



УДК 547.979.733

СИНТЕЗ КОНЬЮГАТОВ БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА С ВОДОРАСТВОРИМЫМ ИТТЕРБИЕВЫМ ПОРФИРИНОМ

© 2004 г. А. В. Чудинов^{*,#}, В. Д. Румянцева^{**}, А. В. Лобанов^{***}, Г. К. Чудинова^{***},
А. А. Стомахин^{*}, А. Ф. Миронов^{**}

^{*}Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 117984, Москва, ГСП, ул. Вавилова, 32;

^{**}Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва;

^{***}Центр фотохимии РАН, Москва

Поступила в редакцию 30.07.2002 г. Принята к печати 18.09.2002 г.

В качестве ИК-флуоресцентной метки синтезирован иттербиевый комплекс 5,10,15,20-тетраakis(4-карбоксифенил)порфирина, осуществлено его ковалентное связывание с бычьим сывоточным альбумином. Полученный конъюгат обладает флуоресценцией при 985 нм и может представлять интерес для использования при ИК-флуоресцентной диагностике опухолей, в иммуноанализе и для изучения переноса энергии.

Ключевые слова: конъюгаты; сывоточный альбумин; иттербиевые порфирины; флуоресценция, ближняя ИК-область.

ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами были получены фосфоресцентные метки на основе палладиевых металлопорфиринов с изотиоцианатной группой [1]. Особый интерес вызывают метки на основе металлопорфиринов с некоторыми лантаноидами, флуоресцирующие в ближней ИК-области спектра (900–1050 нм) [2]. В этом диапазоне практически отсутствует свечение биогенных веществ и соответственно выше чувствительность обнаружения метки [3]. Среди ионов лантаноидов, металлопорфирины которых обладают ИК-флуоресценцией, наиболее устойчивы комплексы с Yb^{3+} , который имеет наименьший ионный радиус (0.642 Å).

Способность порфиринов накапливаться в злокачественных опухолях лежит в основе фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики онкологических заболеваний [4]. При этом основной проблемой является повышение селективности накопления порфиринов в опухолевых клетках. Избирательность доставки порфиринов в раковые клетки увеличивается при использовании конъюгатов металлопорфиринов с альбуминами [5]. Возможность применения ИК-флуоресценции иттербиевого комплекса 5,10,15,20-тетра-

akis(4-карбоксифенил)порфирина (YbTCPP) для диагностики опухолей была продемонстрирована в работах [6, 7], в которых сообщается также о крайне низкой фототоксичности YbTCPP .

Применение высокоупорядоченных ориентированных систем, таких, как пленки Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ), делают реальным создание иммуносенсорных систем с ИК-флуоресцентным принципом детекции [8]. Принципиальная возможность разработки ИК-флуоресцентного иммуносенсора была показана нами ранее на модельной системе [9].

Конъюгат иттербиевого металлопорфирина с альбумином представляет интерес для изучения процесса переноса энергии в липидных мембранах (в том числе липидных ЛБ-пленок) и его использование может отчасти прояснить вопрос о роли белок-липидного окружения в миграции энергии возбуждения [10]. Поэтому синтез иттербиевых металлопорфиринов и получение их конъюгатов с белками представляется важной задачей биоорганической химии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве исходного соединения для получения иттербиевого комплекса (**IV**) был использован 5,10,15,20-тетраakis(4-карбометоксифенил)порфирин (**I**), который получали по методу [11]. Соединение (**I**) гидролизовали едким калием при нагревании в водном пиридине. Реакционную смесь упаривали и подкисляли соляной кислотой. При этом выпадал осадок зеленого цвета, представля-

Сокращения: BSA – бычий сывоточный альбумин; СТАВ – цетилтриметиламмоний бромид; Im – имидазол; NSI – *N*-гидрокси-сукцинимид; PBS – фосфатно-солевой буфер; TCMPP – 5,10,15,20-тетраakis(4-карбометоксифенил)порфирин; TCPP – 5,10,15,20-тетраakis(4-карбоксифенил)порфирин; YbTCPP – иттербиевый комплекс TCPP; ЛБ – технология Ленгмюра-Блоджетт.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 135-99-50; эл. почта: chud@genome.eimb.relam.ru).



