

Конъюгаты природного хлорина с доцетакселем с контролируемым высвобождением

Д. А. Минаков,^{a@} П. В. Островерхов,^a Е. А. Плотникова,^{a,b}
М. Н. Усачёв,^a Е. М. Зубин,^a С. И. Тихонов,^a М. А. Грин^a

^aКафедра химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, МИРЭА-Российский Технологический университет, 119571 Москва, Россия

^bМосковский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, 125284 Москва, Россия

[@]E-mail: d-m2020@yandex.ru

В настоящей работе описан синтез лабильных конъюгатов природного хлорина и химиотерапевтического препарата доцетакселя в качестве прототипов фармпрепаратов для комбинированной ФДТ онкологических заболеваний. Изучение фотофизических свойств показало сохранение флуоресцентных свойств и снижение квантового выхода генерации синглетного кислорода, что может быть связано с пролекарственной природой полученных конъюгатов. Цитотоксичность полученных конъюгатов была оценена in vitro с использованием клеточной линии карциномы протока молочной железы человека MCF-7. Было показано, что конъюгирование природных хлоринов с доцетакселем значительно увеличивает фотоиндуцированную цитотоксичность независимо от времени воздействия субстанций на клетки, при этом темновая цитотоксичность на несколько порядков ниже фотоиндуцированной.

Ключевые слова: Фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы, химиотерапия, комбинированная терапия, природные хлорины, доцетаксел, лабильные линкеры.

Controlled-Release Conjugates of Natural Chlorin with Docetaxel

Dmitriy A. Minakov,^{a@} Petr V. Ostroverkhov,^a Ekaterina A. Plotnikova,^{a,b}
Maxim N. Usachev,^a Evgeniy M. Zubin,^a Sergey I. Tikhonov,^a and Mikhail A. Grin^a

^aDepartment of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal and Organic Chemistry, Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA-Russian Technological University, Moscow, 119571 Russia

^bP. Hertsen Moscow Oncology Research Institute - branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, 125284 Russia

[@]Corresponding author E-mail: d-m2020@yandex.ru

This paper describes the synthesis of labile conjugates of a natural chlorin and the chemotherapeutic drug docetaxel as pharmaceutical prototypes for combined photodynamic therapy (PDT) of oncological diseases. A study of the photophysical properties revealed the preservation of fluorescence properties and a decrease in the quantum yield of singlet oxygen generation, which may be related to the prodrug nature of the resulting conjugates. The cytotoxicity of the resulting conjugates was assessed in vitro using the MCF-7 human breast ductal carcinoma cell line. Conjugation of natural chlorins with docetaxel was shown to significantly increase photoinduced cytotoxicity, regardless of the duration of cell exposure, with dark cytotoxicity being several orders of magnitude lower than photoinduced cytotoxicity.

Keywords: Photodynamic therapy, photosensitizers, chemotherapy, combined therapy, natural chlorins, docetaxel, labile linkers.

Введение

Повышение эффективности противоопухолевой терапии является одной из ключевых задач современной онкологии.^[1] Одной из таких стратегий является объединение в одном препарате функций фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии (ФДТ) и химиотерапевтического агента. Данный подход позволяет реализовать синергетический эффект, направленно воздействуя на опухолевую ткань за счет двойного механизма действия: фотоиндуцированного повреждения при облучении и цитотоксического воздействия лекарственного средства.^[2,3] Перспективными платформами для создания таких молекул выступают природные хлорины, обладающие оптимальным набором фотофизических свойств и высокой тропностью к опухолевой ткани.^[4,5]

В последние годы был предложен ряд стратегий конъюгирования, включающих ковалентное связывание цитостатиков, таких как доксорубин,^[6] паклитаксел,^[7] с тетрапиррольными макроциклами через биodeградируемые линкеры или спейсеры. Данный подход позволяет создавать мультимодальные системы, где фотосенсибилизатор может выполнять не только свою прямую функцию, но и роль транспортера химиопрепарата в целевые клетки. В литературе сообщается о получении конъюгатов с антрациклиновыми антибиотиками,^[8] препаратами платиновой^[9] и хиноксалиновой групп,^[9] а также о проведении их биологических исследований *in vitro* и *in vivo*, продемонстрировавших повышенную эффективность конъюгатов по сравнению с отдельными компонентами конструкции, что подтверждает перспективность выбранного направления. Наряду с описанными выше примерами эффективного комбинирования природных хлоринов с химиотерапевтическими препаратами, важным является возможность использования молекулы хлорина в качестве вектора для селективной доставки в опухоль. С этой целью актуальна разработка высокоспецифичных фотосенсибилизаторов с высоким накоплением в опухолевых клетках. Подобная стратегия позволит преодолеть одно из главных ограничений химиотерапии онкологических заболеваний, а именно побочное токсическое действие на здоровые клетки организма.

Однако, в случае использования объёмных фрагментов в составе конъюгата, стерические затруднения могут препятствовать связыванию переносимого остатка химиотерапевтического препарата с мишенью, поэтому важной проблемой также является оптимизация структуры линкера, обеспечивающей контролируемое высвобождение химиотерапевтического агента непосредственно в опухолевых клетках.

В настоящей работе приведена разработка нового лабильного конъюгата природного хлорина с химиотерапевтическим препаратом доцетакселом, широко используемым в клинической практике. Механизм действия доцетакселя заключается в присоединении к β -тубулину и воздействии на микротрубочки, играющие ключевую роль в клеточном делении. Связывание с тубулином эффективно останавливает пролиферацию опухолевых клеток и запускает апоптоз.^[11] Однако, данный лекарственный препарат в свободном виде имеет недостатки в виде достаточно высокого содержания эта-

нола и твинов в лекарственной форме, а также способен оказывать сильное неспецифическое действие на организм, включающее нейтропению, токсическое воздействие на мышцы и кости, аллергические реакции, негативное воздействие на желудочно-кишечный тракт, сужение слезных протоков и токсическое воздействие на кожу.^[11] Предполагается, что конъюгация доцетакселя с хлорином посредством лабильного линкера позволит химиотерапевтическому агенту не проявлять побочную цитотоксичность до момента контролируемого расщепления конъюгата, селективно доставленного в место проведения терапии.

Таким образом, в настоящей работе нами осуществлен синтез конъюгатов фотосенсибилизаторов на основе природного хлорина с цитостатическим химиотерапевтическим препаратом доцетакселом, которые соединены между собой линкерами, способными эффективно расщепляться под воздействием активных форм кислорода, генерируемых фотосенсибилизатором при облучении, а также при воздействии внутриклеточных восстановителей. Для полученных соединений были измерены квантовый выход флуоресценции и квантовый выход генерации синглетного кислорода, а также исследована цитотоксичность в экспериментах *in vitro*.

Экспериментальная часть

Синтез и характеристика

Все химические реактивы были получены из коммерческих источников (компания «ХИММЕД», Москва, Россия; BDL Pharm, Шанхай, Китай; Carl Roth GmbH, Карлсруэ, Германия; abcr GmbH, Карлсруэ, Германия; Merck KGaA, Дармштадт, Германия), если не указано иное, и использовались без дополнительной очистки. Доцетаксел (98%) был приобретён в компании Macklin Biochemical Co., Ltd. (Шанхай, Китай). Все дейтерированные растворители были приобретены у компании Solvex-D (Москва, Россия). Органические растворители были приобретены у компании «ХИММЕД» (Москва, Россия), перегнаны и высушены стандартными методами. Для колоночной хроматографии использовался силикагель 60 (40/60) (Merck KGaA, Дармштадт, Германия). Для препаративной тонкослойной хроматографии использовался силикагель 5/40 (Vekton, Россия). Аналитическая тонкослойная хроматография проводилась на пластинах Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия). Koliphor® ELP, использованный для приготовления образцов для исследований *in vitro*, был приобретён в компании Sigma-Aldrich (Массачусетс, США).

Спектры ЯМР были зарегистрированы на спектрометре Bruker DPX300 с использованием CDCl₃ в качестве растворителя. Остаточные сигналы ядер ¹H использовались для калибровки шкалы.

