

ISSN 1561-8323 (Print)  
ISSN 2524-2431 (Online)

**ХИМИЯ**  
**CHEMISTRY**

УДК 54-432+544.778.3+547.97+535.243.3  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

Поступило в редакцию 11.05.2018  
Received 11.05.2018

**К. В. Лазнев, Ж. В. Игнатович, И. Н. Кухто, академик В. Е. Агабеков**

*Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь*

**ПОЛИВИНИЛСПИРТОВЫЕ МАГНИТНЫЕ МИКРОСФЕРЫ, СОДЕРЖАЩИЕ  
2-АМИНОПИРИМИДИН-БИС-ЭТЕН-БИС-ДИАЛКИЛФЕНИЛАМИНЫ  
В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ИНДИКАТОРОВ pH**

**Аннотация.** Флуоресцентные красители 4,4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-аминопириимидин-4,6-диил) бис(этен-2,1-диил) бис(N,N-диметилфениламин) (АПМ) и 4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-аминопириимидин-4,6-диил) бис(этен-2,1-диил) бис(N,N-диэтилфениламин) (АПЭ) были включены в состав сшитых глутаральдегидом поливинилспиртовых микросфер, содержащих магнетит. Спектры флуоресценции полученных микросфер зависят от pH среды. Разработана методика оценки pH в интервале 4–9 по соотношению яркостей зеленого и красного каналов фрагментов цифровых изображений микросфер, полученных цветной камерой микроскопа. Микросферы практически не теряют флуорохромы в процессе хранения (180 дней) и могут применяться как индикаторы локального pH среды, в частности, при исследовании фагоцитоза.

**Ключевые слова:** микросферы, флуоресцентные красители, pH

**Для цитирования.** Поливинилспиртовые магнитные микросферы, содержащие 2-аминопириимидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины в качестве флуоресцентных индикаторов pH / К. В. Лазнев [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 563–568. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

**Konstantin V. Laznev, Zhanna V. Ignatovich, Irina N. Kukhta, Academician Vladimir E. Agabekov**

*Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**POLYVINYL ALCOHOL MAGNETIC MICROSPHERES CONTAINING 2-AMINOPYRIMIDIN-BIS(ETHENE)-  
BIS(DIALKYLPHENYLAMINE) COMPOUNDS AS FLUORESCENT pH INDICATORS**

**Abstract.** The fluorescent dyes 4,4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-aminopyrimidin-4,6-diyl) bis(ethene-2,1-diyl) bis(N,N-dimethylphenylamine) (APM) and 4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-aminopyrimidin-4,6-diyl) bis(ethene-2,1-diyl) bis(N,N-diethylphenylamine) (APE) were incorporated into glutaraldehyde-crosslinked polyvinyl alcohol microspheres containing magnetite. Fluorescence spectra of the obtained microspheres depend on pH of the medium. A technique for pH measurement within the range of 4–9 based on calculation of the green/red ratio of the fragments of color microimages of the microspheres was developed. Only negligible loss of the fluorochromes from the microspheres occurred during the storage time of 180 days. Thus the microspheres may be used as local pH indicators, e. g. for phagocytosis studies.

**Keywords:** microspheres, fluorescent dyes, pH

**For citation:** Laznev K. V., Ignatovich Zh. V., Kukhta I. N., Agabekov V. E. Polyvinyl alcohol magnetic microspheres containing 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis(dialkylphenylamine) compounds as fluorescent pH indicators. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 563–568 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

Микросферы и наночастицы, содержащие pH-чувствительные флуорохромы, могут применяться для локальной оценки pH. В биологии и медицине они позволяют оценивать pH в отдельных компартментах клеток, в частности, визуализировать процесс слияния лизосом с фагосомой при фагоцитозе [1; 2].

