

УДК 547.869.53:620.3:543.51

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ И АГРЕГАЦИОННЫХ СВОЙСТВ КРАСИТЕЛЯ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО В НАНОБИОФИЗИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В.С. Шелковский

*Физико-технический институт низких температур им. Б.И. Веркина НАН Украины,
пр. Ленина, 47, Харьков, 61103, Украина
e-mail: shelkovsky@ilt.kharkov.ua*

Поступила в редакцию 2 июня 2015 года

Принята 23 июня 2015 года

В обзоре рассматриваются новые возможности применения популярного катионного красителя метиленового синего в молекулярно-биофизических исследованиях и нанотехнологии. Основное внимание уделяется использованию окислительно-восстановительных и агрегационных свойств метиленового синего в моделировании биофизических процессов и разработке схем функционирования наноустройств на молекулярном уровне. Систематизируются подходы к исследованию редокс-процессов с участием метиленового синего и его взаимодействия с наноматериалами с использованием экспериментальных возможностей метода масс-спектрометрии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: краситель метиленовый синий, димеризация, окислительно-восстановительные реакции, межмолекулярные взаимодействия, масс-спектрометрия, наноматериалы, нанотехнология, электрохимические сенсоры, перенос электрона.

ВИКОРИСТАННЯ ОКИСЛЮВАЛЬНО-ВІДНОВНИХ І АГРЕГАЦІЙНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАРВНИКА МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО В НАНОБІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

В.С. Шелковський

*Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України,
пр. Леніна, 47, Харків, 61103, Україна*

В огляді розглядаються нові можливості застосування популярного катіонного барвника метиленового синього в молекулярно-біофізичних дослідженнях і нанотехнології. Основна увага приділяється використанню окислювально-відновних і агрегаційних властивостей метиленового синього в моделюванні біофізичних процесів і розробці схем функціонування нанопристроїв на молекулярному рівні. Систематизуються підходи до дослідження редокс-процесів за участю метиленового синього і його взаємодії з наноматеріалами з використанням експериментальних можливостей методу мас-спектрометрії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: барвник метиленовий синій, димеризація, окислювально-відновні реакції, міжмолекулярні взаємодії, мас-спектрометрія, наноматеріали, нанотехнологія, електрохімічні сенсоры, перенос електрона.

UTILIZATION OF REDOX AND AGGREGATION PROPERTIES OF METHYLENE BLUE DYE IN NANOBIOPHYSICAL INVESTIGATIONS

V.S. Shelkovsky

*B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine,
47, Lenin Avenue, Kharkov, 61103, Ukraine*

Novel potentialities of applications of popular cationic dye Methylene Blue in molecular biophysical investigations and nanotechnology are considered in this review. The main attention is paid to utilization of redox and aggregation properties of Methylene Blue in modeling of biophysical processes and elaboration of schemes for nanodevices functioning at the molecular level. Approaches to study of methylene blue-involving redox processes and its interactions with nanomaterials using possibilities of experimental mass spectrometric techniques are systematized.

KEY WORDS: methylene blue dye, dimerization, redox reactions, intermolecular interactions, mass spectrometry, nanomaterials, nanotechnology, electrochemical sensors, electron transfer.

В данной работе дается краткий обзор возможностей использования окислительно-восстановительных и агрегационных свойств редокс-активного катионного красителя

метиленового синего (МС) [1-3] в биофизических исследованиях и нанотехнологических разработках, а также приводятся примеры изучения этих свойств в условиях масс-спектрометрических экспериментов. Рассматриваются следующие вопросы:

- структура метиленового синего
- димеризация метиленового синего
- окислительно-восстановительные свойства метиленового синего
- использование редокс-свойств метиленового синего в нанотехнологических разработках
- использование различий в свойствах мономерной и димерной форм метиленового синего в биофизических и молекулярно-биологических исследованиях
- подходы к разработке наноустройств с использованием взаимодействия метиленового синего с нуклеиновыми кислотами
- новые применения метиленового синего в фармакологии
- проявление редокс-свойств метиленового синего в масс-спектрометрических экспериментах.

СТРУКТУРА МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО

Метиленовый синий (метиленовая синь, метиленовый голубой, *Methylenum coeruleum* (лат.), *Methylene Blue* (англ.), N,N,N',N'-тетраметилтионина хлорид, *dimethylaminophenothiazin-5-ium chloride*) относится к органическим основным тиазиновым красителям [4, 5] - производным фенотиазина [6, 7]. МС был впервые синтезирован Генрихом Каро в 1876 году [8,9].

МС представляет собой соль, состоящую из органического катиона, обозначаемого далее как MC^+ или Cat^+ , и аниона Cl^- (рис. 1).

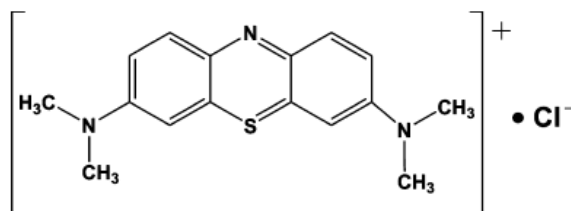


Рис. 1. Структурная формула метиленового синего $Cat^+ \cdot Cl^-$. Брутто-формула $C_{16}H_{18}ClN_3S$, молекулярная масса 319,85 г·моль⁻¹. Значение моноизотопной массы катиона Cat^+ - 284 а. е. м.

В соответствии с кристаллографическими данными [10, 11], МС кристаллизуется в форме кристаллогидрата ($C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot H_2O$). В твердом состоянии имеет вид кристаллов темно-зеленого цвета с характерным бронзовым отливом, хорошо растворимых в воде.

Отметим, что структурная формула на рис. 1 наиболее адекватно отражает свойства катиона MC^+ в отличие от встречающихся в ранней литературе [4] устаревших представлений, в которых указано локализованное положение положительного заряда (+) у атомов серы или азота. Недавние квантово-химические расчеты [12] показали, что единичный положительный заряд в MC^+ делокализован. Карта распределения электростатического потенциала (рис. 2) показывает, что положительный потенциал распределен практически равномерно вокруг катиона MC^+ . Карта распределения электронной плотности в катионе показывает, что наибольшая электронная плотность наблюдается возле атомов азота, а возле гетероатома серы и атомов водорода – наименьшая. «Избыток» положительного заряда катиона делокализован по всем атомам водорода гетероциклов и CH_3 групп.

Такие электронные свойства позволяют отнести катион MC^+ к специфическому классу так называемых гидрофобных катионов, ярким примером которых являются алкиламмониевые катионы [13-17]. Невзирая на гидрофобный характер CH_3 групп и

трициклической системы в целом, делокализованный положительный заряд обеспечивает растворимость MC^+ в воде.

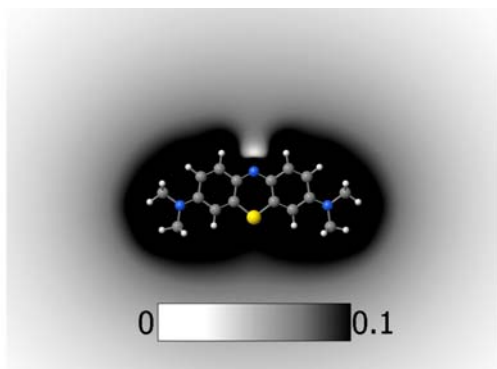


Рис. 2. Карта распределения положительного электростатического потенциала вокруг катиона MC^+ (по данным квантово-химических расчетов методом DFT/M05-2X/6-31++G(d,p) [12]). (Белый цвет соответствует нулевому потенциалу, черный – +0,1 e).

Структурные и электронные параметры катиона MC^+ изучались различными расчетными методами [12, 18-20].

Практическое применение находят также близкие по структуре к MC тиазиновые красители азуров – азур А, В, С, отличающиеся от MC отсутствием двух, одной и трех CH_3 групп, соответственно [21].

Для поиска данных о свойствах MC используется его идентификатор – регистрационный номер CAS (Chemical Abstracts Service) - CAS Registry No. 61-73-4. Справочные данные о спектральных параметрах MC можно найти в электронных базах данных: ИК спектры приводятся в базе Национального Института Стандартов и Технологий (National Institute of Standards and Technology, NIST) [22] и базе данных спектров органических соединений (Spectral Database for Organic Compounds, SDBS) [23]; там же [23] приводятся ЯМР и масс-спектры MC . Что касается спектров поглощения водных растворов MC в УФ и видимой области, то приводимые в различных литературных источниках [8, 9, 24-27] численные значения максимумов полос поглощения несколько различаются, что, по всей видимости, обусловлено варьированием экспериментальных условий и использованием разных способов обработки спектров.

ДИМЕРИЗАЦИЯ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО

Гидрофобно-гидрофильный баланс обеспечивает возможность димеризации катионов MC^+ в водной среде: энергетический выигрыш от десольватации двух контактирующих поверхностей катионов компенсирует электростатическое отталкивание одноименных зарядов. Последнее уменьшается также за счет уменьшения плотности заряда вследствие его делокализации, отмеченной выше (рис. 1).

Константа димеризации MC составляет $K_{\text{дим}} = 5 \cdot 10^3$ при pH 4-5,5 [8], по другим данным – $3,6 \cdot 10^3$ [28], $(3,9 \pm 0,8) \cdot 10^3$ [29].

В связи с широким практическим применением MC , влиянию на агрегационные параметры MC различных физических и химических факторов (концентрация, тип растворителя, pH, ионная сила, температура, давление, добавки) посвящено большое количество исследований [25, 30-42], в которых основное внимание уделяется балансу мономерной и димерной форм MC . При определенных условиях, в основном при адсорбции MC на структурированных поверхностях [43-48], возможно образование тримеров и больших агрегатов MC .

Особо отметим исследования димеризации MC в экстремальных условиях – при высоком давлении [41] и при низких температурах в замороженных водных растворах [42].

Основным методом определения наличия агрегатов МС в системе является оптическая спектроскопия, поскольку спектры поглощения мономерной и димерной форм МС различаются. МС как ароматическое гетероциклическое соединение характеризуется высоким коэффициентом поглощения в диапазоне 600-700 нм. В водных растворах максимум полосы поглощения λ_{\max} для мономера в разных работах приводится как 668 нм [8], 664 нм [25], 660 нм [26, 27]; λ_{\max} для димера – 614 нм [26, 27], 612 нм [22], 605 нм [25]; λ_{\max} для тримера - 580 нм [25]. В УФ области для мономера $\lambda_{\max} = 292$ нм [27].

Были выполнены квантово-химические расчеты возможных структур димеров $2(\text{МС}^+)$, учитывавшие конфигурации с параллельной ориентацией плоскостей катионов (стэкинг), ортогональной ориентацией длинных осей и перпендикулярным расположением плоскостей катионов [49].

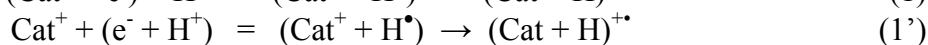
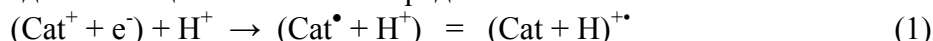
Отметим разработку экспериментальных и теоретических подходов к изучению ассоциации, включая димеризацию, катионных форм биологически активных соединений в серии работ Веселкова А.Н. и Евстигнеева М.П. с соавт. [29, 50-53].

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО

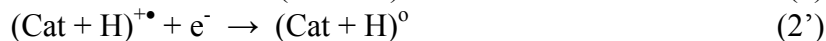
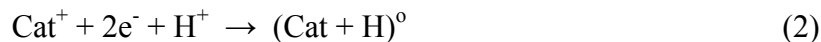
МС относится к так называемым редокс-активным или редокс-чувствительным красителям («редокс» от английского сокращения «reduction-oxidation» до “redox”) [54, 55]. Катион МС^+ легко восстанавливается; нормальный окислительно-восстановительный потенциал E_0 МС при рН 7 равен +0,011 В, при рН 0 E_0 составляет +0,53 В [55, 56]. По данным работ [57, 58] редокс-потенциал МС составляет -0,186 В относительно Ag/AgCl электрода.

Водный раствор МС в исходном (окисленном) состоянии имеет синюю окраску; восстановленная, так называемая лейкоформа (от древнегреческого λευκός — белый) МС – бесцветная. Явление изменения цвета водного раствора МС (как и других основных красителей) называется метахромазией.

Реакции восстановления Cat^+ при поступлении электрона и протона или атома водорода из внешней среды выглядят следующим образом. На стадии так называемого одноэлектронного восстановления образуется промежуточный продукт – полувосстановленная форма, представляющая собой катион-радикал:



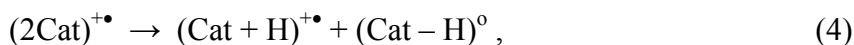
Завершение двухэлектронного процесса дает нейтральную обесцвеченную восстановленную форму:



Если в системе присутствуют димеры $(2\text{Cat})^{2+}$, то возможен их переход в возбужденное состояние путем захвата электрона



При диссоциации такого нечетноэлектронного димера образуется полувосстановленный продукт



который далее преобразуется в соответствии с реакцией (2').

В работе [59] описываются превращения в твердых образцах МС под действием УФ облучения. Поглощение кристаллическим МС излучения в УФ диапазоне приводит к образованию полувосстановленной и полуокисленной форм МС вследствие переноса электрона между соседствующими катионами:



Реакции окисления-восстановления МС являются обратимыми. Обратимость реакций наглядно демонстрируется в рекомендуемом для учебного курса химии лабораторном эксперименте с «синей бутылкой» (“blue bottle” experiment) [60, 61]: при добавлении к водному раствору МС смеси глюкозы с гидроксидом натрия раствор быстро обесцвечивается вследствие восстановления МС до его лейкоформы. При встряхивании колбы раствор насыщается кислородом, который окисляет лейкоформу, и раствор приобретает синюю окраску, которая вновь исчезает по мере расходования кислорода.

Лейкоформа МС [62] сама по себе является нестабильной в воде [63] и легко окисляется, однако разрабатываются методы синтеза ее производных [64, 65]. Процесс восстановления МС в различных условиях, а также продукты редокс-реакций продолжают активно изучаться [26, 27, 66-68].