Масс-спектры низкого разрешения с ионизацией электрораспылением (ESI) были зарегистрированы с использованием ВЭЖХ-МС системы Agilent, состоящей из хроматографа Agilent 1260 Infinity II и одноквадрупольного масс-спектрометра Agilent LC/MSD iQ. Регистрация спектров производилась в режиме детектирования положительно заряженных ионов. В качестве газа-носителя использовался азот. Параметры источника: давление распылителя — 30 psi, температура осушающего газа — 325 °C, скорость потока осушающего газа — 12 л/мин, напряжение на капилляре — 4 кВ, напряжение фрагментатора — 150 В.

Анализ образцов методом УВЭЖХ-МС проводили с использованием системы «Dionex UltiMate RS 3000», включав-

шую в себя насос подвижной фазы, дегазатор растворителей, блок автоматического ввода проб и термостат аналитических колонок. В качестве детектора использовали гибридный масс-спектрометр высокого разрешения «Q-Exactive HF-X», оснащённый нагреваемым источником ионизации «HESI-II», фирмы «Thermo Scientific», Германия. Управление хроматографической системой осуществляли с использованием программного обеспечения «Xcalibur версии 4.6».

Хроматографическое разделение компонентов анализируемых образцов проводили на аналитической колонке «Hysil Gold aQ, длиной колонки 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм, диаметром частиц сорбента 3 мкм, производство фирмы «Thermo Fisher Scientific», США.

Спектры поглощения в УФ и видимой областях спектра регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1800. Измерение коэффициента молярной экстинкции проводили в диапазоне концентраций 0.2 – 0.3 ммоль/л.

13²-(2-Аминоэтиламино)хлорин e₆, C₃₈H₄₆N₆O₅ (2). Вещество было получено по описанной методике.^[12] Исходным соединением для синтеза конъюгатов на основе хлорина e₆ с доцетакселем был выбран метиловый эфир феофорбида **а** (**1**), который предварительно был получен по известной методике.^[13] К раствору соединения **1** (300 мг, 0.5 ммоль) в CH₂Cl₂ (3 мл) прибавляли этилендиамин (671 мкл, 9.8 ммоль). Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Ход реакции контролировали по ТСХ (элюент – CH₂Cl₂/MeOH/NH₃×H₂O, 10/1/0.1, v/v/v). После завершения реакции реакционную массу разбавили хлористым метилом до 50 мл, а затем экстрагировали 3 раза по 250 мл насыщенным водным раствором NaCl, после чего отделённый органический слой упаривали при пониженном давлении. Полученное аминоксидное производное **2** очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – CH₂Cl₂/MeOH/NH₃×H₂O, 10/1/0.1, v/v/v). Выход: 293 мг (88%). *m/z* (ESI) (%): рассчитано 667.3, найдено 667.3 (100) [(M+H)⁺]. ¹H ЯМР (298.15 К, 300 МГц) δ_H м.д.: 9.58 (1H, с, 10-H), 9.52 (1H, с, 5-H), 8.84 (1H, с, 20-H), 7.89 (1H, дд, 3¹-CH), 6.81 (1H, с, амидн.-NH), 6.19 (1H, дд, 3²-CH), 5.98 (1H, дд, 3²-CH), 5.40 (1H, д, 15¹-CH), 5.17 (1H, д, 15¹-CH), 4.51 (1H, к, 18-H), 4.39 (1H, дд, 17-H), 3.71 (3H, с, 17⁵-CH₃), 3.67–3.58 (5H, м, 15⁴-CH₃+8¹-CH₂), 3.48–3.37 (5H, м, 2-CH₃, 13⁴-CH₂), 3.32 (3H, с, 12-CH₃), 3.30–3.19 (2H, м, 13³-CH₂), 3.16 (3H, с, 7-CH₃), 2.79–2.68 (2H, м, 13⁵-NH₂), 2.59 (1H, дд, 17¹-CH), 2.40–2.14 (2H, м, 17²-CH₂), 1.94–1.80 (1H, м, 17¹-CH), 1.76 (3H, д, 18-CH₃), 1.69 (3H, т, 8²-CH₃), –1.81 (2H, с, NH). ¹³C ЯМР (298.15 К, 75 МГц) δ_C м.д.: 173.87, 173.52, 169.54, 168.83, 166.76, 154.13, 149.05, 144.65, 138.86, 136.04, 135.00, 134.74, 134.47, 130.07, 129.80, 129.26, 128.06, 121.46, 102.18, 101.31, 98.80, 93.66, 53.14, 52.15, 51.61, 49.27, 41.86, 40.79, 37.85, 31.18, 29.73, 23.06, 19.55, 17.63, 12.06, 11.74, 11.17.

Конъюгат аминоксидного производного 2 с 3,3'-(пропан-2,2-диилбис(сульфандиол)дипропионовой кислотой, C₄₇H₆₀N₆O₈S₂ (3a). К раствору 3,3'-(пропан-2,2-диилбис(сульфандиол)дипропионовой кислоты (68 мг, 0.27 ммоль) в ДМФА (500 мкл) прибавили 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурия гексафторфосфат (HBTU) (34 мг, 0.09 ммоль), после чего прилили триэтиламин (25 мкл, 0.18 ммоль) и перемешивали реакционную массу в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем к полученному раствору прибавили аминоксид **2** (60 мг, 0.09 ммоль), после чего перемешивали реакционную массу в течение 19 ч при комнатной температуре в атмосфере аргона без доступа света. Ход реакции контролировали по ТСХ (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, v/v). После завершения реакции реакционную массу разбавили хлористым метилом до 50 мл, а затем экстрагировали 3 раза по 250 мл дистиллированной воды, после чего отделённый органический слой упаривали при пониженном давлении. Полученный конъюгат **3a** очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, v/v). Выход: 61 мг (75%). *m/z* (ESI) (%): рассчитано 901.4, найдено: 901.4 (100) [(M+H)⁺]. ¹H

ЯМР (298.15 К, 300 МГц) δ_H м.д.: 9.52 (1H, с, 10-H), 9.42 (1H, с, 5-H), 8.83 (1H, с, 20-H), 7.81 (1H, дд, 3¹-CH), 6.93 (1H, с, амидн.-NH), 6.80 (1H, с, амидн.-NH), 6.07 (1H, дд, 3²-CH), 5.89 (1H, дд, 3²-CH), 5.29 (1H, д, 15¹-CH), 5.16 (1H, д, 15¹-CH), 4.51 (1H, к, 18-H), 4.37 (1H, дд, 17-H), 3.71 (3H, с, 17⁵-CH₃), 3.67 (3H, с, 15⁴-CH₃), 3.65–3.54 (2H, м, 8¹-CH₂), 3.35 (3H, с, 2-CH₃), 3.30–3.18 (2H, м, 13⁴-CH₂), 3.14 (3H, с, 12-CH₃), 3.07 (3H, с, 7-CH₃), 3.00 (2H, м, 13³-CH₂), 2.74–2.64 (3H, м, 17¹-CH, 13¹³-CH₂), 2.57–2.50 (2H, м, 13⁷-CH₂), 2.32–2.22 (4H, м, 13⁸, 13¹²-CH₂), 2.14–2.02 (2H, м, 17²-CH₂), 1.91–1.82 (1H, м, 17¹-CH), 1.74 (3H, д, 18-CH₃), 1.66 (3H, т, 8²-CH₃), –1.92 (2H, с, NH). ¹³C ЯМР (298.15 К, 75 МГц) δ_C м.д.: 174.49, 174.25, 173.60, 172.64, 170.33, 169.15, 166.85, 153.94, 148.68, 144.66, 139.05, 136.11, 134.80, 134.56, 130.31, 129.52, 129.05, 127.21, 121.65, 102.01, 101.40, 98.67, 93.82, 56.34, 53.13, 52.41, 51.74, 49.27, 39.76, 39.41, 38.60, 37.77, 35.83, 32.48, 31.12, 30.50, 29.68, 26.16, 24.84, 23.06, 19.56, 17.67, 12.03, 11.59, 11.13.