Ранее [3] нами были получены поливинилспиртовые магнитные микросферы (ММС), сшитые глутаральдегидом, особенностью которых является низкая способность к неспецифическо-

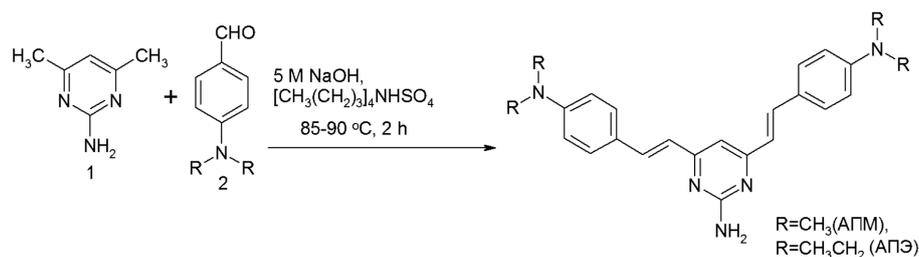


Рис. 1. Синтез 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламинов

Fig. 1. Synthesis of 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis-(dialkylphenylamine)s

му связыванию с клетками, что позволяет использовать их как биологически инертный носитель антигенов и лекарств. Взаимодействие данных микросфер с клетками определяется свойствами иммобилизованных на микросферах биологических молекул [4]. Наличие магнитного материала позволяет более эффективно по сравнению с центрифугированием осажать микросферы и связавшие их клетки, применяя магнит.

По методике [5] синтезированы 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины (рис. 1) АПМ и АПЭ, известные в качестве двухфотонных флуорохромов. Поскольку спектры флуоресценции этих веществ существенно зависят от pH, было предположено, что АПМ и АПЭ могут применяться в составе микросфер в качестве компонентов, обеспечивающих pH-зависимую флуоресценцию.

Цель работы – включение красителей АПМ и АПЭ в состав гелевых поливинилспиртовых ММС и установление зависимости спектров флуоресценции полученных микросфер от pH среды.

**Экспериментальная часть.** Общая методика синтеза 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламинов согласно [5], с изменениями. К нагретому до 50 °С и перемешиваемому 5 М раствору NaOH добавили 0,25 г (2 ммоль, 1 экв) 2-амино-4,6-диметилпиримидина, затем 4 ммоль, 2 экв N-диалкиламинобензальдегида и 0,5 ммоль катализатора межфазного переноса – тетрабутиламмония гидросульфата. Реакционную смесь перемешивали при 90–95 °С в течение 2 ч (рис. 1). Отфильтровали твердый осадок продукта реакции (АПМ или АПЭ), который промыли водой 3 × 30 мл и перекристаллизовывали из смеси хлороформ–диэтиловый эфир. Наблюдение за ходом реакции и оценку индивидуальности продуктов проводили методом хроматографирования в тонком слое на пластинках фирмы Merck «DC-Plastictblen Kieselgel 60 F<sub>254</sub>» в системе бутанол : этанол : NH<sub>4</sub>OH, 8 : 1 : 1 и хлороформ : метанол, 95 : 5. Элементный анализ выполняли на приборе VARIO Micro Cube CHNS-анализатор. Температуры плавления соединений определяли на блоке Кофлера. ИК спектры получали на фурье-спектрометре Bruker Tensor 27 (в таблетках KBr) в области 400–4000 см<sup>-1</sup>. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C записаны на спектрометре Bruker Avance-500 в CDCl<sub>3</sub>, DMSO-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт – TMS, рабочая частота 500 МГц для <sup>1</sup>H и 125 МГц для <sup>13</sup>C. Константы спин-спинового взаимодействия приведены в герцах (Гц), значения химических сдвигов приведены в миллионных долях (м. д.) по шкале δ от TMS (0 м. д.), DMSO (2,50 м. д.) в ЯМР <sup>1</sup>H и от CDCl<sub>3</sub> (77,0 м. д.), DMSO (39,43 м. д.) – в спектрах ЯМР <sup>13</sup>C. Хроматографический анализ и запись масс-спектров соединений производились на комплексе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Accela с масс-детектором LCQ-Fleet (трехмерная ионная ловушка) в режиме химической ионизации при атмосферном давлении (APCI), детектирование положительных и отрицательных ионов, CID 35 %. Условия ВЭЖХ: колонка HYPERSIF Gold (50 мм × 2,1 мм × 1,9 мкм), подвижная фаза – 95 % MeCN (100 мкл/мин), объем инъектируемой пробы 30 нг.