По данным спектроскопии поглощения в УФ и видимой области [26] максимум полосы поглощения λ_{max} для полувосстановленной радикальной формы МС (Cat^{\bullet}) составляет 420 нм; продукт двухэлектронного восстановления без протона (Cat^{\ominus}) определяется по полосе с $\lambda_{\text{max}} = 256$ нм. Для восстановленной нейтральной бесцветной лейкоформы $(\text{Cat} + \text{H})^{\circ}$ ($\text{pH} < 2$) максимумы регистрируются на 256 и 314 нм [66]; для протонированной лейкоформы ($2 < \text{pH} < 7$) $\lambda_{\text{max}} = 232$ нм [67].

Окислительно-восстановительные свойства МС определяют ряд его полезных практических применений.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕДОКС-СВОЙСТВ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО В НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РАЗРАБОТКАХ

Создание наноматериалов с включением редокс-чувствительных компонентов и разработка методов управления функциональной активностью таких материалов является одной из актуальных задач нанотехнологии [69-71]. Роль редокс-активных красителей в таких наноматериалах состоит в управляемом переносе электронов и/или протонов [71].

Основные перспективные применения наноматериалов, включающих МС, ожидаются при разработке наносенсоров и биосенсоров [72-88], а также элементов для солнечных батарей [89, 90] и фотоэлементов (photovoltaic cells). Отметим, что небольшие редокс-активные биомолекулы, рассматриваются сейчас как прототипы «вдохновленных биологией» (“biologically inspired”, своего рода бионика на молекулярном уровне) материалов для электрических аккумуляторов [91].

В зависимости от функции, выполняемой МС в различных системах, материалах и устройствах, его называют редокс-активным или редокс-чувствительным красителем, редокс-меткой/биркой (label, tag), обратимым окислительно-восстановительным индикатором, медиаторным веществом, репортерской (reporter) молекулой, сигнальной молекулой или маяком (beacon), фотосенсибилизатором (photosynthertiser), электрохимически активным веществом.

В разрабатываемых электрохимических амперометрических биосенсорах [72-74, 86, 92, 93] МС выполняет функцию медиаторного вещества [75, 76], роль которого состоит в переносе электронов (“shuttling electrons”), генерируемых биокомпонентом сенсора в процессе реакции узнавания искомого анализируемого вещества [72, 75, 76]. Сообщается об использовании МС в сенсорах на перекись водорода [75-78], нуклеиновые кислоты [79, 80], аскорбиновую кислоту [81], НАДФ [82], колиморфные (колиформные) бактерии группы кишечной палочки [83], ионы шестивалентного хрома [84], определенные фармацевтические препараты [85] и биологически активные низкомоле-

кулярные соединения [86]. Также предлагаются сенсоры на наночастицы с редокс-активной поверхностью [87], а также сам МС [88].

Наноконпозиты с включением МС разрабатываются на основе таких материалов как углеродные нанотрубки (УНТ) [12, 46, 78, 79, 94, 95], нафионовые пленки [75], оксиды кремния [76] и титана [46, 47], пленки диоксидов титана и кремния [81, 96], структурированная матрица (array) из окиси алюминия [77], полупроводниковые нанокристаллы CdTe [97], пористый оксид кремния и циркония [98], ионные жидкости [40], графен [99-100] и окисленный графен [101], фуллерен C₆₀ [102, 103], коллоидное серебро [104] и серебряные электроды [105]. Сообщалось о модификации электродов амперометрического биосенсора слоем электрополимеризованного МС (поли-МС) в сочетании с органическим полимером [82].

Отметим также использование свойства углеродных наноматериалов адсорбировать МС при разработке материалов для очистки воды [106] и свойства мезопористых оксидных пленок влиять на фотостабильность и фотодеградацию МС [96].

Существенным для практических применений является также наличие у МС флуоресцентных свойств, которые определяют его использование в качестве «нанозонда» (“nanoprobe”) при разработке современных методов визуализации (“imaging”) биоматериалов в целях клинической диагностики [106], а также в биотехнологии [108]. К современным нанотехнологиям относятся создаваемые в последнее десятилетие методы визуализации и картирования распределения различных веществ на уровне клеток и тканей с помощью флуоресцентной (отмеченной в 2014 году Нобелевской премией по химии [109]) и масс-спектрометрических [110] методик, а также сканирующей электрохимической микроскопии [111].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧИЙ В СВОЙСТВАХ МОНОМЕРНОЙ И ДИМЕРНОЙ ФОРМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО В БИОФИЗИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В последнее время разрабатываются интересные приемы биофизических исследований, основанные на использовании различий в определенных параметрах и поведении мономерной и димерной форм МС⁺ в модельных и реальных биологических системах. Сразу же заметим, что эти различия в большинстве случаев связаны с различиями в протекании окислительно-восстановительных реакций с участием мономерной и агрегированной форм МС⁺, т.е. неразрывно связаны с редокс-свойствами МС. Физико-химическое обоснование этих различий формулируется достаточно просто и четко: при каком-либо возбуждающем воздействии на систему, содержащую МС в редокс-неактивной среде, для осуществления реакции восстановления МС⁺ необходим источник атомов водорода (электрона и протона), которым может служить второй катион МС⁺ в димере (агрегате); релаксация возбуждения, переданного мономеру, осуществляется другим способом, описанным ниже. Таким образом, регистрация протекания реакции восстановления МС⁺ является доказательством агрегированной формы МС⁺ в системе, а ее отсутствие свидетельствует о мономерной форме МС⁺. Обнаруженные в таких фундаментальных исследованиях эффекты являются перспективными для дальнейшего применения в наноустройствах с использованием взаимодействий биомолекул с МС.

Среди ряда частных уникальных исследований проявлений агрегационных эффектов МС в различных средах отметим следующие.

Интересные исследования касались установления связи между константой димеризации МС и его бактерицидной активностью [112, 113]. Было показано, что в присутствии определенных видов бактерий наблюдается более активная димеризация

МС и что именно димеры МС играют определяющую роль в фотоповреждении бактерий.

Переход между мономерной и димерной формами МС использовали при разработке такого уникального приспособления как «enzyme-specific activatable probe using photoacoustic imaging» (избирательный к ферментам активационный зонд для фотоакустической визуализации) [114].

Более детально остановимся на двух биологически важных объектах, в которых переход между мономерной и димерной формами МС⁺ определяет как поведение самих этих биосистем, так и перспективы дальнейшего применения МС для их исследования, а именно, отрицательно заряженные биомембраны и наноструктуры на основе нуклеиновых кислот.

Взаимодействие МС⁺ с монослоями поверхностно-активных веществ и биомембранами

Переходы между мономерной и димерной формами МС наблюдались при фазовых переходах вида гель-жидкий кристалл в модельных двухслойных мембранах [115]. Отмечалось влияние агрегации МС на морфологию доменов, формирующихся в монослоях димиристоил-фосфатидной кислоты [116].

Взаимодействие МС⁺ с мембранами митохондрий, которые являются известными мишенями для фотосенсибилизаторов, изучалось в связи с такой важной биомедицинской проблемой как фотодинамическая терапия злокачественных новообразований [117, 118]. Было установлено, что при мономерной или димерной формах адсорбции МС⁺ на отрицательно заряженных поверхностях молекулярные механизмы фотодинамических процессов качественно отличаются. Исследования проводили как на реальных мембранах митохондрий, характеризующихся отрицательным мембранным потенциалом [118], так и на модельных системах, представляющих собой слои анионного поверхностно-активного вещества (ПАВ, сурфактанта) додецилсульфата натрия (sodium dodecylsulphate, SDS) [119-121]. Были выявлены два сценария фотодинамических процессов под воздействием УФ-облучения системы в зависимости от агрегационного состояния МС⁺. Если в системе обеспечивалось наличие МС⁺ в мономерной форме, механизм фотохимической трансформации фотовозбужденного катиона МС⁺* состоял в переносе энергии от катиона к присутствующему в растворе молекулярному кислороду с образованием синглетного кислорода ¹O₂. В этом случае редокс-состояние катиона МС⁺ не изменялось. Если же в системе обеспечивалось образование димеров (2МС)²⁺, то становился возможным перенос электрона между возбужденным и невозбужденным компонентами димера, приводящий к образованию полувосстановленного (МС[•]) и полуокисленного (МС^{2•+}) радикалов МС⁺ [119]. Это различие имеет важное биологическое значение, поскольку, как было установлено, от формы релаксации УФ-возбуждения фотосенсибилизатора зависит механизм повреждения злокачественных клеток. В первом из рассмотренных случаев при участии синглетного кислорода запускается механизм апоптоза, т. е. самопроизвольной гибели злокачественных клеток, что является более мягким и, соответственно, желательным процессом. Во втором случае при участии редокс-реакций реализуется некроз клеток, что является более травмирующим процессом. Соответственно, для более эффективной терапии требуются не высокие, а определенные низкие концентрации фотосенсибилизатора МС.

Реализация и отсутствие восстановления МС⁺ в зависимости от его концентрации в модельных слоях SDS, было подтверждено экспериментально в наших исследованиях с использованием набора десорбционных масс-спектрометрических методик [122].

Описанный эффект, обнаруженный и изученный на биологических и биомиметических системах, был использован при синтезе нового функционального наноматериала. А именно, сообщалось о синтезе фотосенсибилизирующих наночастиц с заданным регулируемым соотношением мономерных и димерных форм фенотиазиновых фотосенсибилизаторов, сконструированных для модуляции получения либо синглетного кислорода, либо радикалов красителей в фото-индуцированных процессах [123, 124].

Взаимодействие MC^+ с нуклеиновыми кислотами

Что касается взаимодействий MC с ДНК, то они достаточно хорошо изучены в рамках молекулярно-биофизических исследований комплексообразования биологически активных лигандов с нуклеиновыми кислотами [86, 125-138-144]. Установлено, что MC^+ связывается с двунитевой ДНК в основном по интеркаляционному механизму с предпочтительным стэкинг-взаимодействием с участками, обогащенными парами оснований гуанин-цитозин (G-C) [125, 126, 144]. Возможно также связывание MC^+ с малой бороздкой (желобком) двунитевой ДНК в области пар аденин-тимин (A-T) [127-129]. В комплексах с одонитевой ДНК MC^+ связывается преимущественно с гуанином. В исследованиях *in vitro* интеркаляционный механизм преимущественно реализуется при малых ионных силах раствора; при повышении концентрации солей и MC возможно неспецифическое электростатическое «внешнее» связывание катионов MC^+ с отрицательно заряженными фосфатными группами сахарофосфатного остова ДНК [139-142]. В различных исследованиях показано, что в зависимости от условий возможна реализация как одного определенного, так и одновременно нескольких механизмов связывания MC с нуклеиновыми кислотами [139-143].

В связи с важным вкладом в комплексообразование с ДНК взаимодействий MC с пуриновым основанием гуанином, последним посвящены отдельные как экспериментальные [145], так и теоретические [146-148] исследования.

В условиях фотодинамической терапии связывание MC с ДНК может способствовать возникновению разрывов цепочек нуклеиновой кислоты [125, 137, 138].

Было установлено, что при УФ-воздействии на комплексы MC с ДНК возможен перенос электрона и восстановление MC^+ [138]. В таком случае возможны гетерореакции с участием в качестве второго компонента не второго катиона MC^+ , а основания ДНК; механизмы таких процессов продолжают изучаться и обсуждаться. Так, перенос энергии возбуждения от MC^+ к ДНК при фотовозбуждении интеркаляционных комплексов MC^+ с ДНК доказывается спектроскопическими экспериментами, в которых наблюдалось тушение флуоресценции на характерной для MC^+ длине волны 682 нм при его встраивании в двунитевую ДНК [142, 135, 136, 142]. Также показано, что при электрохимических реакциях на поверхностях, модифицированных пленками ДНК толщиной порядка 50 Å, происходит миграция заряда по двойным спиральям и электрохимическое восстановление редокс-активных репортерских молекул, включенных в пленку [149, 150].

На возможности переноса электрона в молекулах ДНК и ее комплексах [151-156] основываются новые подходы к конструированию наноустройств с участием нуклеиновых кислот и красителей [58, 157], в частности, комплексов MC с ДНК.

ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ НАНОУСТРОЙСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ MC^+ С НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

В последние десятилетия появились работы, в которых определенные параметры комплексов MC с нуклеиновыми кислотами предлагается использовать при конструировании сенсоров для анализа различных веществ, геносенсоров и мониторинга

функционирования самой ДНК [58, 80, 86, 158-189].

Основной принцип действия таких электрохимических сенсоров состоит в детектировании эффективности переноса электрона (параметр “electron transfer”, eT в англоязычной литературе) в используемой системе, проявляющейся в интенсивности детектируемого электрического сигнала, в зависимости от расстояния редокс-активного красителя от поверхности электрода (рис. 3). Для конструктивной реализации этого принципа молекулы нуклеиновой кислоты, с которыми связывается редокс-активный краситель, закрепляются на поверхности электрода (обычно золотого); в ходе функционирования устройства меняется конформация биополимера и, соответственно, расстояния между связанным с ним красителем и электродом. Электрохимический сигнал, возникающий вследствие редокс-реакции при определенном внешнем воздействии, тем больше, чем ближе краситель к электроду. В исходном состоянии биополимер может находиться либо в вытянутой, либо в изогнутой конформации; при взаимодействии с целевой (“target”) молекулой, подлежащей детектированию, возможно как распрямление изогнутой конформации (например, при гибридизации ДНК), либо, наоборот, изгибание полимерной цепочки (например, при взаимодействии с белками).

Варианты конкретных схем устройства сенсоров, обобщением которых является рис. 3, представлены во многих цитируемых здесь работах и графических аннотациях к ним [58, 161, 165, 166, 181, 187].

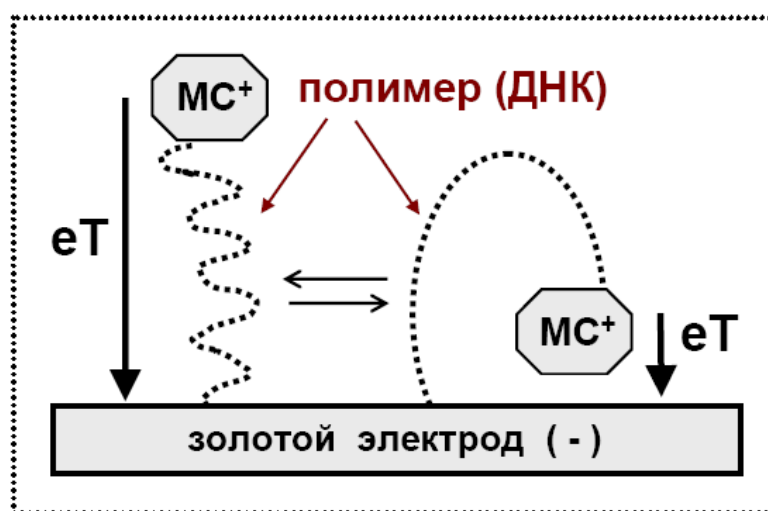


Рис. 3. Схематическое изображение и принцип работы электрохимических амперометрических сенсорных устройств, использующих свойства комплексов биополимера (ДНК) и редокс-активного красителя (МС). При изменении расстояния между МС и электродом, определяемым конформацией полимера, с которым связан краситель, меняется эффективность переноса электрона (eT) в электрохимических процессах и, соответственно, регистрируемый электрический сигнал.

