ЖУРНАЛ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2023, том 97, № 5, с. 617–623

ФИЗИКА И ХИМИЯ ЭЛЕМЕНТАРНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

УДК 546.72+577.352.22+577.121.7

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С МЕМБРАНОЙ ФОСФАТИДИЛХОЛИНОВЫХ ЛИПОСОМ: ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ[1]

© 2023 г. Д. А. Полетаева[a,*], И. И. Файнгольд[a], Ю. В. Солдатова[a], А. В. Смолина[a], М. А. Савушкин[b], Н. А. Санина[a,c], С. М. Алдошин[a]

[a] *Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Россия*

[b] *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия*

[c] *Научно-образовательный центр "Медицинская химия" Московского государственного областного университета, Мытищи, Московской область, Россия*

*****e-mail: dapol@icp.ac.ru*

Поступила в редакцию 20.10.2022 г.
После доработки 20.10.2022 г.
Принята к публикации 02.11.2022 г.

С помощью флуоресцентных зондов: 8-анилино-1-нафталинсульфоната (АНС), эозина Y и пирена изучено взаимодействие трех нитрозильных комплексов железа (перспективных противовоспалительных агентов и кардиопротекторов) с липосомами. Показано, что исследуемые комплексы конкурируют с молекулами АНС за места связывания с поверхностью липосом. Также исследован уровень встраиваемости комплексов в липидный бислой методом тушения флуоресценции зондов эозина Y и пирена. На основании полученных данных предположено, что нитрозильные комплексы железа взаимодействует с головными группами фосфолипидов, а также проникают глубже в бислой, в область жирнокислотных остатков, где влияют на упорядочение углеводородных цепей жирных кислот. Показано, что выраженные мембранотропные свойства комплексов коррелируют с их способностью влиять на процесс перекисного окисления липидов, причем комплексы, имеющие высокую константу связывания с гидрофобным зондом пиреном, являются наиболее эффективными антиоксидантами.

Ключевые слова: нитрозильные комплексы железа, доноры NO, мембрана, липосомы, флуоресцентные зонды, перекисное окисление липидов

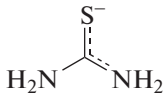
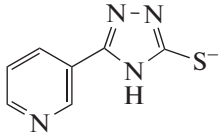
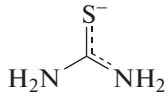
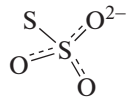
DOI: 10.31857/S0044453723050217, **EDN:** HLWJUG

Нитрозильные комплексы железа – универсальные регуляторы множества метаболических реакций [1]. Из-за того, что данные соединения отличаются низкой стабильностью, которая и делает их эффективными донорами монооксида азота (NO), исследование фундаментальных механизмов их взаимодействия с клеточными мишенями остается трудной и интересной задачей.

Исследуемые в настоящей работе соединения представляют собой гибридные молекулы, содержащие серосодержащие лиганды природного происхождения и NO-группы. Так, комплекс $[Fe(SC(NHCH_3)_2)_2(NO)_2]Cl\cdot H_2O$ (**1**) представляет собой катионный [1Fe–2S] динитрозильный комплекс железа с тиомочевиной [2]. Комплекс **2** – натриевая соль анионного динитрозильного комплекса железа $Na[Fe(C_7H_5N_4S)_2(NO)_2]\cdot 2.5H_2O$, в котором тетраэдрический атом железа скоординирован двумя NO-группами и двумя 5-(3-пиридил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиолами [3]. Комплекс $[Fe(SC(NH_2)_2)_2(NO)_2]_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4]$ (**3**) – соединение, содержащее два разных по структуре сера-нитрозильных комплексов железа в одном кристалле: катион моноядерного динитрозильного железа с тиокарбамидным лигандом и анион биядерного тетранитрозильного железа с тиосульфатным лигандом типа "m-S" [4]. Все исследуемые нитрозильные комплексы железа (НКЖ) – эффективные доноры монооксида азота, и в основе широкого спектра их биологической активности лежит взаимодействие комплексов с внутриклеточными мишенями. Взаимодействие биологически активных соединений с клеточной

[1] Материалы 10-й Международной конференции, посвященной памяти В.В. Воеводского, "Физика и химия элементарных химических процессов", Новосибирск, 5–9 сентября 2022 г.

