

МЕЗО-ЗАМЕЩЕННЫЕ ТИА- И ОКСАКАРБОЦИАНИНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ В КАЧЕСТВЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ЗОНДОВ НА АЛЬБУМИН В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Шведова Л.А.¹, Татиколов А.С.¹, Пронкин П.Г.¹, Панова И.Г.²

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
ул. Косыгина, д. 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: shvedova@sky.chph.ras.ru

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
ул. Вавилова, д. 26, г. Москва, 119334, РФ

Поступила в редакцию: 13.06.2018

Аннотация. Спектрально-флуоресцентными методами было изучено нековалентное взаимодействие ряда анионных мезо-замещенных карбоцианиновых красителей – 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-метилтиакарбоцианин-бетаина (ДМЦ), 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-этил-тиакарбоцианин-бетаина (ДЭЦ), 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-5,5'-дифенил-9-этилоксакарбо-цианин-бетаина (ОКЦ) с сывороточным альбумином человека (САЧ). Существенные изменения в спектрах поглощения и флуоресценции красителей в присутствии САЧ указывают на образование стабильных нековалентных комплексов. Взаимодействие с САЧ приводит к значительному росту флуоресценции красителей. Показано, что взаимодействие мезо-замещенных красителей с САЧ приводит к сдвигу *цис-транс*-изомерного равновесия. Красители предложены для использования в качестве спектрально-флуоресцентных зондов для оценки структурно-функциональных свойств САЧ и для анализа внеклеточного матрикса с целью определения альбумина, динамика изменения которого может характеризовать изучаемую ткань при ее развитии, стадии взросления и старения.

Ключевые слова: тиакарбоцианиновые красители, оксакарбоцианиновые красители, сывороточный альбумин, нековалентный комплекс, спектрально-флуоресцентные зонды.

В организме сывороточный альбумин выполняет функции транспорта биологических метаболитов, в основе которых лежит способность альбумина образовывать межмолекулярные комплексы с различными соединениями [1, 2]. На этой же способности сывороточных альбуминов основано применение спектрально-флуоресцентных зондов для обнаружения этих белков в биологических образцах и искусственных системах [3]. Полиметиновые (цианиновые) красители успешно применяются в качестве чувствительных к альбумину молекулярных зондов [4]. Поскольку фотофизические и фотохимические свойства полиметиновых красителей значительно изменяются при нековалентном взаимодействии с биополимерами, эти соединения, нековалентно связываясь с молекулой альбумина, демонстрируют изменение спектрально-флуоресцентных свойств, что позволяет детектировать малые концентрации белка [4].

В настоящей работе приведены результаты взаимодействия ряда мезо-замещенных цианиновых красителей – 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-метилтиакарбоцианин-бетаина (ДМЦ), 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-этилтиакарбоцианин-бетаина (ДЭЦ), 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-5,5'-дифенил-9-этилоксакарбоцианин-бетаина (ОКЦ) с сывороточным альбумином человека (САЧ). Исследовано влияние комплексообразования с белком на спектрально-флуоресцентные свойства красителей, в работе ставилась задача раскрыть потенциал ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ как красителей-зондов для определения САЧ *in vitro* в модельных и реальных биологических системах.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали красители, любезно предоставленные научным центром НИИХИМФОТОПРОЕКТ. Сывороточный альбумин человека был коммерческий («Sigma-Aldrich», США). В качестве растворителей использовали 1,4-диоксан, ацетон, этанол, изопропанол, диметилсульфоксид (ДМСО) (ч.д.а), дистиллированная вода. Для денатурации САЧ использовалась кристаллическая мочеви́на (х.ч., «Химмед», Россия). Растворы красителя готовили непосредственно перед проведением измерений.

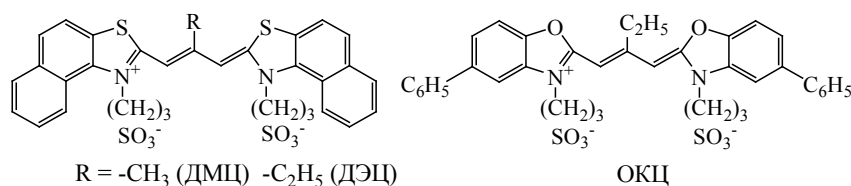


Рисунок 1. Структурные формулы исследованных красителей

Измерения спектров поглощения красителей проводились на спектрофотометре СФ-2000 (Россия), флуоресцентные измерения – на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» (Россия). Все измерения проводились при комнатной температуре (20 ± 3 °С).

