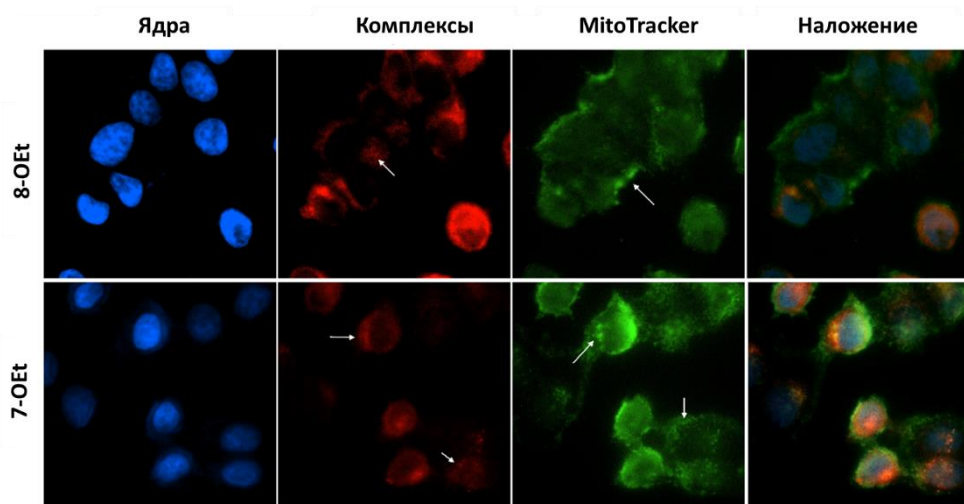


Рис. 64. Конфокальная сканирующая микроскопия клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 после 1-часовой инкубации с комплексами 7-OEt и 8-OEt. Синяя флуоресценция соответствует клеточным ядрам, окрашенным красителем Hoechst 33342, красная флуоресценция – исследуемым порфиринами Р(V), зеленая флуоресценция – митохондриям, окрашенным красителем MitoTracker Green.

Напротив, некротическая гибель клеток происходит в основном из-за разрушения клеточной мембраны с последующим быстрым высвобождением цитозоля в среду. Ранее было показано, что тетракативные порфирины и их цинковые комплексы вызывают некротическую гибель клеток при облучении светом [220]. Это сопровождалось вздутием и набуханием клеток. Для исследованных порфиринов фосфора(V) **7-OEt** и **8-OEt** образование пузырьков наблюдалось как в темновых, так и в световых условиях (Рис. 65). Более того, воздействие света усиливало этот процесс. Более токсичный комплекс **8-OEt** вызывал более интенсивное образование пузырей, чем менее токсичный комплекс **7-OEt**. Увеличение времени и концентрации порфиринов **8-OEt** и **7-OEt** также приводило к увеличению количества деформированных клеток.

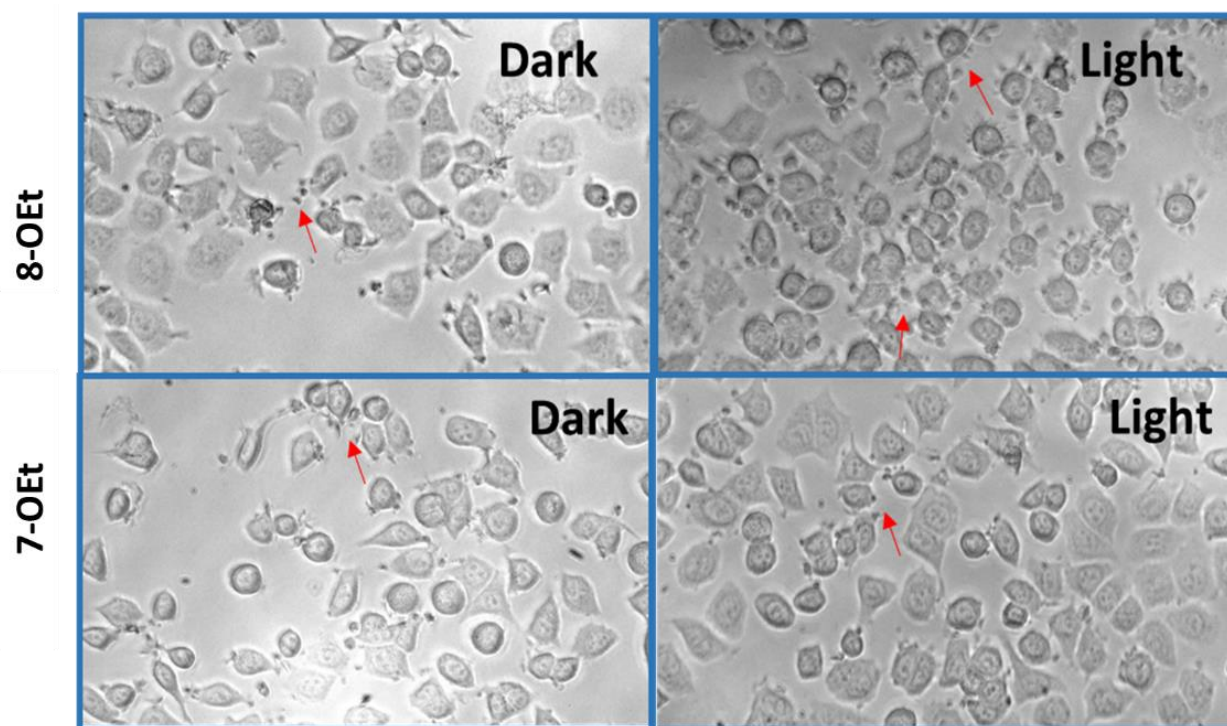


Рис. 65. Клетки после воздействия порфиринов **7-OEt** и **8-OEt** (500 нМ, 1ч инкубации) в темных и светлых условиях.

Ингибирование дыхательной цепи в митохондриях также может привести к быстрой гибели клеток, и есть некоторые свидетельства того, что порфирины могут ингибировать дыхательную цепь в нескольких точках [213,222,310]. Чтобы оценить эту гипотезу, мы сначала оценили изменение

соотношения окисленной и восстановленной форм NADH. Для этого мы записали спектры флуоресценции в воде лизата клеток MCF-7 после 1-дневного инкубирования с комплексом **8-OEt** (концентрации 0,1 нМ, 0,5 нМ и 5 нМ). В качестве контроля использовали необработанные клетки. В спектрах излучения всех образцов наблюдались два сигнала: при 390 нм (окисленная форма NAD⁺) и при 430 нм (восстановленная форма NADH). По мере увеличения концентрации комплекса **8-OEt** количество окисленной формы увеличивалось по сравнению с восстановленной формой (Рис. 66). Это может свидетельствовать об участии порфирина фосфора(V) в окислении NADH. Кроме того, ранее было показано, что порфирина фосфора(V) могут окислять производные 1,4-дигидроникотинамида путем переноса электронов[310]. Окисление NADH может привести к его удалению из цепи переноса электронов и нарушению клеточного дыхания. Как известно, апоптоз также связан с истощением запасов NADH/NADPH [311,312].

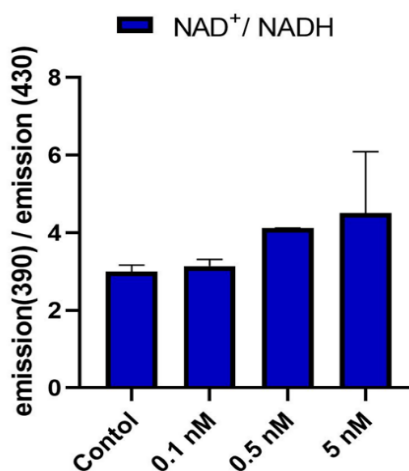


Рис. 66. Соотношение интенсивности излучения при 390 нм и 430 нм (отношение NAD⁺ к NADH) при обработке клеток A-549 комплексом **8-OEt** в течение 24 часов. В качестве контроля были взяты необработанные клетки.

Также было изучено токсическое действие комплекса **8-OEt** на клетки A-549 в среде RPMI, содержащей 2 мг/мл и 10 мг/мл глюкозы, в темновых условиях (Рис. 67). При концентрациях выше 0.11 мкМ выживаемость клеток увеличивается на 15-35% в среде, более насыщенной глюкозой, что может указывать на влияние порфиринов P(V) на процессы клеточного дыхания.

При этом, добавление антиоксидантов не способствовало увеличению жизнеспособности клеток (Рис. 68), что может косвенно свидетельствовать о том, что генерация активных форм кислорода является не основным механизмом токсического действия на клетки.

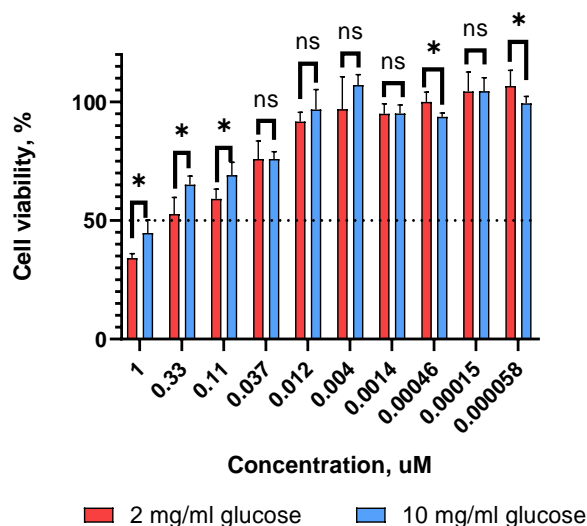


Рис. 67. Жизнеспособность клеток A-549 в условиях затемнения в среде RPMI, содержащей 2 мг/мл и 10 мг/мл глюкозы, в течение 72 часов, МТТ-анализ. В качестве контроля были взяты необработанные клетки (100%). * - $p \leq 0.05$, ns - $p > 0.05$.

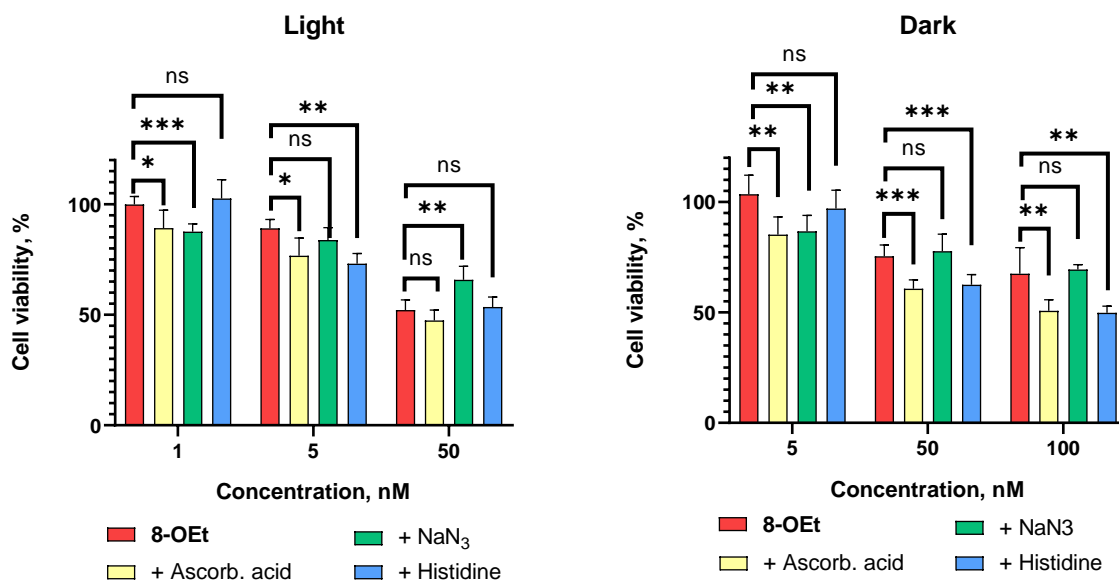


Рис. 68. Жизнеспособность клеток MCF-7, обработанных комплексом 8-OEt и антиоксидантами (аскорбиновая кислота, NaN₃, гистидин) в темноте и на свету (660 нм, 3,5 Дж/см²) в течение 72 ч, анализ МТТ. Необработанные клетки были взяты в качестве контроля (100%). * - $p \leq 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$, ns - $p > 0.05$.

Часто при солидных опухолях возникает гипоксия, что ограничивает эффективность противоопухолевой терапии, особенно кислородзависимой фотодинамической терапии [313]. В данной работе, для наиболее перспективных комплексов **7-OEt** и **8-OEt** была оценена эффективность в условиях гипоксии. Было обнаружено, что гипоксия повышала темновую токсичность исследуемых соединений (Таблица 13, Рис. 69, 70).

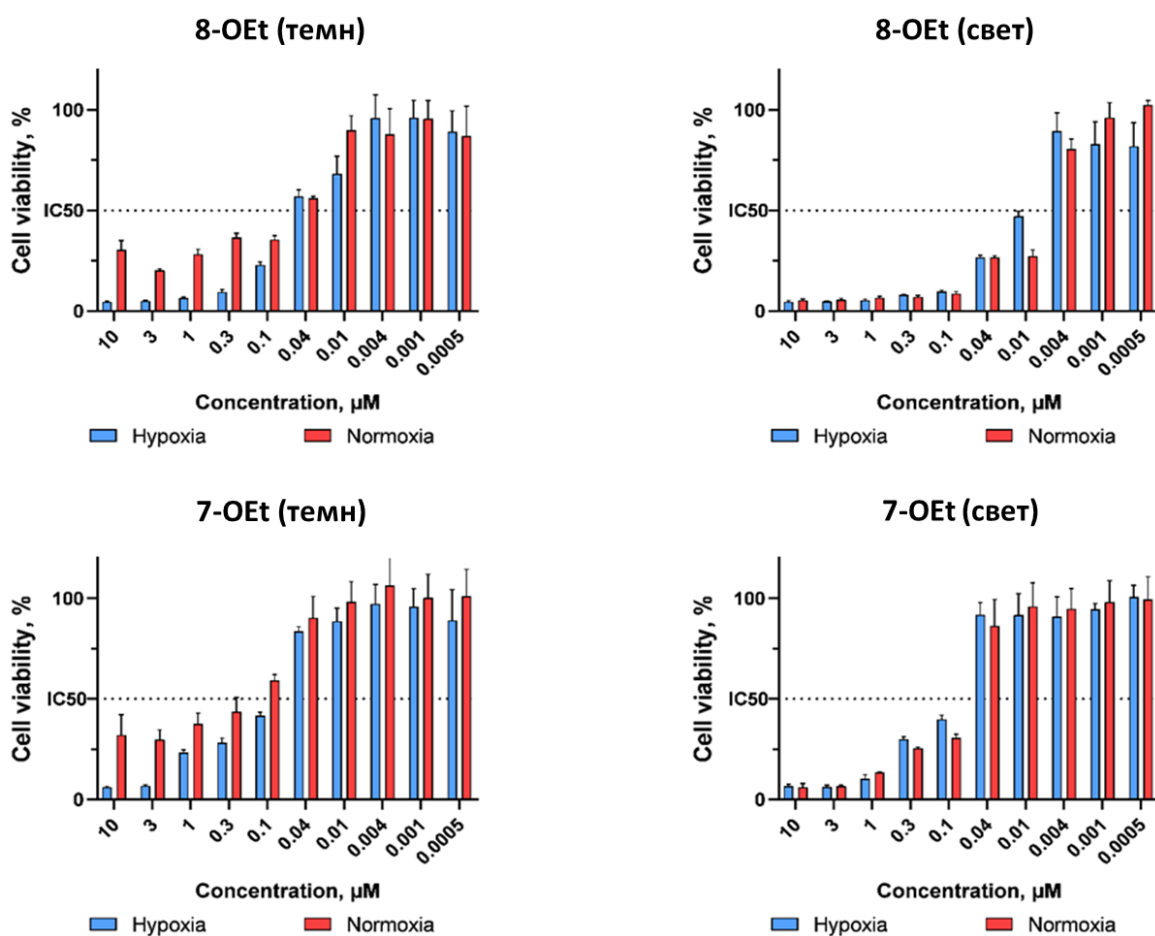


Рис. 69. Выживаемость клеток A-549 в темновых и световых (660 нм, 3,5 Дж/см²) условиях, 72 часа, МТТ-тест. В качестве контроля были взяты необработанные клетки (100%).

Таблица 13. Значения IC_{50} для клеток A-549 и MCF-7 при нормоксии и гипоксии (в темновых и световых (660 нм, 3.5 Дж/см²) условиях), 72 ч инкубации, МТТ тест

Комплекс	Гипоксия (A-549)			Нормоксия (A-549)		
	IC_{50} темн, нМ	IC_{50} свет, нМ	ИФ	IC_{50} темн, нМ	IC_{50} свет, нМ	ИФ
8-OEt	43.9±16.8	17.4±4.9	2.5	50.5±8.3	4.5±2.5	11.2
7-OEt	109.7±28.4	111.5±36.3	0.9	201.1±4.5	62.5±9.7	3.2
Комплекс	Гипоксия (MCF-7)			Нормоксия (MCF-7)		
	IC_{50} темн, нМ	IC_{50} свет, нМ	ИФ	IC_{50} темн, нМ	IC_{50} свет, нМ	ИФ
8-OEt	41.4± 6.7	24.1± 4.5	1.7	903±290	14.0±3.2	64.5
7-OEt	96.5±9.2	83.5±8.6	1.1	863±281	147±52	5.9

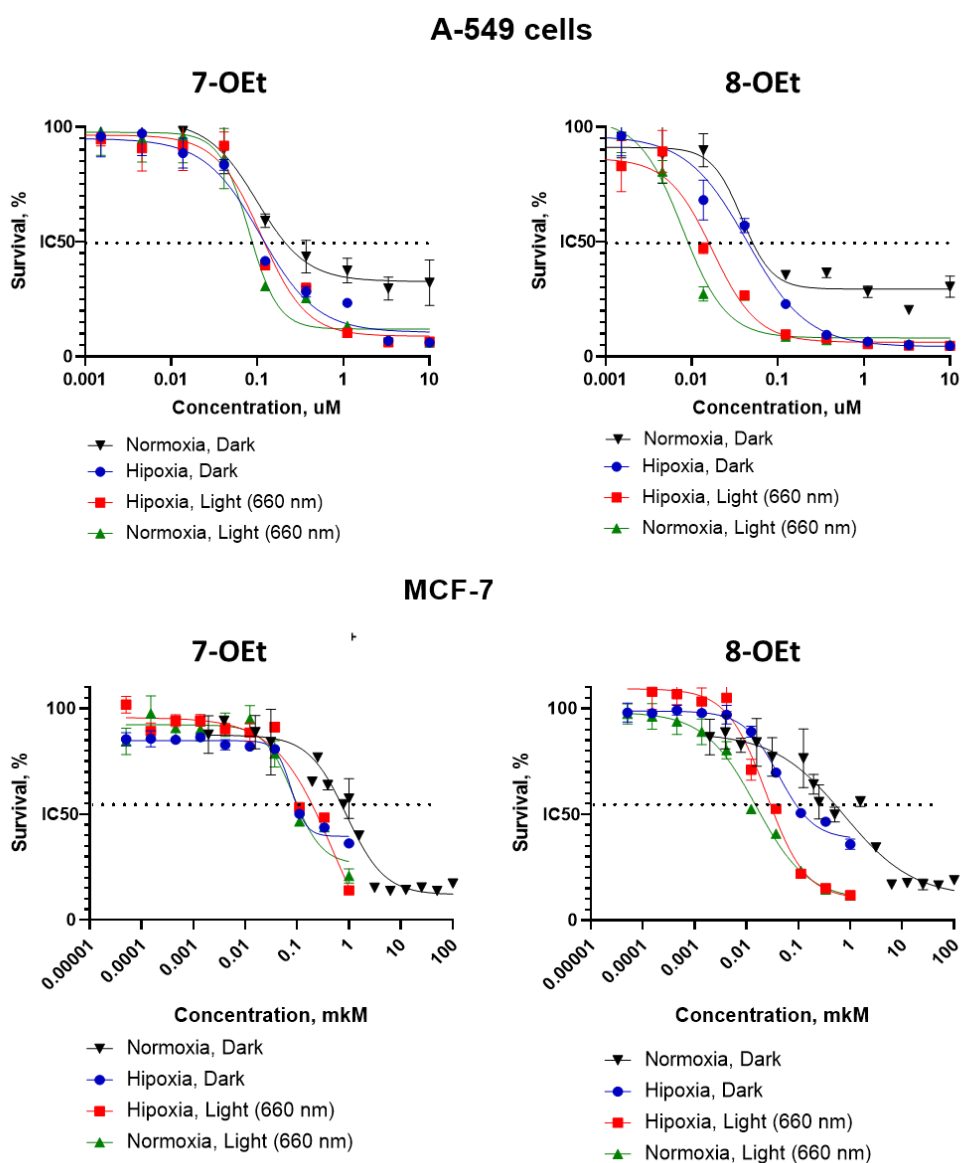


Рис. 70. Выживаемость клеток MCF-7 и A-549 в темновых и световых (660 нм, 3,5 Дж/см²) условиях, 72 часа, МТТ-тест. В качестве контроля были взяты необработанные клетки (100%).

Это может быть объяснено неэффективной выработкой АТФ в условиях гипоксии, в первую очередь за счет гликолиза. Следовательно, клетки не вырабатывали достаточного количества АТФ и NADH для процессов восстановления. Следует отметить, что клетки А-549 были более чувствительны к комплексам **7-OEt** и **8-OEt** в условиях гипоксии. Это коррелирует с тем фактом, что клетки А-549 менее "энергоэффективны" и получают энергию в основном за счет гликолиза.