Прогнозирование влияния протонной таутометрии на спектры поглощения АПМ и АПЭ проводили с использованием пакета квантово-химических программ Gaussian 03 [6]. Проведена полная оптимизация геометрии свободной молекулы, а также ее протонированной формы с противоионом OH в основном состоянии в рамках теории функционала плотности (DFT), функционал B3LYP, базисный набор 6-31G. Для оптимизированных структур методом TD DFT рассчитаны спектры поглощения.

Поливинилспиртовые ММС получали по описанной ранее методике [3], с модификациями. Получали наночастицы магнетита: смешивали 180 мкл раствора  $\text{FeSO}_4$  0,36М подкисленного и 320 мкл раствора  $\text{FeCl}_3$  0,37М; добавляли полученный раствор в пробирку с 200 мкл 25 % раствора  $\text{NH}_3$  на вортексе; инкубировали 15 мин при 60 °С; осаждали магнитом, трижды отмывали 2 мл дистиллированной воды и окончательно осаждали. Получали магнитную жидкость, содержащую поливиниловый спирт (ПВС): к 10 мкл влажного осадка магнетита добавляли 50 мкл ледяной уксусной кислоты, 200 мкл дистиллированной воды и 250 мкл р-ра ПВС (ГОСТ 10779–78, марка 11/2) 10 %<sub>м/об</sub> в дистиллированной воде, обрабатывали ультразвуком (УЗ) 22 кГц 100 Вт до кипения. Полученную магнитную жидкость в объеме 200 мкл вносили в 2400 мкл раствора Tween 85 1,5 %<sub>м</sub> и Span 85 2,8 %<sub>м</sub> в изооктане (ИО/ПАВ) и эмульгировали, пипетируя 5 мин на водяной бане при 60 °С. Для пипетирования использовали дозатор 150 мкл с наконечником 200 мкл, укороченным до выходного сечения  $\approx 1 \text{ мм}^2$ , приводимый с частотой  $\approx 6 \text{ Гц}$  электромешалкой с зажатым в патрон эксцентриком. По окончании эмульгирования суспензию отстаивали 5 мин и удаляли надосажок. К осадку добавляли эмульсию сшивающего агента: 100 мкл раствора  $\text{CaCl}_2$  1М и ГА 25 %<sub>об</sub> в дистиллированной воде, внесенные в 2400 мкл ИО/ПАВ и обработанные УЗ 22 кГц 100 Вт до прозрачного состояния. Пипетировали  $\approx 2 \text{ Гц}$  1 ч при 65 °С. Полученные ММС осаждали магнитом, инкубировали в 5 %<sub>об</sub> растворе ГА в этаноле 2 мин при 60 °С, трижды отмывали дистиллированной водой, ресуспендировали в водном растворе уксусной кислоты 10 %<sub>об</sub> и ПВС 1 %<sub>м/об</sub>, обрабатывали УЗ 22 кГц 100 Вт 30 с, пипетировали  $\approx 2 \text{ Гц}$  1 ч при 65 °С, дважды отмывали дистиллированной водой и один раз – буфером  $\text{NaCl}$  0,5М,  $\text{NaP}_i$  0,2М при pH 9. Финальной стадией синтеза ММС была обработка боргидридом натрия для конверсии непрореагировавших альдегидных групп в спиртовые, а оснований Шиффа (продуктов сшивки) – во вторичные амины. Проводили 2 цикла обработки  $\text{NaBH}_4$  10 мг/мл в буфере  $\text{NaCl}$  0,5М,  $\text{NaP}_i$  0,2М, pH 9, 20 мин при 60 °С, в конце первого цикла – обработка УЗ 22 кГц 50 Вт в течение 15 с. Восстановленные боргидридом ММС трижды отмывали фосфатно-солевым буфером pH 7,4 (ФСБ, Sigma кат. № P4417) и ресуспендировали в ФСБ.

Включение АПМ и АПЭ в состав микросфер проводили двумя методами: добавляя 50 мкл насыщенного раствора красителя в этаноле в 200 мкл магнитной жидкости перед эмульгированием и сшивкой либо используя для приготовления масляной фазы эмульсии изооктан, предварительно насыщенный красителем.