Наблюдаемые константы комплексообразования красителей с САЧ определялись по данным спектров флуоресценции с использованием зависимости Хилла (K_H , л моль⁻¹) [5]: $I_{fl} = I_{fl,max} \cdot [САЧ] / (K_d^m + [САЧ]^m)$, где [САЧ] – концентрация альбумина (моль л⁻¹); I_{fl} – интенсивность сигнала флуоресценции красителя при этой концентрации альбумина; $I_{fl,max}$ – интенсивность сигнала флуоресценции при 100 % связывании красителя; K_d – эффективная константа диссоциации комплекса (моль л⁻¹; $K_H = 1/K_d$); m – коэффициент Хилла, характеризующий кооперативность связывания ($m > 1$ – кооперативное связывание, $m < 1$ – антикооперативное) [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектрально-флуоресцентные свойства анионных мезо-замещенных красителей ДЭЦ, ОКЦ в различных растворителях были изучены ранее [6, 7]. Краситель ДМЦ характеризуется довольно узкими и интенсивными полосами поглощения в видимой области спектра. Благодаря полному π-электронному сопряжению в полиметиновой цепи цианиновые красители имеют, как правило, высокие коэффициенты экстинкции. При понижении полярности наблюдается bathochromный сдвиг максимумов спектров поглощения красителей (для ДМЦ в этаноле ~ 575 нм, в диметилсульфоксиде ~ 580 нм).

Тиа- и оксакарбоцианиновые красители способны образовывать *цис*- (EEZE) и *транс*-(EEEE) изомеры за счет вращения концевых фрагментов молекул вокруг связей полиметиновой цепи. Известно, что красители, не имеющие заместителей в полиметиновой цепи, находятся в растворах в форме *транс*-изомеров, т.е. при отсутствии стерических затруднений планарная *транс*-конфигурация тиакарбоцианиновых красителей является энергетически более стабильной [8]. В спектрах поглощения мезо-замещенных карбоцианиновых красителей обнаружено равновесие *цис*- и *транс*-изомеров, сдвигающееся в полярных средах в сторону *цис*-форм (коротковолновая полоса), а в малополярных растворителях в сторону *транс*-изомеров (длинноволновая полоса) [9, 10].

Для ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ характерна слабая флуоресценция в полярных растворителях. В частности, для ОКЦ квантовый выход флуоресценции $\phi_f = 7\%$ в растворе изопропанола и 4% в растворе ацетона [7]. В полярных растворителях спектры возбуждения флуоресценции красителей сдвинуты в длинноволновую область по сравнению со спектрами поглощения, максимумы в спектрах возбуждения флуоресценции для ДМЦ в этаноле ~ 583 нм, в диметилсульфоксиде ~ 598 нм. Это свидетельствует о присутствии в полярных растворителях значительных количеств *цис*- и *транс*-изомеров красителей, которые имеют различные спектрально-флуоресцентные свойства. Так, у *цис*-изомеров мезо-замещенных карбоцианиновых красителей практически отсутствует флуоресценция [11].

В неполярных растворителях происходит стабилизация флуоресцирующих *транс*-изомеров мезо-замещенных карбоцианиновых красителей за счет образования ионных пар анионов красителей с противоионами. В случае растворов ДЭЦ и ОКЦ в неполярном 1,4-диоксане положения максимумов красителей в спектрах поглощения и спектрах возбуждения флуоресценции удовлетворительно совпадают. Образование ионных пар в неполярном растворителе к значительному увеличению «жесткости» молекул флуорофоров, что сопровождается резким ростом флуоресценции ДЭЦ, ОКЦ (для ОКЦ $\phi_f = 42\%$ в растворе 1,4-диоксана). В то же время спектр поглощения ДМЦ в растворе 1,4-диоксана уширен и сдвинут в длинноволновую область за счет образования агрегатов (642 нм).