Используются одонитевые ДНК [163, 175, 182], двунитевые ДНК [165, 166, 175], конформации одонитевой ДНК в виде шпилек (“hairpin”) [161, 184], (“loop-stem”) [181, 185, 187], аптамеры ДНК и РНК [181, 186]. Варьируется способ закрепления молекул ДНК: в виде наборов-матриц (“array”) молекул, вертикально пришитых через линкер к электроду одним концом, или иммобилизованных в плоской конформации на положительно заряженной поверхности электрода [58]. Краситель МС может быть связанным с ДНК как ковалентно [163-167], так и путем невалентных взаимодействий [161, 186]. В обзоре [58] можно найти таблицу со сравнительным анализом известных по состоянию на 2011 год 15 систем, основанных на комплексах ДНК с МС: сравниваются свойства систем в зависимости от длины молекул нуклеиновых кислот, состава и порядка оснований в них, способа иммобилизации комплексов на электроду, разницы в электрохимическом ответе МС, связанного с одонитевой или двунитевой ДНК, сдвига редокс-потенциала МС при его связывании с разными типами ДНК. Возможны два механизма переноса электрона и восстановления МС в таких системах: опосредо-

ванный через стэкинг-взаимодействие МС с основаниями в ДНК и прямой путем восстановления красителя при его контакте с электродом; эффективность переноса электрона во втором процессе выше в 20 раз [166]. Следует отметить, что, наряду с МС, испытываются некоторые другие редокс-активные красители (нильский синий [165, 166], антрахинон [165, 168], ферроцен [162]), сравнительная оценка свойств которых, однако, выходит за рамки данного обзора.

Поскольку, как уже отмечалось выше, GC пары являются предпочтительными местами связывания МС в дуплексе, электрохимический сигнал, генерируемый в системе ДНК-МС, коррелирует с содержанием гуанина в ДНК [161]. Также изучалась зависимость эффективности работы сенсора от длины используемых фрагментов ДНК [156, 161] и было показано, что из общего количества связанного МС электрохимически активными («electrochemically readable, visible»), т.е. способными переносить электроны на электрод, были молекулы МС, находящиеся на относительно небольшом расстоянии от электрода, соответствующем длине фрагментов ДНК из примерно 20 пар оснований [161].

Обнаружено, что эффективность переноса электрона зависит также от того, каким концом ДНК закреплена на электроде [169]. Так, если фрагмент двунитевой ДНК из 16-22 пар оснований закреплена на электроде 3' концом, а МС пришит, соответственно, с противоположного 5' конца, то для дуплекса ДНК «разрешен» наклон к поверхности электрода с углом в 57° - 45° , что повышает эффективность переноса электрона. Дуплекс ДНК, закреплённый 5', сохраняет ортогональную ориентацию по отношению к поверхности, при которой эффективность переноса электрона остается низкой. Обнаруженный эффект позволяет изучать диффузию на нано-уровне на расстояниях, соизмеримых с длиной фрагмента ДНК, что представляет интерес для развития молекулярной электроники [169].

Рассмотрим несколько наиболее характерных примеров разработки сенсоров на основе систем ДНК-МС. Так, в работе [161] предлагалось использовать взаимодействие МС с ДНК как редокс-индикатор процесса гибридизации молекул ДНК, различающихся по длине, конформации и содержанию гуанина. Обнаруженный эффект усиления электрохимического сигнала МС, связанного с гибридами коротких фрагментов ДНК, и его уменьшения для гибридов более длинных нитей ДНК, авторы работы [161] предложили использовать при разработке геносенсоров. Основы и варианты создания геносенсоров, базирующиеся на электрохимических процессах в комплексах МС с ДНК рассматривались также в работах [169, 171]. Разрабатываются сенсоры для исследования гибридизации ДНК [161, 164, 173, 174, 184], обнаружения повреждений ДНК [180], мониторинга полимеразных цепных реакций (ПЦР) в режиме реального времени [183], и определения продуктов ПЦР, указывающих на генетически модифицированные организмы (ГМО) [182]. Отметим разработку биосенсоров на основе комплексов МС с G-квадруплексами [178].

Несомненно, важной областью практического применения сенсоров является клиническая диагностика [73, 190], в первую очередь, онкологических заболеваний [191]. Предлагаются конструкции электрохимических сенсоров для обнаружения маркеров злокачественных процессов непосредственно в цельной крови, таких как цитокины [192] и специфический протеин хемокин IP-10 [193]. Разрабатываются сенсоры для детектирования вируса гепатита В [174].

Описанные выше принципы используются в новаторских, достаточно экзотических разработках электрохимических биокомпьютеров как нового класса молекулярно-электронных логических устройств [194], а также для систем обеспечения безопасности биокомпьютеров [195].

НОВЫЕ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО В ФАРМАКОЛОГИИ

Будучи впервые синтезированным в 1876 году, МС изначально применялся и до сих пор используется в качестве антисептического средства [1-4, 6, 7, 196, 197]. МС внесен в Перечень основных лекарственных средств Всемирной Организации Здравоохранения [198]. Данные о применении и фармакологических свойствах МС доступны в любом современном фармакологическом справочнике [4] и соответствующих обзорах [1-3]. В рамках данного обзора для полноты картины мы лишь коротко перечислим основные применения с акцентом на новые поисковые разработки.

Окислительно-восстановительные свойства МС лежат в основе его второго важного применения в качестве антидота при отравлениях цианидами, окисью углерода, сероводородом [4, 199]. Действие МС при отравлении синильной кислотой основано на способности МС переводить гемоглобин в метгемоглобин, связывающийся с цианидами [4].

Следует отметить, что в последнее время наблюдается возрождение интереса к старым применениям МС и, в то же время, продолжающиеся исследования открывают новые возможности использования препарата в терапии разнообразных заболеваний [200-202].

Так, в начале XX века МС использовали при лечении малярии [1, 3, 7, 203, 204] и, после некоторого забвения, в последние годы вновь тестируются новые более эффективные и менее токсичные антималярийные препараты, включающие МС [203, 204]. Проверяется антивирусная [205] и противоопухолевая активность МС [117].

Рассматривается использование способностей красителей, в том числе МС, модулировать редокс-процессы для разработки иммуотропных препаратов [206, 207].

Весьма обнадеживающие результаты получены при разработке методов лечения или, по крайней мере, торможения развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона. Наиболее вероятной причиной этих заболеваний в настоящее время считают агрегацию определенных видов белков в нервных клетках, которая нарушает их нормальное функционирование, препятствует нормальной передаче нервных импульсов и может приводить к гибели нейронов. В частности, при болезни Альцгеймера наблюдается образование агрегатов и фибрилл из так называемых *tau*-белков [208], которые в норме должны находиться в водорастворимой мономерной форме. Соответственно, перспективной стратегией разработки лекарственных препаратов является поиск соединений, предотвращающих агрегацию *tau*-белков. Обнаружен ряд малых молекул [209], обладающих таким свойством, к которым относится МС и его производные азуры. Исследования по установлению молекулярных механизмов действия МС дали результаты буквально в последние годы: было показано, что МС окисляет остатки аминокислоты цистеина в *tau*-белках и влияет на образование межмолекулярных дисульфидных мостиков между остатками цистеина [210-212]. Рассматриваются и другие возможные механизмы действия МС, например, вмешательство в цепь электронного транспорта в митохондриях, конкуренцию с кислородом и уменьшение окислительного стресса, замедляющее процесс старения нервных клеток [213, 214]. Соответствующие редокс-процессы включают восстановление МС до лейкоформы НАДФ-дегидрогеназой с последующим окислением цитохромом С [214].

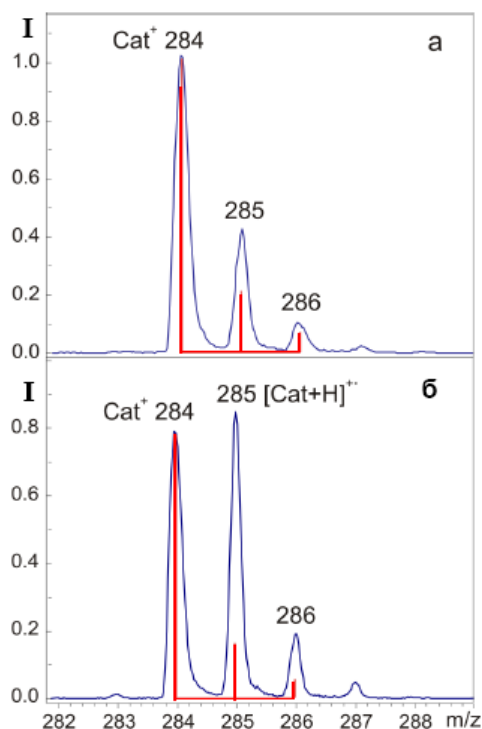
МС также используется в биологических исследованиях для окрашивания биологических материалов [21], в частности, в гистологии для окрашивания тканей [107, 110].

ПРОЯВЛЕНИЕ РЕДОКС-СВОЙСТВ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

МС, представляющий собой органическую соль – полярное нелетучее соединение – был практически недоступен для исследования первыми масс-спектрометрическими методиками, требовавшими перевода вещества в газовую фазу. И только с появлением мягкоионизационных и десорбционных масс-спектрометрических методик [215, 216], таких как бомбардировка быстрыми атомами (ББА), матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (МАЛДИ), ионизация электрораспылением (ИЭР), создававшихся для анализа именно таких термолабильных соединений, стало возможным масс-спектрометрическое исследование МС [217-224].

Масс-спектр МС с ионизацией электронным ударом (энергия электронов 75 эВ), приводимый в базе данных [23], полученный при температуре испарения образца 200°C, соответствует, скорее всего, продукту термического превращения МС.

Десорбционные масс-спектры индивидуального катиона МС⁺, обозначаемого далее как Cat⁺, представляют собой пакет пиков с интенсивностями, соответствующими изотопному распределению C₁₆H₁₈N₃S – Cat⁺ : (Cat⁺ + 1) : (Cat⁺ + 2) соотносятся как 100 : 21 : 7 [12, 122] (рис. 4,а).



Однако еще в ранних работах, посвященных исследованию редокс-процессов в десорбционных масс-спектрометрических экспериментах [217-221], было обнаружено, что при определенных условиях в масс-спектрах МС, равно как и ряда других редокс-активных красителей, наблюдалось существенное отклонение экспериментально зарегистрированного соотношения пиков в группе

Рис. 4. Типичный вид группы пиков катиона МС⁺ в масс-спектрах, полученных в режиме лазерной десорбции/ионизации в различных условиях: а) МС в составе нанокompозита УНТ-МС при адсорбции МС⁺ на поверхности УНТ в мономерной форме; б) кристаллический МС на металлической поверхности. Вертикальные линии обозначают соотношение пиков, соответствующее рассчитанному изотопному распределению индивидуального катиона Cat⁺:(Cat⁺+1):(Cat⁺+2) = 100:21:7. Доля интенсивности пика при m/z 285, превышающая изотопный вклад, соответствует продукту одноэлектронного восстановления [Cat + H]^{•+}. (Воспроизведено с разрешения [12]: Copyright (2012) American Chemical Society.)

пиков катиона от теоретически рассчитанного [12, 225]. А именно, относительная интенсивность пиков на массах (Cat + 1) и (Cat + 2) значительно превышала вклад соответствующих изотопомеров (рис. 4,б). Этот эффект был объяснен протеканием реакций восстановления с образованием соответствующих продуктов восстановления МС⁺, инициаторами которых являлись ионизирующие агенты, используемые в десорбционных методиках: ускоренные атомы или ионы, лазерное облучение. Эффекту восстановления редокс-активных соединений в условиях различных масс-спектрометрических методик было посвящено достаточно большое количество исследований, обзор которых приводится в наших работах [12, 122, 225-227].

Установление факта восстановления МС в условиях масс-спектрометрического эксперимента имеет свои особенности, поскольку в масс-спектрах регистрируются только заряженные частицы. Так, нейтральный продукт двухэлектронного восстановления МС $(\text{Cat} + \text{H})^0$, образующийся в реакциях (2), (2'), может быть зарегистрирован в протонированной форме (6):



(в квадратных скобках указываются ионы, регистрируемые в масс-спектрах).

Для выделения вклада заряженного полувосстановленного продукта - ион-радикала $(\text{Cat} + \text{H})^{+\cdot}$, образующегося в реакциях (1), (1') - из интенсивности пика на массе $(\text{Cat} + 1)$ необходимо вычесть изотопный вклад (определяемый в основном ^{13}C) (рис. 4,б). Аналогично, вклад продукта $[\text{Cat} + 2\text{H}]^+$ определяется вычитанием изотопного вклада из интенсивности пика на массе $(\text{Cat} + 2)$.

Эффективность реакции восстановления зависит не только от вида ионизирующего агента, но и от свойств веществ, используемых в качестве вспомогательных матриц в десорбционных методиках. Так, в методе ББА наибольшая эффективность восстановления наблюдалась при использовании в качестве жидкой матрицы глицерина. При использовании нитробензилового спирта (НОВА), проявляющего свойства ловушки электронов (electron scavenger), восстановление МС практически полностью подавлялось [217]. В условиях лазерной десорбции/ионизации (ЛДИ) интенсивность восстановления MC^+ зависит от состояния или формы адсорбции красителя на поверхности подложки, изготовленной из различных материалов [12, 223, 227-229]. Высокая эффективность восстановления наблюдается при ЛДИ кристаллических образцов МС на металлической подложке (рис. 4,б).