Схема. Реагенты и условия реакций: 1) 2 М КОН, C_5H_5N , 1.5 ч; 2) 0.1 М НСl; 3) $Yb(acac)_3$, Im, $240^\circ C$, 40 мин; 4) 0.5 М Na_2CO_3 ; 5) 0.1 н. НСl.

ющий собой дигидрохлорид 5,10,15,20-тетракис(4-карбоксифенил)порфирина (II).

Обычно $YbTCPP$ (IV) синтезируют (см. схему) по методике получения лантаноидных тетрасульфофенилпорфиринов, описанной в работе [12]. По данному методу получают водорастворимую форму $YbTCPP$ – его натриевую соль ($YbTCPP^{4-} \cdot 4Na^+$) (III). Для активации карбоксильных групп требуется кислота $YbTCPP$ (IV), растворяющаяся в безводных органических растворителях.

Методика синтеза металлопорфирина иттербия была нами частично модифицирована. Смесь $TCPP$ (II) и ацетилацетоната иттербия сплавляли в имидазоле (Im) в течение 40 мин. Реакционную

смесь растворяли в небольшом количестве метанола и обрабатывали диэтиловым эфиром. При этом $YbTCPP$ и непрореагировавшая часть $TCPP$ выпадали в осадок, в то время как избыток ацетилацетоната Yb и имидазол оставались в растворе. Осадок, содержащий $YbTCPP$ (IV) и $TCPP$, растворяли в водном растворе Na_2CO_3 , наносили на хроматографическую колонку, заполненную Trisakryl, и элюировали водой. В первой окрашенной зоне содержалась Na -соль $TCPP$, а во второй – Na -соль $YbTCPP$. Затем водный раствор, содержащий $YbTCPP^{4-} \cdot 4Na^+$ (III), медленно подкисляли 0.1 н. НСl, что вызывало кристаллизацию $YbTCPP$ -кислоты (IV). Эту процедуру следовало

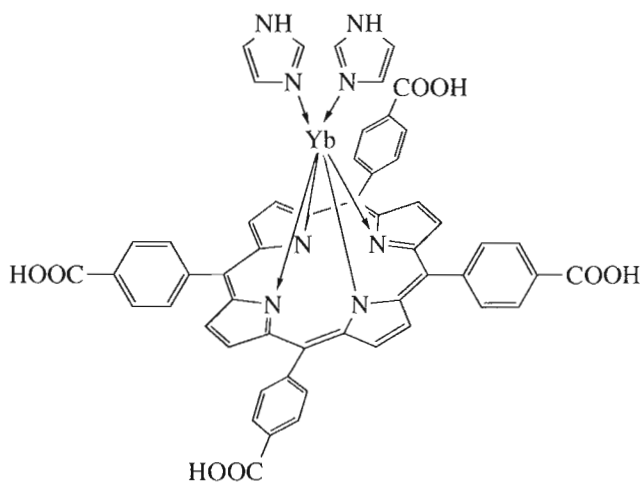


Рис. 1. Пространственная структура YbTCPP.

проводить с осторожностью, так как при дальнейшем подкислении наблюдалось разрушение металлокомплекса. Выпавший осадок YbTCPP-кислоты растворим в ряде органических растворителей.

MALDI-масс-спектрометрия и спектроскопия ¹H-ЯМР позволили обнаружить, что с ионом иттербия координированы две молекулы имидазола (рис. 1). Аналогичные наблюдения были сделаны ранее для иттербиевого сульфопорфирина [12].

Индивидуальность полученных порфиринов подтверждали ТСХ. Для порфиринов, не содержащих ионов металла, использовали системы бензол–метанол–триэтиламин. Добавление различных количеств метанола позволяло регулировать полярность элюента. Использование указанной смеси обеспечивает эффективное разделение компонентов.