Флуоресценцию микросфер исследовали в камере Горяева на оптическом микроскопе Планар Микро МБ с каналом возбуждения флуоресценции на основе ртутной лампы сверхвысокого давления Osram HBO 100W/2, оснащенной цветной цифровой камерой и микроспектрометром Ocean Optics STS-VIS. Для анализа изображений использовали программное обеспечение ImageJ [7]. Статистическую обработку данных проводили в Microsoft Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Синтез АПМ: Выход 62 %, кристаллы желтого цвета, т. пл. 204–206 °С. ИК спектр ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ , KBr): 3315, 2891, 1602 (СН=СН), 1560, 1509, 1441, 1385, 1185. Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (м. д.): 7,68 д 2H ( $J = 5,9 \text{ Гц}$ ), 7,47 д 4H ( $J = 8,8 \text{ Гц}$ ), 6,75 д 2H ( $J = 5,9 \text{ Гц}$ ), 6,70 д 4H ( $J = 8,8 \text{ Гц}$ ), 6,68 с1H, 4,93 шс 2H ( $\text{NH}_2$ ), 3,01 с 12H (4Me). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м. д.: 190,328, 167,775, 162,609, 154,271, 150,275, 131,948, 128,672, 128,584, 125,058, 112,541, 110,919, 40,041. Масс-спектр,  $m/z$ :  $[\text{M}]^+$  385,2. Найдено, %: С 74,76, Н 7,08, N 18,17.  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_5$ . Вычислено, %: С 74,77, Н 7,06, N 18,17.

Синтез АПЭ: Выход 50 %, кристаллы желтого цвета, т. пл. 206–208 °С. ИК спектр ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ , KBr): 3310, 3170, 1558, 1516, 1449, 1400, 1353, 1264, 1184. Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (м. д.): 7,57 д 2H ( $J = 5,8 \text{ Гц}$ ), 7,51 д 4H ( $J = 8,8 \text{ Гц}$ ), 6,65 д 2H ( $J = 5,8 \text{ Гц}$ ), 6,77 д 4H ( $J = 8,8 \text{ Гц}$ ), 6,68 с1H, 4,90 шс 2H ( $\text{NH}_2$ ), 3,4 к 8H (4 $\text{CH}_2$ ,  $J = 6,8 \text{ Гц}$ ), 1,3 т 12H (4Me,  $J = 6,8 \text{ Гц}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м. д.: 189,234, 167,766, 162,606, 153,212, 150,275, 131,948, 128,672, 128,584, 125,058, 112,541, 110,919, 47,089, 12,7. Масс-спектр,  $m/z$ :  $[\text{M}]^+$  441,2. Найдено, %: С 76,15, Н 7,98, N 15,87.  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_5$ . Вычислено, %: С 76,16, Н 7,99, N 15,86.

Строение синтезированных соединений установлено по совокупности данных элементного анализа, спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , ИК спектров. Наличием пика молекулярного иона  $[\text{M}]^+$  ( $I_{\text{отн}}$  2–56 %) в масс-спектрах подтвержден брутто-состав продуктов. В ИК спектрах АПМ и АПЭ присут-