Конъюгат аминоксидного производного 2 с 3,3'-дифтордипропионовой кислотой, C₄₄H₅₄N₆O₈S₂ (3b). К раствору 3,3'-дифтордипропионовой кислоты (57 мг, 0.27 ммоль) в ДМФА (500 мкл) прибавили HBTU (34 мг, 0.09 ммоль), после чего прилили триэтиламин (25 мкл, 0.18 ммоль) и перемешивали реакционную массу в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем к полученному раствору прибавили аминоксид **2** (60 мг, 0.09 ммоль), после чего перемешивали реакционную массу в течение 19 ч при комнатной температуре в атмосфере аргона без доступа света. Ход реакции контролировали по ТСХ (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, v/v). После завершения реакции реакционную массу разбавили хлористым метилом до 50 мл, а затем экстрагировали 3 раза по 250 мл дистиллированной воды, после чего отделённый органический слой упаривали при пониженном давлении. Полученный конъюгат **3b** очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 20/1, v/v). Выход: 63 мг (81%). *m/z* (ESI) (%): рассчитано 859.3, найдено 859.3 (100) [(M+H)⁺]. ¹H ЯМР (298.15 К, 300 МГц) δ_H м.д.: 9.45 (1H, с, 10-H), 9.34 (1H, с, 5-H), 8.76 (1H, с, 20-H), 7.74 (1H, дд, 3¹-CH), 6.80 (1H, с, амидн.-NH), 6.64 (1H, с, амидн.-NH), 6.01 (1H, дд, 3²-CH), 5.85 (1H, дд, 3²-CH), 5.18 (1H, д, 15¹-CH), 5.03 (1H, д, 15¹-CH), 4.46 (1H, к, 18-H), 4.30 (1H, дд, 17-H), 3.60 (6H, с, 17⁵-CH₃ + 15⁴-CH₃), 3.51 (2H, м, 8¹-CH₂), 3.31 (3H, с, 2-CH₃), 3.05 (3H, с, 12-CH₃), 2.98 (2H, м, 13⁴-CH₂), 2.92 (3H, с, 7-CH₃), 2.78 (2H, м, 13³-CH₂), 2.62 (3H, м, 17¹-CH, 17²-CH₂), 2.52 (2H, м, 13¹²-CH₂), 2.20 (6H, м, 13⁷-CH₂, 13⁸-CH₂, 13¹¹-CH₂), 1.80 (1H, м, 17¹-CH), 1.69 (3H, д, 18-CH₃), 1.55 (3H, т, 8²-CH₃), –2.02 (2H, с, NH). ¹³C ЯМР (298.15 К, 75 МГц) δ_C м.д.: 174.30, 173.99, 173.62, 172.01, 170.14, 169.24, 167.01, 153.59, 148.38, 144.58, 139.09, 136.05, 134.90, 134.85, 134.73, 134.64, 130.37, 129.55, 129.00, 127.33, 121.76, 102.14, 101.28, 98.63, 93.92, 77.50, 77.27, 77.07, 76.65, 53.11, 52.35, 51.76, 49.25, 39.62, 39.44, 37.73, 35.52, 33.70, 33.58, 33.47, 31.10, 29.66, 23.08, 19.50, 17.62, 12.06, 11.55, 11.05.

Конъюгат соединения 3a с доцетакселем, C₉₀H₁₁₁N₇O₂₁S₂ (4a). К раствору соединения **3a** (50 мг, 0.055 ммоль) в ДМФА (500 мкл) прибавили 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодимид гидрохлорид (EDC×HCl) (13 мг, 0.066 ммоль), 4-диметиламинопиридин (ДМАП) (3.4 мг, 0.027 ммоль) и доцетаксел (45 мг, 0.055 ммоль). Реакционную массу перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре без доступа света в атмосфере аргона. Ход реакции контролировали по ТСХ (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 25/1, v/v). После завершения реакции реакционную массу разбавили хлористым метилом до 50 мл, а затем экстрагировали 3 раза по 250 мл дистиллированной воды, после чего отделённый органический слой упаривали при пониженном давлении. Полученный конъюгат **4a** очищали методом препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 25/1, v/v). Выход: 56 мг (60%). *m/z* (UHPLC ESI-HRMS) (%): рассчитано 1691.7379, найдено 1691.7382 (100) [(M+H)⁺]. ¹H ЯМР (298.15 К, 300 МГц) δ_H м.д.: 9.62 (1H,

c, 10-H), 9.55 (1H, c, 5-H), 8.80 (1H, c, 20-H), 8.16–7.87 (3H, m, 3¹-CH, o-H (2-Bz, Doc)), 7.62–7.52 (1H, m, п-H (2-Bz, Doc)), 7.51–7.41 (2H, m, m-H (2-Bz, Doc)), 7.37–7.10 (6H, m, (3'-Phe, Doc)), 6.76 (1H, уш.с, амидн.-NH), 6.33–5.95 (3H, m, 3²-CH₂, 13-H (Doc)), 5.68–5.10 (7H, m, 15¹-CH₂ (хлорин), [7-H, 2-H, NH, 3'-H, 10-H] (Doc)), 4.86 (1H, уш.с, 5-H (Doc)), 4.46 (1H, к, 18-H), 4.37 (1H, д, 17-H), 4.26–4.05 (4H, m, 10-OH (Doc), 20-CH₂ (Doc), 2'-H (Doc)) 3.81 (1H, c, 3-H), 3.76–3.54 (10H, m, 17⁵-CH₃, 15⁴-CH₃, 8¹-CH₂, 13³-CH₂), 3.44 (3H, c, 2-CH₃), 3.39 (3H, c, 12-CH₃), 3.37–3.24 (2H, m, 13⁴-CH₂), 3.21 (3H, c, 7-CH₃), 2.70–2.60 (4H, m, 13⁷-CH₂, 13¹³-CH₂), 2.59–2.47 (2H, m, 17¹-CH, 6-CH (Doc)), 2.45–2.04 (11H, m, 17²-CH₂, 13⁸-CH₂, 13¹²-CH₂, 14-H (Doc), 4-Ac (Doc)), 1.93 (3H, c, 18-CH₃ (Doc)), 1.84–1.75 (2H, m, 17¹-CH, 6-CH (Doc)), 1.73–1.55 (11H, m, [8²-CH₃, 18-CH₃] (хлорин), [19-CH₃, 1-OH, 7-OH] (Doc)), 1.32 (15H, c, 2xCH₃ (тиокеталь, хлорин), 3xCH₃ (Boc, Doc)), 1.15–1.06 (3H, c, 16-CH₃, Doc), 1.06–0.95 (3H, c, 17-CH₃, Doc), –1.87 (2H, уш.с, NH). ¹³C ЯМР (298.15 K, 75 МГц) δ_с м.д.: 211.16, 173.94, 173.55, 172.14, 171.11, 170.22, 169.13, 168.07, 166.91, 155.13, 144.68, 139.04, 138.71, 137.27, 136.03, 135.59, 134.83, 134.66, 133.56, 130.34, 130.07, 129.62, 129.21, 129.14, 128.73, 128.58, 128.12, 126.67, 126.51, 122.59, 121.77, 102.15, 101.36, 98.70, 93.77, 84.14, 80.90, 80.27, 78.73, 77.18, 74.82, 74.52, 74.33, 71.89, 71.30, 57.37, 56.07, 53.00, 52.28, 51.65, 49.15, 46.40, 42.96, 40.31, 39.65, 37.85, 36.58, 35.64, 33.58, 30.99, 30.43, 29.59, 28.11, 26.24, 25.69, 24.62, 23.03, 22.50, 20.59, 19.57, 17.65, 14.30, 12.09, 11.89, 11.23, 9.79. ЭСП (ДМСО) λ_{max} нм (lgε): 286 (3.79), 403 (5.17), 501 (4.12), 529 (3.56), 558 (3.23), 608 (3.64), 663 (4.69).