Таблица 1. Значения рассчитанных коэффициентов распределения для лигандов, входящих в состав исследуемых комплексов

НКЖ	Лиганд	Формула	lg P_{ow}
1	тиомочевина		–0.92
2	5-(3-пиридил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиолил		2.3
3	тиомочевина		н/о
	тиосульфат		

мембраной играет основную роль в их фармакокинетике, поскольку, независимо от механизма действия, для проявления биологической активности молекулы биологически активных соединений должны проникнуть через одну или несколько мембран.

Для оценки мембранотропности НКЖ был проведен расчет коэффициента распределения октанол/вода (lg P_{ow}), который широко используется в химии и фармакологии для оценки способности веществ проникать через клеточные мембраны. С помощью программного обеспечения ALOGPS 2.1 были теоретически рассчитаны величины lg P_{ow} для лигандов, входящих в состав комплексов (табл. 1).

Как показывают полученные данные, комплекс **1** обладает хорошей растворимостью в воде, что может препятствовать его связыванию с поверхностью клеток. Лиганды, входящие в состав комплекса **2**, гидрофобны, а значит, его молекулы могут в той или иной степени связываться с мембраной. Это, в свою очередь, ограничивает контакт комплекса с водной средой, снижая скорость его гидролиза.

Основные особенности взаимодействия НКЖ с биологической мембраной можно изучить с помощью простых модельных систем, таких как фосфатидилхолиновые липосомы, имитирующие естественную двухслойную липидную мембрану. Возможны три различных типа взаимодействия между НКЖ и липидами: взаимодействие с полярными головками липидов, с гидрофобными алкильными цепями и с гидрофильными головками и гидрофобными хвостами одновременно.

В настоящей работе мы исследовали взаимодействие НКЖ с гирофильными и гиброфобными областями модельных мембран с помощью метода фруоресцентных зондов. Преимущества данного метода – его высокая чувствительность, низкая степень вмешательства в структуру мембраны и мгновенный отклик зондов на изменение свойств окружающей их среды.

Основная цель исследования – лучшее понимание взаимодействий НКЖ с фосфолипидами, в частности, оценка уровня их спонтанной интеграции в бислой.

Прежде чем перейти к исследованию тушения флуоресценции, мы исследовали процесс связывания молекул 8-анилино-1-нафталинсульфокислоты (АНС) с мембраной в области полярных головок фосфолипидов [5, 6]. Результаты экспериментов показывают, конкурируют ли исследуемые НКЖ с молекулами АНС за места связывания на поверхности липосомальной мембраны. Также метод позволяет вычислить параметры ассоциации и изменение поверхностного электростатического потенциала.

В процессе эксперимента различные концентрации исследуемых НКЖ (0, 10, 50 мкМ) инкубировались с липосомами при 37°C в течение 60 мин при постоянной концентрации липида (0.5 мМ). Липосомы были приготовлены путем ультразвуковой обработки липидов по известному методу [7]. Эксперименты были выполнены на флуоресцентном спектрофотометре Agilent Cary Eclipse. После инкубации образцы титровались 1 мМ раствором АНС в буфере *трис*-HCl (0.02 М, pH 7.2). Флуоресценция АНС измерялась на длине волны 482 нм, длина волны возбуждения 380 нм. Адсорбционные данные связывания АНС с липосомами представляют собой изотермы Ленгмюра и были проанализированы с помощью уравнения:

$$[\mathrm{ANS}]_{\mathrm{B}} = C_{\max}\frac{K[\mathrm{ANS}]_{\infty}^{b}}{1+K[\mathrm{ANS}]_{\infty}^{b}}, \qquad (1)$$