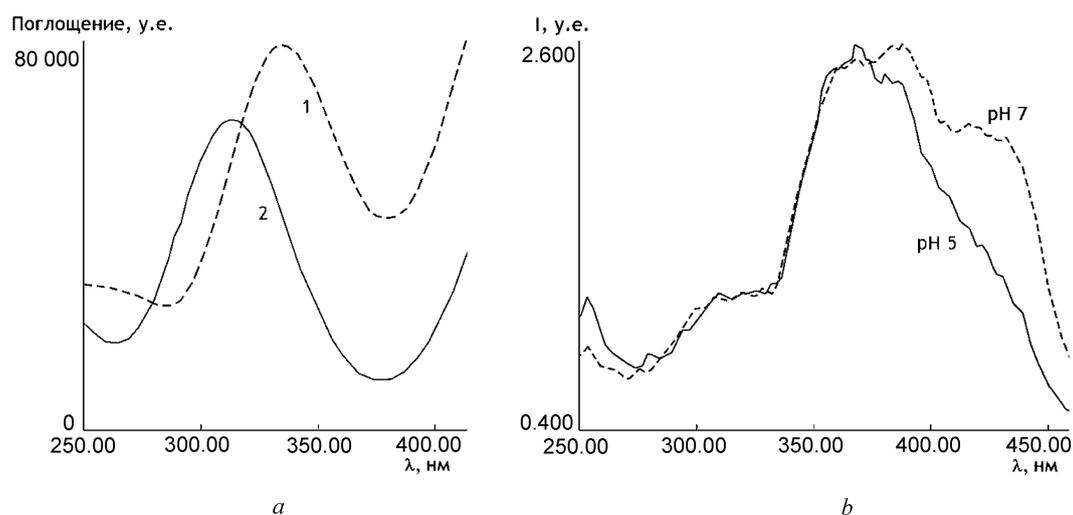


Рис. 2. Расчетные спектры поглощения (а) и реальные спектры возбуждения, нормированные по оси  $Y$  (b) АПЭ: 1 – нейтральная молекула, 2 – протонированная форма

Fig. 2. Calculated absorbance spectra (a) and real excitation spectra aligned by  $OY$  (b) of APE: 1 – neutral molecule, 2 – protonated

ствуют полосы валентных колебаний групп  $\text{NH}_2$  в области  $3310\text{--}3315\text{ см}^{-1}$ ,  $\text{--HC=CH--}$  связи в области  $1602\text{ см}^{-1}$  и полосы деформационных колебаний группы  $\text{NH}_2$  при  $1560\text{--}1558\text{ см}^{-1}$ . В спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  сигналы атомов водорода пиримидинового и фенильных циклов расположены в области сигналов ароматических протонов (6,0–9,9 м. д.  $\delta$ ), метальных и метиленовых групп  $\text{N,N}$ -диметилфенил- и  $\text{N,N}$ -диэтилфенильных фрагментов – при 3,01–4,5 м. д.  $\delta$ . В спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  сигналы атомов углерода пиримидинового и фенильных циклов расположены в области 110,9–190,3, метиленовых фрагментов АПЭ в области 47 м. д. и дифференцируются дерт-спектром. В области 41,0 м. д. находятся сигналы атомов  $\text{C}$  метильных  $\text{C}$  метиленовых заместителей.

Расчет спектров поглощения позволил ожидать наличие одного из максимумов вблизи 350 нм (область, важная при использовании ртутной лампы в качестве источника света) и его сдвиг в коротковолновую область при протонировании молекулы. Спектры возбуждения полученных красителей в области 250–400 нм приблизительно соответствовали ожидаемым (рис. 2).

Микросферы: полученные ММС имели средний размер 3–5 мкм, коэффициент полидисперсности  $\approx 0,1$  (рис. 2, a). Количество флуорохрома, включенного в микросферы, оцениваемое по относительной яркости флуоресценции, в случае применения насыщенной флуорохромом масляной фазы эмульсии было в 4,6–5,3 раза больше, чем в случае введения в водную фазу (таблица). Это свидетельствует о перераспределении красителей между фазами в ходе синтеза.

#### Соотношение яркостей микросфер и фона на микрофотографиях

##### Microspheres/background brightness ratios on microimages

Способ включения красителя в ММС Way of incorporation of a dye into the magnetic microspheres	Краситель Dye	
	АПМ APM	АПЭ APE
Через масляную фазу Via oil phase	10,5	8,37
Через водную фазу Via water phase	2,26	1,57

Спектры флуоресценции микросфер зависят от pH среды (рис. 3, b, c). Изменение цвета происходит равномерно по всему объему микросферы (рис. 3, a), что свидетельствует о проницаемости ММС для протонов. В то же время ММС практически не теряют флуорохромы в процессе