Эффект восстановления МС в условиях масс-спектрометрического эксперимента был использован нами при изучении поведения МС в бионаносистемах и взаимодействия МС с наноматериалами. Так, ЛДИ масс-спектрометрия была использована для установления формы адсорбции MC^+ на углеродных нанотрубках в составе нанокompозита УНТ-МС, полученного ультразвуковым методом [12]. Было обнаружено, что изотопное распределение в пакете MC^+ в ЛДИ масс-спектрах сухих образцов УНТ-МС соответствует распределению индивидуального катиона и вклад продуктов восстановления в нем практически отсутствует (рис. 4,а). В соответствии с описанными выше особенностями реакций восстановления МС, в частности, необходимости наличия как минимум димера MC^+ для его восстановления в редокс-неактивной среде, был сделан вывод о мономерной форме адсорбции катиона MC^+ на нанотрубках. Этот вывод был далее подтвержден компьютерным моделированием методом молекулярной динамики и квантово-химическими расчетами.

Обсуждавшиеся выше литературные данные о модуляции фотоактивности МС в зависимости от мономерной или димерной формы его адсорбции на отрицательно заряженных слоях анионного ПАВ SDS [119, 120], моделирующих мембраны митохондрий в процессе фотодинамической терапии [118], послужили основой для наших масс-спектрометрических исследований подобных модельных систем [122]. Было обнаружено, что при малых концентрациях МС в системе, соответствующих его мономерной форме, в масс-спектрах практически отсутствовали продукты восстановления МС (рис. 5). При больших концентрациях МС, обеспечивающих его димеризацию и агрегацию, в масс-спектрах наблюдались интенсивные продукты восстановления. Таким образом, прослеживалась корреляция между результатами масс-спектрометрического исследования и данными, полученными другими методами.

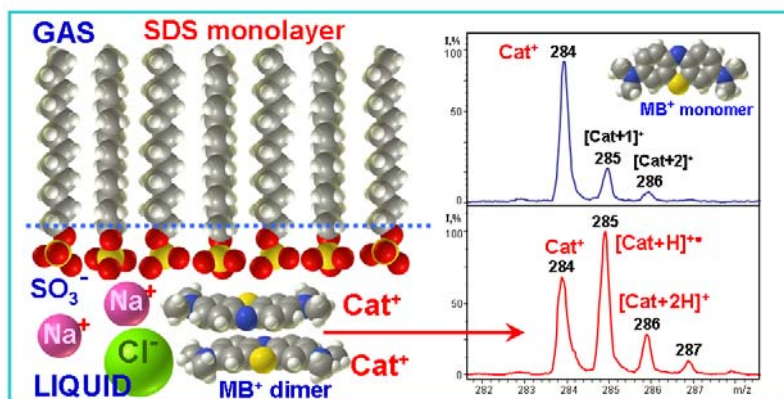


Рис. 5. Схематическое изображение монослоя ПАВ SDS на поверхности раздела жидкость-газ с адсорбированными катионами MC^+ (слева) и масс-спектры (справа), характерные для мономерной (верхний спектр) и димерной (нижний спектр) форм катиона (Cat^+) МС. (Графическая аннотация, адаптированная из работы [122]).

Серия работ сотрудников Института химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины посвящена масс-спектрометрическому исследованию адсорбции MC^+ на поверхности различных наноматериалов – пористого кремния [223, 228], мезопористых пленок оксидов титана и кремния [96, 224, 229], модифицированного кремния, термо-расширенного графита [230-233]. Изучена фотостабильность и эффективность фотодегradации MC^+ в зависимости от свойств адсорбирующей поверхности [96], а также фотокаталитические процессы на поверхности TiO_2 [234].

С использованием метода ИЭР исследовалась гидратация МС [20] и электрополимеризация МС [235].

Различные масс-спектрометрические методики в сочетании с хроматографическими используются для решения традиционных аналитических задач по определению наличия и содержания МС, его метаболитов и продуктов трансформации в различных средах [63, 236-238].

Таким образом, масс-спектрометрические методики являются эффективным и информативным средством изучения поведения редокс-активного красителя МС в наносистемах, что имеет прикладное практическое значение для нанотехнологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ литературных источников последних лет восполняет пробел в обобщении результатов исследований перспективных применений красителя МС в нанотехнологии, а также изучения систем и наноматериалов, содержащих МС, с использованием экспериментальных масс-спектрометрических методик.

Показано, что полезные применения МС в нанотехнологии основываются на связи его агрегационных (переход мономер-димер) и редокс-свойств.

Редокс-свойства МС, а именно его способность переносить электроны в молекулярных системах, используются при конструировании различных наноустройств, в частности, биосенсоров. Новые интересные применения МС в электрохимических наносенсорах с ДНК основаны на переносе электрона на разные расстояния от электрода.

В фармакологии продолжается поиск новых применений МС для лечения малярии, онкологических заболеваний (фотодинамическая терапия), нейродегенеративных болезней Альцгеймера и Паркинсона.

Одним из практически важных результатов биофизических исследований молекулярных механизмов биологического действия МС является установление того факта,

что механизмы фотодинамической терапии различаются для мономерной и димерной форм МС.

Современные методики десорбционной масс-спектрометрии эффективны в исследовании редокс-свойств МС в его композитах с наноматериалами.

Таким образом, продолжение фундаментальных биофизических исследований свойств красителя МС и его взаимодействий как с биомолекулами, так и с неорганическими наноматериалами, является актуальным в связи с активным поиском его новых практических применений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Clifton J.II. Methylene blue / J.II Clifton, J.B. Leikin // *Am. J. Therapeut.* – 2003. – V. 10, № 4. – P. 289–291.
2. Lest we forget you - methylene blue... / R.H. Schirmer, H. Adler, M. Pickhardt, E. Mandelkow // *Neurobiol. Aging.* – 2011. – V. 32, №12. – P. 2325.e7–2325.e16.
3. Scheindlin S. Something old... something blue / S. Scheindlin // *Mol. Interv.* – 2008. – V. 8, № 6. – P. 268–273.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М. : Медицина, 1988. – Т. 2. – 576 с. / *Mashkovskij M.D. Lekarstvennye sredstva / M.D. Mashkovskij.* – М. : Medicina, 1988. – Т. 2. – 576 s.
5. Гороновский И.Т. Краткий справочник по химии / И.Т. Гороновский, Ю.П. Назаренко, Е.Ф. Некряч. – К. : Наук. думка, 1987. – 830 с. / *Goronovskij I.T. Kratkij spravochnik po himii / I.T. Goronovskij, Ju.P. Nazarenko, E.F. Nekrjach.* – К. : Nauk. dumka, 1987. – 830 s.
6. Ohlow M.J. Foundation review: Phenothiazine: the seven lives of pharmacology's first lead structure / M.J. Ohlow, B. Moosmann // *Drug Discovery Today.* – 2011. – V. 16, № 3–4. – P. 119–131.
7. Wainwright M. The phenothiazinium chromophore and the evolution of antimalarial drugs / M. Wainwright, L. Amaral // *Trop. Med. Int. Health.* – 2005. – V. 10, № 6. – P. 501–511.
8. Метиленовый синий. Материал из Википедии — свободной энциклопедии [Electronic resource] - Mode of access: https://ru.wikipedia.org/wiki/Метиленовый_синий. Last access: 2015. – Title from the screen. / *Metilenovyj sinij. Material iz Vikipedii — svobodnoj jenciklopedii* [Electronic resource] - Mode of access: https://ru.wikipedia.org/wiki/Метиленовый_синий. Last access: 2015. – Title from the screen.
9. Methylene blue. From Wikipedia, the free encyclopedia [Electronic resource] - Mode of access: http://en.wikipedia.org/wiki/Methylene_blue. Last access: 2015. – Title from the screen.
10. Marr H.E. The crystal structure of methylene blue pentahydrate / H.E. Marr, J.M. Stewart, M.F. Chiu // *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* – 1973. – V. B29, № 4. – P. 847–853.
11. 3,7-Bis(dimethylamino)phenothiazin-5-ium nitrate dihydrate / K.J. Kavitha, M.M. Raj, K. Panchanatheswaran, D.E. Lynch // *Acta Crystallogr., Sect. E: Struct. Rep. Online.* – 2004. – V. E60, № 8. – P. o1367–o1369.
12. Noncovalent interaction of methylene blue with carbon nanotubes: theoretical and mass spectrometry characterization / V.V. Chagovets, M.V. Kosevich, S.G. Stepanian [et al.] // *J. Phys. Chem. C.* – 2012. – V. 116, № 38. – P. 20579–20590.
13. Babiacyk W.I. Hydration structure of the quaternary ammonium cations / W.I. Babiacyk, S. Bonella, L.G. Ciccotti // *J. Phys. Chem. B.* – 2010. – V. 114, № 46. – P. 15018–15028.
14. Small hydrophobic organic ions in aqueous solutions / W. Kunz, P. Calmettes, T. Cartailier, P. Turq // *J. Chem. Phys.* – 1993. – V. 99, № 3. – P. 2074–2078.
15. Van der Post S.T. Water dynamics in aqueous solutions of tetra-n-alkylammonium salts: hydrophobic and coulomb interactions disentangled / S.T. Van der Post, S. Scheidelaar, H.J. Bakker // *J. Phys. Chem. B.* – 2013. – V. 117, № 48. – P. 15101–15110.
16. Yamakata A. Destruction of the water layer on a hydrophobic surface induced by the forced approach of hydrophilic and hydrophobic cations / A. Yamakata, M. Osawa // *J. Phys. Chem. Lett.* – 2010. – V. 1, № 9. – P. 1487–1491.
17. Noncovalent complexes of tetramethylammonium with chlorine anion and 2,5-dihydroxybenzoic acid as models of the interaction of quaternary ammonium biologically active compounds with their molecular targets. A theoretical study / V. Pashynska, M. Kosevich, S. Stepanian, L. Adamowicz // *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* – 2007. – V. 815, № 1–3. – P. 55–62.
18. Lévy B. Theoretical study of methylene blue: a new method to determine partial atomic charges; investigation of the interaction with guanine / B. Lévy, M. Enescu // *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* – 1998. – V. 432, № 3. – P. 235–245.
19. Quintao A.D. Theoretical study of the hydrogen bond interaction between methylene blue and water and possible role on energy transfer for photodynamics / A.D. Quintao, K. Coutinho, S. Canuto // *Int. J. Quantum Chem.* – 2002. – V. 90, № 2. – P. 634–640.

20. Microhydration of the methylene blue cation in an electrospray ion source / T. Sato, T. Majima, K. Hashimoto [et al.] // *Europ. Phys. J. D.* – 2011. – V. 63, № 2. – P. 189-194.
21. Козлов А.В. От D. Romanowski к Д.Л. Романовскому. Дорога длиной в 121 год / А. В. Козлов, Н. М. Хмельницкая, Г. Д. Большакова // *TERRA MEDICA. Лабораторная диагностика.* – 2011. – № 2 (25) – С. 21–28. / Kozlov A.V. Ot D. Romanowski k D.L. Romanovskomu. Doroga dlinoj v 121 god / A. V. Kozlov, N. M. Hmel'nickaja, G. D. Bol'shakova // *TERRA MEDICA. Laboratornaja diagnostika.* – 2011. – № 2 (25) – S. 21–28.
22. Methylene blue. NIST Chemistry WebBook. [Electronic resource] // National Institute of Standards and Technology's web site - Mode of access: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=61-73-4&Units=SI&cIR=on&cMS=on&cUV=on&cIE=on&cIC=on&cES=on>. – Last access: 2015. – Title from the screen.
23. Methylene blue. SDBS Search Results (CNMR, HNMR, MS). [Electronic resource] // Spectral Database for Organic Compounds, SDBS web site - Mode of access: http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_frame_disp.cgi?sdbno=2609 – Last access: 2015. – Title from the screen.
24. Optical absorption of methylene blue. [Electronic resource] // Oregon Medical Lazer Center, OMLC web site - Mode of access: <http://omlc.org/spectra/mb/>. – Last access: 2015. – Title from the screen.
25. Cenens J. Visible spectroscopy of methylene blue on hectorite, laponite B, and barasym in aqueous suspension / J. Cenens, R.A. Schoonheydt // *Clays. Clay Miner.* – 1988. – V. 36, № 3. – P. 214–224.
26. Kinetics and mechanism of a fast leuco-Methylene Blue oxidation by copper(II)-halide species in acidic aqueous media / O. Impert, A. Katafias, P. Kita, [et al.] // *Dalton Trans.* – 2003, – № 3. – P. 348-353.
27. de Tacconi N.R. Reversibility of photoelectrochromism at the TiO₂/Methylene Blue interface / N.R. de Tacconi, J. Carmona, K. Rajeshwar // *J. Electrochem. Soc.* – 1994. – V. 144, № 7. – P. 2486–2490.
28. UV-Vis spectroscopic and chemometric study on the aggregation of ionic dyes in water / L. Antonov, G. Gergov, V. Petrov [et al.] // *Talanta.* – 1999. – V. 49, № 1. – P. 99–106.
29. Барановский С.Ф. Агрегация 1,3,7-триметилксантина с метиленовым голубым в водном растворе / С.Ф. Барановский, П.А. Болотин, М.П. Евстигнеев // *Журн. прикл. спектроскопии.* – 2006. – Т. 73, № 2. – С. 158–163. / Baranovskij S.F. Agregacija 1,3,7-trimetilksantina s metilenovym golubym v vodnom rastvore / S.F. Baranovskij, P.A. Bolotin, M.P. Evstigneev // *Zhurn. prikl. spektroskopii.* – 2006. – Т. 73, № 2. – С. 158–163.
30. Dimeric and other forms of methylene blue: absorption and fluorescence of the pure monomer / G.N. Lewis, O. Goldschmid, T.T. Magel, J. Bigeleisen // *J. Am. Chem. Soc.* – 1943. – V. 65, № 6. – P. 1150–1154.
31. Bergmann K. A spectroscopic study of methylene blue monomer, dimer, and complexes with montmorillonite / K. Bergmann, C.T. O'Konski // *J. Phys. Chem.* – 1963. – V. 67, № 10. – P. 2169–2177.
32. Spencer W. Kinetic study of the monomer-dimer equilibrium of methylene blue in aqueous solution / W. Spencer, J.R. Sutter // *J. Phys. Chem.* – 1979. – V. 83, № 12. – P. 1573–1576.
33. Mukerjee P. Ionic strength effects on the activity coefficient of methylene blue and its self-association / P. Mukerjee, A.K. Ghosh // *J. Am. Chem. Soc.* – 1970. – V. 92, № 22. – P. 6413-6415.
34. Mukerjee P. Thermodynamic aspects of the self-association and hydrophobic bonding of methylene blue. Model system for stacking interactions / P. Mukerjee, A.K. Ghosh // *J. Am. Chem. Soc.* – 1970. – V. 92, № 22. – P. 6419–6424.
35. Thermodynamic study of the dimerization equilibrium of methylene blue, methylene green and thiazole orange at various surfactant concentrations and different ionic strengths and in mixed solvents by spectral titration and chemometric analysis / O. Yazdani, M. Irandoust, J.B. Ghasemi, Sh. Hooshman // *J. Appl. Spectr.* – 2007. – V. 74, № 4. – P. 598-601.
36. Tafulo P.A.R. On the “concentration-driven” methylene blue dimerization / P.A.R. Tafulo, R.B. Queiros, G. Gonzalez-Aguilar // *Spectrochim. Acta Part A: Biomol. Spectr.* – 2009. – V. 73, № 2. – P. 295–300.
37. Golz E.K. Modeling methylene blue aggregation in acidic solution to the limits of factor analysis / E.K. Golz, D.A. Vander Griend // *Anal. Chem.* – 2013. – V. 85, № 2. – P. 1240–1246.
38. Patil K. Self-aggregation of Methylene Blue in aqueous medium and aqueous solutions of Bu₄NBr and urea / K. Patil, R. Pawar, P. Talap // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2000. – V. 2, № 19. - P. 4313–4317.
39. Bulakov D.V. Dimerization of molecules of methylene blue in microstructured polymer-micelle solutions / D.V. Bulakov, A.M. Saletskii // *J. Appl. Spectr.* – 2007. – V. 74, № 4. – P. 598-601.
40. Sanan R. Complexation, dimerisation and solubilisation of methylene blue in the presence of biamphiphilic ionic liquids: a detailed spectroscopic and electrochemical study / R. Sanan, T.S. Kang, R. K. Mahajan // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2014. – V. 16, № 12. – P. 5667–5677.
41. Kai W. High pressure-enhanced dimeric aggregation in methylene blue solution / W. Kai, Q. Guangyu, J. Zhangmei, L. Aolei // *Chem. J. Chinese U* – 2014. – V. 35, № 11. – P. 2431–2434.
42. Heger D. Aggregation of methylene blue in frozen aqueous solutions studied by absorption spectroscopy / D. Heger, J. Jirkovsk, P. Kln // *J. Phys. Chem. A.* – 2005. – V. 109, № 30. – P. 6702–6709.