Основываясь на результатах ряда проведенных экспериментов, мы можем предположить, что для порфиринов фосфора(V) реализуется несколько механизмов гибели клеток. Основной механизм связан с разрушением клеточной мембраны, и это происходит как в темновых условиях, так и при облучении светом. Вторым механизмом является выработка АФК под действием светового облучения с последующим апоптозом или некрозом, оба из которых типичны для ФДТ. Также возможно ингибирование дыхательной цепи клеток, приводящее к уменьшению количества вырабатываемых клеткой АТФ. Совокупность этих факторов приводит к неожиданному гипоксически-активируемому усилению цитотоксичности в темновых условиях, что может быть использовано при разработке противоопухолевых препаратов.

Таким образом, было систематически изучено влияние природы мезо-заместителей и аксиальных лигандов в порфиринах фосфора(V) на их физико-химические и биологические свойства. Было показано, что, варьируя электронную природу мезо-заместителей и аксиальные лиганды можно управлять свойствами данных комплексов, обеспечивая им рН-чувствительность, способность к дефосфорилированию или высокую цитотоксичность.

4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

4.1. Реактивы и оборудование

В работе использовали POBr_3 (Macklin), хлороформ (ЭКОС-1 и ALDOSА), дихлорметан (База №1 химреактивов), гексан (ЭКОС-1), этилацетат (ALDOSА), ДМСО (спектрхим, ЭКОС-1), пиридин (ЭКОС-1), толуол (База №1 химреактивов), ацетон (База №1 химреактивов), эмбриональная бычья сыворотка (FBS, Paneco), фосфатный буфер (ФБ, $[\text{Na}^+] = 137$ мМ, Paneco), ДМЕМ (Paneco). Сухой пиридин и хлороформ получали перегонкой над CaH_2 . Тетра(*n*-метилфенил)порфирин (**7**), тетра(*n*-метоксифенил)порфирин (**8**), тетра(*n*-*трет*-бутилфенил)порфирин (**9**), тетра(*n*-карбоксифенил)порфирин (**10**), тетра(*n*-цианофенил)порфирин (**11**), тетра(перфторфенил)порфирин (**12**), тетра(мезитил)порфирин (**13**) были получены от к.х.н. Поливановской Д.А. (ИФХЭ РАН), и д.х.н. Бирина К.П. (ИФХЭ РАН).

Оксид алюминия (Macherey-Nagel, первая степень активности по Брокману) использовались для колоночной хроматографии. Полимерные гели Bio-Beads S-X1 (BioRad) использовались для гель-проникающей хроматографии (ГПХ). Аналитическая тонкослойная хроматография (ТСХ) выполнялась на алюминиевых пластинках с покрытием из силикагеля (толщина 0.2 мм, флуоресцентный индикатор F254, производства Merck).

^1H ЯМР, ^{31}P ЯМР, ^1H - ^{15}N НМВС ЯМР спектры были записаны при 25 °С с помощью спектрометров Bruker Avantes III, 600 и 300 МГц для ^1H , 75 МГц для ^{13}C , и 162 МГц для ^{31}P . Сигналы ЯМР спектров отнесены к остаточным пикам растворителей.

Электронные спектры поглощения (ЭСП) были получены при комнатной температуре на спектрофотометре Evolution 210 (Thermo Scientific) в 1 см прямоугольных кварцевых кюветах. Длины волн (λ) даны в нанометрах (нм).

Спектры флуоресценции (Φ_F , $\lambda_{\text{ex}} = 425$ нм) были записаны при комнатной температуре с помощью спектрофлуориметра Jasco FP-8300 в EtOH.

4.2. Методы исследования

Квантовые выходы флуоресценции (Φ_F , $\lambda_{ex} = 425$ нм) определяли в EtOH сравнительным методом с использованием тетрафенилпорфирина H₂TPP в качестве стандарта ($\Phi_{st} = 0,11$ в толуоле [301]). Значения Φ_F были рассчитаны с помощью сравнительного метода с использованием уравнения:

$$\Phi_F = \Phi_{st} \frac{F A_{st} n^2}{F_{st} A n_{st}^2}$$

где Φ_F , Φ_{st} – квантовые выходы флуоресценции; F , F_{st} – площади под кривыми спектров эмиссии; A , A_{st} – величины поглощения на частоте возбуждения; n , n_{st} – коэффициенты преломления растворителей для исследуемого вещества и стандарта соответственно.

Квантовые выходы генерации синглетного кислорода (Φ_Δ , $\lambda_{ex} = 555$ нм) были измерены с применением волоконно-оптического спектрофотометра AvaSpec-ULS2048CL-EVORS-UA (Avantes, Нидерланды) и монохроматора-спектрографа (MS2004i) с термостатируемое кюветное отделение с возможностью перемешивания CUV-UV/VIS-TCABS/FL (Ocean Optics). В качестве стандарта с известным квантовым выходом был использован метиленовый голубой ($\Phi_\Delta=0.57$ в EtOH [303]). В качестве ловушки для синглетного кислорода в EtOH использовался 1,3-дифенилизобензофуран (ДФБФ). Для расчётов использовалось уравнение:

$$\Phi_\Delta = \Phi_{\Delta st} \frac{R \times I_{st}}{R_{st} \times I}$$

где Φ_Δ , $\Phi_{\Delta st}$ – квантовые выходы; R , R_{st} – скорости обесцвечивания ДФБФ; I , I_{st} – интегральные поглощения для измеряемого образца и стандарта соответственно.

Относительная скорость реакции фотообесцвечивания ($\Gamma_{отн}$) была измерена с применением оптоволоконной экспериментальной установки Avantes в режиме контроля времени при облучении образца лазером с длиной волны 405 нм. Для расчётов использовалось уравнение:

$$r_{\text{отн}} = \frac{C}{t \cdot A}$$

где C –концентрация комплекса в растворе, t –время, C/t –скорость реакции фотообесцвечивания, A –поглощение при 405 нм в начале эксперимента.

Измерения **циклической вольтамперограммы (ЦВА)** выполнялись с помощью электронного потенциостата IPC-compact, управляемого программным пакетом Intelligent Potentiostat Control S2 ver. 8.65, оба разработаны в ИФХЭ РАН, Москва, Россия. В электрохимической ячейке использовалась трехэлектродная установка с рабочим электродом из платиновой сетки, вспомогательным электродом из платиновой проволоки и электродом сравнения [Ag / AgCl, 3,5 М KCl]. Корпус кюветы был изготовлен из полированного плавленого кварца с различной толщиной стенок. Платиновый сетчатый электрод помещали в узкую точку ячейки (2 мм), чтобы минимизировать длину оптического пути раствора, подвергающегося окислительно-восстановительным процессам для спектральных измерений *in situ* в УФ-видимой-ближней ИК-области.

Последние выполнялись с использованием комбинации спектрометров Avantes SmartLine AvaSpec-ULS2048CL-EVO-RS и Avantes AvaSpec-NIR256-1.7, которые позволяли регистрировать оптическую плотность в УФ-видимой и ближней инфракрасной областях соответственно. Спектрометры были подключены к держателю кюветы, где размещалась электрохимическая ячейка, через разветвленное оптическое волокно. Освещение образца для спектральных измерений обеспечивалось сбалансированным дейтериево-галогеновым источником света Avantes Ava-Light-DH-S-BAL. Как оптическое волокно источника света, так и оптическое волокно, ведущее к детекторам, подключенным к держателю ячейки через пару коллимирующих линз, гарантируя, что фактическое измерение происходит через рабочий сетчатый электрод. Перед образцом был вставлен длиннопроходный оптический

фильтр, блокирующий любой свет с длиной волны ниже 350 нм, чтобы исключить возможное фотообесцвечивание образцов.

Клеточные линии

Клеточные линии аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и аденокарциномы легкого человека A-549 были культивированы в полной ростовой среде ДМЕМ, включающей 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 2 mM L-глутамина и 1% раствора пенициллина (100 U/мл) и стрептомицина (100 мкг/мл). Пересев клеток осуществлялся с помощью раствора трипсина (0.25%) каждые 3–4 дня при достижении клеточной культурой 80–90% конфлюэнтности в соответствии со стандартными протоколами

Дефосфорилирование в растворе

К растворам исследуемых соединений в фосфатно-солевом буфером (PBS, pH 7.4) добавили 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) и инкубировали в течение 2 дней. Для контроля протекания процесса дефосфорилирования спектры эмиссии через 5 минут после смешивания, через 1 день и через 2 дня были записаны при комнатной температуре с помощью спектрофлуориметра Jasco FP-8300 при возбуждении $\lambda = 550$ нм.

Дефосфорилирование в клетках

Клетки A-549 высаживали в два 96-луночных планшета (плотность 10^6 клеток на лунку) в полной ростовой среде ДМЕМ с последующей инкубацией в течение ночи. Соответствующие рабочие растворы тестируемых соединений готовили непосредственно перед экспериментами. Затем среду удаляли из 96-луночных планшетов и добавляли новую среду: в один планшет добавляли среду ДМЕМ без FBS, а в другой – ДМЕМ с добавлением 10% FBS. Затем в каждый из планшетов добавляли аликвоты соединений (200 мкл, 100 мкМ). После 1 ч инкубации среду удаляли и лунки дважды промывали физиологическим раствором, а затем добавляли 1 мл ДМСО для получения лизатов. Спектры эмиссии лизатов были записаны при комнатной температуре с помощью спектрофлуориметра Jasco FP-8300 в ДМСО при возбуждении $\lambda = 550$ нм.

Флуоресцентная визуализация

Клетки A-549 были высажены в 8-луночные слайд-флаконы (плотность 10^5 клеток на лунку) и инкубированы в течение ночи в атмосфере 5% CO_2 при 37°C . Затем 400 мкЛ исследуемых комплексов порфиринов в концентрации 50 мкМ) в полной ростовой среде ДМЕМ были добавлены к клеткам и проинкубированы в темноте в течение часа. Далее клетки были трижды промыты фосфатно-солевым буфером (рН 7.4), зафиксированы 4% параформальдегида и дополнительно инкубированы с красителем Hoechst 33258 (50 мкМ) в течение 15 минут для визуализации клеточных ядер. Флуоресцентные изображения клеток были получены на конфокальном микроскопе Leica TCS SPE (Leica, ФРГ) при возбуждении $\lambda = 405$ нм, эмиссия записана при $\lambda = 450-800$ нм.

Изучение накопления. Клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 высаживали в 6-луночные планшеты (по 10^5 клеток на лунку) и инкубировали в течение 48 часов. Затем среду удаляли с планшета, и аликвоты соединений (1,5 мл) добавляли в соответствующие лунки. Рабочие растворы исследуемых соединений (0,5 мкМ) в полной ростовой среде ДМЕМ готовили непосредственно перед экспериментами. После 5, 30 и 60 мин инкубации клетки собирали и анализировали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентного канала APC. Для каждой выборки было исследовано 20 000 событий.

Оценка цитотоксичности.

Клетки были высажены в 96-луночные планшеты (плотность 5×10^3 клеток на лунку) и инкубированы в течение ночи в атмосфере 5% CO_2 при 37°C . Далее ростовая среда была замещена аликвотами (100 мкл) растворов исследуемых порфиринов) в полной ростовой среде ДМЕМ, приготовленных непосредственно перед экспериментом. Клетки с веществами инкубировались в течение часа, после чего были подвергнуты облучению LED-источником (450 или 660 нм, 3.5 Дж/см^2). Выживаемость клеток была определена при помощи МТТ-теста через 48 ч. Для этого клетки были обработаны раствором

0.5 мг/мл МТТ-реагента (3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромид) в течение 3 часов. Затем среда с МТТ-реагентом была заменена на 100 мкл ДМСО для растворения формазана, образующегося в результате восстановления МТТ-реагента. Была зарегистрирована оптическая плотность при 565 нм при помощи планшетного спектрофотометра (Infinite M Nano reader, Tecan, Швейцария). Уровень выживаемости клеток, инкубированных без порфиринов, был принят за 100%. Для каждого вещества было проведено три независимых эксперимента.

Аналогичным образом были проведены исследования темновой токсичности, за исключением того, что в этом случае не проводилось облучение клеток.

Детекция АФК внутри клеток

Клетки были высажены в два 6-луночных планшета (плотность 10^5 клеток на лунку) и инкубированы в течение ночи в атмосфере 5% CO_2 при 37°C . Затем, исследуемые порфирины были добавлены к клеткам в концентрации 0,1 мкМ, 0.5 мкМ и 1 мкМ в полной среде ДМЕМ и инкубировались в течение 60 минут. Далее к клеткам был добавлен раствор 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетат ($\text{ДФ}\cdot 2\text{Н}\cdot 2\text{ОAc}$) в физиологическом растворе в концентрации 2 мкМ. После 15 минут инкубации клетки в одном из планшетов были подвергнуты облучению LED-источником (660 нм, $3.5 \text{ Дж}/\text{см}^2$), после чего инкубировались в течение 15 минут. После клетки собирали и анализировали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентного канала FITC-H при возбуждении флуоресценции 2',7'-дихлорфлуоресцеина (DCF, продукт реакции $\text{ДФ}\cdot 2\text{Н}\cdot 2\text{ОAc}$ с АФК) при 488 нм. Для каждой выборки было исследовано 20 000 событий.

Изучение пути клеточной смерти

Клетки были высажены в два 6-луночных планшета (плотность 10^5 клеток на лунку) и инкубированы в течение ночи в атмосфере 5% CO_2 при 37°C . Затем, исследуемые порфирины были добавлены к клеткам в концентрации 0,1 мкМ в полной среде ДМЕМ и инкубировались в течение 30 минут. После чего клетки были сняты с поверхности роста трипсином и промыты 200 мкл буфера для

связывания аннексина V. После чего к суспензии клеток в 100 мкл буфера для связывания было добавлено 10 мкл 0.1 мг/мл аннесина V и спустя 15 минут 10 мкл 0.01 мг/мл пропидия йодида. После 1.5 часа инкубации в темноте клетки собирали и анализировали методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентного канала FITC-H. Для каждой выборки было исследовано 20 000 событий.

Изучение воздействия на митохондрии

Клетки были высажены в два 6-луночных планшета (плотность 10^5 клеток на лунку) и инкубированы в течение ночи в атмосфере 5% CO₂ при 37°C. Затем, исследуемые порфирины были добавлены к клеткам в концентрации 0,1 мкМ, 0.5 мкМ и 1 мкМ в полной среде DMEM и инкубировались в течение 30 минут. К образцу контроля был добавлен 1 мкл 10 мкМ раствора СССР. После чего клетки были сняты с поверхности роста трипсином и промыты 200 мкл 1% раствора FBS в физиологическом растворе. Затем к клеткам было добавлено по 20 мкл 2мкМ раствора JC-1. После инкубации клеток с JC-1 в течение 30 минут удалили среду с красителем и добавили 200 мкл 1% раствора FBS в физиологическом растворе. Анализ проводили методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентного канала FITC-H. Для каждой выборки было исследовано 20 000 событий.

Исследования цитотоксичности в условиях гипоксии

Клетки высевали в 96-луночный планшет (5×10^3 клеток на лунку) в полной среде DMEM, после чего инкубировали в течение ночи в камере гипоксического инкубатора (5% O₂, 5% CO₂). Соответствующие рабочие растворы исследуемых соединений готовили непосредственно перед экспериментами. Затем среду удаляли из 96-луночного планшета, в каждую лунку добавляли аликвоты соединений (100 мкл), после чего планшет помещали в камеру гипоксического инкубатора (5% O₂, 5% CO₂). Для индукции фотоактивации планшеты обрабатывали светом с длиной волны 660 нм, доза облучения 3,5 Дж/см². В качестве контроля использовали клетки без какой-либо обработки (100%). Жизнеспособность клеток определяли методом

МТТ-анализа после 72 часов инкубации. Для этой цели клетки обрабатывали раствором МТТ (0,5 мг/мл) в течение 2 часов. Затем среду заменяли 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Оптическую плотность при 570 нм измеряли с помощью считывателя Varioskan Flash (Thermo Scientific, США).

Влияние глюкозы на выживаемость клеток

Клетки аденокарциномы легких человека А-549 были посеяны в 96-луночный планшет (5×10^3 клеток на лунку) в полной среде RPMI, содержащей 2 мг/мл глюкозы, с последующей инкубацией в течение ночи. В другой 96-луночный планшет клетки А-549 были посеяны в полной среде RPMI с добавлением глюкозы (до концентрации 10 мг/мл). Соответствующие рабочие растворы исследуемых соединений были приготовлены непосредственно перед экспериментами. Затем среда была удалена из 96-луночного планшета, и в каждую лунку были добавлены аликвоты соединений (100 мкл). Клетки без какой-либо обработки использовались в качестве контроля (100%). Жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-анализа после 72 часов инкубации. Для этого клетки обрабатывали раствором МТТ (0,5 мг/мл) в течение 2 часов. Затем среду заменили 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Оптическую плотность при 570 нм измеряли с помощью считывателя Varioskan Flash (Thermo Scientific, США).

Окисление НАДН в клетках

Клетки аденокарциномы легких человека А-549 высевали в 6-луночный планшет (10×10^4 клеток на лунку) в полной среде DMEM с последующей инкубацией в течение ночи. Затем к клеткам добавляли порфирин 1 в концентрациях 0,1 нМ, 0,5 нМ и 5 нМ в полной среде DMEM и инкубировали в течение 1 дня. После этого клетки удаляли с поверхности роста с помощью трипсина, промывали 0,9%-ным раствором NaCl в воде и раствором в буфере RIPA. Затем регистрировали спектры излучения лизатов при $\lambda_{ex} = 350$ нм. В качестве контроля использовали необработанные клетки. В спектрах излучения всех образцов наблюдались два сигнала: при 390 нм (окисленная

форма НАД+) и при 430 нм (восстановленная форма НАДН). Для каждой концентрации порфирина рассчитывалось отношение интенсивности излучения при 390 нм к 430 нм.

Влияние антиоксидантов на выживаемость клеток

Клетки высевали в 96-луночный планшет (5×10^3 клеток на лунку) в полной среде DMEM с добавлением антиоксидантов, после чего проводили инкубацию в течение ночи. Соответствующие рабочие растворы 0,5 мкМ порфирина 1 в полной среде DMEM готовили непосредственно перед экспериментами. Затем среду удаляли из 96-луночного планшета, и в каждую лунку добавляли аликвоты соединений (100 мкл). Дополнительно в среду добавляли 0,5 мМ аскорбиновой кислоты, 2,0 мМ азид натрия (NaN_3) и 2,5 мМ гистидина в качестве антиоксидантов. Для индукции фотоактивации планшеты обрабатывали светом с длиной волны 660 нм, доза облучения 3,5 Дж/см². В качестве контроля использовали клетки без какой-либо обработки (100%). Жизнеспособность клеток определяли методом МТТ-анализа после 72 часов инкубации. Для этого клетки обрабатывали раствором МТТ (0,5 мг/мл) в течение 2 часов. Затем среду заменяли 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Оптическую плотность (ОП) при 570 нм измеряли с помощью считывателя Varioskan Flash (Thermo Scientific, США).

4.3. Получение порфиринов и их комплексов.

5,10,15,20-тетрафенилпорфирин, H₂TPP (1)

5-монопиридил-(10,15,20)-трифенилпорфирин, H₂MPyP (2)

(5,15)-дипиридил-(10,20)-дифенилпорфирин, H₂trans-DPyP (3)

(5,10)-дипиридил-(15,20)-дифенилпорфирин, H₂cys-DPyP (4)

(5,10,15)-трипиридил-20-фенилпорфирин, H₂ThreeDPyP (5)

5,10, 15,20-тетрапиридилпорфирин, H₂TetraPyP (6)

К 250 мл пропионовой кислоты добавили пиррол (3 мл, 43.24 ммоль, 3 экв.), 4-пиридинкарбоксальдегид (2.70 мл, 28.66 ммоль, 2 экв.) и бензальдегид (1.47 мл, 14.33 ммоль, 1 экв.) при комнатной температуре в токе аргона, который

затем пропускали в течение 15 минут. Затем смесь кипятили с обратным холодильником в течение 145 минут и остужали до комнатной температуры. К 400 мл этанола при перемешивании добавили полученный черный раствор и оставили в холодильнике на ночь. Образовавшийся фиолетовый осадок отфильтровали, промывая этанолом. Полученный осадок растворили в CHCl_3 и упарили для удаления летучих примесей, а затем разделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. H_2TRP (**1**) был собран первой фракцией (40 мг, 0.6 % выход, элюент – н-гексан – CH_2Cl_2 (1:1)). $\text{H}_2\text{MonoPyP}$ (**2**) был выделен второй фракцией (241 мг, 3.6 % выход, элюент – CH_2Cl_2). Увеличение полярности элюента (CH_2Cl_2 – MeOH (99:1)) позволило выделить $\text{H}_2\text{trans-DiPyP}$ (**3**) третьей фракцией (515 мг, 7.7 %). Четвертой фракцией был выделен $\text{H}_2\text{sus-DiPyP}$ (**4**), используя элюент CH_2Cl_2 – MeOH (97:3) (115 мг, 1.7 %). Поднимая полярность элюента CH_2Cl_2 – MeOH (96:4) и (90:10) были соответственно выделены фракции, содержащие H_2TriPyP (**5**) (76 мг, 1.1 %) и H_2TPyP (**6**) (30 мг, 0.4 %). Выделенные фракции доочищались с помощью ГПХ (Bio-Beads S-X1, элюент: хлороформ-метанол 98:2).