Иттербиевый комплекс (IV) при ТСХ-анализе в системах, подобранных для порфиринов, лишенных ионов металла, демонстрирует нулевую подвижность, что, по-видимому, связано с наличием частично свободной третьей валентности иттербия. Однако прибавление 1% ацетилацетона к системе метанол–триэтиламин (60 : 1) повышает хроматографическую подвижность комплекса YbTCPP-кислоты до R_f 0.19; при этом ТСРР имеет R_f 0.27.

Далее была осуществлена конъюгация YbTCPP-кислоты с BSA. На поверхности молекулы BSA находятся свободные аминогруппы, главным образом, ε-аминогруппы остатков Lys. Конъюгат BSA–YbTCPP синтезировали в два этапа. На первой стадии в безводных условиях получали сукцинимидный эфир YbTCPP. Ацилирование кислоты (IV) изобутилхлорформиадом в пиридине приводило к активному смешанному ангидриду, который затем переводили в менее активный N-сукци-

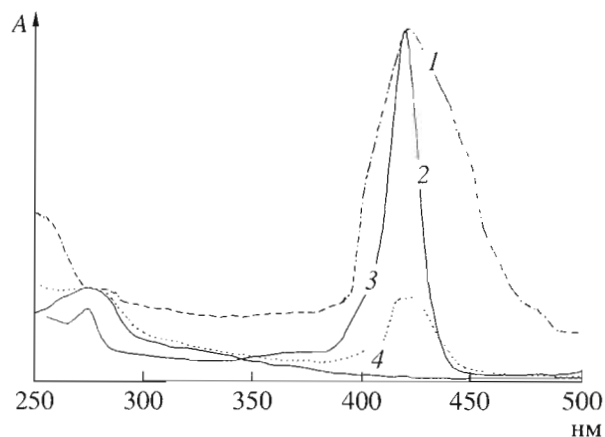


Рис. 2. Спектры оптического поглощения ковалентного конъюгата BSA–YbTCPP (1), YbTCPP (2), нековалентного конъюгата BSA и YbTCPP (3), BSA (4) в буфере PBS, pH 7.4.

нимидный эфир. Контроль ТСХ показал, что при выбранном соотношении реагентов (см. “Эксперимент. часть”) преимущественно образуется YbTCPP с одной активированной карбоксильной группой. На второй стадии сукцинимидный эфир конъюгировали с белком в водно-органической среде при pH 9–9.3.

После гель-хроматографической очистки синтезированного конъюгата был определен его состав. Количество молекул порфирина, приходящееся на одну молекулу белка, α, определяли спектрофотометрическим методом [13]. В УФ-диапазоне поглощение конъюгата складывается из поглощения BSA и из поглощения порфирина (IV), в то время как в видимой области спектра поглощает только YbTCPP (рис. 2).

Поэтому α вычисляли по уравнению:

$$\alpha = \frac{A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(417)} \times \epsilon_{\text{BSA}}^{(280)} / A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(280)} - A_{\text{YbTCPP}}^{(280)} \times \epsilon_{\text{YbTCPP}}^{(417)}}{A_{\text{YbTCPP}}^{(417)} - A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(417)}} \times A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(280)}$$

где $A_{\text{YbTCPP}}^{(417)}$, $A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(417)}$ и $A_{\text{BSA-YbTCPP}}^{(280)}$ – поглощения YbTCPP, BSA–YbTCPP и BSA на длине волны 280 или 417 нм, $\epsilon_{\text{BSA}}^{(280)}$ и $\epsilon_{\text{YbTCPP}}^{(417)}$ – молярные коэффициенты поглощения BSA ($36000 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ при 280 нм) и YbTCPP ($450000 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ при 417 нм) (см. таблицу). Значение α достигало 5.4–6.6, когда исходное количество YbTCPP было равно или более 100 моль/моль BSA. При таком составе конъюгата обычно не наблюдается значительных нарушений в структуре или функциях белка и, кроме того, не происходит концентрационного тушения флуоресценции порфирина.