В водных растворах красители ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ проявляют тенденцию к агрегации (способны образовывать димеры, H- и J-агрегаты даже при малых концентрациях). Тип и строение агрегатов полиметиновых красителей зависят как от особенностей их молекулярной структуры, так и от молекулярного окружения. В спектре поглощения ДМЦ наблюдается интенсивная полоса H-димеров (~ 534 нм), полоса мономерного красителя (M-полоса) представляет собой плечо ~ 578 нм, в спектрах может присутствовать незначительный вклад J-агрегатов (~ 690 нм). Для H-димеров ДМЦ характерна длинноволновая флуоресценция (686 нм), флуоресценция M-полосы крайне слабая (максимум ~ 650 нм). Спектр поглощения ДЭЦ представляет собой полосу с максимумом 535 нм и плечом при ~ 570 нм, обусловленную поглощением соответственно димеров и *цис*-мономеров красителя, находящихся в равновесии (отметим, что ни димеры, ни *цис*-мономеры ДЭЦ не флуоресцируют) [6]. Отметим, что тиакарбоцианиновые красители ДМЦ, ДЭЦ более склонны к агрегации, нежели оксакарбоцианиновый краситель ОКЦ. В водном растворе ОКЦ, наряду с мономером (максимум поглощения мономера 499 нм), образует флуоресцирующие H-димеры (поглощение димеров в виде коротковолнового плеча ~ 470 нм), а также образует J-агрегаты (характерное слабое поглощение 560 нм).

Спектры поглощения и флуоресценции ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ в присутствии САЧ были изучены в водном растворе при различных концентрациях биополимера ($c_{САЧ} = 0-3,4 \times 10^{-5}$ моль л⁻¹). При введении САЧ в растворы тиакарбоцианиновых красителей ДМЦ, ДЭЦ спектры поглощения красителей резко изменяются, происходит распад агрегатов красителя, в спектрах поглощения появляются длинноволновые максимумы мономеров, связанных с САЧ (ДМЦ – 604 нм, ДЭЦ – 610 нм). В присутствии САЧ спектры возбуждения флуоресценции ДМЦ, ДЭЦ удовлетворительно соответствуют спектру поглощения связанных форм красителей (т.е. спектру поглощения, регистрируемому при большой концентрации САЧ), а спектры флуоресценции –

спектрам флуоресценции связанных красителей (ДМЦ – 617 нм, ДЭЦ – 622 нм), что указывает на образование красителями флуоресцирующих комплексов только одного типа. На образование *транс*-мономерной формы ДЭЦ в комплексе с САЧ указывает также то, что спектр поглощения связанного красителя близок по форме и положению к спектру *транс*-изомера ДЭЦ, зарегистрированного ранее в 1,4-диоксане. Таким образом, при взаимодействии с альбумином красители ДМЦ, ДЭЦ переходят из агрегатов и *цис*-мономеров в комплексы *транс*-мономеров, для которых характерна сильная флуоресценция.

В случае ОКЦ в области низких и умеренных концентраций САЧ ($c_{САЧ} \sim 5 \times 10^{-6}$ моль л⁻¹) спектры поглощения красителя уширяются, интенсивность полосы падает. Увеличение концентрации САЧ приводит к росту наблюдаемого коэффициента экстинкции полосы поглощения ОКЦ, максимум спектра поглощения сдвигается в длинноволновую область (~ 12 нм; $c_{САЧ} = 2.1 \times 10^{-5}$ моль л⁻¹). Эти эволюции спектров объясняются образованием и распадом агрегатов красителя, связанного с САЧ. В спектрах флуоресценции ОКЦ в присутствии САЧ наблюдается длинноволновый сдвиг полосы красителя. В спектрах возбуждения флуоресценции максимумы не соответствуют спектрам поглощения красителя и сдвинуты в длинноволновую область (~ 11 нм). Несовпадение положений максимумов полос в спектрах поглощения и возбуждения флуоресценции для красителя, связанного с САЧ, изменения ширины и структурированности полос в спектрах свидетельствуют о том, что взаимодействие с белком приводит к сдвигу *цис-транс*-изомерного равновесия ОКЦ в сторону образования длинноволнового *транс*-изомера красителя, связанного с САЧ. Отметим, что аналогичные эффекты наблюдаются при связывании ОКЦ с бычьим сывороточным альбумином [13], тогда как в системе, содержащей ДЭЦ и САЧ, краситель проявляет высокую специфичность по отношению к САЧ [6, 13], что, вероятно, объясняется высокой эффективностью (энергией) связывания *транс*-мономера ДЭЦ с САЧ.