H_2TRP - ^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.77 (s, 2H, NH), 7.77 (m, 12H, *m*- и *p*-фенил), 8.22 (d, $^3J = 6.8$ Гц, 8H, *o*-фенил), 8.84 (s, 8H, β -пирр.).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 418, 512, 547, 588, 644

$\text{H}_2\text{MonoPyP}$ - ^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.80 (s, 2H, NH), 7.77 (m, 9H, *m*- и *p*-фенил), 8.18 (m, 2H, *o*-пиридил), 8.21 (m, 6H, *o*-фенил), 8.80 (d, $^3J = 4.4$ Гц, 2H, β -пирр), 8.86 (s, 4H, β - пирр), 8.89 (d, $^3J = 4.4$ Гц, 2H, β -пирр), 9.04 (m, 2H, *m*-пиридил).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 418, 512, 547, 588, 644

$\text{H}_2\text{trans-DiPyP}$ - ^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.84 (s, 2H, NH), 7.77 (m, 6H, *m*- и *p*-фенил), 8.18 (m, 4H, *o*-пиридил), 8.21 (d, $^3J = 6.9$ Гц, 4H, *o*-фенил), 8.81 (d, $^3J = 4.3$ Гц, 4H, β -пирр), 8.91 (d, $^3J = 4.3$ Гц, 4H, β -пирр), 9.04 (m, 4H, *m*-пиридил).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 418, 512, 547, 588, 644

H₂cys-DiPyP - ¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.83 (s, 2H, NH), 7.77 (m, 6H, *m*- и *n*-фенил), 8.17 (d, ³J = 5.7 Гц, 4H, *o*-фенил), 8.21 (d, ³J = 7.0 Гц, 4H, *o*-пиридил), 8.81 (d, ³J = 4.9 Гц, 4H, β- пирр), 8.91 (d, ³J = 4.9 Гц, 4H, β- пирр), 9.04 (d, ³J = 4.9 Гц, 4H, *m*- пиридил).

ЭСП (CHCl₃) λ, нм: 418, 512, 547, 588, 644

H₂TriPyP - ¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.94 (s, 2H, NH), 7.77 (m, 3H, *m*- и *n*-фенил), 8.18 (m, 6H, *o*-пиридил), 8.85 (d, ³J = 4.5 Гц, 2H, β-пирр), 8.89 (d, ³J = 4.4 Гц, 4H, β-пирр), 8.92 (d, ³J = 4.5 Гц, 2H, β-пирр), 9.04 (m, 6H, *m*-пиридил).

ЭСП (CHCl₃) λ, нм: 418, 512, 547, 588, 644

H₂TPyP -¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.94 (s, 2H, NH), 8.13 (m, 8H, *o*-пиридил), 8.84 (s, 8H, β-пирр), 9.03 (m, 8H, *m*-пиридил).

ЭСП (CHCl₃) λ, нм: 418, 512, 547, 588, 644

**Диэтокси(5,10,15,20-тетрафенилпорфиригато)фосфор(V) бромид,
[(TPP)P(OEt)₂]⁺Br⁻ (1-OEt)**

Свободное основание порфирина H₂TPP (**1**) (50 мг, 0.081 ммоль, 1 экв.) растворили в пиридине (5 мл) под током аргона. К полученному раствору по каплям добавили раствор POBr₃ (0.57 г, 1.97 ммоль, 25 экв) в пиридине (5 мл) при перемешивании. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником под аргоном 30 мин и затем охлаждали до комнатной температуры. В зеленую реакционную массу добавили с 2 мл EtOH и оставили на ночь перемешиваться. Далее смесь экстрагировали CH₂Cl₂ и промывали водой. Полученный раствор в CH₂Cl₂ перенесли на хроматографическую колонку на Al₂O₃. В качестве элюента использовалась система CH₂Cl₂ – EtOH с постепенным увеличением доли метанола (100:0) до (90:10), что привело к выделению продукта, который затем доочищали с помощью ГПХ (Bio-Beads S-X1, элюент: хлороформ-метанол 97.5:2.5). Чистый комплекс был получен в виде фиолетового порошка (42 мг, 64% выход).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.34 (m, 4H, CH₂), -1.79 (m, 6H, CH₃), 7.79 (m, 12H, *m*- и *n*-фенил), 7.95 (m, 8H, *o*-фенил), 9.07 (d, *J* = 2.7 Гц, 8H, β-пирр).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -180.

¹³C ЯМР (CDCl₃, 125 МГц) δ, м.д.: 13.1 (CH), 56.9 (C), 115.4 (C), 128.6 (CH), 129.9 (CH), 132.2 (CH), 133.3 (CH), 135.4 (C), 139.2 (C).

ЭСП (CHCl₃) λ_{max}, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 432 (5.44), 560 (4.23), 602 (4.02).

HR-ESI MS: *m/z* эксп. 733.2737, расч. 733.2727 [(M-Br)⁺], M = C₄₈H₃₈BrN₄O₂P.

Диэтокси(5-пиридил-(10,15,20)-трифенилпорфиригато)фосфор(V) бромид [(MonoPyP)P(OEt)₂]⁺Br⁻ (2-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия H₂MonoPyP (**2**) (0.095 г, 0.15 ммоль, 1 экв.) и POBr₃ (1.77 г, 6.17 ммоль, 40 экв.) в пиридине (50 мл) получено 38 мг продукта (59%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.34 (m, 4H, CH₂), -1.74 (m, 6H, CH₃), 7.77-7.82 (m, 9H, *m*- и *n*-фенил), 7.95-7.97 (m, 8H, *o*-фенил + *o*-пиридил), 9.04-9.13 (m, 10H, β-пирр + *m*-пиридил).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -180.

¹³C ЯМР (CDCl₃+DMCO-d₆, 125 МГц) δ, м.д.: 13.1 (CH), 56.9 (C), 112.2 (C), 116.7 (C), 117.0 (C), 128.0 (CH), 128.7 (CH), 129.9 (CH), 130.0 (CH), 132.5 (CH), 133.4 (CH), 133.5 (CH), 133.6 (CH), 134.1 (CH), 135.1 (CH), 135.2 (C), 138.1 (C), 139.2 (C), 139.3 (C), 139.5 (C), 149.6 (CH).

ЭСП (CHCl₃) λ_{max}, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 433 (5.16), 560 (3.92), 602 (3.50).

HR-ESI MS: *m/z* эксп. 734.4825, расч. 734.2679 [(M-Br)⁺]; M = C₄₇H₃₈BrN₅O₂P.

Диэтокси((5,15)-дипиридил-(10,20)-дифенилпорфиригато)-фосфор(V) бромид, [(trans-DiPyP)P(OEt)₂]⁺Br⁻ (3-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия H₂trans-DiPyP (**3**) (0.073 г, 0.118 ммоль, 1 экв.) и POBr₃ (1.8 г, 6.3 ммоль, 53 экв.) в пиридине (60 мл) получено 24 мг продукта (54%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.34 (m, 4H, CH₂), -1.74 (m, 6H, CH₃) 7.81 (m, 6H, *m*- и *n*-фенил), 8.00 (m, 8H, *o*-фенил + *o*-пиридил), 9.13 (m, 10H, *m*-пиридил + β-пирр).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -180.

¹³C ЯМР (CDCl₃, 151 МГц) δ, м.д.: 113.0 (C), 127.9 (C), 128.6 (CH), 130.1 (CH), 130.6 (CH), 132.8 (CH), 133.4 (CH), 134.1 (CH), 134.2 (C), 135.0 (C), 138.2 (C), 139.6 (C), 143.4 (C), 149.9 (CH).

ЭСП (CHCl₃) λ_{max}, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 430 (5.07), 560 (3.93), 600 (3.48).

HR ESI MS: m/z эксп.: 735.2614, расч.: 735.2632 [(M-Br)⁺]; M = C₄₆H₃₆BrN₆O₂P.

Диэтокси((5,10)-дипиридил-(15,20)-дифенилпорфиринато)-фосфор(V) бромид, [(cys-DiPyP)P(OEt)₂]⁺Br⁻ (4-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия H₂cys-DiPyP (**4**) (50 мг, 0.08 ммоль, 1 экв.) и POBr₃ (1,13 г, 3.945 ммоль, 50 экв.) в пиридине (40 мл) получено 13 мг продукта (22%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.34 (m, 4H, CH₂), -1.75 (t, ³J = 7.2 Гц, 6H, CH₃), 7.80 (m, 6H, *m*- и *n*-фенил), 7.96 (d, ³J = 6.9 Гц, 4H, *o*-фенил), 7.98 (d, ³J = 5.4 Гц, 4H, *o*-пиридил), 9.07 (m, 2H, β-пирр), 9.12 (m, 6H, β-пирр), 9.16 (m, 4H, *o*-пиридил).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -180.

ЭСП (CHCl₃) λ_{max}, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 432 (5.44), 560 (4.24), 595 (3.54).

Диэтокси((5,10,15)-трипиридил-(20)-фенилпорфиринато)-фосфор(V) бромид, [(TriPyP)P(OEt)₂]⁺Br⁻ (5-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия TriPyPH₂ (**5**) (50 мг, 0.077 ммоль, 1 экв.) и POBr₃ (1.57 г, 5.41 ммоль, 70 экв.) в пиридине (50 мл) получено 9 мг продукта (16%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: -2.33 (m, 4H, CH₂), -1.76 (t, 6H, ³J = 6.9 Гц, CH₃), 7.81 (dd, J = 12.7 Гц, J = 7.1 Гц, 6H, *m*- и *n*-фенил), 7.96 (d, J = 7.2 Гц, 4H,

o-фенил), 7.99 (d, $J = 5.5$ Гц, 6H, *o*-пиридил), 9.09 (d, $J = 5.4$ Гц, 6H, β -пирр), 9.10 (m, 2H, β -пирр), 9.14 (d, $J = 2.8$ Гц, 2H, *o*-пиридил). 9.17 (m, 2H, *o*-пиридил).
 ^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (CHCl_3) λ_{max} , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 427 (5.36), 554 (3.98), 595 (3.49)

Диэтокси(5,10,15,20)-тетрапиридилпорфиригато)фосфор(V) бромид, [(TetraPyP)P(OEt) $_2$] $^+\text{Br}^-$ (6- OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия $\text{H}_2\text{TetraPyP}$ (**6**) (53 мг, 0,086 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (2,21 г, 7,71 ммоль, 90 экв.) в пиридине (70 мл) получено 8 мг продукта (13%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.34 (m, 4H, CH_2), -1.77 (m, 6H, CH_3), 8.17 (m, 8H, *o*-пиридил), 8.97 (m, 8H *m*-пиридил), 9.04 (d, $J = 1.7$ Гц, 8H β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (CHCl_3) λ_{max} , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 427 (5.41), 558 (4.10), 600 (3.81).

Диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфиригато)фосфор(V) бромид, [(MeP) $_4$ P(OEt) $_2$] $^+\text{Br}^-$ (7-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфирин H_2MeP (**7**) (0.050 г, 0.075 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.427 г, 1.490 ммоль, 20 экв.) в течение 30 минут получено 34 мг продукта (57%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.36 (m, 4H, CH_2), -1.76 (m, 6H, CH_3), 2.63 (s, 12H, OMe), 7.57 (d, 8H, *m*-фенил), 7.82 (d, 8H, *o*-фенил), 9.05 (d, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (DMCO) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 438 (5.42), 565 (4.17), 608 (3.85).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 435, 563, 606.

Диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-метоксифенил)порфириinato)фосфор(V) бромид, $[(\text{MeOP})_4\text{P}]\text{P}(\text{OEt})_2^+\text{Br}^-$ (8-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфирин H_2MeOP (**8**) (0.050 г, 0.068 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.390 г, 1.360 ммоль, 20 экв.) в течение 15 минут получено 29 мг продукта (49%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.32 (m, 4H, CH_2), -1.77 (m, 6H, CH_3), 4.04 (s, 12H, OMe), 7.30 (d, 8H, *m*-фенил), 7.86 (d, 8H, *o*-фенил), 9.05 (d, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (ДМСО) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 449 (5.24), 571 (4.04), 618 (4.01).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 448, 569, 618.

Диэтокси(5,10,15,20-тетра(*t*-бутилфенил)порфириinato)фосфор(V) бромид, $[(\text{t-BuP})]\text{P}(\text{OEt})_2^+\text{Br}^-$ (9-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*tert*-бутилфенил)порфирин $\text{H}_2\text{t-BuP}$ (**9**) (0.050 г, 0.055 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.321 г, 1.120 ммоль, 20 экв.) в течение 30 минут получено 20 мг продукта (32%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.36 (m, 4H, CH_2), -1.75 (m, 6H, CH_3), 1.53 (s, 36H, t-Bu), 7.78 (d, 8H, *m*-фенил), 7.87 (d, 8H, *o*-фенил), 9.07 (d, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (ДМСО) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 440 (5.36), 567 (4.14), 611 (3.91).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 436, 564, 608.

Диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-карбоксиметилфенил)порфириinato)-фосфор(V) бромид, $[(\text{COOMeP})_4\text{P}]\text{P}(\text{OEt})_2^+\text{Br}^-$ (10-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфирин H_2COOMeP (**10**) (0.050 г, 0.059

ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.339 г, 1.180 ммоль, 20 экв.) в течение 120 минут получено 12 мг продукта (10 %).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.32 (m, 4H, CH_2), -1.74 (m, 6H, CH_3), 4.07 (s, 12H, COOMe), 8.09 (d, 8H, *m*-фенил), 8.45 (d, 8H, *o*-фенил), 9.09 (d, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (DMCO) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 433 (5.58), 561 (4.14), 602 (3.72).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 431, 559, 599.

Диэтокси(5,10,15,20-тетра(*n*-цианофенил)порфириinato)фосфор(V) бромид, $[\text{((CNP)}_4\text{P)P(OEt)}_2]^+\text{Br}^-$ (11-OEt)

Получали по методике, описанной для **1-OEt**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*n*-цианофенил)порфирин H_2CNP (**11**) (0.060 г, 0.085 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.963 г, 3.357 ммоль, 40 экв.) в течение 30 минут получено 5 мг продукта (12%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -2.29 (br.s, 4H, CH_2), -1.75 (br.s, 6H, CH_3), 8.12-8.16 (m, 16H, *m*-фенил+*o*-фенил), 9.10 (br.s, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -179.

ЭСП (DMCO) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 433 (5.60), 560 (4.28), 600 (3.71).

ЭСП (CHCl_3) λ , нм: 431, 559, 602.

Дигидрокси(5,10,15,20-тетрафенилпорфириinato)фосфор(V) бромид, $[\text{(TRP)P(OH)}_2]^+\text{Br}^-$ (1-OH)

Свободное основание порфирина H_2TRP (**1**) (50 мг, 0.081 ммоль, 1 экв.) растворили в пиридине (5 мл) под током аргона. К полученному раствору по каплям добавили раствор POBr_3 (0.55 г, 2.025 ммоль, 25 экв.) в пиридине (5 мл) при перемешивании. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником под аргоном 30 мин и затем охлаждали до комнатной температуры. После этого, к реакционной массе добавили 5 мл дистиллированной воды и оставили на ночь перемешиваться. Далее смесь

экстрагировали CH_2Cl_2 , промывали водой и очищали с помощью колоночной хроматографии как описано для **1-ОEt**. Чистый комплекс **1-ОН** был получен в виде фиолетового порошка (34 мг, 68% выход).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: -1.90 (s, 1H, OH), -1.95 (s, 1H, OH), 7.66-7.72 (m, 12H, *m*- и *n*-фенил), 8.01 (d, $^4J = 7.3$ Гц, 8H *o*-фенил), 8.75 (d, $^4J = 2.6$ Гц, 8H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -194.

ЭСП (CHCl_3) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 425 (5.42), 554 (4.21), 594 (3.92).

Дигидрокси(5-пиридил-(10,15,20)-трифенилпорфиринато)-фосфор(V) бромид, [(MonoPyP)P(OH) $_2$] $^+$ Br $^-$ (2-ОН)

Получали по методике, описанной для **1-ОН**. В результате взаимодействия $\text{H}_2\text{MonoPyP}$ (**2**) (50 мг, 0.079 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (0.906 г, 3.16 ммоль, 40 экв.) в пиридине (10 мл) получено 42 мг продукта (64%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: 7.71 (m, 9H, *m*- и *n*-фенил), 7.94 (m, 2H, *o*-пиридил), 8.01 (m, 6H, *o*-фенил), 8.66 (d, $^3J = 5.1$ Гц, 2H, β -пирр), 8.76 (d, $^4J = 1.2$ Гц, 4H, β -пирр), 8.79 (d, $^3J = 5.1$ Гц, 2H, β -пирр), 8.91 (m, 2H, *m*-пиридил).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -193.

ЭСП (CHCl_3) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 428 (5.24), 556 (4.02), 598 (3.32).

(Дигидрокси((5,15)-дипиридил-(10,20)-дифенилпорфиринато)-фосфор(V) бромид, [(trans-DiPyP)P(OH) $_2$] $^+$ Br $^-$ (3-ОН)

Получали по методике, описанной для **1-ОН**. В результате взаимодействия $\text{H}_2\text{trans-DiPyP}$ (73 мг, 0.118 ммоль, 1 экв.) и POBr_3 (1.8 г, 6.3 ммоль, 53 экв) в пиридине (10 мл) получено 31 г продукта (61%).

^1H ЯМР (CDCl_3 , 600 МГц) δ , м.д.: 7.66-7.78 (m, 6H, *m*- и *n*-фенил), 7.90 (d, $^3J = 5.4$ Гц, 2H, *o*-пиридил), 7.95 (d, $^3J = 7.4$ Гц, 2H, *o*-фенил), 8.54 (d, $^3J = 4.8$ Гц, 2H, *m*-пиридил), 8.71 (m, 4H, β -пирр), 8.91 (m, 4H, β -пирр).

^{31}P ЯМР (CDCl_3 , 162 МГц) δ , м.д.: -180.

ЭСП (CHCl_3) λ , нм ($\log \epsilon$, моль $^{-1}$ л см $^{-1}$): 428 (5.08), 557 (4.12), 598 (3.24).

Ди-((3-оксипропил)окси)-(5-пиридил-(10,15,20)-дифенилпорфиринато)-фосфор(V) бромид, [(MonoPyr)P(O(PrOH)₂)]⁺Br⁻ (2-OPrOH)

Свободное основание порфирина H₂MonoPyr (1) (26 мг, 0.042 ммоль, 1 экв.) было растворено в пиридине (5 мл) под током аргона. Затем POBr₃ (0.484 г, 1.68 ммоль, 40 экв.), предварительно растворённый в пиридине (5 мл), был по каплям добавлен к смеси при перемешивании. Реакционная смесь кипятилась с обратным холодильником под аргоном 45 мин, после чего к остывшему до комнатной температуры раствору было добавлено 2 мл пропан-1,3-диола. Смесь перемешивалась 60 мин при комнатной температуре до тех пор, пока из зелёной не превратилась в фиолетовую. Далее смесь экстрагировали CH₂Cl₂, промывали водой и очищали с помощью колоночной хроматографии как описано для **1-OEt**. Чистый комплекс был получен в виде фиолетового порошка (14 мг, 42% выход).

¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ, м.д.: -2.26 (dt, ³J = 12.0 Гц, ³J = 5.9 Гц, 4H, P-O-CH₂), -1.27 (m, 4H, CH₂), 1.54 (t, ³J = 5.8 Гц, 4H, -CH₂-OH), 7.75 (m, 9H, *m*- и *p*-фенил), 8.00 (m, 6H, *o*-фенил), 8.08 (m, 2H, *o*-пиридил), 8.95 (m, 2H, *m*-пиридил), 8.98 (m, 2H, β-пирр), 9.03 (m, 6H, β-пирр).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -180.

¹³C ЯМР (CDCl₃, 125 МГц) δ, м.д.: 33.3 (C), 57.0 (C), 59.4 (C), 113.6 (C), 117.9 (C), 118.3 (C), 129.4 (CH), 129.9 (CH), 130.9 (CH), 133.8 (CH), 134.6 (CH), 134.7 (CH), 135.0 (CH), 136.8 (C), 139.6 (C), 140.7 (C), 140.8 (C), 140.9 (C), 146.1 (C), 150.1 (CH)

HR ESI MS: *m/z* расчёт для [C₄₉H₄₁N₅O₄P]⁺: 794.2891; эксп: 794.2821.

ЭСП (CHCl₃) λ, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 431 (5.26), 560 (4.00), 603 (3.39).

Ди(*p*-аминофенилокси)-((5,10,15,20-тетрафенил)порфиринато)фосфор(V) бромид, [(TPP)P(O-Ph-NH₂)₂]⁺Br⁻ (1-OPhNH₂)

Свободное основание порфирина H₂TPP (1) (50 мг, 0.081 ммоль, 1 экв.) растворили в пиридине (10 мл) под током аргона. К полученному раствору по каплям добавили раствор POBr₃ (0.55 г, 2.025 ммоль, 25 экв.) в пиридине (10

мл) при перемешивании и кипятили с обратным холодильником под аргоном 30 мин. Затем к реакционной массе по каплям добавили раствор *n*-аминофенола (0.707 г, 6.43 ммоль, 80 экв.) в пиридине (10 мл), при этом образовывался осадок во всем объеме реакционной массы. Полученную смесь наносили на хроматографическую колонку, заполненную окисью алюминия в системе *n*-C₆H₁₄: CH₂Cl₂ (50 : 50), постепенно повышая полярность до *n*-C₆H₁₄ : CH₂Cl₂ (0:100), после чего элюент заменяли на систему CH₂Cl₂ – MeOH с постепенным увеличением доли метанола (100:0) до (90:5). Продукт доочищали с помощью многократной колоночной хроматографии ГПХ (Bio-Beads S-X1, элюент: хлороформ-метанол 97,5:2,5). Чистый комплекс **1c** был получен в виде фиолетового порошка (5 мг, 9% выход).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: 1.97 (m, 4H, *o*-аминофенил), 5.28 (d, 4H, *m*-аминофенил), 7.70 -7.79 (m, 12H, *m*- и *n*-фенил), 7.68 (d, 8H *o*-фенил), 8.98 (d, 8H, β-пирр).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -189.