где K – константа связывания, $C_{\max}$ – максимальная концентрация, связанная с липосомами, b – кооперативность процесса связывания, $[\mathrm{ANS}]_{\mathrm{B}}$ – концентрация связанного АНС, $[\mathrm{ANS}]_{\infty}$ – концентрация свободного АНС. На практике концентрация связанного АНС пропорциональна интенсивности флуоресценции. Для расчета изменения поверхностного электростатического потенциала может быть использовано уравнение:

$$\Delta\Psi = \frac{RT}{F}\ln\frac{K_{\text{НКЖ}}}{K_0}, \qquad (2)$$

где R и F – универсальная газовая постоянная и постоянная Фарадея, T – температура в градусах Кельвина, $K_{\text{нкж}}$ и K_0 – константы связывания

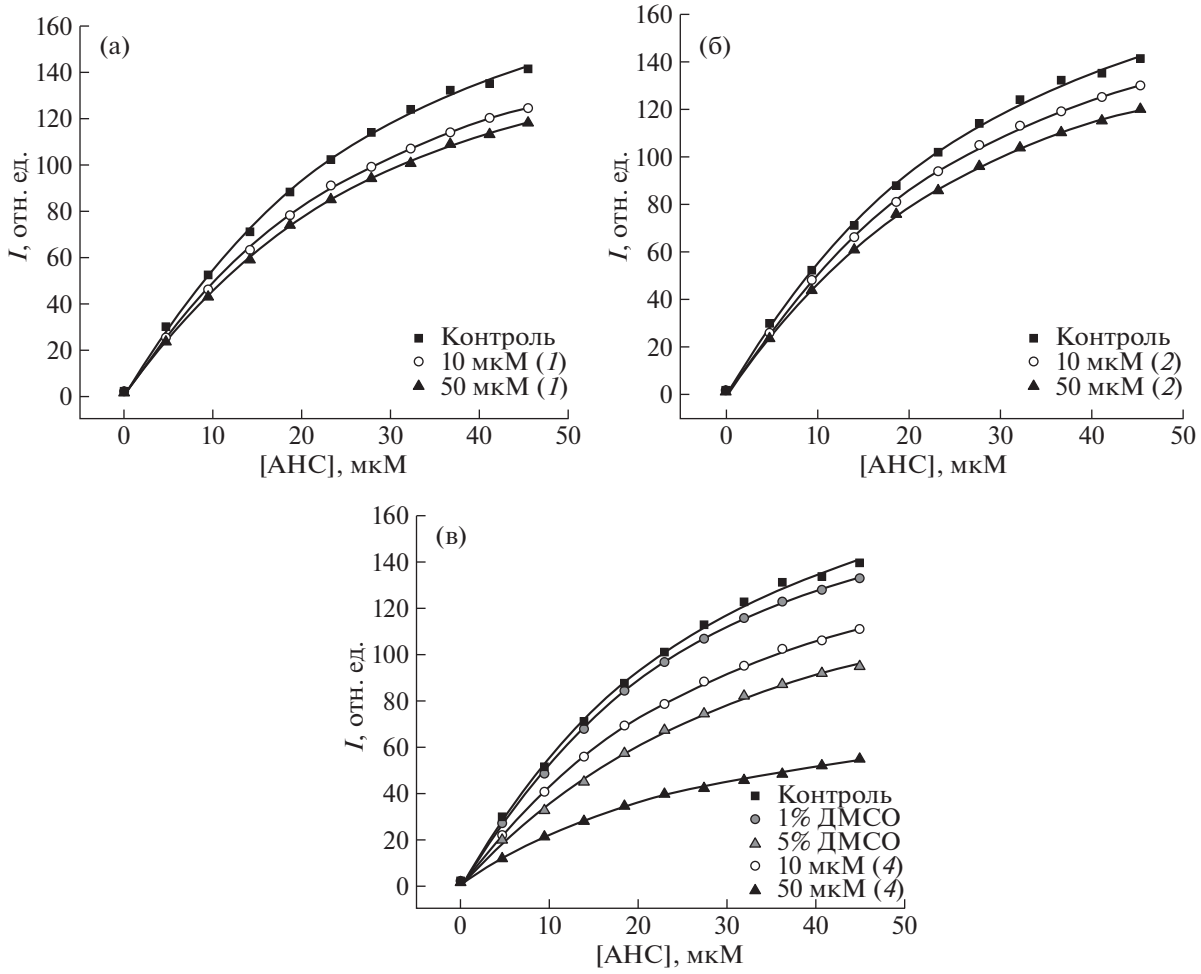


Рис. 1. Интенсивность флуоресценции (*I*) как функция концентрации АНС для комплексов **1** (а), **2** (б), **3** (в).

АНС в присутствии и в отсутствие НКЖ соответственно [8].

АНС представляет собой анионный зонд, квантовый выход флуоресценции которого растет, когда полярность его окружения снижается. Квантовый выход флуоресценции АНС в воде составляет 0.0032, при присоединении молекулы зонда к месту связывания в липосоме, которое представляет собой четыре полярные головки фосфолипидов, квантовый выход достигает значений 0.2–0.3, а время жизни флуоресценции составляет 5–9 нс [5, 9]. Как видно из рис. 1, при взаимодействии с липидной мембраной исследуемые комплексы конкурируют с АНС за места связывания, что хорошо видно из сравнения интенсивности флуоресценции в контроле (без добавления НКЖ). В данном исследовании нами было принято решение не учитывать количество молекул АНС, флуоресценция которых была потушена в результате взаимодействия с НКЖ. Данное допущение позволяет сравнивать минимально возможные значения констант связывания АНС с мембраной в присутствии НКЖ. На рис. 1в показано, что