43. Rabinowitch E. Polymerization of dyestuffs in solution. Thionine and methylene blue / E. Rabinowitch, L.F. Epstein // *J. Am. Chem. Soc.* – 1941. – V. 63, № 1. – P. 69–78.
44. Braswell E. Evidence for the trimerisation in aqueous solutions of methylene blue / E. Braswell // *J. Phys. Chem.* – 1968. – V. 72, № 7. – P. 2477–2483.
45. Ghosh A.K. Multiple association equilibria in the self-association of methylene blue and other dyes / A.K. Ghosh, P. Mukerjee // *J. Am. Chem. Soc.* – 1970. – V. 92, № 12. – P. 6408–6412.
46. Polymeric adsorption of methylene blue in TiO₂ colloids — highly sensitive thermochromism and selective photocatalysis / B. Liu, L. Wen, K. Nakata [et al.] // *Chem. Eur. J.* – 2012. – V. 18, № 40. – P. 12705–12711.
47. Preparation, characterization, and photophysical study of thiazine dyes within the nanotubes and nanocavities of silicate host: influence of titanium dioxide nanoparticle on the protonation and aggregation of dyes / K. Senthilkumar, P. Paul, C. Selvaraju, P. Natarajan // *J. Phys. Chem. C.* – 2010. – V. 114, № 15. – P. 7085–7094.
48. Jockusch S. Aggregation of methylene blue adsorbed on starburst dendrimers / Steffen Jockusch, Nicholas J. Turro, Donald A. Tomalia // *Macromolecules.* – 1995. – V. 28, № 22. – P. 7416–7418.
49. Homem-de-Mello P. Cationic dye dimers: a theoretical study / P. Homem-de-Mello, B. Mennucci, J. Tomasi, A. B. F. da Silva // *Theor. Chem. Acc.* – 2007. – V. 118, № 2. – P. 305–314.
50. Davies D. B. ¹H NMR investigation of self-association of aromatic drug molecules in aqueous solution. Structural and thermodynamical analysis / D.B. Davies, L.N. Djimant, A.N. Veselkov // *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* – 1996. – V. 92, № 3. – P. 383–390.
51. Davies D. B. Structure and thermodynamics of the hetero-association of aromatic molecules in aqueous solution determined by NMR spectroscopy / D.B. Davies, D.A. Veselkov, A.N. Veselkov // *Mol. Phys.* – 1999. – V. 97, № 3. – P. 439–451.
52. Evstigneev M. P. DNA-binding aromatic drug molecules: Physico-chemical interactions and their biological roles / M. P. Evstigneev. – Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2010. – 96 p.
53. Евстигнеев М. П. Межмолекулярные взаимодействия биологически активных ароматических веществ и ДНК в водном растворе: дис... д-ра физ.-мат. наук.: 03.00.02/ Евстигнеев Максим Павлович. – Севастополь, 2006. – 341 с. – Библиогр.: 313-341. / Evstigneev M. P. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstvija biologicheski aktivnyh aromaticeskikh veshhestv i DNK v vodnom rastvore: dis... d-ra fiz.-mat. nauk.: 03.00.02/ Evstigneev Maksim Pavlovich. – Sevastopol', 2006. – 341 s. – Bibliogr.: 313-341.
54. Harmann C. Electrochemistry / C. Harmann, A. Hamnett, W. Vielstich. – Weinheim : Wiley, 2007. – 550 p.
55. Hulanicki A. Redox indicators. Characteristics and applications / A. Hulanicki, S. Glab // *Pure Appl. Chem.* – 1978. – V. 50, № 5. – P. 463–498.
56. Химические реактивы и препараты. Справочник. / Ред. В.И. Кузнецова. – М. : ГНТИХЛ, 1953. – 662 с. / Himicheskie reaktivy i preparaty. Spravochnik. / Red. V.I. Kuznecova. – M. : GNTIHL, 1953. – 662 s.
57. The electrochemical behavior of methylene blue at a microcylinder carbon fiber electrode / H.X. Ju, J. Zhou, C.X. Cai, H.Y. Chen // *Electroanalysis.* – 1995. – V. 7, № 2. – P. 1165–1170.
58. Ferapontova E.E. Electrochemical indicators for DNA electroanalysis // *Curr. Analyt. Chem.* – 2011. – V. 7, № 1. – P. 51–62.
59. Studies on the radical species in solid methylene blue as revealed from the ESR spectra / M. Okuda, T. Kowata, Y. Usui, M. Koizumi // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1968. – V. 41, № 10. – P. 2274–2280.
60. Engerer S.C. The Blue Bottle Reaction as a general chemistry experiment on reaction mechanisms / S.C. Engerer, A.G. Cook // *J. Chem. Educ.* – 1999. – V. 76, № 11. – P. 1519.
61. What is happening when the blue bottle bleaches: an investigation of the methylene blue-catalyzed air oxidation of glucose / L. Anderson, S. Wittkopp, C. Painter [et al.] // *J. Chem. Educ.* – 2012. – V. 89, № 11. – P. 1425–1431.
62. PubChem. Open Chemistry Database. Leucomethylene blue. [Electronic resource] // U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information's web site - Mode of access: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/164695#section=Top>. Last access: 2015. – Title from the screen.
63. Determination of methylene blue residues in aquatic products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / J. Xu, L. Dai, B. Wu [et al.] // *J. Sep. Sci.* – 2009. – V. 32, № 23-24. – P. 4193–4199.
64. Пат. 2013/0315992 А1 США, МКИ C07D 279/20. Phenothiazine diaminium salts and their use: Пат. 2013/0315992 А1 США, МКИ C07D 279/20 / S.Clunas (GB) et al.; Wista Laboratories Ltd. – № 13/984841; заяв. 15.08.2011; опубл. 28.11.2013; НКИ 424/464. – 67 с. / Pat. 2013/0315992 А1 SShA, МКИ C07D 279/20. Phenothiazine diaminium salts and their use: Pat. 2013/0315992 А1 SShA, МКИ C07D 279/20 / S.Clunas (GB) et al.; Wista Laboratories Ltd. – № 13/984841; zajav. 15.08.2011; opubl. 28.11.2013; NKI 424/464. – 67 s.
65. The PubChem Compound Database. [Electronic resource] // U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information's web site - Mode of access: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound?cmd=Link&LinkName=pccompound_pccompound_mixture&from_uid=164695 Last access: 2015. – Title from the screen.
66. Obata H. Photoreduction of methylene blue by visible light in the aqueous solution containing certain kinds

- of inorganic salts. II. Photobleached product / H. Obata // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 1961. – V. 34. – P. 1057–1063.
67. Mills A. Photobleaching of methylene blue sensitised by TiO₂: an ambiguous system / A. Mills, J. Wang // *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry.* – 1999. – V. 127, № 1-3. – P. 123–134.
68. Lee S.-K. Luminescence of Leuco-Thiazine dyes / S.-K. Lee, A. Mills // *J. Fluoresc.* – 2003. – V. 13, № 5. – P. 375–377.
69. Redox systems under nano-space control / Ed. T.Hirao. – Berlin : Springer-Verlag, 2006. – 295 p.
70. Gilardi G. Manipulating redox systems: applications to nanotechnology / G. Gilardi, A. Fantuzzi // *Trends Biotechnol.* – 2001. – V. 19, № 11. – P.468–476.
71. Tuning the unidirectional electron transfer at interfaces with multilayered redox-active supramolecular bionanoassemblies / O. Azzaroni, M. Álvarez, A.I. Abou-Kandil [et al.] // *Adv. Funct. Mater.* – 2008. – V. 18, № 21. – P. 3487–3496.
72. Biosensors and Modern Biospecific Analytical Techniques, Volume 44 (Comprehensive Analytical Chemistry) / Ed. L. Gorton. – Amsterdam: Elsevier, 2005. – 635 p.
73. Recent advances in nano-based electrochemical biosensors: application in diagnosis and monitoring of diseases // R.M. Iost, W.C. da Silva, J.M. Madurro [et al.] // *Front. Biosci. (Elite Ed).* – 2011. – V. 3. – P. 663–689.
74. Дзядевич С.В. Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів / С.В. Дзядевич, О.П. Солдаткін. – 1-е изд. – К. : Наук. думка, 2006. – 256 с. / Dzjadevich S.V. Naukovi ta tehnologichni zasadi stvorennya miniatjurnih elektrohimichnih biosensoriv / S.V. Dzjadevich, O.P. Soldatkin. – 1-е изд. – К. : Nauk. dumka, 2006. – 256 s.
75. Wu X. Biosensor sensitive to hydrogen peroxide via methylene blue incorporated into nafion film as an electron transfer mediator / X. Wu, T. Ying, K. Sun // *J. Shanghai Univ.* – 1998. – V. 2, № 2. – P. 156–163.
76. Electrochemical study of a new methylene blue/silicon oxide nanocomposition mediator and its application for stable biosensor of hydrogen peroxide / H. Yao, N. Li, S. Xu [et al.] // *Biosens. Bioelectron.* – 2005. – V. 21, № 2. – P. 372–377.
77. Yao H. Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on the co-electrodeposition of horseradish peroxidase and methylene blue on an ITO electrode modified with an anodic aluminum oxide template / H. Yao, H. Liu, M. Sun, L. Gong // *Microchim. Acta.* – 2012. – V. 177, № 1-2. – P. 31–37.
78. Tiwari I. Preparation and characterization of methylene blue-SDS- multiwalled carbon nanotubes nanocomposite for the detection of hydrogen peroxide / I. Tiwari, M. Singh // *Microchim. Acta.* – 2011. – V. 174, № 3–4. – P. 223–230.
79. Li J. Novel magnetic single-walled carbon nanotubes/methylene blue composite amperometric biosensor for DNA determination / J. Li, W. Zhu, H. Wang // *Anal. Lett.* – 2009. – V. 42. – № 2. – P. 366–380.
80. Gu J.Y. DNA sensor for recognition of native yeast DNA sequence with methylene blue as an electrochemical hybridization indicator / J.Y. Gu, X.J. Lu, H.X. Ju // *Electroanalysis.* – 2002. – V. 14, № 13. – P. 949–954.
81. Methylene blue immobilized on cellulose acetate with titanium dioxide: an application as sensor for ascorbic acid / A.A. HoffmannI, S.L.P. Dias, J.R. Rodrigues [et al.] // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2008. – V. 19, № 5. – P. 943–949.
82. NADH oxidation using modified electrodes based on lactate and glucose dehydrogenase entrapped between an electrocatalyst film and redox catalyst-modified polymers / E. Al-Jawadi, S. Pöller, R. Haddad, W. Schuhmann // *Microchim. Acta.* – 2012. – V. 177, № 3-4. – P. 405–410.
83. A rapid and selective method for monitoring the growth of coliforms in milk using the combination of amperometric sensor and reducing of methylene blue / Y.G. Lee, H.Y. Wu, C.L. Hsu [et al.] // *Sens. Actuators, B: Chemical.* – 2009. – V. 141, № 2. – P. 575–580.
84. Korshoj L.E. Methylene Blue-mediated electrocatalytic detection of hexavalent chromium / L.E. Korshoj, A.J. Zaitouna, R.Y. Lai // *Anal. Chem.* – 2015. – V. 87, № 5. – P. 2560–2564.
85. Evtugyn G.A. Amperometric DNA-peroxidase sensor for the detection of pharmaceutical preparations / G.A. Evtugyn, O.E. Goldfarb, H.C. Budnikov [et al.] // *Sensors.* – 2005. – V. 5, № 6. – P. 364–376.
86. Евтюгин Г.А. Электрохимические ДНК-сенсоры для определения биологически активных низкомолекулярных соединений / Г.А. Евтюгин, Г.К. Будников, А.В. Порфирьева // *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева).* – 2008, – Т. LII, № 2. – С. 66–79. / Evtjugin G.A. Jelektrohimicheskie DNK-sensory dlja opredelenija biologicheski aktivnyh nizkomolekuljarnyh soedinenij / G.A. Evtjugin, G.K. Budnikov, A.V. Porfir'eva // *Ros. him. zh. (Zh. Ros. him. ob-va im. D.I. Mendeleeva).* – 2008, – Т. LII, № 2. – С. 66–79.
87. Colorimetric detection of catalytic reactivity of nanoparticles in complex matrices / C. Corredor, M.D. Borysiak, J. Wolfer [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2015. – V. 49, № 6. – P. 3611–3618.
88. Development of highly selective interdigitated electrode sensor for detection of methylene blue / S. Zougar,