Для оценки степени сорбционного (нековалентного) связывания BSA с металлопорфирином иттербия (IV) мы проводили контрольный

Спектральные свойства YbTCPP и BSA-YbTCPP

Условия	Соединение	λ_{\max}^{abs} , нм	ϵ , $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$	n_f
0.1 M Na_2CO_3 , 0.9 M NaHCO_3 , pH 9.2	YbTCPP	417	$4.5 \cdot 10^5$	1.00
0.05% Тритон X-100	YbTCPP	419	$3.9 \cdot 10^5$	2.00
8.6 mM K_2HPO_4 , 1.4 mM KH_2PO_4 , 0.15 M NaCl, pH 7.35	BSA-YbTCPP	425	$4.0 \cdot 10^5$	3.03

холостой опыт. Конъюгировали BSA с YbTCPP-кислотой с неактивированными карбоксильными группами. Как оказалось, для таких нековалентных конъюгатов $\alpha \leq 0.1$ (рис. 2), и, следовательно, в синтезированном комплексе BSA-YbTCPP доля неспецифически связавшегося порфирина мала.

Были исследованы ИК-флуоресцентные свойства YbTCPP и BSA-YbTCPP. ИК-флуоресценция Yb-порфиринов обусловлена энергетическим переходом внутренних $4f$ -электронов иона Yb^{3+} из состояния $^2F_{5/2}$ в $^2F_{7/2}$ [2]. Энергия возбуждения поглощается π -электронной системой порфирина-лиганда и затем мигрирует с его триплетного уровня на резонансный уровень иттербия $^2F_{5/2}$. Таким образом, флуоресценция в ближнем ИК-диапазоне – результат внутримолекулярного переноса энергии и существенно зависит от окружения комплекса.

В водных растворах YbTCPP обладает слабой ИК-флуоресценцией (рассчитанное значение квантового выхода равно 0.006). Однако в водно-мицеллярных растворах наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции с максимумом 986 нм. Интенсивность флуоресценции конъюгата BSA-YbTCPP с максимумом 985 нм еще больше (рис. 3). Увеличение относительного квантового

выхода n_f (см. таблицу) для YbTCPP при переходе буфер \rightarrow водно-мицеллярная система \rightarrow фиксация на белке может объясняться некоторым снижением тепловой молекулярной подвижности комплекса (IV) и его нахождением преимущественно в мономерной форме. Не исключается и вклад в энергетику молекул YbTCPP некоторых аминокислотных остатков BSA. В таблице также приведены значения молярных коэффициентов поглощения YbTCPP и BSA-YbTCPP на длине волны максимума их поглощения λ_{\max}^{abs} .

Таким образом, мы показали возможность получения ИК-флуоресцентно меченных белков на примере синтеза конъюгата BSA с водорастворимым Yb-порфирином. Этот конъюгат обладает флуоресценцией при 985 нм, причем квантовый выход флуоресценции YbTCPP существенно зависит от окружения. При включении конъюгата в пленки для биосенсоров и биологические или искусственные мембраны интенсивность ИК-флуоресценции будет, вероятно, еще более возрастать. При соответствующем выборе оптической техники можно надеяться на перспективность использования полученного конъюгата.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали изобутилхлорформат и имидазол (Fluka, Швейцария); *N*-гидроксисукцинимид (Merck, Германия); ацетилацетон, монофосфат калия и дифосфат калия (Sigma, США); Тритон X-100 и цетилтриметиламмоний бромид (СТАВ) (Ferak, Германия); метанол, этанол, пиридин, бензол, триэтиламин, диэтиловый эфир, хлорид натрия, карбонат натрия, бикарбонат натрия, соляную кислоту, гидроксид калия – марок “ч.д.а.” и “ос.ч.” отечественного производства (Реахим). Пиридин хранили над молекулярными ситами (4Å), BSA (Sigma, США) – в лиофилизированном состоянии при +4°C.

$\text{Yb}(\text{acac})_3$ получали из YbCl_3 . TCMPP синтезировали по методу [14].