ЭСП (CHCl₃) λ, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 425 (4.31), 563 (3.18).

HR ESI MS: *m/z* расчёт для [C₅₆H₄₀N₆O₂P]⁺: 859.2945; эксп.: 859.2947.

Ди(*p*-аминофенилокси)-((5,10,15,20-тетрафенил)порфиригато)фосфор(V) бромид, [((MeP)₄P)P(O-Ph-NH₂)₂]⁺Br⁻ (7- OPhNH₂)

Получали по методике, описанной для **1-OPhNH₂**. В результате взаимодействия 5,10,15,20-тетра(*n*-метилфенил)порфирин H₂MeP (**7**) (0.050 г, 0.075 ммоль, 1 экв.) и POBr₃ (0.427 г, 1.490 ммоль, 20 экв.) в течение 30 минут получено 38 мг продукта (54%).

¹H ЯМР (CDCl₃, 600 МГц) δ, м.д.: 1.94 (m, 4H, *o*-аминофенил), 2.61 (s, 12H, CH₃) 5.25 (d, 4H, *m*-аминофенил), 7.50-7.53 (d, 12H, *m*-фенил), 7.71-7.74 (d, 8H *o*-фенил), 8.97 (d, 8H, β-пирр).

³¹P ЯМР (CDCl₃, 162 МГц) δ, м.д.: -189.

ЭСП (CHCl₃) λ, нм (logε, моль⁻¹ л см⁻¹): 440 (4.87), 569 (3.65).

ВЫВОДЫ

1. Оптимизирован метод синтеза и выделения порфиринов фосфора(V) для широкого ряда порфиринов с *мезо*-заместителями различной электронной природы. Показано, что увеличение числа электронно-донорных *мезо*-заместителей облегчает введение атома фосфора в полость макроцикла порфирина.
2. Установлено влияние электронной природы *мезо*-заместителей на оптические, фотофизические и фотохимические свойства порфиринов фосфора(V). Выявлено, что введение электронно-донорных *мезо*-заместителей способствует смещению полос поглощения и эмиссии в красную область спектра. При этом, квантовые выходы генерации синглетного кислорода и фотостабильность порфиринов P(V) с донорными *мезо*-заместителями оказались выше, чем для комплексов с акцепторными.
3. Показано, что введение –O-Ph-NH₂ лигандов в аксиальные положения P(V) в порфирине приводит к блокировке генерации синглетного кислорода и флуоресценции при pH > 6-7, а при снижении pH до 2-3 эти процессы полностью восстанавливаются за счет перехода –O-Ph-NH₂ лиганда в протонированную по NH₂-группам форму. Комплексы с аксиальными OH-группами продемонстрировали зависимость спектров эмиссии от кислотности среды в широком диапазоне pH (от 2 до 12), что делает их перспективными биосовместимыми флуоресцентными pH-сенсорами.
4. Показано, что комплексы с аксиальными –OH группами дефосфорилируются до свободных оснований порфиринов в присутствии клеточных белков, что может быть использовано для доставки в клетки нерастворимых в водных средах порфириновых лигандов через их производные P(V). Одновременно, данные комплексы демонстрируют субмикромольную фототоксичность против клеток аденокарциномы молочной железы A-549 и аденокарциномы легких MCF-7.

5. Впервые систематически изучено влияние природы *мезо*-заместителей и аксиальных лигандов на цитотоксичность порфиринов P(V). Комплексы с аксиальными –OEt группами демонстрируют наномолярную и пикомолярную фотоцитотоксичность в отношении клеток A-549 и MCF-7 при облучении светом 450 нм.
6. Обнаружено, что диэтоксипорфирилаты P(V) с донорными *мезо*-заместителями способны проявлять наномолярную фотоцитотоксичность при облучении красным светом (660 нм), что является первым примером цитотоксического эффекта комплексов порфиринов P(V) при облучении красным светом. Так, для комплекса с *n*-метокси-фенильными *мезо*-заместителями при облучении светом 660 нм IC₅₀ составили 4.5 и 14 нМ в отношении клеток A-549 и MCF-7, соответственно, что незначительно отличается от IC₅₀ при облучении светом 450 нм.
7. Выявлено, что в гипоксических условиях цитотоксический эффект порфиринов P(V) в темновых условиях увеличивается, что обусловлено наличием нескольких механизмов клеточной смерти. Показано, что основной механизм связан с разрушением клеточной мембраны и нарушением дыхательной цепи, что происходит как в темноте, так и на свету. Механизм световой цитотоксичности включает генерацию АФК при облучении, за которым следуют апоптоз либо некроз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] V.H. Fischer, H. Orth., Die Chemie des Pyrrols. II. Band: Pyrrolfarbstoffe. 1. Hälfte: Porphyrine – Hämin – Bilirubin und ihre Abkömmlinge, University of Miinchen, Germany. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1937. <https://doi.org/10.1002/ange.19380510110>.
- [2] S.A. Willstätter R., Willstätter R., Stoll A. Untersuchungen über Chlorophyll: Methoden und Ergebnisse, J. Springer, 1913.
- [3] K.M.S. Karl M Kadish, Roger Guilard, Handbook Of Porphyrin Science, 2010.
- [4] H.M. Castro-Cruz, N.A. Macías-Ruvalcaba, Porphyrin-catalyzed electrochemical hydrogen evolution reaction. Metal-centered and ligand-centered mechanisms, *Coord. Chem. Rev.* 458 (2022) 214430. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214430>.
- [5] S. Gu, A.N. Marianov, T. Lu, J. Zhong, A review of the development of porphyrin-based catalysts for electrochemical CO₂ reduction, *Chem. Eng. J.* 470 (2023) 144249. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.144249>.
- [6] D.C. da S. Martins, I.T. Resende, B.J.R. da Silva, Degradation features of pesticides: a review on (metallo)porphyrin-mediated catalytic processes, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (2022) 42384–42403. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19737-3>.
- [7] A.P. Kroitor, A.A. Sinelshchikova, M.S. Grigoriev, G.A. Kirakosyan, A.G. Martynov, Y.G. Gorbunova, A.B. Sorokin, Picket-fence ruthenium(II) phthalocyaninates bearing (1R,2S,5R)-menthoxy groups as prototype of chiral catalysts, *Dye. Pigment.* 222 (2024) 111830. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2023.111830>.
- [8] O.I. Koifman, T.A. Ageeva, I.P. Beletskaya, A.D. Averin, A.A. Yakushev, L.G. Tomilova, T. V. Dubinina, A.Y. Tsivadze, Y.G. Gorbunova, A.G. Martynov, D. V. Konarev, S.S. Khasanov, R.N. Lyubovskaya, T.N. Lomova, V. V. Korolev, E.I. Zenkevich, T. Blaudeck, C. von Borczyskowski, D.R.T. Zahn, A.F. Mironov, N.A. Bragina, A. V. Ezhov, K.A. Zhdanova, P.A. Stuzhin, G.L. Pakhomov, N. V. Rusakova, N.N. Semenishyn, S.S. Smola, V.I.

- Parfenyuk, A.S. Vashurin, S. V. Makarov, I.A. Dereven'kov, N.Z. Mamardashvili, T.S. Kurtikyan, G.G. Martirosyan, V. Burmistrov, V. V. Aleksandriiskii, I. V. Novikov, D.A. Pritmov, M.A. Grin, N. V. Suvorov, A.A. Tsygankov, A.Y. Fedorov, N.S. Kuzmina, A. V. Nyuchev, V.F. Otvagin, A. V. Kustov, D. V. Belykh, D.B. Berezin, A.B. Solovieva, P.S. Timashev, E.R. Milaeva, Y.A. Gracheva, M.A. Dodokhova, A. V. Safronenko, D.B. Shpakovsky, S.A. Syrbu, Y.A. Gubarev, A.N. Kiselev, M.O. Koifman, N.S. Lebedeva, E.S. Yurina, Macroheterocyclic compounds-a key building block in new functional materials and molecular devices, *Macroheterocycles* 13 (2020) 311–467. <https://doi.org/10.6060/mhc200814k>.
- [9] P.K. Poddutoori, Advances and opportunities in Group 15 porphyrin chemistry, *Dalt. Trans.* 52 (2023) 14287–14296. <https://doi.org/10.1039/D3DT02583G>.
- [10] M.R. Wasielewski, Energy, charge, and spin transport in molecules and self-assembled nanostructures inspired by photosynthesis, *J. Org. Chem.* 71 (2006) 5051–5066. <https://doi.org/10.1021/jo060225d>.
- [11] Z. Wang, Y. Hu, S. Zhang, Y. Sun, Artificial photosynthesis systems for solar energy conversion and storage: platforms and their realities, *Chem. Soc. Rev.* 51 (2022) 6704–6737. <https://doi.org/10.1039/D1CS01008E>.
- [12] D. Aebisher, J. Szpara, D. Bartusik-Aebisher, Advances in Medicine: Photodynamic Therapy, *Int. J. Mol. Sci.* 25 (2024) 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms25158258>.
- [13] J.H. Correia, J.A. Rodrigues, S. Pimenta, T. Dong, Z. Yang, Photodynamic therapy review: Principles, photosensitizers, applications, and future directions, *Pharmaceutics* 13 (2021) 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>.
- [14] H. Zheng, A review of progress in clinical photodynamic therapy, *Technol. Cancer Res. Treat.* 4 (2005) 283–293. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed7&N EWS=N&AN=2005263033>.

- [15] X. Xue, A. Lindstrom, Y. Li, Porphyrin-Based Nanomedicines for Cancer Treatment, *Bioconjug. Chem.* 30 (2019) 1585–1603. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00231>.
- [16] D. Dolphin, *The Porphyrin*, Academic Press, New York, 1979.
- [17] A.D. Adler, F.R. Longo, J.D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine, *J. Org. Chem.* 32 (1967) 476–476. <https://doi.org/10.1021/jo01288a053>.
- [18] K.Y. Li, P.H. Lu, B.H. Wu, S.P. Wu, A mitochondria-targeting near-infrared fluorescent probe for the in vivo detection of peroxynitrite, *Dye. Pigment.* 205 (2022) 110521. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110521>.
- [19] M. Blanco, M. Lunardon, M. Bortoli, D. Mosconi, L. Girardi, L. Orian, S. Agnoli, G. Granozzi, Tuning on and off chemical- And photo-activity of exfoliated MoSe₂nanosheets through morphologically selective “soft” covalent functionalization with porphyrins, *J. Mater. Chem. A* 8 (2020) 11019–11030. <https://doi.org/10.1039/d0ta03302b>.
- [20] X. Cui, Y. Li, Y. Li, B. Qiu, Q. Duan, Water-soluble sulfonate porphyrin functionalized hyaluronic acid with comb-like structure: Potential photosensitizers for photodynamic therapy, *Dye. Pigment.* 164 (2019) 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.01.034>.
- [21] P.B. Momo, B.S. Bellele, T.J. Brocksom, R.O.M.A. De Souza, K.T. De Oliveira, Exploiting novel process windows for the synthesis of meso-substituted porphyrins under continuous flow conditions, *RSC Adv.* 5 (2015) 84350–84355. <https://doi.org/10.1039/c5ra16962c>.
- [22] A.M. Slomp, S.M.W. Barreira, L.Z.B. Carrenho, C.C. Vandresen, I.F. Zattoni, S.M.S. Ló, J.C.C. Dallagnol, D.R.B. Ducatti, A. Orsato, M.E.R. Duarte, M.D. Nosedá, M.F. Otuki, A.G. Gonçalves, Photodynamic effect of meso-(aryl)porphyrins and meso-(1-methyl-4-pyridinium)porphyrins on HaCaT keratinocytes, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 27 (2017) 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.11.094>.
- [23] M.O. Senge, *Exercises in molecular gymnastics - Bending, stretching and*

- twisting porphyrins, *Chem. Commun.* (2006) 243–256. <https://doi.org/10.1039/b511389j>.
- [24] B. Evans, K.M. Smith, J.-H. Fuhrhop, Sterically crowded porphyrins: - tetraphenyl-octaethylporphyrin, *Tetrahedron Lett.* 18 (1977) 443–446. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)92661-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)92661-9).
- [25] S. Neya, T. Yoneda, H. Omori, T. Hoshino, A.T. Kawaguchi, M. Suzuki, Synthesis of 1,4,5,8-tetraethyl-2,3,6,7-tetravinylporphyrin from a Knorr's pyrrole analogue, *Tetrahedron* 73 (2017) 6780–6785. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.10.035>.
- [26] M.O. Senge, N.N. Sergeeva, K.J. Hale, Classic highlights in porphyrin and porphyrinoid total synthesis and biosynthesis, *Chem. Soc. Rev.* 50 (2021) 4730–4789. <https://doi.org/10.1039/c7cs00719a>.
- [27] D.K. Dogutan, S.H.H. Zaidi, P. Thamyongkit, J.S. Lindsey, New Route to ABCD-Porphyrins via Bilanes, *J. Org. Chem.* 72 (2007) 7701–7714. <https://doi.org/10.1021/jo701294d>.
- [28] G.P. Arsenault, E. Bullock, S.F. MacDonald, Pyrromethanes and Porphyrins Therefrom 1, *J. Am. Chem. Soc.* 82 (1960) 4384–4389. <https://doi.org/10.1021/ja01501a066>.
- [29] A. Boudif, M. Momenteau, A new convergent method for porphyrin synthesis based on a '3 + 1' condensation, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1996) 1235–1242. <https://doi.org/10.1039/P19960001235>.
- [30] N. Datta-Gupta, T.J. Bardos, Synthetic porphyrins. I. Synthesis and spectra of some para -substituted meso - Tetraphenylporphines, *J. Heterocycl. Chem.* 3 (1966) 495–502. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570030422>.
- [31] A.Z. Muresan, J.S. Lindsey, Design and synthesis of water-soluble bioconjugatable trans-AB-porphyrins, *Tetrahedron* 64 (2008) 11440–11448. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.08.096>.
- [32] T.S. Srivastava, M. Tsutsui, Unusual metalloporphyrins. XVI. Preparation and purification of tetrasodium meso-tetra(p-sulfophenyl)porphine. Easy procedure, *J. Org. Chem.* 38 (1973) 2103–2103.

- <https://doi.org/10.1021/jo00951a036>.
- [33] C.J.P. Monteiro, M.M. Pereira, S.M.A. Pinto, A.V.C. Simões, G.F.F. Sá, L.G. Arnaut, S.J. Formosinho, S. Simões, M.F. Wyatt, Synthesis of amphiphilic sulfonamide halogenated porphyrins: MALDI-TOFMS characterization and evaluation of 1-octanol/water partition coefficients, *Tetrahedron* 64 (2008) 5132–5138. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.03.055>.
- [34] B.H. Ye, Y. Naruta, A novel method for the synthesis of regiospecifically sulfonated porphyrin monomers and dimers, *Tetrahedron* 59 (2003) 3593–3601. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(03\)00541-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(03)00541-6).
- [35] M. Wedel, A. Walter, F.P. Montforts, Synthesis of metalloporphyrins and metallochlorins for immobilization on electrode surfaces, *European J. Org. Chem.* (2001) 1681–1687. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200105\)2001:9<1681::AID-EJOC1681>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200105)2001:9<1681::AID-EJOC1681>3.0.CO;2-Q).
- [36] E. V. Vinogradova, Y.Y. Enakieva, S.E. Nefedov, K.P. Birin, A.Y. Tsivadze, Y.G. Gorbunova, A.G. Bessmertnykh Lemeune, C. Stern, R. Guilard, Synthesis and self-organization of zinc β -(dialkoxyphosphoryl) porphyrins in the solid state and in solution, *Chem. - A Eur. J.* 18 (2012) 15092–15104. <https://doi.org/10.1002/chem.201202596>.
- [37] A.N. Kiselev, S. V. Zaitseva, S.A. Zdanovich, E. V. Shagalov, V. V. Aleksandriysky, S.A. Syrbu, O.I. Koifman, Direct Cobalt-Catalyzed Phosphorylation of Porphyrins, *ChemistrySelect* 6 (2021) 12188–12197. <https://doi.org/10.1002/slct.202102728>.
- [38] K.E. Borbas, P. Mroz, M.R. Hamblin, J.S. Lindsey, Bioconjugatable porphyrins bearing a compact swallowtail motif for water solubility, *Bioconjug. Chem.* 17 (2006) 638–653. <https://doi.org/10.1021/bc050337w>.
- [39] K.E. Borbas, H.L. Kee, D. Holten, J.S. Lindsey, A compact water-soluble porphyrin bearing an iodoacetamido bioconjugatable site, *Org. Biomol. Chem.* 6 (2008) 187–194. <https://doi.org/10.1039/b715072e>.
- [40] S. Pisarek, K. Maximova, D. Gryko, Strategies toward the synthesis of amphiphilic porphyrins, *Tetrahedron* 70 (2014) 6685–6715.

- <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.05.090>.
- [41] M. Luciano, C. Brückner, Modifications of Porphyrins and Hydroporphyrins for Their Solubilization in Aqueous Media, *Molecules* 22 (2017) 980. <https://doi.org/10.3390/molecules22060980>.
- [42] F. Lamarche, V. Sol, Y.M. Huang, R. Granet, M. Guilloton, P. Krausz, Synthesis and biological evaluation of polyamine-porphyrin conjugates as potential agents in photodynamic therapy (PDT), *J. Porphyr. Phthalocyanines* 6 (2002) 130–134. <https://doi.org/10.1142/S1088424602000178>.
- [43] S. Banfi, E. Caruso, L. Buccafurni, V. Battini, S. Zazzaron, P. Barbieri, V. Orlandi, Antibacterial activity of tetraaryl-porphyrin photosensitizers: An in vitro study on Gram negative and Gram positive bacteria, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 85 (2006) 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2006.04.003>.
- [44] M. Berthelot, J. Echaubard, A. Bousfiha, C.H. Devillers, (Pyridin-2-ylmethyl) porphyrins: synthesis, characterization and C–N oxidative fusion attempts, *Comptes Rendus Chim.* 27 (2024) 77–89. <https://doi.org/10.5802/crchim.307>.
- [45] M.M. Ledwaba, N.B. Magaela, K.S. Ndlovu, J. Mack, T. Nyokong, M. Managa, Photophysical and in vitro photoinactivation of *Escherichia coli* using cationic 5,10,15,20-tetra(pyridin-3-yl) porphyrin and Zn(II) derivative conjugated to graphene quantum dots, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 40 (2022) 103127. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.103127>.
- [46] A. Khaledian, S. Zakavi, Porphyrin photosensitizers compatible with both aqueous and non-aqueous conditions: Acid dependent spectral, solubility and photocatalytic properties of meso-tetra(pyridyl)porphyrins, *Inorg. Chem. Commun.* 167 (2024) 112727. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.112727>.
- [47] P. Pathak, M.A. Zarandi, X. Zhou, J. Jayawickramarajah, Synthesis and Applications of Porphyrin-Biomacromolecule Conjugates, *Front. Chem.* 9 (2021) 1–30. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.764137>.
- [48] S. Sitaula, S.M. Reed, Porphyrin conjugated to DNA by a 2'-amido-2'-deoxyuridine linkage, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 850–855.