Конъюгат соединения 3b с доцетакселем, C₈₇H₁₀₃N₇O₂₁S₂ (4b). К раствору соединения **3b** (50 мг, 0.058 ммоль) в ДМФА (500 мкл) прибавили 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиаимид гидрохлорид (EDC×HCl) (13.3 мг, 0.070 ммоль), ДМАП (3.6 мг, 0.029 ммоль) и доцетаксел (47 мг, 0.058 ммоль). Реакционную массу перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре без доступа света в атмосфере аргона. Ход реакции контролировали по ТСХ (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 25/1, v/v). После завершения реакции реакционную массу разбавили хлористым метилом до 50 мл, а затем экстрагировали 3 раза по 250 мл дистиллированной воды, после чего отдельный органический слой упаривали при пониженном давлении. Полученный конъюгат **4b** очищали методом препаративной тонкослойной хроматографии на силикагеле (элюент – CH₂Cl₂/MeOH, 25/1, v/v). Выход: 62 мг (65%). *m/z* (UHPLC ESI-HRMS) (%): рассчитано 1649.6909, найдено 1649.6893 (100) [(M+H)⁺]. ¹H ЯМР (298.15 K, 300 МГц) δ_н м.д.: 9.60 (1H, c, 10-H), 9.52 (1H, c, 5-H), 8.80 (1H, c, 20-H), 8.14–7.86 (3H, m, 3¹-CH, o-H (2-Bz, Doc)), 7.60–7.52 (1H, m, п-H (2-Bz, Doc)), 7.51–7.41 (2H, m, m-H (2-Bz, Doc)), 7.37–7.21 (6H, m, (3'-Phe, Doc)), 7.18 (1H, уш.с, амидн.-NH), 6.86 (1H, уш.с, амидн.-NH), 6.29–5.78 (3H, m, 3²-CH₂, 13-H (Doc)), 5.62–5.06 (7H, m, 15¹-CH₂ (хлорин), [7-H, 2-H, NH, 3'-H, 10-H] (Doc)), 4.73 (1H, уш.с, 5-H (Doc)), 4.47 (1H, к, 18-H), 4.36 (1H, д, 17-H), 4.17 (2H, m, 20-CH₂ (Doc)), 4.09–3.92 (2H, m, 10-OH (Doc), 2'-H (Doc)), 3.69 (8H, m, [8¹-CH₂, 17⁵-CH₃, 13³-CH₂] (хлорин), 3-H (Doc)), 3.60 (3H, c, 15⁴-CH₃), 3.43 (3H, c, 2-CH₃), 3.36 (3H, c, 12-CH₃), 3.32–3.23 (2H, m, 13⁴-CH₂), 3.20 (3H, c, 7-CH₃), 2.80–2.67 (4H, m, 13⁷-CH₂, 13¹²-CH₂), 2.57–2.49 (2H, m, 17¹-CH, 6-CH (Doc)), 2.45–2.06 (11H, m, 17²-CH₂, 13⁸-CH₂, 13¹¹-CH₂, 14-H (Doc), 4-Ac (Doc)), 1.89 (3H, c, 18-CH₃ (Doc)), 1.84–1.77 (2H, m, 17¹-CH, 6-CH (Doc)), 1.77–1.60 (8H, m, [8²-CH₃, 18-CH₃] (хлорин), [1-OH, 7-OH] (Doc)), 1.53 (3H, уш.с, 19-CH₃ (Doc)), 1.32 (9H, c, 3xCH₃ (Boc, Doc)), 1.11 (3H, c, 16-CH₃, Doc), 0.99 (3H, c, 17-CH₃, Doc), –1.89 (2H, уш.с, NH). ¹³C ЯМР (298.15 K, 75 МГц) δ_с м.д.: 173.55, 169.67, 166.86, 155.13, 144.69, 135.55, 134.86, 134.71, 133.57, 130.40, 130.05, 129.14, 128.73, 128.55, 128.19, 126.60, 121.79, 101.33, 80.86, 80.18, 78.70, 77.17, 74.71, 71.78, 71.22, 57.21, 53.00, 52.28, 51.64, 49.16, 46.37, 42.90, 40.04, 37.84, 33.35, 30.92, 29.58, 28.13, 26.25, 23.05, 22.60, 20.57, 19.55, 17.59,

14.28, 12.06, 11.84, 11.21, 9.74. ЭСП (ДМСО) λ_{max} нм (lgε): 287 (4.24), 404 (5.20), 501 (4.17), 529 (3.60), 558 (3.26), 608 (3.68), 663 (4.74).

Фотофизические исследования

Измерения проводились по модифицированной методике^[14] с использованием узкополосных диодных источников света с плотностью мощности 16±2 мВт/см². Поверка источников света производилась с использованием прибора Nova II, Ophir Optronics Solutions (Израиль). Растворитель выбирали исходя из растворимости фотосенсибилизатора (хлористый метилен). В качестве образца сравнения для большинства соединений был использован триметиловый эфир хлорина *e*₆, так как для него известны значения квантового выхода генерации синглетного кислорода (Φ_Δ) для большинства органических растворителей.^[15] а также он является структурным аналогом всех изученных соединений.

Были приготовлены растворы конъюгатов с оптической плотностью при длине волны 530 нм равной 0.05 усл. ед. Затем был приготовлен раствор ловушки (рубрен), таким образом, чтобы оптическая плотность при 530 нм составляла 1.300–1.400 усл. ед. Далее смешивали 2 мл раствора конъюгатов и 0.5 мл раствора ловушки в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см, и регистрировали спектр поглощения момента времени равном 0. Далее проводили облучение кюветы с исследуемым раствором в течении 10, 20, 40 и 60 с с регистрацией спектра поглощения при 530 нм после каждого облучения.

Величину Φ_Δ рассчитывали по формуле (1):^[14]

$$\Phi_{\Delta PS} = \Phi_{\Delta Chl6} \cdot \frac{\Delta D_{PS} \cdot t_{irr Chl6} \cdot I_{Chl6} \cdot (1 - 10^{-D_{Chl6}}) \cdot \lambda_{Chl6}}{\Delta D_{Chl6} \cdot t_{irr PS} \cdot I_{PS} \cdot (1 - 10^{-D_{PS}}) \cdot \lambda_{PS}} \quad (1)$$

где Φ_{ΔPS} и Φ_{ΔChl6} – квантовые выходы генерации синглетного кислорода исследуемых конъюгатов и триметилового эфира хлорина *e*₆ соответственно; ΔD_{PS} и ΔD_{Chl6} – средняя убыль оптической плотности растворов конъюгатов и триметилового эфира хлорина *e*₆ с добавлением ловушки на длине волны 530 нм; t_{irrPS} и t_{irr Chl6} – время облучения конъюгатов и триметилового эфира хлорина *e*₆; I_{PS} и I_{Chl6} – плотность мощности светового потока, воздействующего на растворы конъюгатов и триметилового эфира хлорина *e*₆; D_{PS} и D_{Chl6} – оптическая плотность конъюгатов и триметилового эфира хлорина *e*₆ на длинах волн возбуждения; λ_{PS} и λ_{Chl6} – длина волны при которой производили облучение 665 нм.

Квантовый выход флуоресценции φ_{фл} был измерен по стандартной методике путем сравнения интегральной интенсивности флуоресценции полученных соединений и образца с известным квантовым выходом флуоресценции. В качестве образца сравнения выступал триметиловый эфир хлорина *e*₆. Спектры флуоресценции регистрировали с эквимольных растворов, оптическая плотность которых не превышала 0.1, затем измеряли интегральную интенсивность пиков эмиссии и рассчитывали квантовый выход флуоресценции по формуле (2):

$$\varphi_{fl} = \varphi_{st} \cdot \frac{S_{fl}}{S_{st}},$$

где φ_{ст} – квантовый выход флуоресценции стандарта (триметиловый эфир хлорина *e*₆); S_{fl} – интегральная площадь интенсивности пика эмиссии исследуемого соединения; S_{ст} – интегральная площадь интенсивности пика эмиссии стандарта.

Исследования in vitro

Подготовка образцов. Для исследований *in vitro* соединения **4a** и **4b** использовали в виде мицеллярных эмульсий в 4% растворе Kolliphor® ELP в воде для инъекций. Для приготовления исходных образцов с концентрацией исследуемого соединения, равной 0.5 мг/мл, к 1 мг вещества, растворённого в

5 мл дихлорметана, прибавляли 80 мг Kolliphor® ELP, после чего растворитель упаривали при пониженном давлении. К полученному раствору прибавляли 1.920 мл воды для инъекций и добивались гомогенизации смеси при помощи ультразвуковой ванны. Полученные исходные мицеллярные эмульсии затем разбавляли до необходимых концентраций с помощью 4% раствора Kolliphor® ELP.

Характеристика тест-систем *in vitro*. Для оценки фотоиндуцированной и цитотоксической активности субстанций, Фоторана и химиотерапевтического агента доцетакселя использовали клеточную линию – аденокарциному протока молочной железы человека MCF-7 (коллекция ATCC).