В качестве носителей для колоночной хроматографии YbTCPP использовали Trisakryl GF-05 (LKB, Швеция). Размер колонки – 10 × 300 мм, скорость движения элюента в колонке 1–1.5 мл/мин. ТСХ проводили на пластинах Silufol UV-254 (Kavalier, Чехия) размером 20 × 70 мм в

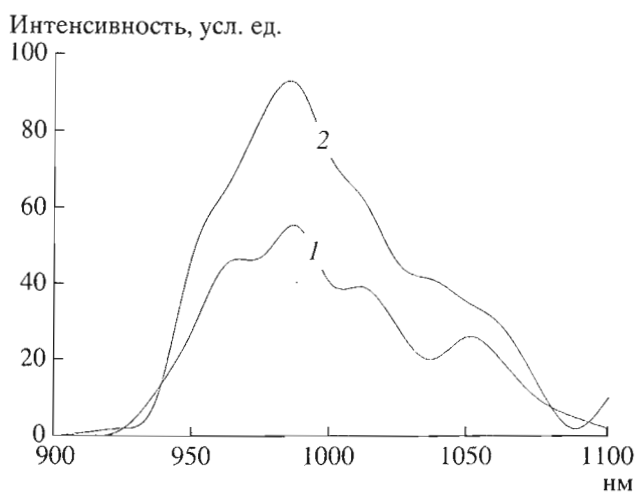


Рис. 3. Спектры флуоресценции YbTCPP (1) в 0.05% водном растворе Тритона X-100 и BSA-YbTCPP (2) в тридистиллированной воде при комнатной температуре.

системах: бензол–метанол–триэтиламин, 15 : 15 : 1 (А), метанол–триэтиламин, 60 : 1, с 1% содержанием ацетилацетона (Б). Гель-хроматографическую очистку BSA–YbTCPP проводили на колонке 10 × 180 мм, заполненной сефадексом G-25 (Pharmacia, Швеция). Детекцию проводили по оптическому поглощению при длине волны 280 нм с помощью прибора Uvicord (LKB, Швеция).

Спектры ^1H -ЯМР регистрировали на приборе Bruker AMX400 (Германия) при 295 К. Значения химических сдвигов δ (м.д.) рассчитывали относительно сигнала HOD (δ 4.63) для растворов в D_2O , сигнала CHCl_3 (δ 7.26) для растворов в CDCl_3 и сигнала $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ (δ 3.57) для растворов в $\text{DMSO}-d_6$ [14]. Соотнесение сигналов осуществляли с помощью двойного резонанса. Величины КССВ (J) измеряли в герцах; масс-спектры – на приборе Compact MALDI 4 (KRATOS Analytical, США). Электронные спектры получали на спектрофотометре Shimadzu UV-VIS 3100 (Япония). Температуры плавления определяли на приборе Voetius (Германия). Спектры флуоресценции измеряли на спектрофлуориметре Shimadzu RF 5000 (Япония). Квантовый выход вычисляли по методике [15] с применением раствора 5,10,15,20-тетрааксифенилпорфирина в толуоле в качестве стандарта ($Q = 0.12$). Для определения молярных коэффициентов поглощения использовали СТАВ и концентрированные растворы HCl и NaOH.

5,10,15,20-Тетраакс(4-карбоксифенил)порфирин (II). К раствору TCMPP (50 мг; 0.046 ммоль) в пиридине (5 мл) прибавляли 2 М КОН (5 мл) и смесь кипятили с обратным холодильником при интенсивном перемешивании в течение 1.5 ч. Пиридин удаляли на роторном испарителе (80°C, 15 мм рт. ст.), остаток разбавляли 10 мл дистиллированной воды и при перемешивании подкисляли 0.1 н. HCl до pH 2. Цвет раствора менялся с красного на зеленый и выпадал зеленый осадок. Осадок порфирина (II) отфильтровывали, промывали водой (100 мл) и сушили над пятиокисью фосфора; выход 33.5 мг (92%); R_f 0.23 (А); т. пл. (300°C); электронный спектр [бензол–метанол, 5 : 1, λ_{max} , нм (соотношение интенсивностей)]: 420, 513, 548, 592, 645 (1.0 : 0.05 : 0.028 : 0.019 : 0.013); ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 8.82 (8 H, с, β -H), 8.34–8.39 (16 H, с, HPh), 2.50 (4 H, с, COOH); MALDI-MS: найдено M 790.84, вычислено для $\text{C}_{48}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_8$ M 790.77.