- <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.11.033>.
- [49] M. Balaz, A.E. Holmes, M. Benedetti, G. Proni, N. Berova, Porphyrin substituted phosphoramidites: New building blocks for porphyrin-oligonucleotide syntheses, *Bioorganic Med. Chem.* 13 (2005) 2413–2421. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.01.045>.
- [50] G. Sargsyan, M. Balaz, Porphyrin-DNA conjugates: Porphyrin induced adenine-guanine homoduplex stabilization and interduplex assemblies, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 5533–5540. <https://doi.org/10.1039/c2ob25710f>.
- [51] S. Jadhav, C. Bin Yim, J. Rajander, T.J. Grönroos, O. Solin, P. Virta, Solid-Supported Porphyrins Useful for the Synthesis of Conjugates with Oligomeric Biomolecules, *Bioconjug. Chem.* 27 (2016) 1023–1029. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00051>.
- [52] M. Sibrian-Vazquez, T.J. Jensen, R.P. Hammer, M.G.H. Vicente, Peptide-Mediated Cell Transport of Water Soluble Porphyrin Conjugates, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 1364–1372. <https://doi.org/10.1021/jm050893b>.
- [53] M. Sibrian-Vazquez, T.J. Jensen, F.R. Fronczek, R.P. Hammer, M.G.H. Vicente, Synthesis and Characterization of Positively Charged Porphyrin–Peptide Conjugates, *Bioconjug. Chem.* 16 (2005) 852–863. <https://doi.org/10.1021/bc050057g>.
- [54] P.M.R. Pereira, J.J. Carvalho, S. Silva, J.A.S. Cavaleiro, R.J. Schneider, R. Fernandes, J.P.C. Tomé, Porphyrin conjugated with serum albumins and monoclonal antibodies boosts efficiency in targeted destruction of human bladder cancer cells, *Org. Biomol. Chem.* 12 (2014) 1804. <https://doi.org/10.1039/c3ob42082e>.
- [55] F. Giuntini, C.M.A. Alonso, R.W. Boyle, Synthetic approaches for the conjugation of porphyrins and related macrocycles to peptides and proteins, *Photochem. Photobiol. Sci.* 10 (2011) 759–791. <https://doi.org/10.1039/c0pp00366b>.
- [56] R. Hudson, M. Carcenac, K. Smith, L. Madden, O.J. Clarke, A. Pèlegri, J. Greenman, R.W. Boyle, The development and characterisation of porphyrin

- isothiocyanate-monoclonal antibody conjugates for photoimmunotherapy, *Br. J. Cancer* 92 (2005) 1442–1449. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602517>.
- [57] K. Smith, N. Malatesti, N. Cauchon, D. Hunting, R. Lecomte, J.E. Van Lier, J. Greenman, R.W. Boyle, Mono- and tri-cationic porphyrin-monoclonal antibody conjugates: Photodynamic activity and mechanism of action, *Immunology* 132 (2011) 256–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03359.x>.
- [58] M. Sadraeiian, C. Bahou, E.F. da Cruz, L.M.R. Janini, R.S. Diaz, R.W. Boyle, V. Chudasama, F.E.G. Guimarães, Photoimmunotherapy using cationic and anionic photosensitizer-antibody conjugates against hiv env-expressing cells, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020) 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms21239151>.
- [59] M.C. Bennion, M.A. Burch, D.G. Dennis, M.E. Lech, K. Neuhaus, N.L. Fendler, M.R. Parris, J.E. Cuadra, C.F. Dixon, G.T. Mukosera, D.N. Blauch, L. Hartmann, N.L. Snyder, J. V. Ruppel, Synthesis of Porphyrin and Bacteriochlorin Glycoconjugates through CuAAC Reaction Tuning, *European J. Org. Chem.* 2019 (2019) 6496–6503. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201901128>.
- [60] X. Chen, L. Hui, D.A. Foster, C.M. Drain, Efficient synthesis and photodynamic activity of porphyrin-saccharide conjugates: Targeting and incapacitating cancer cells, *Biochemistry* 43 (2004) 10918–10929. <https://doi.org/10.1021/bi049272v>.
- [61] K. Fujimoto, T. Miyata, Y. Aoyama, Saccharide-directed cell recognition and molecular delivery using macrocyclic saccharide clusters: Masking of hydrophobicity to enhance the saccharide specificity [19], *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 3558–3559. <https://doi.org/10.1021/ja993993d>.
- [62] C.F. Dixon, A.N. Nottingham, A.F. Lozano, J.A. Sizemore, L.A. Russell, C. Valiton, K.L. Newell, D. Babin, W.T. Bridges, M.R. Parris, D. V. Shchirov, N.L. Snyder, J. V. Ruppel, Synthesis and evaluation of porphyrin glycoconjugates varying in linker length: preliminary effects on the photodynamic inactivation of *Mycobacterium smegmatis*, *RSC Adv.* 11 (2021)

- 7037–7042. <https://doi.org/10.1039/d0ra10793j>.
- [63] S. Hirohara, M. Obata, H. Alitomo, K. Sharyo, T. Ando, S. Yano, M. Tanihara, Synthesis and photocytotoxicity of S-glucosylated 5,10,15,20-tetrakis(tetrafluorophenyl)porphyrin metal complexes as efficient 1O₂-generating glycoconjugates, *Bioconjug. Chem.* 20 (2009) 944–952. <https://doi.org/10.1021/bc800522y>.
- [64] A. Koc, R. Khan, D. Tuncel, “Clicked” Porphyrin-Cucurbituril Conjugate: A New Multifunctional Supramolecular Assembly Based on Triglycosylated Porphyrin and Monopropargyloxycucurbit[7]uril, *Chem. - A Eur. J.* 24 (2018) 15550–15555. <https://doi.org/10.1002/chem.201804024>.
- [65] O.B. Locos, C.C. Heindl, A. Corral, M.O. Senge, E.M. Scanlan, Efficient synthesis of glycoporphyrins by microwave-mediated “click” reactions, *European J. Org. Chem.* (2010) 1026–1028. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200901292>.
- [66] S. Acherar, L. Colombeau, C. Frochot, R. Vanderesse, Synthesis of Porphyrin, Chlorin and Phthalocyanine Derivatives by Azide-Alkyne Click Chemistry, *Curr. Med. Chem.* 22 (2015) 3217–3254. <https://doi.org/10.2174/0929867322666150716115832>.
- [67] I. Laville, S. Pigaglio, J.C. Blais, F. Doz, B. Loock, P. Maillard, D.S. Grierson, J. Blais, Photodynamic efficiency of diethylene glycol-linked glycoconjugated porphyrins in human retinoblastoma cells, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 2558–2567. <https://doi.org/10.1021/jm0580151>.
- [68] K. Nawalany, A. Rusin, M. Kepczynski, P. Filipczak, M. Kumorek, B. Kozik, H. Weitman, B. Ehrenberg, Z. Krawczyk, M. Nowakowska, Novel nanostructural photosensitizers for photodynamic therapy: In vitro studies, *Int. J. Pharm.* 430 (2012) 129–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.016>.
- [69] Y. Sadzuka, F. Iwasaki, I. Sugiyama, K. Horiuchi, T. Hirano, H. Ozawa, N. Kanayama, T. Sonobe, Study on liposomalization of zinc-coproporphyrin I as a novel drug in photodynamic therapy, *Int. J. Pharm.* 338 (2007) 306–309. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.02.003>.

- [70] T. Komatsu, M. Moritake, A. Nakagawa, E. Tsuchida, Self-organized lipid-porphyrin bilayer membranes in vesicular form: Nanostructure, photophysical properties, and dioxygen coordination, *Chem. - A Eur. J.* 8 (2002) 5469–5480. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20021202\)8:23<5469::AID-CHEM5469>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20021202)8:23<5469::AID-CHEM5469>3.0.CO;2-1).
- [71] J.F. Lovell, C.S. Jin, E. Huynh, H. Jin, C. Kim, J.L. Rubinstein, W.C.W. Chan, W. Cao, L. V. Wang, G. Zheng, Porphysome nanovesicles generated by porphyrin bilayers for use as multimodal biophotonic contrast agents, *Nat. Mater.* 10 (2011) 324–332. <https://doi.org/10.1038/nmat2986>.
- [72] K.A. Riske, T.P. Sudbrack, N.L. Archilha, A.F. Uchoa, A.P. Schroder, C.M. Marques, M.S. Baptista, R. Itri, Giant vesicles under oxidative stress induced by a membrane-anchored photosensitizer, *Biophys. J.* 97 (2009) 1362–1370. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.06.023>.
- [73] J.F. Lovell, C.S. Jin, E. Huynh, T.D. MacDonald, W. Cao, G. Zheng, Enzymatic regioselection for the synthesis and biodegradation of porphysome nanovesicles, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 51 (2012) 2429–2433. <https://doi.org/10.1002/anie.201108280>.
- [74] E. Huynh, G. Zheng, Porphysome nanotechnology: A paradigm shift in lipid-based supramolecular structures, *Nano Today* 9 (2014) 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2014.04.012>.
- [75] K.A. Zhdanova, I.O. Savelyeva, A. V. Ezhov, A.P. Zhdanov, K.Y. Zhizhin, A.F. Mironov, N.A. Bragina, A.A. Babayants, I.S. Frolova, N.I. Filippova, N.N. Scliankina, O.N. Scheglovitova, Novel cationic meso-arylporphyrins and their antiviral activity against hsv-1, *Pharmaceuticals* 14 (2021). <https://doi.org/10.3390/ph14030242>.
- [76] I.O. Savelyeva, K.A. Zhdanova, M.A. Gradova, O. V. Gradov, N.A. Bragina, Cationic Porphyrins as Antimicrobial and Antiviral Agents in Photodynamic Therapy, *Curr. Issues Mol. Biol.* 45 (2023) 9793–9822. <https://doi.org/10.3390/cimb45120612>.
- [77] P. Sayer, M. Gouterman, C.R. Connell, Metalloid Porphyrins and

- Phthalocyanines, *Acc. Chem. Res.* 15 (1982) 73–79.
<https://doi.org/10.1021/ar00075a002>.
- [78] I. Beletskaya, V.S. Tyurin, A.Y. Tsivadze, R. Guilard, C. Stern, Supramolecular chemistry of metalloporphyrins, *Chem. Rev.* 109 (2009) 1659–1713. <https://doi.org/10.1021/cr800247a>.
- [79] B.M.J.M. Suijkerbuijk, R.J.M. Klein Gebbink, Merging porphyrins with organometallics: Synthesis and applications, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 47 (2008) 7396–7421. <https://doi.org/10.1002/anie.200703362>.
- [80] C. Hahn da Silveira, O.A. Chaves, A.C. Marques, N.M.P. Rosa, L.A.S. Costa, B. Almeida Iglesias, Synthesis, Photophysics, Computational Approaches, and Biomolecule Interactive Studies of Metalloporphyrins Containing Pyrenyl Units: Influence of the Metal Center, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2022 (2022). <https://doi.org/10.1002/ejic.202200075>.
- [81] C. Gomes, M. Peixoto, M. Pineiro, Modern methods for the sustainable synthesis of metalloporphyrins, *Molecules* 26 (2021). <https://doi.org/10.3390/molecules26216652>.
- [82] D. Yamamoto, S. Onuki, H. Tachibana, H. Inoue, Synthesis of water-soluble silicon-porphyrin: protolytic behaviour of axially coordinated hydroxy groups, *Dalt. Trans.* 44 (2015) 20011–20020. <https://doi.org/10.1039/c5dt03654b>.
- [83] R. Sharma, M. Ravikanth, Phosphorus complexes of porphyrinoid macrocycles, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 20 (2016) 895–917. <https://doi.org/10.1142/S1088424616500851>.
- [84] J. Matsumoto, T. Shiragami, K. Hirakawa, M. Yasuda, Water-Solubilization of P(V) and Sb(V) Porphyrins and Their Photobiological Application, *Int. J. Photoenergy* 2015 (2015) 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/148964>.
- [85] C.J. Carrano, M. Tsutsui, Unusual metalloporphyrins. phosphorus complexes of tetraphenylporphine, *J. Coord. Chem.* 7 (1977) 79–83. <https://doi.org/10.1080/00958977708073043>.
- [86] P. Sayer, M. Gouterman, C.R. Connell, Porphyrins. 34. Phosphorus Complexes of Octaethylporphyrin, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 1082–1087.

- <https://doi.org/10.1021/ja00446a018>.
- [87] I.N. Meshkov, V. Bulach, Y.G. Gorbunova, N. Kyritsakas, M.S. Grigoriev, A.Y. Tsivadze, M.W. Hosseini, Phosphorus(V) Porphyrin-Based Molecular Turnstiles, *Inorg. Chem.* 55 (2016) 10774–10782. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b01989>.
- [88] I.N. Meshkov, V. Bulach, Y.G. Gorbunova, F.E. Gostev, V.A. Nadochenko, A.Y. Tsivadze, M.W. Hosseini, Tuning photochemical properties of phosphorus(V) porphyrin photosensitizers, *Chem. Commun.* 53 (2017) 9918–9921. <https://doi.org/10.1039/C7CC06052A>.
- [89] I.N. Meshkov, A.G. Martynov, A.Y. Tsivadze, Y.G. Gorbunova, Theoretical explanation of reactivity and stability of phosphorus(v) porphyrins, *Macrocyclic Chem.* 12 (2019) 143–147. <https://doi.org/10.6060/mhc190233m>.
- [90] K.Y. Akiba, R. Nadano, W. Satoh, Y. Yamamoto, S. Nagase, Z. Ou, X. Tan, K.M. Kadish, Synthesis, structure, electrochemistry, and spectroelectrochemistry of hypervalent phosphorus(V) octaethylporphyrins and theoretical analysis of the nature of the PO bond in P(OEP)(CH₂CH₃)(O), *Inorg. Chem.* 40 (2001) 5553–5567. <https://doi.org/10.1021/ic010595e>.
- [91] J. Matsumoto, T. Kubo, T. Shinbara, N. Matsuda, T. Shiragami, M. Fujitsuka, T. Majima, M. Yasuda, Spectroscopic analysis of the interaction of human serum albumin with tricationic phosphorus porphyrins bearing axial pyridinio groups, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 86 (2013) 1240–1247. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20130191>.
- [92] J. Matsumoto, S. Sato, T. Shiragami, M. Yasuda, Synthesis of di(glucosyloxo)phosphorus tetraphenylporphyrin complex with affinity to glucose-binding concanavalin A, *Dye. Pigment.* 120 (2015) 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.04.011>.
- [93] S. Ciuti, J. Toninato, A. Barbon, N. Zarrabi, P.K. Poddutoori, A. van der Est, M. Di Valentin, Solvent dependent triplet state delocalization in a co-facial porphyrin heterodimer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 24 (2022) 30051–30061. <https://doi.org/10.1039/d2cp04291f>.

- [94] N. Zarrabi, B.J. Bayard, S. Seetharaman, N. Holzer, P. Karr, S. Ciuti, A. Barbon, M. Di Valentin, A. Van Der Est, F. D'Souza, P.K. Poddutoori, A charge transfer state induced by strong exciton coupling in a cofacial μ -oxo-bridged porphyrin heterodimer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 23 (2021) 960–970. <https://doi.org/10.1039/d0cp05783e>.
- [95] E. Fagadar-Cosma, V. Badea, G. Fagadar-Cosma, A. Palade, A. Lascu, I. Fringu, M. Birdeanu, Trace oxygen sensitive material based on two porphyrin derivatives in a heterodimeric complex, *Molecules* 22 (2017). <https://doi.org/10.3390/molecules22101787>.
- [96] M. Gouterman, Spectra of Porphyrins, *J. Mol. Spectrosc.* 6 (1961) 138–163. [https://doi.org/10.1016/0370-2693\(87\)90819-7](https://doi.org/10.1016/0370-2693(87)90819-7).
- [97] M. Gouterman, G.H. Wagnière, L.C. Snyder, Spectra of porphyrins. Part II. Four orbital model, *J. Mol. Spectrosc.* 11 (1963) 108–127. [https://doi.org/10.1016/0022-2852\(63\)90011-0](https://doi.org/10.1016/0022-2852(63)90011-0).
- [98] M. Gouterman, Study of the effects of substitution on the absorption spectra of porphin, *J. Chem. Phys.* 30 (1959) 1139–1161. <https://doi.org/10.1063/1.1730148>.
- [99] T. Furuyama, Y. Takahashi, T. Fukumura, A.C.C. Bacilla, N. Kobayashi, Synthesis and electronic properties of meso -tetra(3,4,5-trimethoxy)phenyl-porphyrin and -tetrabenzoporphyrin and their phosphorus complexes, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 24 (2020) 105–111. <https://doi.org/10.1142/S1088424619500871>.
- [100] J.R. Hamza, J.K. Sharma, P.A. Karr, A. van der Est, F. D'Souza, P.K. Poddutoori, Intramolecular Charge Transfer and Spin–Orbit Coupled Intersystem Crossing in Hypervalent Phosphorus(V) and Antimony(V) Porphyrin Black Dyes, *J. Am. Chem. Soc.* (2024) 0–5. <https://doi.org/10.1021/jacs.4c06674>.
- [101] J. Mack, Y. Asano, N. Kobayashi, M.J. Stillman, Application of MCD Spectroscopy and TD–DFT to a Highly Non-Planar Porphyrinoid Ring System. New Insights on Red–Shifted Porphyrinoid Spectral Bands, *J. Am.*

- Chem. Soc. 127 (2005) 17697–17711. <https://doi.org/10.1021/ja0540728>.
- [102] N.M. Complexes, N₄-macrocyclic metal complexes, *Choice Rev. Online* 44 (2007) 44-3301-44–3301. <https://doi.org/10.5860/CHOICE.44-3301>.
- [103] A. Zhang, L. Kwan, M.J. Stillman, The spectroscopic impact of interactions with the four Gouterman orbitals from peripheral decoration of porphyrins with simple electron withdrawing and donating groups, *Org. Biomol. Chem.* 15 (2017) 9081–9094. <https://doi.org/10.1039/c7ob01960b>.
- [104] C.P. Hsieh, H.P. Lu, C.L. Chiu, C.W. Lee, S.H. Chuang, C.L. Mai, W.N. Yen, S.J. Hsu, E.W.G. Diau, C.Y. Yeh, Synthesis and characterization of porphyrin sensitizers with various electron-donating substituents for highly efficient dye-sensitized solar cells, *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 1127–1134. <https://doi.org/10.1039/b919645e>.
- [105] A.K. Mandal, M. Taniguchi, J.R. Diers, D.M. Niedzwiedzki, C. Kirmaier, J.S. Lindsey, D.F. Bocian, D. Holten, Photophysical properties and electronic structure of porphyrins bearing zero to four meso-Phenyl substituents: New insights into seemingly well understood tetrapyrroles, *J. Phys. Chem. A* 120 (2016) 9719–9731. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.6b09483>.
- [106] R. Ma, P. Guo, H. Cui, X. Zhang, M.K. Nazeeruddin, M. Grätzel, Substituent effect on the meso-substituted porphyrins: Theoretical screening of sensitizer candidates for dye-sensitized solar cells, *J. Phys. Chem. A* 113 (2009) 10119–10124. <https://doi.org/10.1021/jp905412y>.
- [107] Z. Parsa, S.S. Naghavi, N. Safari, Designing Push-Pull Porphyrins for Efficient Dye-Sensitized Solar Cells, *J. Phys. Chem. A* 122 (2018) 5870–5877. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.8b03668>.
- [108] S. Kumar, J.N. Acharyya, D. Banerjee, V.R. Soma, G. Vijaya Prakash, M. Sankar, Strong two-photon absorption and ultrafast dynamics of: Meso - functionalized “push-pull” trans -A₂BC porphyrins, *Dalt. Trans.* 50 (2021) 6256–6272. <https://doi.org/10.1039/d1dt00378j>.
- [109] C. Biswas, P.S. Gangadhar, L. Giribabu, P. Chetti, D. Banerjee, V.R. Soma, S.S.K. Raavi, Ultrafast intramolecular charge transfer dynamics and nonlinear

- optical properties of phenothiazine-based push–pull zinc porphyrin, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 433 (2022) 114141. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2022.114141>.
- [110] J.K. Sharma, B.J. Bayard, N. Zosel, S.S. Ali, N. Holzer, V.N. Nesterov, P.A. Karr, F. D'Souza, P.K. Poddutoori, Hypervalent Phosphorus(V) Porphyrins with meso-Methoxyphenyl Substituents: Significance of the Number and Position of Methoxy Groups in Promoting Intramolecular Charge Transfer, *Inorg. Chem.* 61 (2022) 16573–16585. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.2c01648>.
- [111] J. Karolczak, D. Kowalska, and metalloporphyrins: accurate measurements of fluorescence spectra and fluorescence quantum yields for Soret band excitation of zinc tetraphenylporphyrin, *J. ...* (2004) 4570–4575. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp049898v>.
- [112] A.G. Avramenko, M. Spiehs, Photophysical Properties of Porphyrins and Their Applications To Polariton Chemistry (a Review), *Vopr. Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii* (2024) 5–15. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2024-154-3-5-15>.
- [113] P.G. Seybold, M. Gouterman, Porphyrins. XIII: Fluorescence spectra and quantum yields, *J. Mol. Spectrosc.* 31 (1969) 1–13. [https://doi.org/10.1016/0022-2852\(69\)90335-X](https://doi.org/10.1016/0022-2852(69)90335-X).
- [114] A. Harriman, Luminescence of porphyrins and metalloporphyrins. Part 3. - Heavy-atom effects, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2 Mol. Chem. Phys.* 77 (1981) 1281–1291. <https://doi.org/10.1039/F29817701281>.
- [115] B. Sekaran, R. Misra, β -Pyrrole functionalized porphyrins: Synthesis, electronic properties, and applications in sensing and DSSC, *Coord. Chem. Rev.* 453 (2022) 214312. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214312>.
- [116] J. Hwang, T.S. Reddy, H. Moon, H.D. Lee, M.S. Choi, Cyanide detecting porphyrin fluorescent sensors: Effects of electron-donating/withdrawing substituents, *Dye. Pigment.* 215 (2023) 111243. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2023.111243>.