Клетки культивировали на среде Игла MEM со стабильным L-глутамином в составе (Capricorn Scientific, Германия) и с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки крови (Capricorn Scientific, Германия) во флаконах площадью 25 см² (NEST Biotechnology, Китай) при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержанием углекислого газа. При пассировании для открепления клеток от поверхности флаконов их трипсинизировали 0.25% раствором Трипсина (Servicebio, Китай). В исследованиях использовали клетки 3-5 пассажа.

Оценка накопления конъюгатов в клетках MCF-7. Клетки MCF-7 рассевали в 6-луночные планшеты (NEST Biotechnology, Китай) с плотностью 2×10^5 клеток на лунку в полной ростовой среде и оставляли на ночь. На следующие сутки среду заменяли на свежую, содержащую субстанции

4a, 4b и Фоторан в концентрации 5 мкМ, и инкубировали 1, 2, 4 и 6 ч, затем клетки собирали с использованием раствора трипсина, центрифугировали, дважды промывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (DPBS) (Servicebio, Китай) и анализировали (λ_{em} 660/20 нм). Поглощение конъюгатов клетками определяли методом проточной цитометрии на цитофлуориметре Longcyte (Challenbio, Китай). Анализ проводили с помощью программы Model Flower (Китай).

Оценка фотоиндуцированной и цитотоксической активности конъюгатов в системе *in vitro*. Клетки MCF-7 рассевали в 96-луночные планшеты (NEST Biotechnology, Китай) в количестве 6×10^3 клеток на лунку в объеме 100 мкл полной ростовой среды и воздействие проводили через 24 ч после посева. Растворы конъюгатов вносили в конечной концентрации от 10.0 нг/мл до 16.7 мкг/мл, в триплетах. Длительность инкубации клеток с соединениями до облучения составила 4 ч. В качестве контроля использовали полную культуральную среду. Световое воздействие проводили диодной лампой с длиной волны 660 ± 20 нм (Россия) при плотности мощности 17.5 мВт/см². Доза света – 10.0 Дж/см². Фотоиндуцированную активность фотосенсибилизаторов оценивали через 24 ч после облучения. Комбинированный эффект (фотоактивность и химиотоксичность) конъюгатов – через 72 ч после облучения в тех же условиях.

Для изучения цитотоксического эффекта клетки инкубировали с соединениями 72 ч в затемненных условиях в CO₂-инкубаторе без облучения.

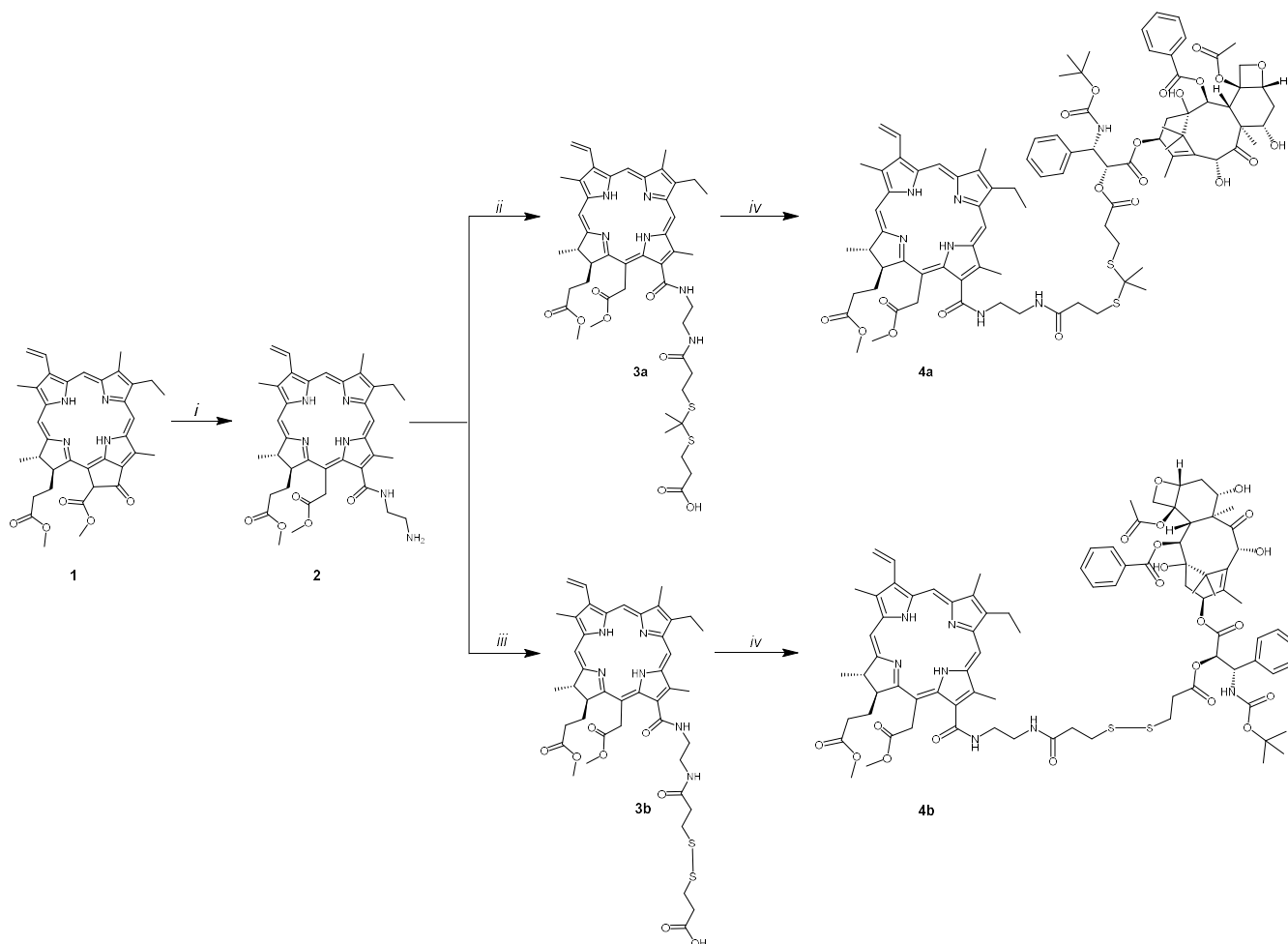


Рисунок 1. Получение конъюгатов с доцетакселем **4a** и **4b**. Реагенты и условия: i) этилендиамин, дихлорметан, комнатная температура, 3 ч.; ii) 3,3'-(пропан-2,2-диилбис(сульфандиил))дипропионовая кислота, 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония гексафторфосфат (НВТУ), триэтиламин, ДМФА, комнатная температура, аргон, 20 ч; iii) 3,3'-дифосфодипропионовая кислота, НВТУ, триэтиламин, ДМФА, комнатная температура, аргон, 20 ч; iv) доцетаксел, 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодимид гидрохлорид (EDC×HCl), 4-диметиламинопиридин (ДМАП), ДМФА, комнатная температура, аргон, 20 ч.