Иттербиевый комплекс 5,10,15,20-тетраакс(4-карбоксифенил)порфирина (IV). Смесь порфирина (II) (50 мг, 10.5 мкмоль), ацетилацетоната иттербия (100 мг, 0.21 ммоль) и имидазола (700 мг) тщательно растирали на часовом стекле, переносили в колбу, снабженную обратным холодильником, и нагревали на воздушной бане при 240°C в токе азота в течение 40 мин. Затем смесь охлаждали, и избыток имидазола отгоняли на роторном вакуум-испарителе (100°C, 15 мм рт. ст.). Остаток

растирали с метанолом до получения густой суспензии, прибавляли 20 мл диэтилового эфира и оставляли на 30 мин для оседания хлопьевидного осадка. Супернатант сливали и отбрасывали, процедуру повторяли трижды. Остаток сушили на воздухе, растворяли в 0.5 М Na_2CO_3 и наносили на колонку с Trisakryl GF-05, которую элюировали дистиллированной водой. Вещество (III) выходит во второй окрашенной зоне. Раствор комплекса (III) фильтровали и обрабатывали по каплям 0.1 М HCl до образования мелких кристаллов порфирина (IV), оседающих на дно. Смесь центрифугировали, супернатант сливали, осадок дважды промывали 0.001 М HCl и дистиллированной водой, сушили на воздухе до постоянной массы. Выход порфирина (IV) 45.0 мг (64.7%), R_f 0.19 (Б); электронный спектр (0.5 М Na_2CO_3) [λ_{max} , нм ($\epsilon \times 10^{-3}$, $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 417 (450), 510 (2.7), 545 (17.3), 585 (3.7); ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 8.61 (8 H, с, β -H), 8.48 (4 H, д, *o*-HPh), 8.32 (4 H, с, *m*-HPh), 8.05 (4 H, с, *o*-HPh), 7.30 (4 H, с, *m*-HPh), 4.80 (4 H, м, CH-4,5-Im), 4.62 (2 H, м, CH-2-Im), 2.73 (4 H, с, COOH), 0.43 (1 H, т, NH-Im); MALDI-MS: найдено M 1098.6, вычислено для $\text{C}_{54}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_8\text{Yb}$ M 1097.95.

Конъюгат иттербиевого комплекса 5,10,15,20-тетраакс(4-карбоксифенил)порфирина с бычьим сывороточным альбумином. К раствору соединения (IV) (15.8 мг, 14.3 мкмоль) в пиридине (2 мл) при температуре –10°C и интенсивном перемешивании прибавляли раствор изобутилхлорформата (5 мкл, 35 мкмоль) в хлороформе (40 мкл). Смесь дополнительно перемешивали в течение 1 ч при температуре –10°C и затем 2 ч при 0°C, прибавляли гидроксисукцинимид (7 мг, 60.8 мкмоль) и дополнительно перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь центрифугировали при 14000 об/мин 10 мин и отбирали супернатант. Супернатант содержал раствор *N*-сукцинимидного эфира YbTCPP в пиридине. К раствору BSA (2 мг, 0.03 мкмоль) в 0.1 М карбонат-бикарбонатном буфере (1 мл, pH 9.1) при перемешивании и комнатной температуре прибавляли супернатант, содержащий раствор *N*-сукцинимидного эфира YbTCPP в пиридине (200 мкл). Смесь дополнительно перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 мин и отбирали супернатант. Супернатант содержал конъюгат белка с металлопорфирином иттербия. Супернатант, содержащий конъюгат белка с металлопорфирином иттербия, наносили на колонку для гель-хроматографической очистки (см. ниже). Выход конъюгата 68% (по отношению к количеству белка, введенного в реакцию). На колонку (10 × 180 мм) с сефадексом G-25 наносили супернатант, содержащий конъюгат белка с металлопорфирином иттербия (~1 мл). Колонку предварительно уравнивали с буфером PBS (8.6 мМ K_2HPO_4 , 1.4 мМ KH_2PO_4 , 0.15 М NaCl,

pH 7.35), и элюцию конъюгата проводили тем же буферным раствором. Скорость потока 0.2 мл/мин. Для дальнейших исследований использовали фракцию с временем выхода 25–35 мин. Фракции с меньшим временем выхода (белковые агрегаты) отбрасывали.