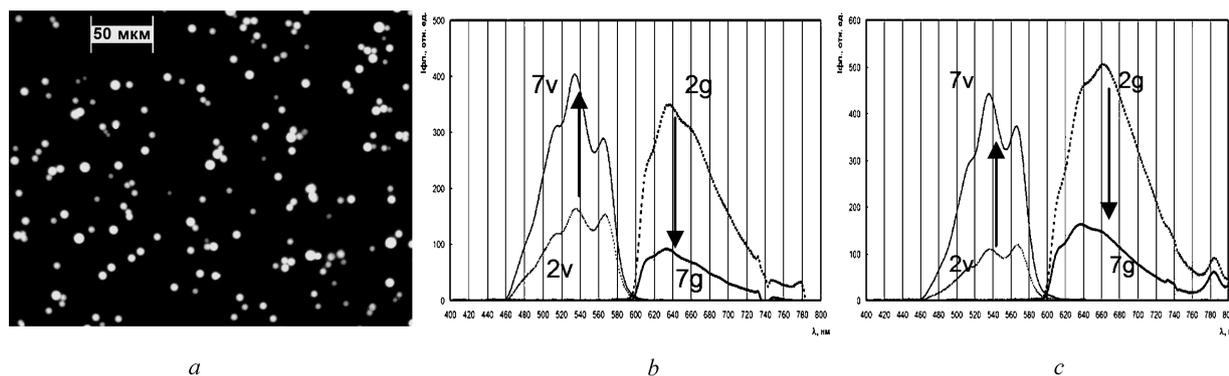


Рис. 3. Изображение (a) и спектры флуоресценции микросфер (b, c – содержащих АПМ и АПЭ соответственно): 2, 7 – значения pH; v, g – возбуждение фиолетовым и зеленым светом соответственно

Fig. 3. Image (a) and fluorescence spectra of microspheres (b, c – APM and APE-containing, respectively): 2, 7 – pH values; v, g – excitation by violet and green light, respectively

хранения (180 суток), что свидетельствует в пользу того, что флуорохромы связаны с материалом микросфер ковалентно: вероятно, через аминогруппу остатка 2-аминопиримидина.

Была разработана методика для оценки локального pH в интервале 4–9 по калибровочным кривым соотношений яркостей зеленого и красного каналов ( $I_G / I_R$ ) цифровых изображений микросфер, полученных цветной камерой микроскопа. Кривые для АПМ и АПЭ практически совпадают (рис. 4).

В значимом для исследований физиологии клетки интервале pH 4–7 соотношение G/R изменяется в 1,4 раза. Для коммерческого зонда LysoSensor™ Yellow/Blue dextran (LysoSensor YBD) известно, что в том же интервале pH соотношение яркостей флуоресценции в синей и зеленой областях изменяется в 1,9 раз [8]. Таким образом, методика определения локального pH с помощью ММС, содержащих АПМ и АПЭ, сопоставима по чувствительности с методикой, в которой используется LysoSensor YBD. При этом в интервале pH 6–7 методика с применением АПМ или АПЭ чувствительнее, чем методика с применением LysoSensor YBD: изменение соотношений соответственно на 5 и 0,01 % [8].

**Заключение.** Микросферы, модифицированные АПМ или АПЭ, могут применяться как индикаторы локального pH среды, в частности, при исследованиях методом оптической микроскопии. Представляет интерес создание наборов для оценки фагоцитарной активности лейкоцитов на основе данных микросфер путем иммобилизации на их поверхности соответствующих антигенов-мишеней.

**Список использованных источников**

1. pH sensing in living cells using fluorescent microspheres / M. Bradley [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2008. – Vol. 18, N 1. – P. 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.075>
2. Vergne, I. Phagosomal pH determination by dual fluorescence flow cytometry / I. Vergne, P. Constant, G. Lanéelle // Anal. Biochem. – 1998. – Vol. 255, N 1. – P. 127–132.
3. Лазнев, К. В. Связывание гелевых магнитных микросфер с мононуклеарными клетками крови / К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 2. – С. 67–72.
4. Гидрогелевые магнитные микросферы: применение для иммуномагнитной сепарации клеток / Е. М. Ермоленко [и др.] // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики. – Минск, 2012. – Вып. 2. – С. 89–93.