Образование комплекса с САЧ приводит к сдвигу изомерного равновесия и росту флуоресценции красителей ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ. При образовании комплексов с САЧ может увеличиваться «жесткость» молекул красителей, что, в свою очередь, способно приводить к падению констант скорости внутренней конверсии и увеличению квантовых выходов флуоресценции красителей как конкурирующего процесса.

Сложное равновесие краситель – САЧ с участием стадий образования и распада агрегатов красителей позволяет говорить лишь об определении эффективных значений констант комплексообразования (K_{ef}) из спектральных данных. Из уравнения Хилла [5] получены константы ассоциации красителей (K_H): $K_H(\text{ДМЦ}) = 2,9 \times 10^6$ л моль⁻¹ (коэффициент Хилла $m = 1,4$), $K_H(\text{ДЭЦ}) = 7,7 \times 10^5$ л моль⁻¹ ($m = 1,05$), оксакарбоданиновый краситель ОКЦ демонстрирует меньшее на порядок значение константы комплексообразования $K_H(\text{ОКЦ}) = 1,3 \times 10^5$ л моль⁻¹ ($m = 1,1$).

Исследовано влияние денатурации САЧ (денатурирующий агент мочевины) на спектрально-флуоресцентные свойства красителей ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ в комплексах. В процессе денатурации нарушение конформационной структуры альбумина приводит к распаду сильно-флуоресцирующих комплексов краситель-САЧ, что сопровождается изменениями спектров и падением флуоресценции. Поскольку наиболее сильное падение интенсивности флуоресценции ДМЦ имеет место в присутствии ~ 4-4,5 моль л⁻¹ можно сделать вывод, что краситель образует комплекс с САЧ, в основном связываясь с белком в области субдомена Ша, который подвергается денатурации в этих условиях [14]. В случае ОКЦ, обнаружено сильное влияние происходящих при денатурации структурных изменений альбумина на агрегацию красителя [15]. Денатурация комплекса ОКЦ-САЧ сопровождается появлением в спектрах поглощения полос J-агрегатов двух различных типов: при 0,37-2,5 моль л⁻¹ мочевины образуются J¹-агрегаты (максимум поглощения 576 нм), увеличение концентрации мочевины (до 7,2 моль л⁻¹) приводит к нарастанию коротковолновой полосы J²-агрегатов (545 нм). Спектральные характеристики J-агрегатов, образующихся в присутствии белка, отличаются от свойств агрегатов, образующихся в растворах, что является дополнительным способом контроля типа и состояния биополимера [15].

Таким образом, значительные изменения спектрально-флуоресцентных свойств (происходящие в результате сдвигов *цис-транс*-изомерного равновесия красителей в сторону образования комплексов *транс*-изомеров), высокие эффективные константы связывания (порядка 10^6 л моль⁻¹ для ДМЦ, ДЭЦ), высокие квантовые выходы флуоресценции связанных с белком красителей ($\phi_f = 0,57$ для ДЭЦ и 0,36 для ОКЦ) позволяют предложить красители ДМЦ, ДЭЦ, ОКЦ в качестве эффективных спектрально-флуоресцентных зондов при изучении САЧ [6, 7, 12, 13, 15-18]. В работе [16] комплексом методов, в том числе с применением красителя-зонда ОКЦ, исследовано изменение химической и пространственной структуры САЧ при его окислении озоном, количество озона в реакторе варьировали в диапазоне $2,0-9,7 \times 10^{-7}$ моль (0,5-2 усл. ед.). Показано, что в образцах с озонированным САЧ наблюдается меньший рост флуоресценции по сравнению с исходным: при обработке раствора белка 1 и 2 ед. озона интенсивность флуоресценции ОКЦ составляет ~ 74 ± 6 % и 41 ± 6 % от контрольного значения. При озонировании имеет место нарушение связывания красителя и белка, являющееся косвенным признаком химической и структурной модификации белка в области связывания ОКЦ (субдомен Ша) [16].