- A. Sbartai, N. Jaffrezic-Renault, R. Kherrat / *Sensor Lett.* – 2015. – V. 13, № 5. – P. 349–356.
89. Jana A.K. Solar cells based on dyes / A.K.Jana // *J. Photochem. Photobiol. A.* – 2000. – V. 132, № 1–2. – P. 1–17.
90. Gangotri K.M. Use of mixed dyes in photogalvanic cell for solar energy conversion and storage: EDTA–Methylene blue and Azur–B system / K.M. Gangotri, C. Lal // *Energy Sources.* – 2001. – V. 23, № 3. – P. 267–273.
91. Biologically inspired pteridine redox centers for rechargeable batteries / J. Hong, M. Lee, B. Lee [et al.] // *Nature Commun.* – 2014. – V. 5. – Art. N. 5335 (9 p.).
92. Дзядевич С.В. Амперометрические биосенсоры. Основные принципы работы и особенности датчиков разных генераций / С.В. Дзядевич // *Bioplym. Cell.* – 2002. – Т. 18, № 1. – С. 13–25. / Dzjadevich S.V. Amperometricheskie biosensory. Osnovnye principy raboty i osobennosti datchikov raznyh generacij / S.V. Dzjadevich // *Bioplym. Cell.* – 2002. – Т. 18, № 1. – С. 13–25.
93. Дзядевич С.В. Амперометрические биосенсоры. Современные технологии и коммерческие варианты анализаторов / С.В. Дзядевич // *Bioplym. Cell.* – 2002. – Т. 18, № 5. – С. 363–376. / Dzjadevich S.V. Amperometricheskie biosensory. Sovremennye tehnologii i kommercheskie varianty analizatorov / S.V. Dzjadevich // *Bioplym. Cell.* – 2002. – Т. 18, № 5. – С. 363–376.
94. An amperometric biosensor based on the coimmobilization of horseradish peroxidase and methylene blue on a carbon nanotubes modified electrode / J.Z. Xu, J.J. Zhu, Q. Wu [et al.] // *Electroanalysis.* – 2003. – V. 15, № 3. – P. 219–224.
95. Adsorption of methylene blue dye onto carbon nanotubes: a route to an electrochemically functional nanostructure and its layer-by-layer assembled nanocomposite / Y. Yan, M. Zhang, K. Gong [et al.] // *Chem. Mater.* – 2005. – V. 17, № 13. – P. 3457–3463.
96. The effect of nanosized titania-silica film composition on the photostability of adsorbed methylene blue dye / N.I. Surovtseva, A.M. Eremanko, N.P. Smirnova [et al.] // *Theor. Exp. Chem.* – 2007. – V. 43. – P. 235–240.
97. Photosensitizer methylene blue-semiconductor nanocrystals hybrid system for photodynamic therapy / A. Rakovich, T. Rakovich, V. Kelly [et al.] // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2010. – V. 10, № 4. – P. 2656–2662.
98. Electrochemical property of methylene blue redox dye immobilized on porous silica-zirconia-antimonia mixed oxide / G. Zaitseva, Y. Gushikem, E.S. Ribeiro, S.S. Rosatto // *Electrochim. Acta.* – 2002. – V. 47, № 9. – P. 1469–1474.
99. Electrochemically functional graphene nanostructure and layer-by-layer nanocomposite incorporating adsorption of electroactive methylene blue / D. Zhang, L. Liao, B. Dai [et al.] // *Electrochim. Acta.* – 2012. – V. 75. – P. 71–79.
100. Electron interaction among the noncovalently engineered graphene-methylene blue nanocomposites / Z. Li, X.J. Shi, X.P. Ge [et al.] // *Chem. Res. Chin. Univ.* – 2012. – V. 28, № 3. – P. 520–523.
101. The route to functional graphene oxide / K. Haubner, J. Murawski, Ph. Olk, L. M. Eng [et al.] // *ChemPhysChem.* – 2010. – V. 11, № 10. – P. 2131–2139.
102. Complexation of C60 fullerene with aromatic drugs / M.P. Evstigneev, A.S. Buchelnikov, D.P. Voronin [et al.] // *ChemPhysChem.* – 2013. – V. 14, № 3. – P. 568–578.
103. Механизм комплексообразования фенотиазинового красителя метиленового голубого с фуллереном C60 / А.С. Бучельников, В.В. Костюков, М.П. Евстигнеев, Ю.И. Прилуцкий // *Физ. химия.* – 2013. – Т. 87, № 4. – С. 672–678. / *Mehanizm kompleksoobrazovaniya fenotiazinovogo krasitelja metilenovogo golubogo s fullerenom C60 / A.S. Buchel'nikov, V.V. Kostjukov, M.P. Evstigneev, Ju.I. Priluckij // Fiz. himija.* – 2013. – Т. 87, № 4. – С. 672–678.
104. Adsorption of methylene blue on colloidal silver - a surface-enhanced raman spectroscopy study combined with density functional theory calculations / L. Zhong, Y.J. Hu, D. Xing, H.M. Gu // *Spectroscopy and Spectral Analysis [in Chinese].* – 2010. – V. 30, № 1. – P. 90–94.
105. Nicolai S.H.A. Surface-enhanced resonance raman (serr) spectra of methylene blue adsorbed on a silver electrode / S.H.A. Nicolai, J.C. Rubim // *Brazil Langmuir.* – 2003. – V. 19, № 10. – P. 429–4294.
106. Shahryari Z. Experimental study of methylene blue adsorption from aqueous solutions onto carbon nanotubes / Z. Shahryari, A.S. Goharrizi, M. Azadi // *Int. J. Water Resour. Environ. Eng.* – 2010. – V. 2. – P. 016–028.
107. Fluorescent nanoprobe dedicated to *in vivo* imaging: from preclinical validations to clinical translation / J.Mérian, J.Gravier, F.Navarro, I.Texier // *Molecules.* – 2012. – V. 17, № 5. – P. 5564–5591.
108. Methylene Blue- and thiol-based oxygen depletion for super-resolution imaging / P. Schäfer, S. van de Linde, J. Lehmann [et al.] // *Anal. Chem.* – 2013. – V. 85, № 6. – P. 3393–3400.
109. The Nobel Prize in Chemistry 2014 [Electronic resource]: The Official Web Site of the Nobel Prize - Mode of access: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2014/. Last access: 2015. – Title from the screen.
110. Integrating histology and imaging mass spectrometry / P. Chaurand, S.A. Schwartz, D. Billheimer [et al.] //

Anal. Chem. – 2004. – V. 76, № 4. – P. 1145–1155.

111. Wain A.J. Scanning electrochemical microscopy imaging of DNA microarrays using methylene blue as a redox-active intercalator / A.J. Wain, F. Zhou // *Langmuir*. – 2008. – V. 24, № 9. – P. 5155–5160.

112. Usacheva M.N. The role of the methylene blue and toluidine blue monomers and dimers in the photoinactivation of bacteria / M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // *J. Photochem. Photobiol. B*. – 2003. – V. 71, № 1-3. – P. 87–98.

113. Usacheva M.N. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms / M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // *Lasers Surg. Med.* – 2001. – V. 29, № 2. – P. 165–173.

114. Photoacoustic lifetime contrast between methylene blue monomers and self-quenched dimers as a model for dual-labeled activatable probes / E. Morgounova, Q. Shao, B.J. Hackel [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2013. – V. 18, № 5. – P. 056004-1–056004-8.

115. Hachisako H. Extraordinary monomer-dimer transition of methylene blue induced by the phase transition of telomer-bilayer membranes formed from dialkyl L-glutamate amphiphiles with oligo-acrylic acid-head group / H. Hachisako, Y. Motozato, R. Murakami, K. Yamada // *Chem. Lett.* – 1992. – V. 21, № 2. – P. 219–222.

116. Effect of the molecular methylene blue aggregation on the mesoscopic domain morphology in mixed monolayers with dimyristoyl-phosphatidic acid / J.J. Giner-Casares, G. de Miguel, M. Pérez-Morales [et al.] // *J. Phys. Chem. C*. – 2009. – V. 113, № 14. – P. 5711–5720.

117. Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications / J.P. Tardivo, A. Del Giglio, C.S. de Oliveira [et al.] // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2005. – V. 2, № 3. – P. 175–191.

118. Binding, aggregation and photochemical properties of methylene blue in mitochondrial suspensions / D. Gabrielli, E. Belisle, D. Severino [et al.] // *Photochem. Photobiol.* – 2004. – V. 79, № 3. – P. 227–232.

119. Modulation of methylene blue photochemical properties based on adsorption at aqueous micelle interfaces / H.C. Junqueira, D. Severino, L.G. Dias [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2002. – V. 4, № 11. – P. 2320–2328.

120. Influence of negatively charged interfaces on the ground and excited state properties of methylene blue / D. Severino, H.C. Junqueira, M. Gugliotti [et al.] // *Photochem. Photobiol.* – 2003. – V. 77, № 5. – P. 459–468.

121. Interactions between methylene blue and sodium dodecyl sulfate in aqueous solution studied by molecular spectroscopy / M.K. Carroll, M.A. Unger, A.M. Leach [et al.] // *Appl. Spectrosc.* – 1999. – V. 53, № 7. – P. 780–784.

122. Monomer/dimer dependent modulation of reduction of the cationic dye methylene blue in negatively charged nanolayers as revealed by mass spectrometry / V.S. Shelkovsky, M.V. Kosevich, O.A. Boryak [et al.] // *RSC Advances*. – 2014. – V. 4, № 104. – P. 60260–60269.

123. Nanoparticle platform to modulate reaction mechanism of phenothiazine photosensitizers / D.B. Tada, L.M. Rossi, C.A.P. Leite [et al.] // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2010. – V. 10, № 5. – P. 3100–3108.

124. Tada D.B. Photosensitizing nanoparticles and the modulation of ROS generation / D.B. Tada, M.S. Baptista // *Front. Chem.* – 2015. – V. 3, № 33. – P. 1–14.

125. Methylene blue binding to DNA with alternating GC base sequence: a modeling study / R. Rohs, H. Sklenar, R. Lavery, B. Röder // *J. Am. Chem. Soc.* – 2000. – V. 122, № 12. – P. 2860–2866.

126. Rohs R. Methylene blue binding to DNA with alternating GC base sequence: continuum treatment of salt effects / R. Rohs, H. Sklenar // *Indian J. Biochem. Biophys.* – 2001. – V. 38, № 1-2. – P. 1–6.

127. Rohs R. Methylene blue binding to DNA with alternating AT base sequence: minor groove binding is favored over intercalation / R. Rohs, H. Sklenar // *J. Biomol. Str. Dyn.* – 2004. – V. 21, № 5. – P. 699–711.

128. Molecular flexibility in ab initio drug docking to DNA: binding-site and binding-mode transitions in all-atom Monte Carlo simulations / R. Rohs, I. Bloch, H. Sklenar, Z. Shakked // *Nucleic Acids Res.* – 2005. – V. 33, № 22. – P. 7048–7057.

129. Nogueira J.J. Molecular dynamics simulations of binding modes between methylene blue and DNA with alternating GC and AT sequences / J.J. Nogueira, L. González // *Biochemistry*. – 2014. – V. 53, № 14. – P. 2391–2412.

130. Tuite E. Sequence-specific interaction of Methylene Blue with polynucleotides and DNA: a spectroscopic study / E. Tuite, B. Norden // *J. Am. Chem. Soc.* – 1994. – V. 116, № 17. – P. 7548–7556.

131. Fluorescence and photobleaching studies of methylene blue binding to DNA / B.S. Fujimoto, J.B. Clendenning, J.J. Delrow [et al.] // *J. Phys. Chem.* – 1994. – V. 98, № 26. – P. 6633–6643.

132. Elucidation of the mechanism of single-stranded DNA interaction with methylene blue: A spectroscopic approach / M. Ortiz, A. Fragoso, P.J. Ortiz, C.K. O'Sullivan // *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*. – 2011. – V. 218, № 1. – P. 26–32.

133. Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue / S. Nafisi, A.A. Saboury, N. Keramat [et al.] // *J. Mol. Struct.* – 2007. – V. 827, № 1–3. – P. 35–43.