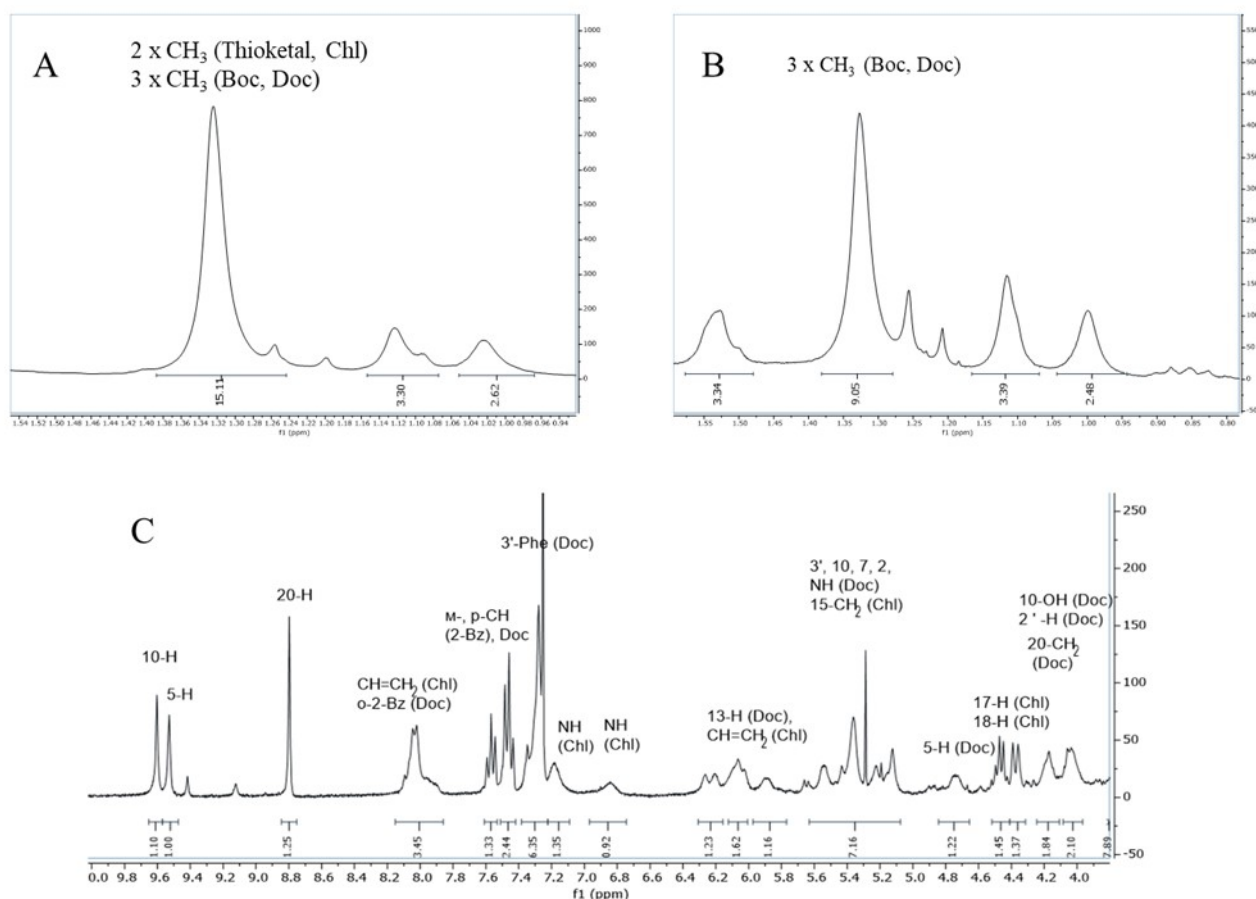


Рисунок 2. Наиболее характеристичные фрагменты спектров ЯМР ^1H (А – соединения **4a**, В – соединения **4b**, С – невариативный фрагмент спектра соединений **4a** и **4b**).

В качестве препаратов сравнения использовали доцетаксел и официальный препарат Фоторан® (ООО «РАН-ФАРМА», Россия).

Выживаемость клеток оценивали с использованием колориметрического МТТ-теста. Биологически значимым эффектом считали ингибирование роста клеток в культуре более чем на 50% (ИК₅₀). Количественные параметры рассчитывали по результатам трех независимых тестов.

Статистический анализ. Для всех количественных данных были вычислены стандартное отклонение и доверительный интервал. Статистический анализ проведен с использованием статистической программы *Statistica ver. 10.0*. Статистическая значимость оценивалась с помощью теста Манна-Уитни при $p \leq 0.05$.

Обсуждение результатов

Полная схема синтеза соединений **4a** и **4b** показана на Рисунке 1.

В спектрах ЯМР ^1H целевых соединений **4a** и **4b** были обнаружены сигналы *мезо*-протонов хлоринового макроцикла, его заместителей на периферии, линкеров, а также характеристические сигналы молекулы доцетакселя с соответствующей интегральной интенсивностью (Рисунок 2С). Важно отметить, что в спектре ЯМР ^1H соединения **4a** с химическим сдвигом, равным 1.32 м.д., присутствуют сигналы протонов *трет*-бутоксикарбо-

нильной защитной группы, а также сигналы метильных групп тиокетального фрагмента (Рисунок 2А). В спектре ЯМР ^1H соединения **4b** с тем же химическим сдвигом присутствует исключительно сигнал *трет*-бутоксикарбонильной группы (Рисунок 2В).

В масс-спектрах высокого разрешения целевых соединений (Рисунок 3) были найдены протонированные молекулярные ионы, соответствующие рассчитанным значениям для данных структур.

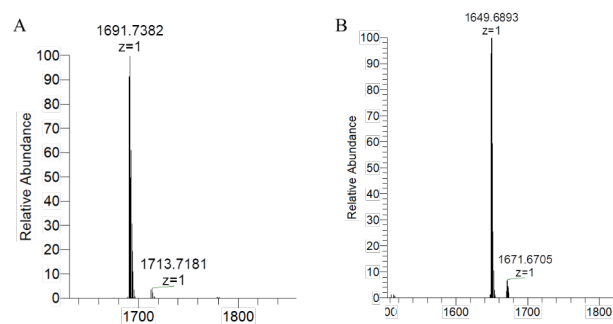


Рисунок 3. Фрагменты спектров UHPLC-MS соединений **4a** (А) и **4b** (В). Показаны протонированные молекулярные ионы, соответствующие рассчитанным значениям для данных структур.

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C , а также масс-хроматограммы высокого разрешения соединений (**4a**) и (**4b**) представлены в *Дополнительных материалах* (Рисунки S1-S6).

Выбор линкерных молекул в соединениях **4a** и **4b** продиктован некоторыми особенностями метаболизма опухолевых клеток и генерацией АФК при проведении ФДТ. Известно, что многие опухолевые клетки сверхэкспрессируют глутатион, играющий важную роль в их развитии и выработке устойчивости к химиотерапевтическим препаратам.^[16-18] Поэтому одним из линкеров, соединяющих химиопрепарат доцетаксел с производным хлорина была выбрана 3,3'-дитиодипропионовая кислота, содержащая лабильную в присутствии внутриклеточных восстановителей дисульфидную связь. Исследования и описание механизма расщепления дисульфидного линкера, входящего в состав противоопухолевых пролекарств, приведены во многих литературных источниках. Например, разрушение дисульфидных линкеров в производных доксорубина и паклитакселя восстановительными ферментами опухолевых клеток рассмотрено в обзоре Wang и др.^[19]

Другой линкер, содержащий дитиокетальный фрагмент, чувствительный к окислению АФК,^[20,21] выбран для реализации иного подхода контролируемого высвобождения химиотерапевтического агента при облучении ФС светом и генерации АФК. Исследования и описание механизма разрушения дитиокетального линкера под действием активных форм кислорода, генерируемых тетрапирролом при облучении соответствующими длинами волн, также рассмотрены во многих источниках. Например, в работе Wang и др.^[22] показано успешное применение АФК, генерируемых хлорином e_6 , для расщепления дитиокетального линкера. В недавно опубликованном исследовании,^[23] было изучено расщепление конъюгата, в котором производное хлорина e_6 соединено с азобензолом посредством дитиокетального линкера, а фрагменты, образующиеся в результате воздействия АФК на этот линкер, были охарактеризованы методом ВЭЖХ-МС.

Таким образом, нами были получены в количествах, достаточных для проведения исследований *in vitro*, конъюгаты природных хлоринов с доцетакселом, приготовлены их мицеллярные эмульсии на основе Koliphor ELP для проведения биологических исследований *in vitro*.

Изучение фотофизических параметров

Результаты исследований фотофизических свойств конъюгатов производных хлорина e_6 , модифицированных доцетакселом, **4a** и **4b** представлены в Таблице 1.

Для данной группы соединений были показано падение значений квантового выхода генерации синглетного кислорода в сравнении с триметиловым эфиром хлорина e_6 . Это может быть связано с наличием объемных заместителей на периферии макроцикла, что, в свою очередь может приводить к переносу энергии с хлорина на фрагмент доцетакселя. Однако, при высвобождении хлориновой части генерация синглетного кислорода может возрастать. Эта гипотеза косвенно подтверждается при анализе биологических данных, приведенных ниже. Кратко, было показано, что соединения **4a** и **4b** проявляют схожие значения ИК₅₀, что коррелирует с значениями Φ_Δ . Как было показано, конъюгаты проявляют высокую фотоиндуцированную цитотоксичность в сравнении с Фотораном.

Кинетическая кривая обесцвечивания ловушки (рубрен) для конъюгатов **4a** и **4b** представлена на Рисунке 4.

Квантовый выход флуоресценции для данных соединений находился на уровне триметилового эфира хлорина e_6 , что делает все эти соединения удобными для изучения противоопухолевого эффекта *in vivo*.