В [17] было показано, что зонд ДЭЦ может применяться для определения САЧ во внеклеточных средах организма. В частности, он был применен в качестве спектрально-флуоресцентного зонда для определения альбумина в образцах стекловидного тела глаза в пренатальном развитии человека и была показана возрастная динамика концентрации САЧ с 16-й по 31-ю неделю беременности [18].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), проект № 16-03-00735.

Список литературы / References:

1. Peters T., Jr. *All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. San-Diego: Academic Press, 1996, 432 p.
2. Kragh-Hansen U. Molecular aspects of ligand binding to serum albumin. *Pharmacol. Rev.*, 1981, vol. 33, pp. 17-53.
3. Cheng Er.J., Vendrell M., Tang M.K., Zhai D., Chang Y.-T. Fluorescent Dye Cocktail for Multiplex Drug-Site Mapping on Human Serum Albumin. *ACS Comb. Sci.*, 2013, vol. 15, pp. 452-457.
4. Tatikolov A.S. Polymethine dyes as spectral-fluorescent probes for biomacromolecules. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Reviews*, 2012, vol. 13, pp. 55-90.
5. Hill A.V. The possible effects of the aggregation of the molecules of hemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.*, 1910, vol. 40, pp. 4-7.
6. Татиолов А.С., Панова И.Г. Спектрально-флуоресцентное изучение нековалентного взаимодействия мезо-замещенного цианинового красителя с сывороточными альбуминами. *Химия высоких энергий*, 2014, т. 48, № 2, с. 116-122. [Tatikolov A.S., Panova I.G. Spectral and fluorescent study of the noncovalent interaction of a meso-substituted cyanine dye with serum albumins. *High Energy Chemistry*, 2014, vol. 48, no. 2, pp 116-122. (In Russ.)]
7. Пронкин П.Г., Татиолов А.С. Спектрально-флуоресцентные свойства анионного оксакарбоцианинового красителя в комплексах с сывороточным альбумином человека. *Журнал прикладной спектроскопии*, 2015, т. 82, № 3, с. 429-435. [Pronkin P.G., Tatikolov A.S. Spectral fluorescence properties of an anionic oxacarbocyanine dye in complexes with human serum albumin. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2015, vol. 82, pp. 429-435. (In Russ.)]
8. Колесников А.М., Михайленко Ф.А. Конформации полиметиновых красителей. *Успехи химии*, 1987, т. 56, № 3, с. 466-488. [Kolesnikov A.M., Mikhailenko F.A. The conformations of polymethine dyes. *Russ. Chem. Rev.*, 1987, vol. 56, no. 3, pp. 275-287. (In Russ.)]
9. West W., Pearce S. The Dimeric State of Cyanine Dyes. *J. Phys. Chem.*, 1965, vol. 69, pp. 1894-1903.
10. Noukakis D., Van der Auweraer M., Toppet S., De Schryver F. Photophysics of a thiocarbocyanine dye in organic solvents. *J. Phys. Chem.*, 1995, vol. 99, pp. 11860-11866.
11. Khimenko V., Chibisov A.K., Gorner H., Effects of alkyl substituents in the polymethine chain on the photoprocesses in thiocarbocyanine dyes. *J. Phys. Chem. A*, 1997, vol. 101, pp. 7304-7310.
12. Пронкин П.Г., Татиолов А.С. Изучение взаимодействия анионного оксакарбоцианинового красителя с бычьим сывороточным альбумином спектрально-флуоресцентными методами. *Журнал прикладной спектроскопии*, 2016, т. 83, № 6, с. 884-890. [Pronkin P.G., Tatikolov A.S. Spectral and fluorescent studies of the interaction of an anionic oxacarbocyanine dye with bovine serum albumin. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2017, vol. 83, no. 6, pp. 938-944. (In Russ.)]
13. Tatikolov A.S., Costa S.M.B. Complexation of polymethine dyes with human serum albumin: a spectroscopic study. *Biophys. Chem.*, 2004, vol. 107, pp. 33-49.
14. Leggio C., Galantini L., Konarev P.V., Pavel N.V. Urea-induced denaturation process on defatted human serum albumin and in the presence of palmitic acid. *J. Phys. Chem. B*, 2009, vol. 113, pp. 12590-12602.
15. Пронкин П.Г., Татиолов А.С. Изучение образования J-агрегатов анионного оксакарбоцианинового красителя при взаимодействии с белками и полиэлектролитами. *Журнал прикладной спектроскопии*, 2017, т. 84, № 2, с. 192-200. [Pronkin P.G., Tatikolov A.S. Formation of J-aggregates of an anionic oxacarbocyanine dye upon interaction with proteins and polyelectrolytes. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2017, vol. 84, no. 2, pp. 217-224. (In Russ.)]
16. Горобец М.Г., Вассерман Л.А., Васильева А.Д., Бычкова А.В., Пронкин П.Г., Бугрова А.Е., Индейкина М.И., Шилкина Н.Г., Константинова М.Л., Кононихин А.С., Николаев Е.Н., Розенфельд М.А. Модификация человеческого сывороточного альбумина при его индуцированном окислении. *Доклады Академии наук*, 2017, т. 474, № 6, с. 751-755. [Gorobets M.G., Wasserman L.A., Vasilyeva A.D., Bychkova A.V., Pronkin P.G., et. al. Modification of human serum albumin under induced oxidation. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2017, vol. 474, no. 1, pp. 231-235. (In Russ.)]
17. Panova I.G., Sharova N.P., Dmitrieva S.B., Poltavtseva R.A., Sukhikh G.T., Tatikolov A.S. Use of a cyanine dye as a probe for albumin and collagen in the extracellular matrix. *Analytical Biochemistry*, 2007, vol. 361 pp. 183-189.
18. Панова И.Г., Татиолов А.С., Сухих Г.Т. Корреляция между содержанием альбумина и каротиноидов в стекловидном теле глаза человека в пренатальном развитии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2007, т. 144, № 11, с. 522-525. [Panova I.G., Tatikolov A.S., Sukhikh G.T. Correlation between the content of albumin and carotenoids in human vitreous body during prenatal development. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2007, vol. 144, no. 5, pp. 681-683. (In Russ.)]