- [117] X. Liu, E.K.L. Yeow, S. Velate, R.P. Steer, Photophysics and spectroscopy of the higher electronic states of zinc metalloporphyrins: A theoretical and experimental study, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 1298–1309. <https://doi.org/10.1039/b516042a>.
- [118] O. Horváth, Z. Valicsek, M.A. Fodor, M.M. Major, M. Imran, G. Grampp, A. Wankmüller, Visible light-driven photophysics and photochemistry of water-soluble metalloporphyrins, *Coord. Chem. Rev.* 325 (2016) 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.12.011>.
- [119] N. Holzer, J.K. Sharma, N. Zarrabi, V.N. Nesterov, F. D'Souza, P.K. Poddutoori, Tuning redox potentials of phosphorus(V) tetraarylporphyrins without altering their optical properties, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 29 (2025) 173–183. <https://doi.org/10.1142/S1088424625500129>.
- [120] K. Hirakawa, H. Segawa, Excitation energy transfer and photo-induced electron transfer in axial bispyrenyl phosphorus porphyrin derivatives: factors governing the competition between energy and electron transfer processes under the existence of intramolecular π – π interaction, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 123 (1999) 67–76. [https://doi.org/10.1016/s1010-6030\(99\)00043-x](https://doi.org/10.1016/s1010-6030(99)00043-x).
- [121] P.K. Poddutoori, B.J. Bayard, N. Holzer, S. Seetharaman, N. Zarrabi, N. Weidner, P.A. Karr, F. D'Souza, Rational Design and Synthesis of OEP and TPP Centered Phosphorus(V) Porphyrin–Naphthalene Conjugates: Triplet Formation via Rapid Charge Recombination, *Inorg. Chem.* 60 (2021) 17952–17965. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c02531>.
- [122] Y. Zhan, K. Cao, C. Wang, J. Jia, P. Xue, X. Liu, X. Duan, R. Lu, Synthesis and photophysical properties of phosphorus(v) porphyrins functionalized with axial carbazolylvinyl naphthalimides, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 8701–8709. <https://doi.org/10.1039/c2ob26478a>.
- [123] K. Hirakawa, H. Segawa, Multi-step intramolecular excitation energy transfer in dendritic pyrene-phosphorus(V)porphyrin heptads, *J. Lumin.* 179 (2016) 457–462. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2016.07.036>.

- [124] P.K. Poddutoori, N. Holzer, B.J. Bayard, Y.E. Kandrashkin, G. Lim, F. D'Souza, A. VAN DER Est, Excited state dynamics and electron transfer in a phosphorus(V) porphyrin – TEMPO conjugate, *J. Chem. Sci.* 133 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12039-021-01925-2>.
- [125] K. Hirakawa, K. Azumi, Y. Nishimura, T. Arai, Y. Nosaka, S. Okazaki, Photosensitized damage of protein by fluorinated diethoxyphosphorus(V) porphyrin, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 17 (2013) 56–62. <https://doi.org/10.1142/S1088424612501258>.
- [126] T. Anita Rao, B.G. Maiya, Aryloxo Derivatives of Phosphorus(V) Porphyrins. Synthesis, Spectroscopy, Electrochemistry, and Singlet State Properties, *Inorg. Chem.* 35 (1996) 4829–4836. <https://doi.org/10.1021/ic9513200>.
- [127] I.E. Kolesnikov, M.A. Kurochkin, I.N. Meshkov, R.A. Akasov, A.A. Kalinichev, E.Y. Kolesnikov, Y.G. Gorbunova, E. Lähderanta, Water-soluble multimode fluorescent thermometers based on porphyrins photosensitizers, *Mater. Des.* 203 (2021) 109613. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109613>.
- [128] I.E. Kolesnikov, A.A. Kalinichev, A.I. Solomatina, M.A. Kurochkin, I.N. Meshkov, E.Y. Kolesnikov, Y.G. Gorbunova, Thermosensitive phosphorus(V) porphyrin: Toward subcellular ratiometric optical temperature sensing, *Sensors Actuators A Phys.* 347 (2022) 113917. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2022.113917>.
- [129] S. Perun, J. Tatchen, C.M. Marian, Singlet and Triplet Excited States and Intersystem Crossing in Free-Base Porphyrin: TDDFT and DFT/MRCI Study, *ChemPhysChem* 9 (2008) 282–292. <https://doi.org/10.1002/cphc.200700509>.
- [130] O. Loboda, I. Tunell, B. Minaev, H. Ågren, Theoretical study of triplet state properties of free-base porphin, *Chem. Phys.* 312 (2005) 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2004.11.041>.
- [131] A. Garner, F. Wilkinson, Quenching of triplet states by molecular oxygen and the role of charge-transfer interactions, *Chem. Phys. Lett.* 45 (1977) 432–435. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(77\)80057-2](https://doi.org/10.1016/0009-2614(77)80057-2).

- [132] H.G. Jeong, M.S. Choi, Design and Properties of Porphyrin-based Singlet Oxygen Generator, *Isr. J. Chem.* 56 (2016) 110–118. <https://doi.org/10.1002/ijch.201500026>.
- [133] E.F.F. Silva, C. Serpa, J.M. Dąbrowski, C.J.P. Monteiro, S.J. Formosinho, G. Stochel, K. Urbanska, S. Simões, M.M. Pereira, L.G. Arnaut, Mechanisms of singlet-oxygen and superoxide-ion generation by porphyrins and bacteriochlorins and their implications in photodynamic therapy, *Chem. - A Eur. J.* 16 (2010) 9273–9286. <https://doi.org/10.1002/chem.201000111>.
- [134] F. Nifiatis, Substituent Effects of Porphyrin on Singlet Oxygen Generation Quantum Yields, *Open Spectrosc. J.* 5 (2011) 1–12. <https://doi.org/10.2174/1874383801105010001>.
- [135] B. Sekaran, M. Guragain, R. Misra, F. D'Souza, β -Pyrrole Functionalized Push or Pull Porphyrins: Excited Charge Transfer Promoted Singlet Oxygen Generation, *J. Phys. Chem. A* 127 (2023) 7964–7975. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.3c05292>.
- [136] G. Klein Couto, J.C. Rodrigues, B.S. Pacheco, L. Damé Simões, J.D. Paschoal, F.K. Seixas, T. V. Acunha, B.A. Iglesias, T. Collares, Zinc(II), copper(II) and nickel(II) ions improve the selectivity of tetra-cationic platinum(II) porphyrins in photodynamic therapy and stimulate antioxidant defenses in the metastatic melanoma lineage (A375), *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 31 (2020) 101942. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101942>.
- [137] X. Wang, H. Lv, Y. Sun, G. Zu, X. Zhang, Y. Song, F. Zhao, J. Wang, New porphyrin photosensitizers—Synthesis, singlet oxygen yield, photophysical properties and application in PDT, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 279 (2022) 121447. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121447>.
- [138] J. Mosinger, Z. Mička, Quantum yields of singlet oxygen of metal complexes of meso-tetrakis (sulphonatophenyl) porphine, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 107 (1997) 77–82. [https://doi.org/10.1016/S1010-6030\(96\)04613-8](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(96)04613-8).
- [139] J.A.S. Cavaleiro, H. Görner, P.S.S. Lacerda, J.G. MacDonald, G. Mark, M.G.P.M.S. Neves, R.S. Nohr, H.P. Schuchmann, C. Von Sonntag, A.C.

- Tomé, Singlet oxygen formation and photostability of meso-tetraarylporphyrin derivatives and their copper complexes, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 144 (2001) 131–140. [https://doi.org/10.1016/S1010-6030\(01\)00540-8](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(01)00540-8).
- [140] J. Matsumoto, T. Shinbara, S.I. Tanimura, T. Matsumoto, T. Shiragami, H. Yokoi, Y. Nosaka, S. Okazaki, K. Hirakawa, M. Yasuda, Water-soluble phosphorus porphyrins with high activity for visible light-assisted inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 218 (2011) 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2011.01.002>.
- [141] K. Hirakawa, H. Umemoto, R. Kikuchi, H. Yamaguchi, Y. Nishimura, T. Arai, S. Okazaki, H. Segawa, Determination of Singlet Oxygen and Electron Transfer Mediated Mechanisms of Photosensitized Protein Damage by Phosphorus(V)porphyrins, *Chem. Res. Toxicol.* 28 (2015) 262–267. <https://doi.org/10.1021/tx500492w>.
- [142] D.A. Lazovskiy, I.A. Skvortsov, V. Novakova, P.A. Stuzhin, Phosphorus(V) tetrapyrazinocorrolazines bearing axial aryloxy groups as pH-sensitive fluorophores and photosensitizers, *Dalt. Trans.* 51 (2022) 5687–5698. <https://doi.org/10.1039/D2DT00307D>.
- [143] S.S. Ivanova, D.S. Salnikov, G. Knorr, O. Ledovich, V. Sliznev, P. Kubat, V. Novakova, P.A. Stuzhin, Water-soluble sulfonated phosphorus(V) corrolazines and porphyrazines: the effect of macrocycle contraction and pyrazine ring fusion on spectral, acid–base and photophysical properties, *Dalt. Trans.* 51 (2022) 1364–1377. <https://doi.org/10.1039/D1DT02453A>.
- [144] E.A. Safonova, M.A. Polovkova, F.M. Kolomeychuk, R.A. Akasov, A.G. Savelyev, E. V. Khaydukov, A.Y. Tsivadze, Y.G. Gorbunova, Phosphorus (V) 15-crown-5-phthalocyanine as a promising non-toxic near-IR photoinitiator in aqueous medium, *Dye. Pigment.* 225 (2024) 112095. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112095>.
- [145] E.A. Safonova, F.M. Kolomeychuk, D. Gvozdev, A.Y. Tsivadze, Y.G. Gorbunova, Tuning Photochemical and Photophysical Properties of P(V) Phthalocyanines, *Molecules* 28 (2023) 1094.

- <https://doi.org/10.3390/molecules28031094>.
- [146] D.A. Lazovskiy, E.S. Gnedina, I.A. Nikitin, H. Wang, P.A. Stuzhin, Carboxylated benzo and pyrazine annulated PV corrolazines. I. Synthesis, spectral-luminescence and acid-base properties of octaethyl esters, *Inorganica Chim. Acta* 592 (2026) 123000. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2025.123000>.
- [147] K. Hirakawa, Y. Onishi, D. Ouyang, H. Horiuchi, S. Okazaki, pH-Dependent photodynamic activity of bis(6-methyl-3-pyridylmethoxy)P(V)tetrakis(p-methoxyphenyl)porphyrin, *Chem. Phys. Lett.* 746 (2020) 137315. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2020.137315>.
- [148] C. wan Chen, J.S. Cohen, C.E. Myers, M. Sohn, Paramagnetic metalloporphyrins as potential contrast agents in NMR imaging, *FEBS Lett.* 168 (1984) 70–74. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(84\)80208-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(84)80208-2).
- [149] S. Chen, L. An, S. Yang, Low-Molecular-Weight Fe(III) Complexes for MRI Contrast Agents, *Molecules* 27 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27144573>.
- [150] M. Eivazi, P.M. Khaniabadi, S.H. Hejazi, D. Shahbazi-Gahrouei, Porphyrin–iron oxide nanoparticle functionalized with trastuzumab (ION–PP–TZ) potential MR imaging probe for breast cancer cells, *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* 128 (2022) 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00339-022-05558-1>.
- [151] C.F.G.C. Geraldes, M.M.C.A. Castro, J.A. Peters, Mn(III) porphyrins as potential MRI contrast agents for diagnosis and MRI-guided therapy, *Coord. Chem. Rev.* 445 (2021) 214069. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214069>.
- [152] K.D.W. Vollett, D.A. Szulc, H.-L.M. Cheng, A Manganese Porphyrin Platform for the Design and Synthesis of Molecular and Targeted MRI Contrast Agents, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 9532. <https://doi.org/10.3390/ijms24119532>.
- [153] W. Chen, J. Zhao, M. Hou, M. Yang, C. Yi, Gadolinium-porphyrin based polymer nanotheranostics for fluorescence/magnetic resonance imaging guided photodynamic therapy, *Nanoscale* 13 (2021) 16197–16206. <https://doi.org/10.1039/d1nr04489c>.

- [154] T. Nemeth, N. Yoshizawa-Sugata, A. Pallier, Y. Tajima, Y. Ma, É. Tóth, H. Masai, Y. Yamakoshi, Water-Soluble Gd(III)–Porphyrin Complexes Capable of Both Photosensitization and Relaxation Enhancement, *Chem. Biomed. Imaging* 1 (2023) 157–167. <https://doi.org/10.1021/cbmi.3c00007>.
- [155] C. Yuan, Y. Li, Z. Xu, C. Wang, J. Zhang, Y. Jin, Z. Chen, H. Sun, F. Wu, Q. Zhang, Y. Tang, S. Wang, Imaging-Guided Synergistic Photo-Chemotherapy Using Doxorubicin-Loaded Gadolinium Porphyrin-Based Metal–Organic Framework Nanosheets, *ACS Appl. Nano Mater.* 5 (2022) 15318–15327. <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c03390>.
- [156] D. Shahbazi-Gahrouei, Gadolinium-porphyrins: New potential magnetic resonance imaging contrast agents for melanoma detection, *J. Res. Med. Sci.* 11 (2006) 217–223.
- [157] J.T. Brewster, H. Zafar, H.D. Root, G.D. Thiabaud, J.L. Sessler, Porphyrinoid f-Element Complexes, *Inorg. Chem.* 59 (2020) 32–47. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00884>.
- [158] I. Batinic-Haberle, A. Tovmasyan, I. Spasojevic, An educational overview of the chemistry, biochemistry and therapeutic aspects of Mn porphyrins - From superoxide dismutation to H₂O₂-driven pathways, *Redox Biol.* 5 (2015) 43–65. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.017>.
- [159] F. Bryden, H. Savoie, E. V. Rosca, R.W. Boyle, PET/PDT theranostics: Synthesis and biological evaluation of a peptide-targeted gallium porphyrin, *Dalt. Trans.* 44 (2015) 4925–4932. <https://doi.org/10.1039/c4dt02949f>.
- [160] M. Bhadwal, T. Das, H. Dev Sarma, S. Banerjee, Radiosynthesis and Bioevaluation of [68Ga]-Labeled 5,10,15,20-Tetra(4-methylpyridyl)-porphyrin for Possible Application as a PET Radiotracer for Tumor Imaging, *Mol. Imaging Biol.* 17 (2015) 111–118. <https://doi.org/10.1007/s11307-014-0760-1>.
- [161] J. Shi, T.W.B. Liu, J. Chen, D. Green, D. Jaffray, B.C. Wilson, F. Wang, G. Zheng, Transforming a Targeted Porphyrin Theranostic Agent into a PET Imaging Probe for Cancer, *Theranostics* 1 (2012) 363–370.

- <https://doi.org/10.7150/thno/v01p0363>.
- [162] J.C. Roberts, S.L. Newmyer, J.A. Mercer-Smith, S.A. Schreyer, D.K. Lavalley, Labeling antibodies with copper radionuclides using N-4-nitrobenzyl-5-(4-carboxyphenyl)-10,15,20-tris(4-sulfophenyl) porphine, *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part 40* (1989) 775–781. [https://doi.org/10.1016/0883-2889\(89\)90096-8](https://doi.org/10.1016/0883-2889(89)90096-8).
- [163] Y. Harada, Y. Murayama, T. Takamatsu, E. Otsuji, H. Tanaka, 5-Aminolevulinic Acid-Induced Protoporphyrin IX Fluorescence Imaging for Tumor Detection: Recent Advances and Challenges, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022). <https://doi.org/10.3390/ijms23126478>.
- [164] A. Juzeniene, Q. Peng, J. Moan, Milestones in the development of photodynamic therapy and fluorescence diagnosis, *Photochem. Photobiol. Sci.* 6 (2007) 1234–1245. <https://doi.org/10.1039/b705461k>.
- [165] P.A. Valdes, K. Bekelis, B.T. Harris, B.C. Wilson, F. Leblond, A.P. Kim, N.E. Simmons, K. Erkmen, K.D. Paulsen, D.W. Roberts, Aminolevulinic Acid-Induced Protoporphyrin IX Fluorescence in Meningioma: Qualitative and Quantitative Measurements In Vivo, *Oper. Neurosurg.* 10 (2014) 74–83. <https://doi.org/10.1227/NEU.00000000000000117>.
- [166] R. Boscencu, N. Radulea, G. Manda, I.F. Machado, R.P. Socoteanu, D. Lupuliasa, A.M. Burloiu, D.P. Mihai, L.F.V. Ferreira, Porphyrin Macrocycles: General Properties and Theranostic Potential, *Molecules* 28 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28031149>.
- [167] R. Boscencu, G. Manda, N. Radulea, R. Socoteanu, L. Ceafalan, I. Neagoe, I. Ferreira Machado, S.H. Basaga, L. Vieira Ferreira, Studies on the Synthesis, Photophysical and Biological Evaluation of Some Unsymmetrical Meso-Tetrasubstituted Phenyl Porphyrins, *Molecules* 22 (2017) 1815. <https://doi.org/10.3390/molecules22111815>.
- [168] A.M. Burloiu, D.P. Mihai, G. Manda, D. Lupuliasa, I.V. Neagoe, R.P. Socoteanu, M. Surcel, L.I. Anghelache, L. Olariu, C.E. Gîrd, R. Boscencu, In Silico and In Vitro Studies on an Asymmetrical Porphyrin Derivative with

- Therapeutic Potential in Skin Disorders, *Pharmaceuticals* 17 (2024).
<https://doi.org/10.3390/ph17060688>.
- [169] K. Hayashi, M. Nakamura, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, K. Ishimura, Near-infrared fluorescent silica/porphyrin hybrid nanorings for in vivo cancer imaging, *Adv. Funct. Mater.* 22 (2012) 3539–3546.
<https://doi.org/10.1002/adfm.201200219>.
- [170] F. Lv, L. Mao, T. Liu, Thermosensitive porphyrin-incorporated hydrogel with four-arm PEG-PCL copolymer: Preparation, characterization and fluorescence imaging in vivo, *Mater. Sci. Eng. C* 43 (2014) 221–230.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.07.019>.
- [171] J.F. Lovell, A. Roxin, K.K. Ng, Q. Qi, J.D. McMullen, R.S. DaCosta, G. Zheng, Porphyrin-Cross-Linked Hydrogel for Fluorescence-Guided Monitoring and Surgical Resection, *Biomacromolecules* 12 (2011) 3115–3118. <https://doi.org/10.1021/bm200784s>.
- [172] D. Pan, P. Liang, X. Zhong, D. Wang, H. Cao, W. Wang, W. He, Z. Yang, X. Dong, Self-Assembled Porphyrin-Based Nanoparticles with Enhanced Near-Infrared Absorbance for Fluorescence Imaging and Cancer Photodynamic Therapy, *ACS Appl. Bio Mater.* 2 (2019) 999–1005.
<https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00530>.
- [173] B. Thomas, K.C. Yan, X. Le Hu, M. Donnier-Maréchal, G.R. Chen, X.P. He, S. Vidal, Fluorescent glycoconjugates and their applications, *Chem. Soc. Rev.* 49 (2020) 593–641. <https://doi.org/10.1039/c8cs00118a>.
- [174] S. Vedachalam, B.H. Choi, K.K. Pasunooti, K.M. Ching, K. Lee, H.S. Yoon, X.W. Liu, Glycosylated porphyrin derivatives and their photodynamic activity in cancer cells, *Medchemcomm* 2 (2011) 371–377.
<https://doi.org/10.1039/c0md00175a>.
- [175] S. Ballut, A. Makky, B. Chauvin, J.P. Michel, A. Kasselouri, P. Maillard, V. Rosilio, Tumor targeting in photodynamic therapy. from glycoconjugated photosensitizers to glycodendrimeric one. Concept, design and properties, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 4485–4495.

- <https://doi.org/10.1039/c2ob25181g>.
- [176] K. Arja, M. Elgland, H. Appelqvist, P. Konradsson, M. Lindgren, K.P.R. Nilsson, Synthesis and Characterization of Novel Fluoro-glycosylated Porphyrins that can be Utilized as Theranostic Agents, *ChemistryOpen* 7 (2018) 495–503. <https://doi.org/10.1002/open.201800020>.
- [177] A.B.E. Attia, G. Balasundaram, M. Moothanchery, U.S. Dinish, R. Bi, V. Ntziachristos, M. Olivo, A review of clinical photoacoustic imaging: Current and future trends, *Photoacoustics* 16 (2019) 100144. <https://doi.org/10.1016/j.pacs.2019.100144>.
- [178] R.E. Borg, J. Rochford, Molecular Photoacoustic Contrast Agents: Design Principles & Applications, *Photochem. Photobiol.* 94 (2018) 1175–1209. <https://doi.org/10.1111/php.12967>.
- [179] A.M. Amado, J.H. Uliana, T.Z. Pavan, I. Borissevitch, Effect of metallization on porphyrin photoacoustic response, *Chem. Phys. Lett.* 738 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.136875>.
- [180] F. Wu, L. Chen, L. Yue, K. Wang, K. Cheng, J. Chen, X. Luo, T. Zhang, Small-Molecule Porphyrin-Based Organic Nanoparticles with Remarkable Photothermal Conversion Efficiency for in Vivo Photoacoustic Imaging and Photothermal Therapy, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 11 (2019) 21408–21416. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b06866>.
- [181] R.J. Paproski, A. Forbrich, E. Huynh, J. Chen, J.D. Lewis, G. Zheng, R.J. Zemp, Porphyrin Nanodroplets: Sub-micrometer Ultrasound and Photoacoustic Contrast Imaging Agents, *Small* 12 (2016) 371–380. <https://doi.org/10.1002/sml.201502450>.
- [182] T. Mishchenko, I. Balalaeva, A. Gorokhova, M. Vedunova, D. V. Krysko, Which cell death modality wins the contest for photodynamic therapy of cancer?, *Cell Death Dis.* 13 (2022) 455. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04851-4>.
- [183] M. Srivastava, N. Ahmad, S. Gupta, H. Mukhtar, Involvement of Bcl-2 and Bax in Photodynamic Therapy-mediated Apoptosis. *Antisense Bcl-2*

- oligonucleotide sensitizes RIF 1 cells to photodynamic therapy apoptosis, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 15481–15488. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006920200>.
- [184] J. Saczko, A. Chwiłkowska, J. Kulbacka, I. Berdowska, B. Zieliński, M. Drag-Zalesińska, T. Wysocka, M. Ługowski, T. Banaś, Photooxidative action in cancer and normal cells induced by the use of photofrin® in photodynamic therapy, *Folia Biol. (Praha)*. 54 (2008) 24–29.
- [185] F. Kurniawan, Y. Miura, R.E. Kartasasmita, A. Mutalib, N. Yoshioka, D.H. Tjahjono, In silico study, synthesis, and cytotoxic activities of porphyrin derivatives, *Pharmaceuticals* 11 (2018) 1–18. <https://doi.org/10.3390/ph11010008>.
- [186] J. Gołab, D. Nowis, M. Skrzycki, H. Czeczot, A. Barańczyk-Kuźma, G.M. Wilczyński, M. Makowski, P. Mróz, K. Kozar, R. Kamiński, A. Jalili, M. Kopeć, T. Grzela, M. Jakóbisiak, Antitumor effects of photodynamic therapy are potentiated by 2-methoxyestradiol: A superoxide dismutase inhibitor, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 407–414. <https://doi.org/10.1074/jbc.M209125200>.
- [187] M.N. Slesarevskaya, A.V. Sokolov, Photodynamic therapy (PDT): The main principles and mechanism of action, *Urol. Vedom.* 2 (2012) 24. <https://doi.org/10.17816/uroved2324-28>.
- [188] P.F.C. Menezes, H. Imasato, J. Ferreira, V.S. Bagnato, J.R. Perussi, Correlation of cytotoxicity and depth of necrosis of the photoproducts of photogem®, *Laser Phys.* 17 (2007) 461–467. <https://doi.org/10.1134/s1054660x0704024x>.
- [189] P.F. Menezes, V.S. Bagnato, C.H. Sibata, H. Imasato, J.R. Perussi, Photocytotoxicity of Photogem submitted to photobleaching, *Opt. Methods Tumor Treat. Detect. Mech. Tech. Photodyn. Ther.* XIV 5689 (2005) 244. <https://doi.org/10.1117/12.588794>.
- [190] P.F.C. Menezes, C. Bernal, H. Imasato, V.S. Bagnato, J.R. Perussi, Photodynamic activity of different dyes, *Laser Phys.* 17 (2007) 468–471. <https://doi.org/10.1134/s1054660x07040251>.