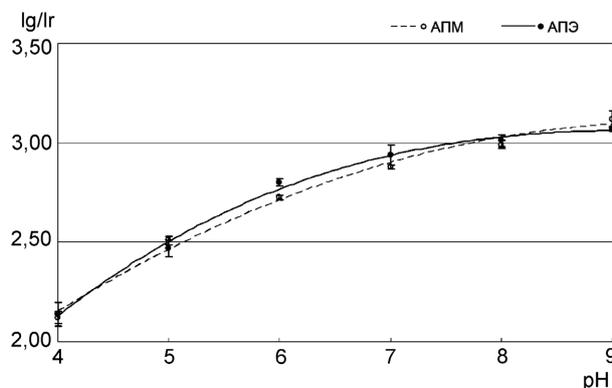


Рис. 4. Калибровочные кривые для оценки pH среды в интервале 4–9 по соотношению G- и R-составляющих изображений АПМ- и АПЭ-содержащих микросфер  
Fig. 4. Calibration curves for measurement of pH (4–9) by G/R ratio of the microimages of APM- and APE-containing microspheres

5. Synthesis and photophysical properties of novel pyrimidine-based two-photon absorption chromophores / Bo Liu [et al.] // *Tetrahedron Letters*. – 2007. – Vol. 48, N 34. – P. 5958–5962. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.06.122>
6. Gaussian 03, Revision D 01 / ed. M. J. Frisch. – Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
7. ImageJ: Image processing and analysis in Java [Electronic resource]. – 2018. – Mode of access: <https://imagej.nih.gov/ij>. – Date of access: 10.05.2018.
8. Development of dextran nanoparticles for stabilizing delicate proteins / Fei Wu [et al.] // *Nanoscale Res. Lett.* – 2013. – Vol. 8, N 1. – P. 197–204. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-8-197>

## References

1. Bradley M., Alexander L., Duncan K., Chennaoui M., Jones A.C., Sánchez-Martín R. M. pH sensing in living cells using fluorescent microspheres. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.075>
2. Vergne I., Constant P., Lanéelle G. Phagosomal pH determination by dual fluorescence flow cytometry. *Analytical Biochemistry*, 1998, vol. 255, no. 1, pp. 127–132. <https://doi.org/10.1006/abio.1997.2466>
3. Laznev K. V., Agabekov V. E. Binding of magnetic gel microspheres to blood mononuclear cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 2, pp. 67–72 (in Russian).
4. Yermolenko E. M., Ibragimova Z. A., Khodosovskaya E. V., Semerikhina S. E., Kolesnikova T. S., Laznev K. V., Zhavnerko G. K., Kashevskiy B. E., Agabekov V. E. Hydrogel magnetic microspheres: usage for immunomagnetic cell separation. *BGMU: 90 let v avangarde medicinskoj nauki i praktiki [BSMU: 90 years in the forefront of medical science and practice]*. Minsk, 2012, iss. 2, pp. 89–93 (in Russian).
5. Bo Liu, Xue-Lei Hu, Jun Liu, Yuan-Di Zhao, Zhen-Li Huang. Synthesis and photophysical properties of novel pyrimidine-based two-photon absorption chromophores. *Tetrahedron Letters*, 2007, vol. 48, no. 34, pp. 5958–5962. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.06.122>
6. Frisch M. J., ed. *Gaussian 03, Revision D 01*. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
7. ImageJ: Image processing and analysis in Java (2018). Available at: <https://imagej.nih.gov/ij> (accessed 10 May 2018).
8. Fei Wu, Zhihua Zhou, Jing Su, Liangming Wei, Weien Yuan, Tuo Jin. Development of dextran nanoparticles for stabilizing delicate proteins. *Nanoscale Research Letters*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. 197–204. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-8-197>

## Информация об авторах

Лазнев Константин Владимирович – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [kvlaznev@mail.ru](mailto:kvlaznev@mail.ru).

Игнатович Жанна Владимировна – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ignatovichz@inbox.ru](mailto:ignatovichz@inbox.ru).

Кухто Ирина Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by).

Агабеков Владимир Енокович – академик НАН Беларуси, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by).

## Information about the authors

Laznev Konstantin Vladimirovich – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [kvlaznev@mail.ru](mailto:kvlaznev@mail.ru).

Ignatovich Zhanna Vladimirovna – Ph. D. (Chemistry), Leading researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ignatovichz@inbox.ru](mailto:ignatovichz@inbox.ru).

Kukhta Irina Nikolaevna – Junior researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by).

Agabekov Vladimir Yenokovich – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [ichnm@ichnm.basnet.by](mailto:ichnm@ichnm.basnet.by).