Таблица 1. Результаты измерения фотофизических характеристик триметилового эфира хлорина e_6 и конъюгатов хлоринов с доцетакселом в хлористом метиле. λ_{max} – длина волны максимума поглощения, $\epsilon_{\lambda_{\text{max}}}$ – коэффициент экстинкции максимума поглощения, $\phi_{\text{фл}}$ – квантовый выход флуоресценции, Φ_Δ – квантовый выход генерации синглетного кислорода.

Соединение	λ_{max} , нм	$\epsilon_{\lambda_{\text{max}}}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$	$\phi_{\text{фл}}$	Φ_Δ
Триметиловый эфир хлорина e_6	667	35000	0.25±0.01	0.50±0.02
4a	665	49000	0.23±0.01	0.14±0.01
4b	667	54500	0.24±0.01	0.16±0.01

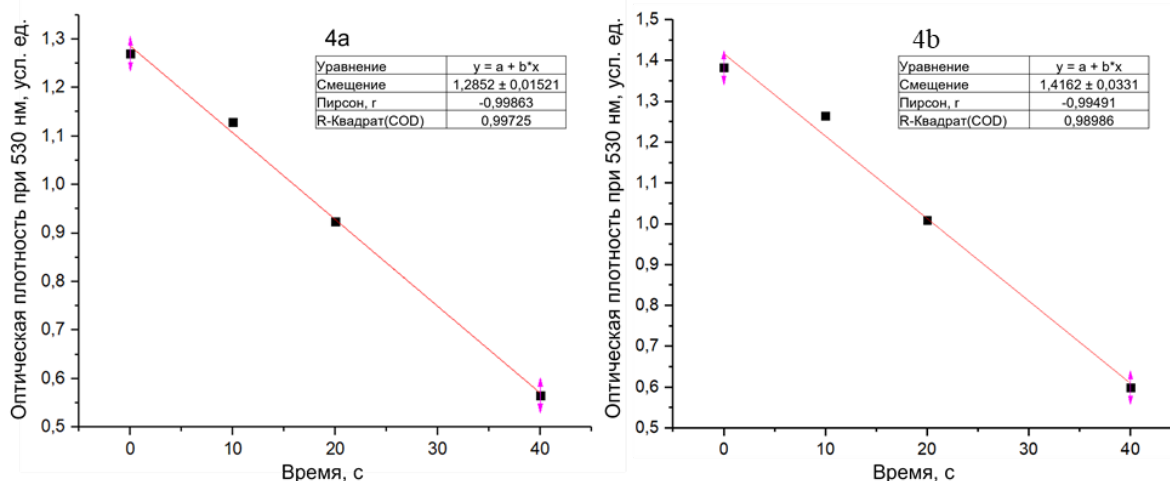


Рисунок 4. Кинетическая кривая обесцвечивания ловушки (рубрен) для конъюгатов **4a** и **4b**.

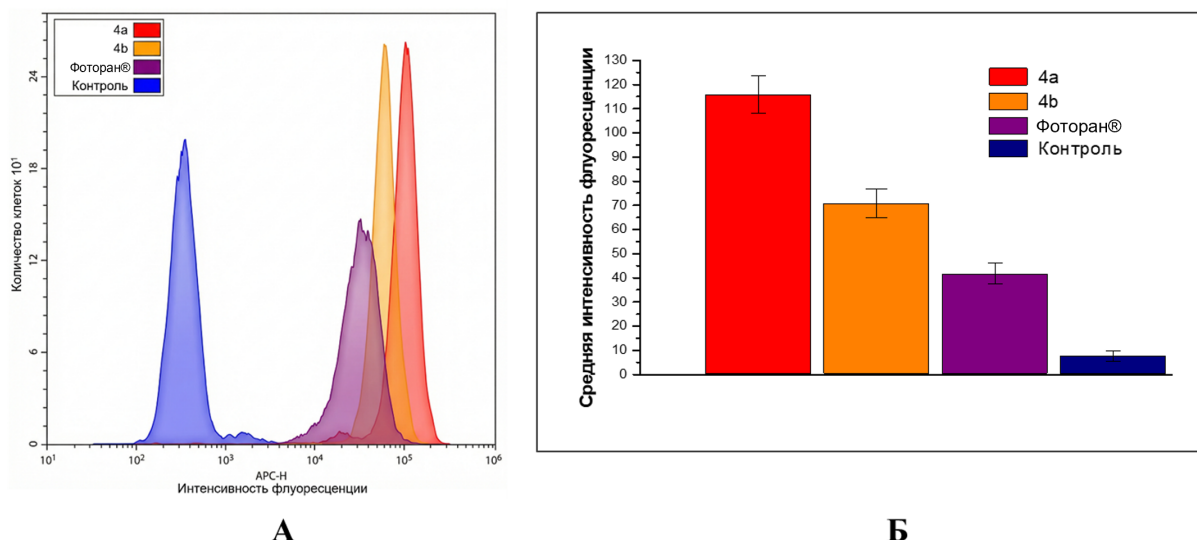


Рисунок 5. Анализ клеток MCF-7 методом проточной цитометрии, после 4-х часовой инкубации с конъюгатами **4a**, **4b** и Фотораном в концентрации 5 мкМ (А). Средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции MCF-7 после 4-х часовой инкубации с конъюгатами **4a**, **4b** и Фотораном в концентрации 5 мкМ (Б). Данные представляют собой среднее значение $\pm$ SD и * $p < 0.05$ в сравнении с контролем.

Таблица 2. Фотоиндуцированная, комбинированная и цитотоксическая активность полученных субстанций, доцетакселя и Фоторана в системе *in vitro*.

Субстанции	ИК ₅₀ , нМ		
	Фотоиндуцированная активность	Комбинированная активность	Цитотоксическая активность
	4 ч инкубация соединений с клетками → Облучение 10 Дж/см ² → МТТ тест через 24 ч	4ч инкубация соединений с клетками → Облучение 10 Дж/см ² → МТТ тест через 72 ч	72 ч инкубация соединений с клетками → МТТ тест через 72 ч
MCF-7 — карцинома протока молочной железы человека			
4a	16.6 $\pm$ 1.7	16.0 $\pm$ 2.1	1197.4 $\pm$ 13.0
4b	16.4 $\pm$ 2.2	15.2 $\pm$ 1.9	1935.0 $\pm$ 16.5
Доцетаксел	-	-	2946.0 $\pm$ 20.2
Фоторан®	1191.5 $\pm$ 25.5	1132.3 $\pm$ 20.0	12988.6 $\pm$ 27.7

Исследования *in vitro*

Синтезированные конъюгаты **4a** и **4b** представляют собой гидрофобные соединения. Поэтому при проведении исследований *in vitro* субстанции предварительно подготавливали в виде мицеллярных эмульсий с использованием 4% раствора Kolliphor® ELP в воде для инъекций. Данный способ является общепринятым при работе с гидрофобными фотосенсибилизаторами и опубликован в ряде работ.^[24,25]

Методом проточной цитометрии показано, что клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 поглощают исследуемые соединения, максимум накопления зарегистрирован через 4 ч (Рисунок 5А). Выявлена выраженная зависимость по интенсивности накопления конъюгатов в опухолевых клетках, которая увеличивалась в ряду: Фоторан < **4b** < **4a** (Рисунок 5Б). Полученные данные показали, что 4 ч является оптимальным временем для проведения последующих экспериментов по изучению фотоиндуцированной активности данных конъюгатов.

Исследования, проведенные в системе *in vitro*, выявили высокую фотоактивность конъюгатов с доцетакселем в отношении клеток MCF-7, значение ИК₅₀ для

конъюгата **4a** составило 16.6 $\pm$ 1.7 нМ, а для **4b** 16.4 $\pm$ 2.2 нМ, увеличение времени инкубации до 72 часов после облучения не приводило к изменению наблюдаемого токсического эффекта. Следует отметить, что не зарегистрированы статистически значимые различия в значениях ИК₅₀ для конъюгатов **4a** и **4b** (Таблица 2). При сравнении полученных данных с Фотораном, мы наблюдали увеличение фотоиндуцированной и комбинированной активностей конъюгатов **4a** и **4b** более чем в 70 раз, что позволяет нам говорить о перспективности данных соединений и их дальнейшем углубленном изучении как в системах *in vitro*, так и *in vivo*.