MESO-SUBSTITUTED THIA- AND OXACARBOCYANINE DYES AS MOLECULAR PROBES FOR ALBUMIN IN BIOLOGICAL SYSTEMS**Shvedova L.A.¹, Tatikolov A.S.¹, Pronkin P.G.¹, Panova I.G.²**¹N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, RAS*Kosygin str. 4, Moscow, 119334 Russia; e-mail: shvedova@sky.chph.ras.ru*²Kol'tsov Institute of Developmental Biology, RAS*Vavilova str., 26, Moscow, 119334, Russia*

Annotation. The noncovalent interaction of a number of anionic meso-substituted carbocyanine dyes – 3,3'-di-(γ -sulfopropyl)-4,5,4',5'-dibenzo-9-methylthiacarbocyanine betaine (DMC), 3,3'-di-(γ -sulfopropyl)-4,5,4',5'-dibenzo-9-ethylthiacarbocyanine betaine (DEC), 3,3'-di-(γ -sulfopropyl)-5,5'-diphenyl-9-ethyloxacarbon-cyanine betaine (OEC) with human serum albumin (HSA) was studied by spectral-fluorescent methods. Substantial changes in the absorption and fluorescence spectra of the dyes in the presence of HSA indicate the formation of stable noncovalent complexes. Interaction with HSA leads to a significant increase in fluorescence of the dyes. It is shown that the interaction of meso-substituted dyes with HSA leads to a shift of cis-trans-isomeric equilibrium of the dyes. The dyes were proposed for use as spectral-fluorescent probes for evaluating the structural and functional properties of HSA and for analyzing the extracellular matrix in order to determine albumin whose dynamics of change can characterize the tissue under study during its development, the stage of growing up and aging.

Key words: *thiacarbocyanine dyes, oxacarbocyanine dyes, serum albumin, noncovalent complex, spectral-fluorescent probes.*