Авторы выражают благодарность А.П. Мозолевой (ИМБ РАН, Москва) за запись спектров ¹H-ЯМР.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 02-04-48952.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Понаморева О.Н., Румянцева В.Д., Миронов А.Ф., Чудинов А.В. // Биоорганич. химия. 1995. Т. 21. С. 300–304.
2. Шушкевич И.К., Дворников С.Я., Качура Т.Ф., Соловьев К.Н. // ЖПС. 1981. Т. 35. С. 647–653.
3. Papkovsky D.B., Ponomarev G.V., Wolfbeis O.S. // Spectrochim. Acta. A. 1996. V. 52. P. 1629–1638.
4. Dougherty T.J. // Photochem. Photobiol. 1987. V. 45. P. 879–889.
5. Chatterjee S.R., Srivastava T.S. // J. Porphyrins Phthalocyanines. 2000. V. 4. P. 147–157.
6. Гайдук М.И., Григорьянц В.В., Миронов А.Ф., Ройтман Л.Д., Чиссов В.И., Румянцева В.Д., Сухин Г.М. // Докл. АН СССР. 1989. Т. 309. С. 980–983.
7. Гайдук М.И., Григорьянц В.В., Мененков В.Д., Миронов А.Ф., Румянцева В.Д., Сухин Г.М. // Изв. АН СССР. Сер. физ. 1990. Т. 54. С. 1904–1908.
8. Папковский Д.Б., Савицкий А.П., Ярополов А.И. // Прикл. биохимия и микробиология. 1990. Т. 26. С. 435–444.
9. Лобанов А.В., Чудинова Г.К., Румянцева В.Д. // Тез. докл. Междунар. конф. “От фундаментальной науки – к новым технологиям”. Москва–Тверь, 2001. С. 143.
10. Лобанов А.В., Чудинова Г.К. // Мат. III съезда фотобиологов России. Воронеж, 2001. С. 116.
11. Datta-Gupta N., Jones E., Thomas N.K., Malakar D. // J. Ind. Chem. Soc. 1981. V. 58. P. 1171–1172.
12. Horrocks W., De W., Hove E.G. // J. Amer. Chem. Soc. 1978. V. 100. P. 4386–4392.
13. Папковский Д.Б., Стафеева О.А., Савицкий А.П. // Проблемы эндокринологии. 1988. Т. 34. С. 57–60.
14. Gottlieb H.E., Kotlyar V., Nudelman A. // J. Org. Chem. 1997. V. 62. P. 7512–7515.
15. Owens J.W., Smith R., Robinson R., Robins M. // Inorg. Chim. Acta. 1998. V. 279. P. 226–231.

Synthesis of a Water-Soluble Ytterbium Porphyrin–Bovine Serum Albumin Conjugate

A. V. Chudinov*[#], V. D. Rumyantseva**, A. V. Lobanov***,
G. K. Chudinova***, A. A. Stomakhin*, and A. F. Mironov**

[#] Phone: +7 (095) 135-9950; e-mail: chud@genome.eimb.relarn.ru

* Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, GSP Moscow, 117984 Russia

** Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

*** Research Center for Photochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The ytterbium complex of 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin was synthesized as an IR-fluorescent label and covalently bound to bovine serum albumin. The resulting conjugate fluoresces at 985 nm and is of interest for use in IR-fluorescent tumor diagnostic, immunoassay, and energy transfer studies. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 1; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: conjugates, fluorescence, near IR region, serum albumin, ytterbium porphyrins