- [191] J. Hess, H. Huang, A. Kaiser, V. Pierroz, O. Blacque, H. Chao, G. Gasser, Evaluation of the Medicinal Potential of Two Ruthenium(II) Polypyridine Complexes as One- and Two-Photon Photodynamic Therapy Photosensitizers, *Chem. - A Eur. J.* 23 (2017) 9888–9896. <https://doi.org/10.1002/chem.201701392>.
- [192] Mishchenko, V. Mitroshina, V.D. Turubanova, R. Alzeibak, I. V. Balalaeva, V. Vedunova, D. V. Krysko, Effect of photosensitizers photosens, photodithazine and hypericin on glioma Cells and primary neuronal cultures: A comparative analysis, *Sovrem. Tehnol. v Med.* 11 (2019) 52–60. <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.06>.
- [193] L. Wu, L. Yang, J. Huang, L. Zhang, X. Weng, X. Zhang, C. Shen, X. Zhou, C. Zheng, Cationic ester porphyrins cause high levels of phototoxicity in tumor cells and induction of apoptosis in HeLa cells, *Chem. Biodivers.* 6 (2009) 1066–1076. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200800173>.
- [194] R.I. Yakubovskaya, N.B. Morozova, T.A. Karmakova, A.D. Plutinskaya, V. Chissov, V.M. Derkacheva, E. Luk'yanets, G. Vorozhtsov, Comparative study of photo-induced activity of di- and tri-sulfonated derivatives of metal-free phthalocyanine and Photosens, in: A. V. Ivanov, M.A. Kazaryan (Eds.), *Proc. SPIE*, 2005: pp. 59730F-59730F–8. <https://doi.org/10.1117/12.640050>.
- [195] F. Wilkinson, W.P. Helman, A.B. Ross, Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 22 (1993) 113–262. <https://doi.org/10.1063/1.555934>.
- [196] C. Tanielian, C. Wolff, M. Esch, Singlet oxygen production in water: Aggregation and charge-transfer effects, *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 6555–6560. <https://doi.org/10.1021/jp952107s>.
- [197] A.P. Thomas, P.S. Saneesh Babu, S. Asha Nair, S. Ramakrishnan, D. Ramaiah, T.K. Chandrashekar, A. Srinivasan, M. Radhakrishna Pillai, Meso-tetrakis(p-sulfonatophenyl)N-confused porphyrin tetrasodium salt: A potential sensitizer for photodynamic therapy, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 5110–5120.

- <https://doi.org/10.1021/jm300009q>.
- [198] Z. Zhang, H.J. Yu, S. Wu, H. Huang, L.P. Si, H.Y. Liu, L. Shi, H.T. Zhang, Synthesis, characterization, and photodynamic therapy activity of 5,10,15,20-Tetrakis(carboxyl)porphyrin, *Bioorganic Med. Chem.* 27 (2019) 2598–2608. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.03.051>.
- [199] L. Benov, Photodynamic therapy: Current status and future directions, *Med. Princ. Pract.* 24 (2015) 14–28. <https://doi.org/10.1159/000362416>.
- [200] K. Berg, A. Western, J.C. Bommer, J. Moan, INTRACELLULAR LOCALIZATION OF SULFONATED meso-TETRAPHENYLPORPHINES IN A HUMAN CARCINOMA CELL LINE*, *Photochem. Photobiol.* 52 (1990) 481–487. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1990.tb01789.x>.
- [201] C. Pavani, A.F. Uchoa, C.S. Oliveira, Y. Iamamoto, M.S. Baptista, Effect of zinc insertion and hydrophobicity on the membrane interactions and PDT activity of porphyrin photosensitizers, *Photochem. Photobiol. Sci.* 8 (2009) 233–240. <https://doi.org/10.1039/b810313e>.
- [202] D. Deda, C. Pavani, E. Caritá, M. Baptista, H. Toma, K. Araki, Control of Cytolocalization and Mechanism of Cell Death by Encapsulation of a Photosensitizer, *J. Biomed. Nanotechnol.* 9 (2013) 1307–1317. <https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1614>.
- [203] J. Chen, L. Mao, S. Liu, Y. Liang, S. Wang, Y. Wang, Q. Zhao, X. Zhang, Y. Che, L. Gao, T. Liu, Effects of a novel porphyrin-based photosensitizer on sensitive and multidrug-resistant human gastric cancer cell lines, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 151 (2015) 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.08.020>.
- [204] K.A. Zhdanova, A. V. Ivantsova, F.Y. Vyalba, M.N. Usachev, M.A. Gradova, O. V. Gradov, N.Y. Karpechenko, N.A. Bragina, Design of A3B-Porphyrin Conjugates with Terpyridine as Potential Theranostic Agents: Synthesis, Complexation with Fe(III), Gd(III), and Photodynamic Activity, *Pharmaceutics* 15 (2023) 269. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010269>.

- [205] V.F. Otvagin, N.S. Kuzmina, E.S. Kudriashova, A. V. Nyuchev, A.E. Gavryushin, A.Y. Fedorov, Conjugates of Porphyrinoid-Based Photosensitizers with Cytotoxic Drugs: Current Progress and Future Directions toward Selective Photodynamic Therapy, *J. Med. Chem.* 65 (2022) 1695–1734. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01953>.
- [206] L. V. Krylova, V.F. Otvagin, G.P. Gribova, N.S. Kuzmina, E.A. Fedotova, I. V. Zelepukin, A. V. Nyuchev, A. V. Kustov, P.K. Morshnev, D.B. Berezin, M.O. Koifman, S.Z. Vatsadze, I. V. Balalaeva, A.Y. Fedorov, Developing Chlorin/Arylaminoquinazoline Conjugates with Nanomolar Activity for Targeted Photodynamic Therapy: Design, Synthesis, SAR, and Biological Evaluation, *J. Med. Chem.* 68 (2025) 1901–1923. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c02643>.
- [207] H. Sun, R. Guo, Y. Guo, J. Song, Z. Li, F. Song, Boosting Type-I and Type-II ROS Production of Water-Soluble Porphyrin for Efficient Hypoxic Tumor Therapy, *Mol. Pharm.* 20 (2023) 606–615. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00822>.
- [208] L. Dong, J. Zhang, Z. Geng, S. Zhang, Y. Wu, C. Wei, X. Wang, H. Lu, W. Yang, S.E. Zhu, Synthesis and evaluation of novel mitochondria-targeted, water-soluble phenoxazine-porphyrins for efficient photodynamic therapy, *Dye. Pigment.* 229 (2024) 112279. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112279>.
- [209] M. Guleria, S.K. Suman, J.B. Mitra, S.B. Shelar, J. Amirdhanayagam, H.D. Sarma, A. Dash, T. Das, Effect of structural variation on tumor targeting efficacy of cationically charged porphyrin derivatives: Comparative in-vitro and in-vivo evaluation for possible potential in PET and PDT, *Eur. J. Med. Chem.* 213 (2021) 113184. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113184>.
- [210] E. Caruso, M.C. Malacarne, S. Banfi, M.B. Gariboldi, V.T. Orlandi, Cationic diarylporphyrins: In vitro versatile anticancer and antibacterial photosensitizers, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 197 (2019) 111548. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111548>.

- [211] J. Carneiro, A. Gonçalves, Z. Zhou, K.E. Griffin, N.E.M. Kaufman, M. da G.H. Vicente, Synthesis and in vitro PDT evaluation of new porphyrins containing meso-epoxymethylaryl cationic groups, *Lasers Surg. Med.* 50 (2018) 566–575. <https://doi.org/10.1002/lsm.22824>.
- [212] K.A. Zhdanova, A.A. Zaytsev, M.A. Gradova, O. V. Gradov, A. V. Lobanov, A.S. Novikov, N.A. Bragina, Synthesis, Photophysical Properties, and Toxicity of o-Xylene-Bridged Porphyrin Dimers, *Inorganics* 11 (2023). <https://doi.org/10.3390/inorganics11100415>.
- [213] J.C. Maziere, R. Santus, P. Morliere, J.P. Reyftmann, C. Candide, L. Mora, S. Salmon, C. Maziere, S. Gatt, L. Dubertret, Cellular uptake and photosensitizing properties of anticancer porphyrins in cell membranes and low and high density lipoproteins, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 6 (1990) 61–68. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(90\)85074-7](https://doi.org/10.1016/1011-1344(90)85074-7).
- [214] S.E. Kornguth, T. Kalinke, H.I. Robins, J.D. Cohen, P. Turski, Preferential Binding of Radiolabeled Poly-L-lysines to C6 and U87 MG Glioblastomas Compared with Endothelial Cells in Vitro, *Cancer Res.* 49 (1989) 6390–6395.
- [215] A.M. Santoro, M.C. Lo Giudice, A. D’Urso, R. Lauceri, R. Purrello, D. Milardi, Cationic porphyrins are reversible proteasome inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 10451–10457. <https://doi.org/10.1021/ja300781u>.
- [216] H. Zheng, W. Wu, Y. Qian, Y. Wang, Single Molecular Investigation on Interaction between cationic porphyrin and DNA, *J. STEM* 2 (2025) 1–13. <https://doi.org/10.63460/EQHD1844>.
- [217] W. Zhou, Y. Cheng, B. Song, J. Hao, W. Miao, G. Jia, C. Li, Cationic Porphyrin-Mediated G-Quadruplex DNA Oxidative Damage: Regulated by the Initial Interplay between DNA and TMPyP4, *Biochemistry* 60 (2021) 3707–3713. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00557>.
- [218] T.J. Jensen, M.G.H. Vicente, R. Luguya, J. Norton, F.R. Fronczek, K.M. Smith, Effect of overall charge and charge distribution on cellular uptake, distribution and phototoxicity of cationic porphyrins in HEP2 cells, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 100 (2010) 100–111.

- <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.007>.
- [219] B.P.P. McCormick, M.F. Pansa, L.N.M. Sanabria, C.M.B. Carvalho, M.A.F. Faustino, M.G.P.M.S. Neves, J.A.S. Cavaleiro, N.B.R. Vittar, V.A. Rivarola, Cationic porphyrin derivatives for application in photodynamic therapy of cancer, *Laser Phys.* 24 (2014). <https://doi.org/10.1088/1054-660X/24/4/045603>.
- [220] Y.E. Yegorov, K.S. Vishnyakova, X. Pan, A.E. Egorov, K. V. Popov, L.L. Tevonyan, G. V. Chashchina, D.N. Kaluzhny, Mechanisms of Phototoxic Effects of Cationic Porphyrins on Human Cells In Vitro, *Molecules* 28 (2023). <https://doi.org/10.3390/molecules28031090>.
- [221] D. Kessel, K. Woodburn, B.W. Henderson, C.K. Chang, SITES OF PHOTODAMAGE in vivo and in vitro BY A CATIONIC PORPHYRIN, *Photochem. Photobiol.* 62 (1995) 875–881. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1995.tb09150.x>.
- [222] F. Ricchelli, L. Franchi, G. Miotto, L. Borsetto, S. Gobbo, P. Nikolov, J.C. Bommer, E. Reddi, Meso-substituted tetra-cationic porphyrins photosensitize the death of human fibrosarcoma cells via lysosomal targeting, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37 (2005) 306–319. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.06.013>.
- [223] N. Malatesti, I. Munitic, I. Jurak, Porphyrin-based cationic amphiphilic photosensitisers as potential anticancer, antimicrobial and immunosuppressive agents, *Biophys. Rev.* 9 (2017) 149–168. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0257-7>.
- [224] D. Kessel, R. Luguya, M.G.H. Vicente, Localization and Photodynamic Efficacy of Two Cationic Porphyrins Varying in Charge Distribution¶, *Photochem. Photobiol.* 78 (2003) 431. [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2003\)078<0431:lapeot>2.0.co;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2003)078<0431:lapeot>2.0.co;2).
- [225] G. Schwach, P. Thamyongkit, L.M. Reith, B. Svejda, G. Knör, R. Pfragner, W. Schoefberger, A water soluble tri-cationic porphyrin-EDTA conjugate induces apoptosis in human neuroendocrine tumor cell lines, *Bioorg. Chem.* 40 (2012) 108–113. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.09.006>.

- [226] Y.S. Bortnevskaia, N.S. Zakharov, V.S. Senkov, M.A. Gradova, N.Y. Karpechenko, E.D. Nikolskaia, M.R. Mollaeva, N.G. Yabbarov, A.S. Novikov, N.A. Bragina, K.A. Zhdanova, Synthesis, Molecular Docking, and Biological Activity of New EGFR-Targeted Photosensitizers Based on Cationic Porphyrins Encapsulated into Pluronic F127 Micelles, *Mol. Pharm.* 22 (2025) 3308–3330. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5c00247>.
- [227] K. Nishida, T. Tojo, T. Kondo, M. Yuasa, Evaluation of the correlation between porphyrin accumulation in cancer cells and functional positions for application as a drug carrier, *Sci. Rep.* 11 (2021) 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81725-3>.
- [228] V.F. Otvagin, N.S. Kuzmina, L. V. Krylova, A.B. Volovetsky, A. V. Nyuchev, A.E. Gavryushin, I.N. Meshkov, Y.G. Gorbunova, Y. V. Romanenko, O.I. Koifman, I. V. Balalaeva, A.Y. Fedorov, Water-Soluble Chlorin/Arylaminoquinazoline Conjugate for Photodynamic and Targeted Therapy, *J. Med. Chem.* 62 (2019) 11182–11193. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01294>.
- [229] J. Matsumoto, K. Suzuki, M. Yasuda, Y. Yamaguchi, Y. Hishikawa, N. Imamura, A. Nanashima, Photodynamic therapy of human biliary cancer cell line using combination of phosphorus porphyrins and light emitting diode, *Bioorganic Med. Chem.* 25 (2017) 6536–6541. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.031>.
- [230] K. Hirakawa, H. Hasegawa, S. Hirohara, Photocytotoxicity for HeLa cells by tetrakis(alkoxyphenyl)porphyrin phosphorus(V) complexes, *Photomed. Photobiol.* 46 (2025) 23–26.
- [231] P. Therapy, B.M. Amos-tautua, S.P. Songca, Application of Porphyrins in Antibacterial, *Molecules* 24 (2019) 2428–2456.
- [232] E. Alves, M.A. Faustino, M.G. Neves, A. Cunha, J. Tome, A. Almeida, An Insight on Bacterial Cellular Targets of Photodynamic Inactivation, *Future Med. Chem.* 6 (2014) 141–164. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.211>.
- [233] A. Almeida, Photodynamic Therapy in the Inactivation of Microorganisms,

- Antibiotics 9 (2020) 138. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040138>.
- [234] A.S. Garcez, S.C. Núñez, Bacterial reduction in root canals using antimicrobial photodynamic therapy, in: *Lasers Dent.*, Wiley, 2015: pp. 131–138. <https://doi.org/10.1002/9781118987742.ch17>.
- [235] M.T. Chitsazi, A. Shirmohammadi, R. Pourabbas, N. Abolfazli, I. Farhoudi, B. Daghigh Azar, F. Farhadi, Clinical and Microbiological Effects of Photodynamic Therapy Associated with Non-surgical Treatment in Aggressive Periodontitis., *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects* 8 (2014) 153–9. <https://doi.org/10.5681/joddd.2014.028>.
- [236] V.G. Garcia, M.A. De Lima, T. Okamoto, L.A. Milanezi, E.C.G. Júnior, L.A. Fernandes, J.M. De Almeida, L.H. Theodoro, Effect of photodynamic therapy on the healing of cutaneous third-degree-burn: Histological study in rats, *Lasers Med. Sci.* 25 (2010) 221–228. <https://doi.org/10.1007/s10103-009-0694-z>.
- [237] E. Arredondo-Espinoza, S. López-Cortina, I. Balderas-Rentería, Synthesis and photodynamic activity of 5,10,15-Tris(P-chlorophenyl)-20-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-21H,23H-porphyrin, *J. Mex. Chem. Soc.* 58 (2014) 369–373.
- [238] F. Cieplik, A. Pummer, J. Regensburger, K.A. Hiller, A. Späth, L. Tabenski, W. Buchalla, T. Maisch, The impact of absorbed photons on antimicrobial photodynamic efficacy, *Front. Microbiol.* 6 (2015). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00706>.
- [239] M.C.E. Hashimoto, R.A. Prates, I.T. Kato, S.C. Núñez, L.C. Courrol, M.S. Ribeiro, Antimicrobial photodynamic therapy on drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-induced infection. An in vivo study, *Photochem. Photobiol.* 88 (2012) 590–595. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01137.x>.
- [240] S.A.G. Lambrechts, M.C.G. Aalders, D.H. Langeveld-Klerks, Y. Khayali, J.W.M. Lagerberg, Effect of Monovalent and Divalent Cations on the Photoinactivation of Bacteria with meso-Substituted Cationic Porphyrins, *Photochem. Photobiol.* 79 (2004) 297. <https://doi.org/10.1562/sa-03-15.1>.
- [241] E. Alves, L. Costa, C.M. Carvalho, J.P. Tomé, M.A. Faustino, M.G. Neves,

- A.C. Tomé, J.A. Cavaleiro, A. Cunh, A. Almeida, Charge effect on the photoinactivation of gram-negative and gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins, *BMC Microbiol.* 9 (2009) 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-70>.
- [242] A. Hanakova, K. Bogdanova, K. Tomankova, K. Pizova, J. Malohlava, S. Binder, R. Bajgar, K. Langova, M. Kolar, J. Mosinger, H. Kolarova, The application of antimicrobial photodynamic therapy on *S. aureus* and *E. coli* using porphyrin photosensitizers bound to cyclodextrin, *Microbiol. Res.* 169 (2014) 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.005>.
- [243] C.S. Prasanth, S.C. Karunakaran, A.K. Paul, V. Kussovski, V. Mantareva, D. Ramaiah, L. Selvaraj, I. Angelov, L. Avramov, K. Nandakumar, N. Subhash, Antimicrobial photodynamic efficiency of novel cationic porphyrins towards periodontal gram-positive and gram-negative pathogenic bacteria, *Photochem. Photobiol.* 90 (2014) 628–640. <https://doi.org/10.1111/php.12198>.
- [244] L. Sălăgeanu, D. Muntean, H.F. George, A. Lascu, D. Anghel, I.C. Bagiu, E. Fagadar-Cosma, Antimicrobial activity of different substituted meso-porphyrin derivatives, *Rev. Rom. Med. Lab.* 28 (2020) 205–216. <https://doi.org/10.2478/rrlm-2020-0014>.
- [245] O. V. Batishchev, M.A. Kalutskii, E.A. Varlamova, A.N. Konstantinova, K.I. Makrinsky, Y.A. Ermakov, I.N. Meshkov, V.S. Sokolov, Y.G. Gorbunova, Antimicrobial activity of photosensitizers: arrangement in bacterial membrane matters, *Front. Mol. Biosci.* 10 (2023) 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1192794>.
- [246] C. Rajani, V. Patel, P. Borisa, T. Karanwad, S. Polaka, D. Kalyane, R.K. Tekade, Photothermal therapy as emerging combinatorial therapeutic approach, in: *Futur. Pharm. Prod. Dev. Res.*, Elsevier, 2020: pp. 297–339. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814455-8.00009-8>.
- [247] Y. Zhang, R. Sha, L. Zhang, W. Zhang, P. Jin, W. Xu, J. Ding, J. Lin, J. Qian, G. Yao, R. Zhang, F. Luo, J. Zeng, J. Cao, L. ping Wen, Harnessing copper-palladium alloy tetrapod nanoparticle-induced pro-survival autophagy for

- optimized photothermal therapy of drug-resistant cancer, *Nat. Commun.* 9 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06529-y>.
- [248] W.R. Chen, W.G. Zhu, J.R. Dynlacht, H. Liu, R.E. Nordquist, Long-term tumor resistance induced by laser photo-immunotherapy, *Int. J. Cancer* 81 (1999) 808–812. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990531\)81:5<808::AID-IJC23>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19990531)81:5<808::AID-IJC23>3.0.CO;2-J).
- [249] Z. Lin, Y. Liu, X. Ma, S. Hu, J. Zhang, Q. Wu, W. Ye, S. Zhu, D. Yang, D. Qu, J. Jiang, Photothermal ablation of bone metastasis of breast cancer using PEGylated multi-walled carbon nanotubes, *Sci. Rep.* 5 (2015) 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep11709>.
- [250] C. Liang, X. Song, Q. Chen, T. Liu, G. Song, R. Peng, Z. Liu, Magnetic Field-Enhanced Photothermal Ablation of Tumor Sentinel Lymph Nodes to Inhibit Cancer Metastasis, *Small* 11 (2015) 4856–4863. <https://doi.org/10.1002/sml.201501197>.
- [251] X. He, X. Bao, H. Cao, Z. Zhang, Q. Yin, W. Gu, L. Chen, H. Yu, Y. Li, Tumor-penetrating nanotherapeutics loading a near-infrared probe inhibit growth and metastasis of breast cancer, *Adv. Funct. Mater.* 25 (2015) 2831–2839. <https://doi.org/10.1002/adfm.201500772>.
- [252] Y. Zhang, X. Zhan, J. Xiong, S. Peng, W. Huang, R. Joshi, Y. Cai, Y. Liu, R. Li, K. Yuan, N. Zhou, W. Min, Temperature-dependent cell death patterns induced by functionalized gold nanoparticle photothermal therapy in melanoma cells, *Sci. Rep.* 8 (2018) 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26978-1>.
- [253] C.L. West, A.C.V. Doughty, K. Liu, W.R. Chen, Monitoring tissue temperature during photothermal therapy for cancer, *J. Bio-X Res.* 2 (2019) 159–168. <https://doi.org/10.1097/JBR.0000000000000050>.
- [254] K. Hayashi, M. Nakamura, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, T. Kori, K. Ishimura, Photostable iodinated silica/porphyrin hybrid nanoparticles with heavy-atom effect for wide-field photodynamic/photothermal therapy using single light source, *Adv. Funct. Mater.* 24 (2014) 503–513.