При изучении цитотоксической активности (инкубация 72 ч в затемненных условиях) показатель ИК₅₀ для доцетакселя составил 2946.0 $\pm$ 20.2 нМ, для конъюгатов **4a** – 1197.4 $\pm$ 13.0 нМ и для **4b** – 1935.0 $\pm$ 16.5 нМ, а для Фоторана всего 12988.6 $\pm$ 27.7 нМ (Таблица 2). Следует отметить, что увеличение цитотоксической активности данных соединений может быть связано с высвобождением химиотерапевтического агента и двойным воздействием на клетки, как за счет хлорина, так и доцетакселя.

Таким образом, исследования *in vitro* показали, что конъюгирование природных хлоринов с доцетакселом способствует их лучшему накоплению в клетках, значительно увеличивает фотоиндуцированную и цитотоксическую активность полученных субстанций в отношении клеток карциномы молочной железы человека MCF-7, по сравнению с Фотораном и доцетакселом, что делает их перспективными для дальнейшего более углубленного изучения.

Заключение

В настоящей работе были получены лабильные конъюгаты природного хлорина с химиотерапевтическим препаратом доцетакселом, а также были исследованы их цитотоксические и фотофизические свойства. Было показано, что конъюгаты хлоринов с доцетакселом обладают более низкими значениями квантового выхода генерации синглетного кислорода по сравнению с триметиловым эфиром хлорина e_6 , что может быть связано с их пролекарственной природой, однако сохраняют флуоресцентные свойства.

Доцетаксел редко используется в схемах лечения как индивидуальный препарат и чаще всего его комбинируют с другими химиотерапевтическими агентами и рассматривают в качестве адъюванта.^[26] Совместное использование химиотерапии таксолами и фотодинамической терапии не описано в клинических обзорах, однако представлено в исследовательских работах.^[27-29] При этом отмечается усиление цитотоксического действия комбинации методов, по сравнению с индивидуальными химиотерапией и фотодинамической терапией.

Исходя из полученных нами результатов можно заключить, что как дисульфидный, так и дитиокетальный линкеры, проникают и накапливаются в клетках, обеспечивают высвобождение химиопрепарата, о чем можно судить по данным цитотоксичности исследуемых соединений в отношении клеток MCF-7. В обоих случаях мы наблюдаем значительное, на два порядка, увеличение фотоиндуцированной цитотоксичности при различных временах инкубирования при сравнении с клиническим одобренным препаратом Фоторан, который представляет собой производное хлорина e_6 . Так, как собственная цитотоксичность доцетакселя в отношении клеток MCF-7 не велика (Таблица 2), можно сделать вывод о синергетическом действии двух компонентов. Таким образом, связывание их в единую конструкцию может значительно увеличить общую эффективность терапии.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания, ПТНИ номер FSFZ-2025-0020. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП РТУ МИРЭА при поддержке Минобрнауки России в рамках Соглашения №075-15-2025-548 от 18.06.2025 г.

Вклад Авторы. Д. А. Минаков: эксперимент; формальный анализ; написание первоначального варианта (черновика); визуализация. П. В. Островерхов: концептуализация; методология; ресурсы; рецензирование и редактирование; руководство; администрирование проекта; привлечение финансирования. Е. А. Плотнокова: формальный анализ; эксперимент; написание первоначального варианта (черновика); визуализация. М. Н. Усачёв: формальный анализ; эксперимент. Е. М. Зубин: проверка; рецензирование и редактирование. С. И. Тихонов: формальный анализ; эксперимент; написание первоначального варианта (черновика); визуализация. М. А. Грин: концептуализация; ресурсы; рецензирование и редактирование; руководство; администрирование проекта.

Литература

References

1. Loginov V.I., Gubenko M.S., Burdennyy A.M., et al. *Fine Chemical Technologies* **2024**, *19*, 232-239, doi: 10.32362/2410-6593-2024-19-3-232-239.
2. Wu W., Luo C., Zhu C., et al. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 6421, doi: 10.3390/ijms25126421.
3. Yu Y., Wang N., Wang Y., et al. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2023**, *41*, 103318, doi: 10.1016/j.pdpdt.2023.103318.
4. Akbar A., Khan S., Chatterjee T., Ghosh M. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2023**, *248*, 112796, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2023.112796.
5. Farrakhova D.S., Yakovlev D.V., Maklygina Yu.S., et al. *Opt. Quantum Electron.* **2020**, *52*, 116, doi: 10.1007/s11082-020-2218-9.
6. Ke M.-R., Chen S.-F., Peng X.-H., et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 200-209, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.12.056.
7. Zheng X., Li Z., Chen L., et al. *Chem. Asian J.* **2016**, *11*, 1780-1784, doi: 10.1002/asia.201600423.
8. Plotnikova E., Abramova O., Ostroverkhov P., et al. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 7210, doi: 10.3390/ijms25137210.
9. Kirin N.S., Ostroverkhov P.V., Usachev M.N., et al. *Fine Chemical Technologies* **2024**, *19*, 310-326, doi: 10.32362/2410-6593-2024-19-4-310-326.
10. Belykh D., Khudyaeva I., Belykh N., et al. *Macroheterocycles* **2025**, *18*, 108-117, doi: 10.6060/mhc256544b
11. Beheshtizadeh N., Amiri Z., Tabatabaei S.Z., et al. *J. Transl. Med.* **2024**, *22*, 520, doi: 10.1186/s12967-024-05347-9.
12. Gao Y.-H., Lovreković V., Kussayeva A., et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *177*, 144-152, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.05.050.
13. Kuchin A.V., Karmanova L.P., Belykh D.V. *Method of Preparing Pheophorbide Methyl Ester*. RU Patent No. 2180342C2, **1999** March 24.
14. Belykh D.V., Kozlov A.S., Pylina Y.I., et al. *Macroheterocycles* **2019**, *12*, 68-74, doi: 10.6060/mhc190128b.
15. Paul S., Heng P.W.S., Chan L.W. *J. Fluoresc.* **2013**, *23*, 283-291, doi: 10.1007/s10895-012-1146-x.
16. Bansal A., Simon M.C. *J. Cell Biol.* **2018**, *217*, 2291-2298, doi: 10.1083/jcb.201804161.
17. Valenti G.E., Tasso B., Traverso N., et al. *Redox Exp. Med.* **2023**, *1*, e220023, doi: 10.1530/REM-22-0023.
18. Wang J., Li S., Luo T., et al. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 2976-2983, doi: 10.2174/092986712800672030.
19. Wang, Q., Guan, J., Wan, J., Li Z. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 24397-24409, doi: 10.1039/D0RA04155F.
20. Jo S., Kim H.S., Won M., et al. *Adv. Funct. Mater.* **2022**, *32*, 2200791, doi: 10.1002/adfm.202200791.
21. Liu B., Thayumanavan S. *Cell Rep. Phys. Sci.* **2020**, *1*, 100271, doi: 10.1016/j.xcrp.2020.100271.
22. Wang C., Yang X., Qiu H., et al. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2023**, *11*, 1168192, doi: 10.3389/fbioe.2023.1168192.
23. Minakov D.A., Egorov A.E., Noev A.N., et al. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2025**, *271*, 113238, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2025.113238.

24. Pogorilyy V., Ostroverkhov P., Efimova V., et al. *Molecules* **2023**, 28, 4215, doi: 10.3390/molecules28104215.
25. Plotnikova E.A., Stramova V.O., Morozova N.B., et al. *Biomed. Photonics* **2019**, 8(1), 18–23, doi: 10.24931/2413-9432-2019-8-1-18-23.
26. Mäenpää J.U. *Br. J. Cancer* **2003**, 89(S3), S29-S34, doi: 10.1038/sj.bjc.6601498.
27. Zahid A., Khurshid A., Rehman S.U., et al. *Laser Phys. Lett.* **2025**, 22, 055602, doi: 10.1088/1612-202X/adcfff.
28. Giram P., Bist G., Woo S., et al. *Photochem. Photobiol.* **2025**, 101, 1139-1153, doi: 10.1111/php.14025.
29. Li W., Peng J., Tan L., et al. *Biomater.* **2016**, 106, 119-133, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.08.016.

Received 30.01.2026

Accepted 04.03.2026