134. Hossain M. DNA intercalation by quinacrine and methylene blue: a comparative binding and thermodynamic characterization study / M. Hossain, P. Giri, G.S. Kumar // *DNA Cell Biol.* – 2008. – V. 27, № 2. – P. 81–90.
135. Tong C. Interaction between methylene blue and calf thymus deoxyribonucleic acid by spectroscopic technologies / C. Tong, Z. Hu, J. Wu // *J. Fluoresc.* – 2010. – V. 20, № 1. – P. 261–267.
136. Hu Z. Synchronous fluorescence determination of DNA based on the interaction between methylene blue and DNA / Z. Hu, C. Tong // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – V. 587, № 2. – P. 187–193.
137. Methylene blue photosensitized strand cleavage of DNA: effects of dye binding and oxygen / C. Oh, Uigin, D.J. McConnell, J.M. Kelly, W.J. van der Putten // *Nucleic Acids Res.* – 1987. – V. 15, № 18. – P. 7411–7427.
138. Tuite E.M. New trends in photobiology: Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates / E.M. Tuite, J.M. Kelly // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 1993. – V. 21, № 2-3. – P. 103–124.
139. Спектрофотометрический анализ связывания ароматических биологически активных соединений с ДНК / Чернышев Д.Н., Бучельников А.С., Мухина Ю.В., Барановский С.Ф. // *Вісник СевНТУ: Серія: Фізика біологічних систем і молекул.* – 2011. – Вип. 113. – С. 57–66. / *Spektrofotometričeskij analiz svjazyvanija aromaticeskix biologičeski aktivnyh soedinenij s DNK* / Chernyshev D.N., Buchel'nikov A.S., Muhina Ju.V., Baranovskij S.F. // *Visnik SevNTU: Serija: Fizika biologičnih sistem i molekul.* – 2011. – Vip. 113. – S. 57–66.
140. Mechanisms for binding between methylene blue and DNA / P.O. Vardevanyan, A.P. Antonyan, M.A. Parsadanyan [et al.] // *J. Appl. Spectrosc.* – 2013. – V. 80, № 4. – P. 595–599.
141. Механизмы связывания метиленового синего с ДНК / П.О. Вардеванян, А.П. Антонян, М.А. Парсаданян [et al.] // *ЖПС.* – 2013. – Т. 80, № 4. – С. 610–614. / *Mehanizmy svjazyvanija metilenovogo sinego s DNK* / P.O. Vardevanjan, A.P. Antonjan, M.A. Parsadanjan [et al.] // *ZhPS.* – 2013. – Т. 80, № 4. – С. 610–614.
142. Исследование связывания метиленового синего с ДНК спектроскопическими методами / П.О. Вардеванян, А.П. Антонян, М.А. Шагинян, Л.А. Амбарцумян // *ДНАН РА.* – 2013. – Т. 113, № 2. – С. 180–188. / *Issledovanie svjazyvanija metilenovogo sinego s DNK spektroskopičeskimi metodami* / P.O. Vardevanjan, A.P. Antonjan, M.A. Shaginjan, L.A. Ambarcumjan // *DNAN RA.* – 2013. – Т. 113, № 2. – S. 180–188.
143. Термодинамический анализ комплексов ДНК с метиленовым синим, бромистым этидием и Hoechst 33258 / П.О. Вардеванян, А.П. Антонян, Л.А. Амбарцумян [et al.] // *Biopolym. Cell.* – 2013. – Т. 29, № 6. – С. 515–520. / *Termodinamicheskij analiz kompleksov DNK s metilenovym sinim, bromistym jetidiem i Hoechst 33258* / P.O. Vardevanjan, A.P. Antonjan, L.A. Ambarcumjan [et al.] // *Biopolym. Cell.* – 2013. – Т. 29, № 6. – С. 515–520.
144. Hambardzumyan L.A. Effect of DNA GC-content on interaction with methylene blue / L.A. Hambardzumyan // *Proc. of the Yerevan State Univ. Chemistry and Biology.* – 2015. – № 1. – P. 45–49.
145. Evidence for the direct interaction between methylene blue and guanine bases using DNA-modified carbon paste electrodes / W. Yang, M. Ozsoz, D.B. Hibbert, J.J. Gooding // *Electroanalysis.* – 2002. – V. 14, № 18. – P. 1299–1302.
146. Enescu M. Molecular dynamics simulation of methylene blue - guanine complex in vacuo / M. Enescu, V. Gheorghe // *J. Mol. Struct. THEOCHEM.* – 1998. – V. 423, № 3. – P. 213–218.
147. Enescu M. Molecular Dynamics Simulation of Methylene Blue–Guanine Complex in Water: The Role of Solvent in Stacking / M. Enescu, B. Levy, V. Gheorghe // *J. Phys. Chem. B.* – 2000. – V. 104, № 5. – P. 1073–1077.
148. Enescu M. Electron transfer modeling in condensed phase by molecular dynamics simulation: Application to methylene blue-guanine complex in water / M. Enescu, J. Ridard, V. Gheorghe, B. Levy // *J. Phys. Chem. B.* – 2002. – V. 106, № 1. – P. 176–184.
149. Electrochemistry of methylene blue bound to a DNA-modified electrode / S.O. Kelley, J.K. Barton, N.M. Jackson, M.G. Hill // *Bioconjug. Chem.* – 1997. – V. 8, № 1. – P. 31–37.
150. Jackson N.M. Electrochemistry at DNA-modified surfaces: new probes for charge transport through the double helix / N.M. Jackson, M.G. Hill // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2001. – V. 5, № 2. – P. 209–215.
151. Boon E.M. Charge transport in DNA / E.M. Boon, J.K. Barton // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2002. – V. 12, № 3. – P. 320–329.
152. Delaney S. Long-range DNA charge transport / S. Delaney, J.K. Barton // *J. Org. Chem.* – 2003. – V. 68, № 17. – P. 6475–6483.
153. Sontz P.A. DNA charge transport for sensing and signaling / P.A. Sontz, N.B. Muren, J.K. Barton // *Acc. Chem. Res.* – 2012. – V. 45, № 10. – P. 1792–1800.
154. Genereux J.C. DNA-mediated charge transport in redox sensing and signaling / J.C. Genereux, A.K. Boal, J.K. Barton // *J. Am. Chem. Soc.* – 2010. – V. 132, № 3. – P. 891–905.

155. Gorodetsky A.A. DNA-Mediated Electrochemistry / A.A. Gorodetsky, M.C. Buzzeo, J.K. Barton // *Bioconjugate Chem.* – 2008. – V. 19, № 12. – P. 2285–2296.
156. Wohlgamuth C.H. DNA as a molecular wire: distance and sequence dependence / C.H. Wohlgamuth, M.A. McWilliams, J.D. Slinker // *Anal. Chem.* – 2013. – V. 85, № 18. – P. 8634–8640.
157. ДНК-сенсоры с электрохимически активными индикаторами – производными фенотиазина / Е.Е. Стойкова, О.Э. Гольдфарб, С.В. Белякова и др. // *Вестник ТО РЭА.* – 2003. – №3. – С. 51–55. / DNK-sensory s jelektrohimicheski aktivnymi indikatorami – proizvodnymi fenotiazina / E.E. Stojkova, O. Je. Gol'dfarb, S.V. Beljakova i dr. // *Vestnik TO RJeA.* – 2003. – №3. – S. 51–55.
158. Drummond, T.G. Electrochemical DNA sensors / T.G. Drummond, M.G. Hill, J.K. Barton // *Nat. Biotech.* – 2003. – V. 21, № 10. – P. 1192–1199.
159. Odenthal K.J. An introduction to electrochemical DNA biosensors / K.J. Odenthal, J.J. Gooding // *Analyst.* – 2007. – V. 132, № 7. – P. 603–610.
160. Overview of electrochemical DNA biosensors: new approaches to detect the expression of life / S. Cagnin, M. Caraballo, C. Guiducci [et al.] // *Sensors (Basel).* – 2009. – V. 9, № 4. – P. 3122–3148.
161. DNA interactions with a Methylene Blue redox indicator depend on the DNA length and are sequence specific / E. Farjami, L. Clima, K.V. Gothelf, E.E. Ferapontova // *Analyst.* – 2010. – V. 135, № 6. – P. 1443–1448.
162. Comparing the properties of electrochemical-based DNA sensors employing different redox tags / D. Kang, X. Zuo, R. Yang [et al.] // *Anal. Chem.* – 2009. – V. 81, № 21. – P. 9109–9113.
163. García-González R. Methylene blue covalently attached to single stranded DNA as electroactive label for potential bioassays / R. García-González, A. Costa-García, M.T. Fernández-Abedul // *Sens. Actuators B.* – 2014. – V. 191. – P. 784–790.
164. García-González R. Enzymatic amplification-free nucleic acid hybridisation sensing on nanostructured thick-film electrodes by using covalently attached methylene blue / R. Garcia-González, A. Costa-García, M.T. Fernández-Abedul // *Talanta.* – 2015. – V. 142. – P. 11–19.
165. Catrina G. Intraduplex DNA-mediated electrochemistry of covalently tethered redox-active reporters / C.G. Pheaney, J.K. Barton // *J. Am. Chem. Soc.* – 2013. – V. 135, № 40. – P. 14944–14947.
166. Pheaney C.G. DNA electrochemistry with tethered methylene blue / C.G. Pheaney, J.K. Barton // *Langmuir.* – 2012. – V. 28, № 17. – P. 7063–7070.
167. A multiplexed, two-electrode platform for biosensing based on DNA-mediated charge transport / A.L. Furst, M.G. Hill, J.K. Barton // *Langmuir.* – 2015. – V. 31, № 23. – P. 6554–6562.
168. Abi A. Unmediated by DNA electron transfer in redox-labeled DNA duplexes end-tethered to gold electrodes / A. Abi, E.E. Ferapontova // *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – V. 134, № 35. – P. 14499–14507.
169. Farjami E. Effect of the DNA end of tethering to electrodes on electron transfer in methylene blue-labeled DNA duplexes / E. Farjami, R. Campos, E.E. Ferapontova // *Langmuir.* – 2012. – V. 28, № 46. – P. 16218–16226.
170. Electrochemical interrogation of interactions between surface-confined DNA and methylene blue / D. Pan, X. Zuo, Y. Wan [et al.] // *Sensors.* – 2007. – V. 7, № 11. – P. 2671–2680.
171. Electrochemical genosensor for the detection of interaction between methylene blue and DNA / P. Kara, K. Kerman, D. Ozkan [et al.] // *Electrochem. Commun.* – 2002. – V. 4, № 9. – P. 705–709.
172. DNA and PNA sensing on mercury and carbon electrodes by using methylene blue as an electrochemical label / D. Ozkan, P. Kara, K. Kerman [et al.] // *Bioelectrochemistry.* – 2002. – V. 58, № 1. – P. 119–126.
173. Label-free and label based electrochemical detection of hybridization by using methylene blue and peptide nucleic acid probes at chitosan modified carbon paste electrodes / P. Kara, K. Kerman, D. Ozkan // *Electroanalysis.* – 2002. – V. 14, № 24. – P. 1685–1690.
174. Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus / A. Erdem, K. Kerman, M. Meric [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* – 2000. – V. 422, № 2. – P. 139–149.
175. Tani A. Methylene blue as an electrochemical discriminator of single- and double-stranded oligonucleotides immobilized on gold substrates / A. Tani, A.J. Thomson, J.N. Butt // *Analyst.* – 2001. – V. 126, № 10. – P. 1756–1759.
176. The effect of interfacial design on the electrochemical detection of DNA and microRNA using methylene blue at low-density DNA films / R. Tavallaie, N. Darwish, M. Gebala [et al.] // *ChemElectroChem.* – 2014. – V. 1, № 1. – P. 165–171.
177. Supercoiled and linear plasmid DNAs interactions with methylene blue / A. Gniazdowska, A. Palinska-Saadi, E. Krawczyk [et al.] // *Bioelectrochemistry.* – 2013. – V. 92. – P. 32–41.
178. Methylene blue as a G-Quadruplex binding probe for label-free homogeneous electrochemical biosensing / F.T. Zhang, J. Nie, D.W. Zhang [et al.] // *Anal. Chem.* – 2014. – V. 86, № 19. – P. 9489–9495.
179. Amplified electrochemical detection of DNA through the aggregation of Au nanoparticles on electrodes and

- the incorporation of methylene blue into the DNA-crosslinked structure / D. Li, Y. Yan, A. Wiecekowska, I. Willner // *Chem. Commun.* – 2007. – № 34. – P. 3544–3546.
180. Zhang Y. Cyclic voltammetric detection of chemical DNA damage induced by styrene oxide in natural dsDNA layer-by-layer films using methylene blue as electroactive probe / Y. Zhang, N. Hu // *Electrochem. Commun.* – 2007. – V. 9, № 1-9. – P. 35–41.
181. Combining a loop-stem aptamer sequence with methylene blue: a simple assay for thrombin detection by resonance light scattering technique / X. Huang, Y. Li, X. Huang [et al.] // *RSC Adv.* – 2015. – V. 5, № 38. – P. 30268–30274.
182. Electrochemical behaviors of methylene blue on DNA modified electrode and its application to the detection of PCR product from NOS sequence / L. Zhu, R. Zhao, K. Wang [et al.] // *Sensors.* – 2008. – V. 8, № 9. – P. 5649–5660.
183. Electrochemical method for monitoring the progress of polymerase chain reactions using Methylene blue as an indicator / K. Wang, Y.P. Chen, Y. Lei [et al.] // *Microchim. Acta* – 2013. – V. 180, № 9-10. – P. 871–878.
184. Hairpin DNA probe based on electrochemical biosensor using methylene blue as hybridization indicator / Y. Jin, X. Yao, Q. Liu, J. Li // *Biosens. Bioelectron.* – 2007. – V. 22, № 6. – P. 1126–1130.
185. Yang W. Comparison of the stem-loop and linear probe-based electrochemical DNA sensors by alternating current voltammetry and cyclic voltammetry / W. Yang, R.Y. Lai // *Langmuir.* – 2011. – V. 27, № 23. – P. 14669–14677.
186. Adenosine-triggered elimination of methylene blue noncovalently bound to immobilized functional dsDNA-aptamer constructs / D. Yun, C. Banani, G. Bixia, Y. Hua-Zhong // *J. Phys. Chem. B.* – 2012. – V. 116, № 22. – P. 6361–6368.
187. Yu Z. effect of signaling probe conformation on sensor performance of a displacement-based electrochemical DNA sensor / Z. Yu, R.Y. Lai // *Anal. Chem.* – 2013. – V. 85, № 6. – P. 3340–3346.
188. Wu Y. Effects of DNA probe and target flexibility on the performance of a “signal-on” electrochemical DNA sensor / Y. Wu, R.Y. Lai // *Anal. Chem.* – 2014. – V. 86, № 17. – P. 8888–8895.
189. Будников Г.К. Амперометрические ДНК-сенсоры на основе модифицированных графитовых электродов / Г.К. Будников, Г.А. Евтюгин, О.Э. Гольдфарб // *Наукоемкие технологии* – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 30–37. / Budnikov G.K. Amperometric DNK-sensory na osnove modifitsirovannykh grafitovykh jelektrodov / G.K. Budnikov, G.A. Evtjugin, O.Je. Gol'dfarb // *Naukoemkie tehnologii* – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 30–37.
190. Belluzo M.S. Assembling amperometric biosensors for clinical diagnostics / M.S. Belluzo, M.É. Ribone, C.M. Lagier // *Sensors* – 2008. – V. 8, № 3. – P. 1366–1399.
191. Farjami E. An "off-on" electrochemical hairpin DNA-based genosensor for cancer diagnostics / E. Farjami, L. Clima, K.V. Gothelf // *Anal. Chem.* – 2011. – V. 83, № 5. – P. 1594–1602.
192. Liu Y. An aptasensor for electrochemical detection of tumor necrosis factor in human blood / Y. Liu, Q. Zhoua, A. Revzin // *Analyst.* – 2013. – V. 138, № 15. – P. 4321–4326.
193. Detection of IP-10 protein marker in undiluted blood serum via an electrochemical E-DNA scaffold sensor / A.J. Bonham, N.G. Paden, F. Ricci, K.W. Plaxco // *Analyst.* – 2013. – V. 138, № 19. – P. 5580–5583.
194. Electrochemical biocomputing: a new class of molecular-electronic logic devices / Y. Jia, R. Duan, F. Hong [et al.] // *Soft Matter.* – 2013. – V. 9, № 29. – P. 6571–6577.
195. Biocomputing security system: Concatenated enzyme-based logic gates operating as a biomolecular keypad lock / G. Strack, M. Ornatska, M. Pita, E. Katz // *J. Am. Chem. Soc.* – 2008. – V. 130, № 13. – P. 4234–4235.
196. Kristiansen J.E. Dyes, antipsychotic drugs, and antimicrobial activity. Fragments of a development, with special reference to the influence of Paul Ehrlich / J.E. Kristiansen // *Dan. Med. Bull.* – 1989. – V. 36, № 2. – P. 178–185.
197. Kwok E.S. Use of methylene blue in sepsis: a systematic review / E.S. Kwok, D. Howes // *J. Intensive Care Med.* – 2006. – V. 21, № 6. – P. 359–363.
198. WHO Model List of Essential Medicines. 18th list. [Electronic resource] // 18th WHO Model List of Essential Medicines (April 2013). WHO Medicines web site - Mode of access: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/93142/1/EML_18_eng.pdf. Last access: 2015. – Title from the screen.
199. Brookes M.M. Methylene blue as antidote for cyanide and carbon monoxide poisoning / M.M. Brookes // *J. Am. Med. Assoc.* – 1933. – V. 100, № 1. – P. 59.
200. Thayer A.M. Giving new life to an old molecule / A.M. Thayer // *Chem. Eng. News.* – 2011. – V. 89, № 12. – P. 16–17.
201. Ginimuge P.R. Methylene Blue: Revisited / P.R. Ginimuge, S.D. Jyothi // *J. Anaesthesiol., Clin. Pharmacol.* – 2010. – V. 26, № 4. – P. 517–520.
202. Wainwright M. Methylene Blue - a therapeutic dye for all seasons? / M. Wainwright, K.B. Crossley // *J. Chemother.* – 2002. – V. 14, № 5. – P. 431–443.
203. Methylene blue as an antimalarial agent / R.H. Schirmer, B. Coulibaly, A. Stich [et al.] // *Redox Rep.* –