- <https://doi.org/10.1002/adfm.201301771>.
- [255] C. Qi, J. Chen, Y. Qu, X. Luo, W. Wang, X. Zheng, Recent Advances in Porphyrin-Based Covalent Organic Frameworks for Synergistic Photodynamic and Photothermal Therapy, *Pharmaceutics* 16 (2024). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121625>.
- [256] K. Ding, Y. Zhang, W. Si, X. Zhong, Y. Cai, J. Zou, J. Shao, Z. Yang, X. Dong, Zinc(II) Metalated Porphyrins as Photothermogenic Photosensitizers for Cancer Photodynamic/Photothermal Synergistic Therapy, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10 (2018) 238–247. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b15583>.
- [257] L. Zhang, Y. Geng, L. Li, X. Tong, S. Liu, X. Liu, Z. Su, Z. Xie, D. Zhu, M.R. Bryce, Rational design of iridium-porphyrin conjugates for novel synergistic photodynamic and photothermal therapy anticancer agents, *Chem. Sci.* 12 (2021) 5918–5925. <https://doi.org/10.1039/d1sc00126d>.
- [258] B. Guo, G. Feng, P.N. Manghnani, X. Cai, J. Liu, W. Wu, S. Xu, X. Cheng, C. Teh, B. Liu, A Porphyrin-Based Conjugated Polymer for Highly Efficient In Vitro and In Vivo Photothermal Therapy, *Small* 12 (2016) 6243–6254. <https://doi.org/10.1002/sml.201602293>.
- [259] H. Hu, H. Wang, Y. Yang, J.F. Xu, X. Zhang, A Bacteria-Responsive Porphyrin for Adaptable Photodynamic/Photothermal Therapy, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 61 (2022). <https://doi.org/10.1002/anie.202200799>.
- [260] C.S. Jin, H. Wada, T. Anayama, P.Z. McVeigh, H.P. Hu, K. Hirohashi, T. Nakajima, T. Kato, S. Keshavjee, D. Hwang, B.C. Wilson, G. Zheng, K. Yasufuku, An Integrated Nanotechnology-Enabled Transbronchial Image-Guided Intervention Strategy for Peripheral Lung Cancer, *Cancer Res.* 76 (2016) 5870–5880. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-3196>.
- [261] C.S. Jin, J.F. Lovell, J. Chen, G. Zheng, Ablation of hypoxic tumors with dose-equivalent photothermal, but not photodynamic, therapy using a nanostructured porphyrin assembly, *ACS Nano* 7 (2013) 2541–2550. <https://doi.org/10.1021/nn3058642>.

- [262] W.D. O'BRIEN, Biological Effects of Ultrasound: Rationale for the Measurement of Selected Ultrasonic Output Quantities, *Echocardiography* 3 (1986) 165–179. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8175.1986.tb00197.x>.
- [263] A. Prosperetti, L.A. Crum, K.W. Commander, Nonlinear bubble dynamics, *J. Acoust. Soc. Am.* 83 (1988) 502–514. <https://doi.org/10.1121/1.396145>.
- [264] V. Choi, M.A. Rajora, G. Zheng, Activating Drugs with Sound: Mechanisms behind Sonodynamic Therapy and the Role of Nanomedicine, *Bioconjug. Chem.* 31 (2020) 967–989. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00029>.
- [265] K.B. Bader, E. Vlaisavljevich, A.D. Maxwell, For Whom the Bubble Grows: Physical Principles of Bubble Nucleation and Dynamics in Histotripsy Ultrasound Therapy, *Ultrasound Med. Biol.* 45 (2019) 1056–1080. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2018.10.035>.
- [266] A.D. Maxwell, C.A. Cain, A.P. Duryea, L. Yuan, H.S. Gurm, Z. Xu, Noninvasive Thrombolysis Using Pulsed Ultrasound Cavitation Therapy – Histotripsy, *Ultrasound Med. Biol.* 35 (2009) 1982–1994. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2009.07.001>.
- [267] D.A. Tzerkovsky, E.L. Protopovich, D.S. Stupak, Sonodynamic and sonophotodynamic therapy in oncology, *Biomed. Photonics* 8 (2019) 31–46. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2019-8-2-31-46>.
- [268] X. Pan, L. Bai, H. Wang, Q. Wu, H. Wang, S. Liu, B. Xu, X. Shi, H. Liu, Metal–Organic-Framework-Derived Carbon Nanostructure Augmented Sonodynamic Cancer Therapy, *Adv. Mater.* 30 (2018). <https://doi.org/10.1002/adma.201800180>.
- [269] G. Varchi, F. Foglietta, R. Canaparo, M. Ballestri, F. Arena, G. Sotgiu, A. Guerrini, C. Nanni, G. Cicoria, G. Cravotto, S. Fanti, L. Serpe, Engineered Porphyrin Loaded Core-Shell Nanoparticles for Selective Sonodynamic Anticancer Treatment, *Nanomedicine* 10 (2015) 3483–3494. <https://doi.org/10.2217/nnm.15.150>.
- [270] P. Huang, X. Qian, Y. Chen, L. Yu, H. Lin, L. Wang, Y. Zhu, J. Shi, Metalloporphyrin-encapsulated biodegradable nanosystems for highly

- efficient magnetic resonance imaging-guided sonodynamic cancer therapy, *J. Am. Chem. Soc.* 139 (2017) 1275–1284. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11846>.
- [271] F. Bosca, I. Corazzari, F. Foglietta, R. Canaparo, G. Durando, L. Pastero, S. Arpicco, F. Dosio, D. Zonari, G. Cravotto, S. Tagliapietra, L. Serpe, F. Turci, A. Barge, SWCNT-porphyrin nano-hybrids selectively activated by ultrasound: an interesting model for sonodynamic applications, *RSC Adv.* 10 (2020) 21736–21744. <https://doi.org/10.1039/d0ra03944f>.
- [272] A. Ma, H. Ran, J. Wang, R. Ding, C. Lu, L. Liu, Y. Luo, H. Chen, T. Yin, An Urchin-Shaped Copper-Based Metalloporphyrin Nanosystem as a Sonosensitizer for Sonodynamic Therapy, *Nanomaterials* 12 (2022) 1–13. <https://doi.org/10.3390/nano12020209>.
- [273] X. Wang, F. Yan, X. Liu, P. Wang, S. Shao, Y. Sun, Z. Sheng, Q. Liu, J.F. Lovell, H. Zheng, Enhanced drug delivery using sonoactivatable liposomes with membrane-embedded porphyrins, *J. Control. Release* 286 (2018) 358–368. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.07.048>.
- [274] H. Chen, L. Liu, A. Ma, T. Yin, Z. Chen, R. Liang, Y. Qiu, M. Zheng, L. Cai, Noninvasively immunogenic sonodynamic therapy with manganese protoporphyrin liposomes against triple-negative breast cancer, *Biomaterials* 269 (2021) 120639. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120639>.
- [275] J. Xie, C. Liang, S. Luo, Z. Pan, Y. Lai, J. He, H. Chen, Q. Ren, H. Huang, Q. Zhang, P. Zhang, Water-Soluble Iridic-Porphyrin Complex for Non-invasive Sonodynamic and Sono-oxidation Therapy of Deep Tumors, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 13 (2021) 27934–27944. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c06381>.
- [276] H.T. Önal, E. Aydemir, D. Yetkin, Ö.H. Tutuş, F. Ayaz, Anti-cancer and immunomodulatory photodynamic therapy application of novel porphyrin derivatives, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 104 (2025). <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106513>.
- [277] X.H. Li, P. Zhou, L.H. Wang, S.M. Tian, Y. Qian, L.R. Chen, P. Zhang, The

- targeted gene (KDRP-CD/TK) therapy of breast cancer mediated by SonoVue and ultrasound irradiation in vitro, *Ultrasonics* 52 (2012) 186–191. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2011.08.002>.
- [278] X. Su, Y. Li, P. Wang, X. Wang, Q. Liu, Protoporphyrin IX-mediated sonodynamic action induces apoptosis of K562 cells, *Ultrasonics* 54 (2014) 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2013.07.015>.
- [279] S. Endo, N. Kudo, S. Yamaguchi, K. Sumiyoshi, H. Motegi, H. Kobayashi, S. Terasaka, K. Houkin, Porphyrin Derivatives-Mediated Sonodynamic Therapy for Malignant Gliomas In Vitro, *Ultrasound Med. Biol.* 41 (2015) 2458–2465. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2015.05.007>.
- [280] S.K. Wu, M.A. Santos, S.L. Marcus, K. Hynynen, MR-guided Focused Ultrasound Facilitates Sonodynamic Therapy with 5-Aminolevulinic Acid in a Rat Glioma Model, *Sci. Rep.* 9 (2019) 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46832-2>.
- [281] Y. Shen, Y. Chen, Y. Huang, X. Zeng, L. Huang, X. Diao, S. Chen, X. Chen, An in vitro study on the antitumor effect of sonodynamic therapy using sinoporphyrin sodium on human glioblastoma cells, *Ultrasonics* 110 (2021) 106272. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2020.106272>.
- [282] H.Q. Liu, Y.W. An, Z.W. Li, W.X. Li, B. Yuan, J.C. Wang, H.T. Jin, C. Wang, Sinoporphyrin sodium, a novel sensitizer for photodynamic and sonodynamic therapy, *Open Chem.* 18 (2020) 691–701. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0127>.
- [283] Y. Liu, Y. Lu, X. Zhu, C. Li, M. Yan, J. Pan, G. Ma, Tumor microenvironment-responsive prodrug nanoplatfrom via co-self-assembly of photothermal agent and IDO inhibitor for enhanced tumor penetration and cancer immunotherapy, *Biomaterials* 242 (2020) 119933. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119933>.
- [284] H. Zhao, H. Chen, Z. Guo, W. Zhang, H. Yu, Z. Zhuang, H. Zhong, Z. Liu, In situ photothermal activation of necroptosis potentiates black phosphorus-mediated cancer photo-immunotherapy, *Chem. Eng. J.* 394 (2020) 124314.

- <https://doi.org/10.1016/j.ccej.2020.124314>.
- [285] T. Kato, H. Wakiyama, A. Furusawa, P.L. Choyke, H. Kobayashi, Near infrared photoimmunotherapy; a review of targets for cancer therapy, *Cancers (Basel)*. 13 (2021) 1–20. <https://doi.org/10.3390/cancers13112535>.
- [286] H. Kobayashi, P.L. Choyke, Near-Infrared Photoimmunotherapy of Cancer, *Acc. Chem. Res.* 52 (2019) 2332–2339. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00273>.
- [287] D. Wang, T. Wang, J. Liu, H. Yu, S. Jiao, B. Feng, F. Zhou, Y. Fu, Q. Yin, P. Zhang, Z. Zhang, Z. Zhou, Y. Li, Acid-Activatable Versatile Micelleplexes for PD-L1 Blockade-Enhanced Cancer Photodynamic Immunotherapy, *Nano Lett.* 16 (2016) 5503–5513. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.6b01994>.
- [288] H. Deng, Z. Zhou, W. Yang, L. Lin, S. Wang, G. Niu, J. Song, X. Chen, Endoplasmic Reticulum Targeting to Amplify Immunogenic Cell Death for Cancer Immunotherapy, *Nano Lett.* 20 (2020) 1928–1933. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b05210>.
- [289] M. Wang, J. Rao, M. Wang, X. Li, K. Liu, M.F. Naylor, R.E. Nordquist, W.R. Chen, F. Zhou, Cancer photo-immunotherapy: From bench to bedside, *Theranostics* 11 (2021) 2218–2231. <https://doi.org/10.7150/thno.53056>.
- [290] O. Krysko, T.L. Aaes, C. Bachert, P. Vandenabeele, D. V. Krysko, Many faces of DAMPs in cancer therapy, *Cell Death Dis.* 4 (2013) 1–7. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.156>.
- [291] J.I.G. Solari, E. Filippi-Chiela, E.S. Pilar, V. Nunes, E.A. Gonzalez, F. Figueiró, C.F. Andrade, F. Klamt, Damage-associated molecular patterns (DAMPs) related to immunogenic cell death are differentially triggered by clinically relevant chemotherapeutics in lung adenocarcinoma cells, *BMC Cancer* 20 (2020) 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-06964-5>.
- [292] D. Mew, C.K. Wat, G.H. Towers, J.G. Levy, Photoimmunotherapy: treatment of animal tumors with tumor-specific monoclonal antibody-hematoporphyrin conjugates., *J. Immunol.* 130 (1983) 1473–1477. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.130.3.1473>.

- [293] H. Zhong, J. Liang, X. Xu, C. Ding, M. Yu, N. Abuduaini, J. Liu, X. Wang, S. Zhang, F. Wang, B. Feng, Hematoporphyrin-Modified Dendrimers Combined Immunoadjuvants for Enhanced Photoimmunotherapy of Colorectal Cancer, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 17 (2025) 25059–25070. <https://doi.org/10.1021/acsami.5c02413>.
- [294] C.D.L. Davis, E.O. Pettersen, T. Lindmo, Changes in antigen expression on human fine melanoma cells after exposure to hypoxia and acidic pH, alone or in combination, *Int. J. Cancer* 43 (1989) 350–355. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910430231>.
- [295] E. Carrasco-Marín, C. Alvarez-Domínguez, P. López-Mato, R. Martínez-Palencia, F. Leyva-Cobián, Iron Salts and Iron-Containing Porphyrins Block Presentation of Protein Antigens by Macrophages to MHC Class II-Restricted T Cells, *Cell. Immunol.* 171 (1996) 173–185. <https://doi.org/10.1006/cimm.1996.0192>.
- [296] S. Long, Y. Zhao, Y. Xu, H. Li, H. Zhao, D. Chen, J. Zeng, H. Qiu, X. Li, Y. Gu, Immune response induced by hematoporphyrin derivatives mediated photodynamic therapy: Immunogenic cell death and elevated costimulatory molecules, *J. Innov. Opt. Health Sci.* 15 (2022) 1–12. <https://doi.org/10.1142/S1793545822400028>.
- [297] Z. Fan, Q. Pei, H. Sun, H. Zhang, Z. Xie, T. Zhang, C. Ma, A Porphyrin Nanomaterial for Photoimmunotherapy for Treatment of Melanoma, *Adv. Sci.* 2414592 (2025) 1–11. <https://doi.org/10.1002/advs.202414592>.
- [298] J. Yue, Q. Mei, P. Wang, P. Miao, W.F. Dong, L. Li, Light-triggered multifunctional nanoplatform for efficient cancer photo-immunotherapy, *J. Nanobiotechnology* 20 (2022) 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01388-8>.
- [299] D. Liu, L. Fu, L. Gong, S. Li, K. Li, K. Liu, D. Yang, Proton-Gradient-Driven Porphyrin-Based Liposome Remote-Loaded with Imiquimod as In Situ Nanoadjuvants for Synergistically Augmented Tumor Photoimmunotherapy, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 16 (2024) 8403–8416.

- <https://doi.org/10.1021/acsami.3c17133>.
- [300] D. Liu, B. Chen, Y. Mo, Z. Wang, T. Qi, Q. Zhang, Y. Wang, Redox-Activated Porphyrin-Based Liposome Remote-Loaded with Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Inhibitor for Synergistic Photoimmunotherapy through Induction of Immunogenic Cell Death and Blockage of IDO Pathway, *Nano Lett.* 19 (2019) 6964–6976. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b02306>.
- [301] J.P. Strachan, S. Gentemann, J. Seth, W.A. Kalsbeck, J.S. Lindsey, D. Holten, D.F. Bocian, Effects of Orbital Ordering on Electronic Communication in Multiporphyrin Arrays, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11191–11201. <https://doi.org/10.1021/ja971678q>.
- [302] P.A. Stuzhin, Y.B. Ivanova, I.S. Migalova, V.B. Sheinin, Theoretical and experimental study of the effect of tetra- β -phenyl substitution on the acid-base properties of porphyrazine, *Russ. J. Gen. Chem.* 75 (2005) 1300–1308. <https://doi.org/10.1007/s11176-005-0415-7>.
- [303] F. Ronzani, A. Trivella, E. Arzoumanian, S. Blanc, M. Sarakha, C. Richard, E. Oliveros, S. Lacombe, Comparison of the photophysical properties of three phenothiazine derivatives: Transient detection and singlet oxygen production, *Photochem. Photobiol. Sci.* 12 (2013) 2160–2169. <https://doi.org/10.1039/c3pp50246e>.
- [304] K. Hirakawa, H. Segawa, Acid dissociation of the axial hydroxyl group of hydroxy(1-pyrenebutoxy) phosphorus(v) porphyrin controls the intramolecular excitation energy transfer, *Photochem. Photobiol. Sci.* 9 (2010) 704–709. <https://doi.org/10.1039/b9pp00204a>.
- [305] Y. Fang, Y.G. Gorbunova, P. Chen, X. Jiang, M. Manowong, A.A. Sinelshchikova, Y.Y. Enakieva, A.G. Martynov, A.Y. Tsivadze, A. Bessmertnykh-Lemeune, C. Stern, R. Guilard, K.M. Kadish, Electrochemical and spectroelectrochemical studies of diphosphorylated metalloporphyrins. generation of a phlorin anion product, *Inorg. Chem.* 54 (2015) 3501–3512. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5b00067>.
- [306] M.M. Kadish, K. M., Morrison, Substituent Effects on the Redox Reactions of

- Tetraphenylporphyrins, *Bioinorg. Chem.* 7 (1977) 107–115.
- [307] B.A. Schröder, C. Wrocklage, A. Hasilik, P. Saftig, The proteome of lysosomes, *Proteomics* 10 (2010) 4053–4076. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000196>.
- [308] I.O.L. Bacellar, T.M. Tsubone, C. Pavani, M.S. Baptista, Photodynamic efficiency: From molecular photochemistry to cell death, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 20523–20559. <https://doi.org/10.3390/ijms160920523>.
- [309] C. Wang, R.J. Youle, The Role of Mitochondria in Apoptosis, *HHS Public Acces* 43 (2009) 95–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134850>.
- [310] H. Hasegawa, K. Hirakawa, Evaluation of the photosensitizer activity of hydrophobic phosphorus(V)porphyrins using the absorption spectral change of 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 308 (2024) 123765. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123765>.
- [311] M. Poot, R.H. Pierce, Detection of changes in mitochondrial function during apoptosis by simultaneous staining with multiple fluorescent dyes and correlated multiparameter flow cytometry, *Cytometry* 35 (1999) 311–317. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19990401\)35:4<311::AID-CYTO3>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19990401)35:4<311::AID-CYTO3>3.0.CO;2-E).
- [312] G. Kroemer, P. Petit, N. Zamzami, J. Vayssière, B. Mignotte, The biochemistry of programmed cell death, *FASEB J.* 9 (1995) 1277–1287. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.13.7557017>.
- [313] Z. Chen, F. Han, Y. Du, H. Shi, W. Zhou, Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions, *Signal Transduct. Target. Ther.* 8 (2023) 70. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01332-8>.