2003. – V. 8, № 5. – P. 272–275.
204. Wainwright M. The phenothiazinium chromophore and the evolution of antimalarial drugs / M. Wainwright., L. Amaral // *Trop. Med. Int. Health.* – 2005. – V. 10, № 6. – P. 501–511.
205. Wagner S.J. Virus inactivation in blood components by photoactive phenothiazine dyes / S.J. Wagner // *Transfus. Med. Rev.* – 2002. – V. 16, № 1. – P. 61–66.
206. Пирузян Л.А. Красители со свойствами модуляторов окислительно-восстановительных процессов как потенциальные иммуностропные средства / Л.А. Пирузян, И.Е. Ковалев, В.Л. Ковалева // *Известия РАН, Серия биологическая.* – 2001. – № 5. – С. 563–572. / Piruzjan L.A. Krasiteli so svojstvami moduljatorov okislitel'no-vosstanovitel'nyh processov kak potencial'nye immunotropnye sredstva / L.A. Piruzjan, I.E. Kovalev, V.L. Kovaleva // *Izvestija RAN, Serija biologicheskaja.* – 2001. – № 5. – S. 563–572.
207. Piruzian L.A. Dyes with properties of modulators of redox processes as potential immunotropic agents / L.A. Piruzian, I.E. Kovalev, V.L. Kovaleva // *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* – 2001. – V. 28, № 5. – P. 477–485.
208. Structure and pathology of tau protein in alzheimer disease / M. Kolarova, F. Garcia-Sierra, A. Bartos [et al.] // *Int. J. Alzheimer's Dis.* – 2012. – V. 2012. – Article ID 731526, 13 p.
209. Modulation and detection of tau aggregation with small-molecule ligands / E. Chang, N.S. Honson, B. Bandyopadhyay [et al.] // *Curr. Alzheimer Res.* – 2009. – V. 6, № 5. – P. 409–414.
210. Mechanistic basis of phenothiazine-driven inhibition of Tau aggregation / E. Akoury, M. Pickhardt, M. Gajda [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2013. – V. 52, № 12. – P. 3511–3515.
211. Aminothienopyridazines and methylene blue affect Tau fibrillization via cysteine oxidation / A. Crowe, M.J. James, V.M.-Y. Lee [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2013. – V. 288, № 16. – P. 11024–11037.
212. Oxidation of cysteine-322 in the repeat domain of microtubule-associated protein tau controls the in vitro assembly of paired helical filaments / O. Schweers, E.M. Mandelkow, J. Biernat, E. Mandelkow // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1995. – V. 92, № 18. – P. 8463–84677.
213. Rojas J.C. Neurometabolic mechanisms for memory enhancement and neuroprotection of methylene blue / J.C. Rojas, A.K. Bruchey, F. Gonzalez-Lima // *Prog. Neurobiol.* – 2012. – V. 96, № 1. – P. 32–45.
214. Methylene blue delays cellular senescence and enhances key mitochondrial biochemical pathways / H. Atamna, A. Nguyen, C. Schultz [et al.] // *FASEB J.* – 2008. – V. 22, № 3. – P. 703–712.
215. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – М.: БИНОМ, 2003.–493 с. / Lebedev A.T. Mass-spektrometrija v organicheskoj himii / A.T. Lebedev. – М.: BINOM, 2003.–493 s.
216. Покровский В.А. Десорбционная масс-спектрометрия и ее применение в химии поверхности: дис.... докт. физ.-мат. наук.: 01.04.01 / Покровский Валерий Александрович. – К., 1990. - 347 с. / Pokrovskij V.A. Desorbcionnaja mass-spektrometrija i ee primenenie v himii poverhnosti: dis.... dokt. fiz.-mat. nauk.: 01.04.01 / Pokrovskij Valerij Aleksandrovich. – К., 1990. - 347 s.
217. Kazakoff C.W. Reduction processes in fast atom bombardment mass spectrometry: Methylene blue in glycerol-thioglycerol and glycerol-nitrobenzyl alcohol matrices / C.W. Kazakoff, R.T.B. Rye // *Org. Mass Spectrom.* – 1991. – V. 26, № 3. – P. 154–156.
218. Burinsky D.J. Reduction of methylene blue during the ionization process / D.J. Burinsky, R.L. Dilliplane, G.C. DiDonato, K.L. Busch // *Org. Mass Spectrom.* – 1988. – V. 23, № 4. – P. 231–235.
219. Pelzer G. Oxidation-reduction processes occurring in secondary ion mass spectrometry and fast atom bombardment of glycerol solutions / G. Pelzer, E. De Pauw, J. Marien // *J. Phys. Chem.* – 1984. – V. 88, № 21. – P. 5065–5068.
220. Gale P.J. Reduction in liquid secondary ion mass spectrometry. Comparison of the fission fragments and liquid secondary ion mass spectra for organic dyestuff / P.J. Gale, B.L. Bentz // *Anal. Chem.* – 1986. - V. 58, № 6. – P. 1070–1076.
221. Reduction of organic dyes in matrix-assisted laser desorption/ionization and desorption/ionization on porous silicon / S. Okuno, M. Nakano, G.E. Matsubayashi [et al.] // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2004. – V. 18, № 23. – P. 2811–2817.
222. Козик О.И. Масс-спектрометрическое изучение термической деструкции гетероароматических катионных красителей в твердой фазе и на поверхности дисперсного кремнезема: дис.... канд. хим. наук: 02.00.18 / Козик Олег Иосифович – К., 1992. – 175 с. / Kozik O.I. Mass-spektrometricheskoe izuchenie termicheskoy destrukcii geteroaromaticeskikh kationnykh krasitelej v tverdoj faze i na poverhnosti dispersnogo kremnezema: dis.... kand. him. nauk: 02.00.18 / Kozik Oleg Iosifovich – К., 1992. – 175 s.
223. Шмиголь І.В. Хімічно модифікований пористий кремній як підкладка для лазерної десорбції / іонізації низькомолекулярних органічних сполук: дис. ... канд. хім. наук: 01.04.18 / І. В. Шмиголь Ірина Василівна. – К., 2009. – 125 с. / Shmigol' I.V. Himichno modifikovanij poristij kremnij jak pidkladka dlja lazernoї desorbції / ionizacії niz'komolekuljarnih organichnih spoluk: dis. ... kand. him. nauk: 01.04.18 / I. V. Shmigol' Irina Vasilivna. – К., 2009. – 125 s.
224. Фесенко Т.В. Лазерна десорбція/іонізація фотоактивних органічних молекул на поверхні мезопористих оксидних золь-гель плівок: дис.... канд. хім. наук: 01.04.18 / Фесенко Татьяна Викторовна.

- K., 2014. – 143 с. / Fesenko T.V. Lazerna desorbciija/ionizacija fotoaktivnih organichnih molekul na poverhni mezoporistih oksidnih zol'-gel' plivok: dis.... kand. him. nauk: 01.04.18 / Fesenko Tat'jana Viktorovna. – K., 2014. – 143 s.
225. Kosevich M.V. Chapter Seven: Interactions of Biologically Active Redox-Sensitive Dyes with Nanomaterials: Mass Spectrometric Diagnostics / M.V. Kosevich, O.A. Boryak, V.V. Chagovets, V.S. Shelkovsky, V.A. Pokrovskiy // *Nanobiophysics: Fundamental and Applications*. Ed. V. Karachevtsev. – Singapore: Pan Stanford Publishing, 2015. – P. 193–233.
226. Evaluation of the reduction of imidazophenazine dye derivatives under fast atom bombardment mass spectrometric conditions / M.V. Kosevich, O.A. Boryak, V.V. Orlov [et al.] // *J. Mass Spectrom.* – 2006. – V. 41, № 1. – P. 113–123.
227. Sensitivity of redox reactions of dyes to variations of conditions created in mass spectrometric experiments / M.V. Kosevich, V.V. Chagovets, I.V. Shmigol [et al.] // *J. Mass Spectrom.* – 2008. – V. 43, № 10. – P. 1402–1412.
228. Chemically modified porous silicon for laser desorption/ionization mass spectrometry of ionic dyes / I.V. Shmigol, S.A. Alekseev, O.Yu. Lavrynenko [et al.] // *J. Mass Spectrom.* – 2009. – V. 44, № 8. – P. 1234–1240.
229. Масс-спектрометрия с лазерной десорбцией/ионизацией красителя метиленового голубого с поверхности мезопористых тонких пленок TiO₂, SiO₂/TiO₂ и SiO₂ / Т.В. Фесенко, М.В. Косевич, Н.И. Суровцева и др. // *Масс-спектрометрия*. – 2007. – Т. 4, N 4. – С. 289-296. / *Mass-spektrometrija s lazernoju desorbcijej/ionizacijej krasitelja metilenovogo golubogo s poverhnosti mezoporistyh tonkih plenok TiO₂, SiO₂/TiO₂ i SiO₂* / T.V. Fesenko, M.V. Kosevich, N.I. Surovceva i dr. // *Mass-spektrometrija*. – 2007. – Т. 4, N 4. – С. 289-296.
230. Габович В.О. Іоноутворення метиленового блакитного на різних поверхнях / Габович В.О., Покровський В.О. // *Поверхність*. – 2011. – Т. 3, № 18. – С. 191–195. / Gabovich V.O. Ionoutvorennja metilenovogo blakitnogo na riznih poverhnjah / Gabovich V.O., Pokrovs'kij V.O. // *Poverhnost'*. – 2011. – Т. 3, № 18. – С. 191–195.
231. Експериментальне та теоретичне дослідження лазерної десорбції/іонізації метиленового блакитного з поверхні терморозширеного графіту / В.О. Габович, В.О. Покровський, Є.М. Дем'яненко, А.Г. Гребенюк // *Укр. фіз. журнал*. – 2012. – Т. 57, № 7. – С. 775–782. / *Ekspierimental'ne ta teoretichne doslidzhennja lazernoї desorbciї/ionizaciї metilenosvogo blakitnogo z poverhni termorozshirenogo grafitu* / V.O. Gabovich, V.O. Pokrovs'kij, Є.М. Dem'janenko, A.G. Grebenjuk // *Ukr. fiz. zhurnal*. – 2012. – Т. 57, № 7. – С. 775–782.
232. Габович В.О. Порівняння лазерної десорбції/іонізації барвників акридинового оранжевого та метиленового блакитного з поверхні терморозширеного графіту / В.О. Габович, В.О. Покровський // *Хім., фіз. та технологія поверхні*. – 2013. – Т. 4, № 2. – С. 196–201. / Gabovich V.O. Porivnjannja lazernoї desorbciї/ionizaciї barvnikiv akridinovogo oranzhevogo ta metilenovogo blakitnogo z poverhni termorozshirenogo grafitu / V.O. Gabovich, V.O. Pokrovs'kij // *Him., fiz. ta tehnologija poverhni*. – 2013. – Т. 4, № 2. – С. 196–201.
233. Квантовохімічне дослідження структурних перетворень акридинового оранжевого в умовах лазерної десорбції/іонізації на поверхні терморозширеного графіту / Є.М. Дем'яненко, А.Г. Гребенюк, В.В. Лобанов [та інш.] // *Хім., фіз. та технологія поверхні*. – 2014. – Т. 5, № 3. – С. 284–290. / *Kvantovohimichne doslidzhennja strukturnih peretvoren' akridinovogo oranzhovogo v umovah lazernoї desorbciї/ionizaciї na poverhni termorozshirenogo grafitu* / Є.М. Dem'janenko, A.G. Grebenjuk, V.V. Lobanov [ta insh.] // *Him., fiz. ta tehnologija poverhni*. – 2014. – Т. 5, № 3. – С. 284–290.
234. Photocatalytic degradation of methylene blue on nanocrystalline TiO₂: Surface mass spectrometry of reaction intermediates / H. Gnaser, M.R. Savina, W.F. Calaway [et al.] // *Int. J. Mass Spectrom.* – 2005. – V. 245, № 1-3. – P. 61–67.
235. Kertesz V. Electropolymerization of Methylene Blue investigated using on-line electrochemistry / electro spray mass spectrometry / V. Kertesz, G.J. Van Berkel // *Electroanalysis*. – 2001. – V. 13, № 17. – P. 1425–1430.
236. Quantification of cationic anti-malaria agent methylene blue in different human biological matrices using cation exchange chromatography coupled to tandem mass spectrometry / J. Burhenne, K.D. Riedel, J. Rengelshausen [et al.] // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2008. – V. 863, № 2. – P. 273–282.
237. Analysis of methylene blue and its metabolites in blood by capillary electrophoresis/electrospray ionization mass spectrometry / F. Yang, S. Xia, Z. Liu, Chen J, Lin Y, Qiu B, Chen G. [et al.] // *Electrophoresis*. – 2011. – V. 32, № 6-7. – P. 659–64.
238. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry / H. Wang, J. Liu, R.G. Cooks, Z. Ouyang // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2010. – V. 49, № 5. – P. 877–880.