диметилсульфоксид (ДМСО), используемый в качестве растворителя комплекса **3**, вносит вклад в изменение интенсивности флуоресценции АНС, особенно в концентрации 5% (содержание ДМСО 1 и 5% эквивалентно таковому при добавлении комплекса **3** в исследуемых концентрациях). Данное явление может быть объяснено тем, что ДМСО активно взаимодействует с бислоем в области полярных головок фосфолипидов, увеличивая расстояние между липидами и уменьшая толщину мембраны [10]. При этом снижается полярность данной области мембраны и, соответственно, снижается интенсивность флуоресценции АНС. При этом добавление комплекса **3**, растворенного в ДМСО, приводит к гораздо более выраженному по сравнению с растворителем, эффекту, что указывает на высокую тропность данного соединения к мембране.

Значения максимальных концентраций АНС, связанного с липосомами и констант связыва-

Таблица 2. Параметры, полученные из анализа связывания АНС с мембраной липосом

НКЖ	C_{max}, мкМ	K, $М^{-1}$	$\Delta\Psi$, мВ
Контроль	221 ± 17	0.026 ± 0.002	
1, 10 мкМ	188 ± 6*	0.025 ± 0.001	−1
1, 50 мкМ	185 ± 8*	0.025 ± 0.001	−1
2, 10 мкМ	197 ± 6	0.025 ± 0.001	−1
2, 50 мкМ	181 ± 5*	0.025 ± 0.001	−1
3, 10 мкМ	177 ± 6*	0.025 ± 0.001	−1
3, 50 мкМ	90 ± 7*	0.031 ± 0.001*	+5

* – $p \le 0.05$.

ния, полученные путем анализа изотерм с помощью уравнения (1), и рассчитанные значения изменения поверхностного электростатического потенциала (уравнение (2)) представлены в табл. 2.

Значения C_{max} в присутствии исследуемых комплексов были достоверно ниже, чем в контроле (без добавления НКЖ), но для соединения **2** достоверным было снижение C_{max} только при высокой концентрации комплексов (50 мкМ). Интересным фактом оказалось то, что значения поверхностного электростатического потенциала существенно изменялись лишь при добавлении комплекса **3** в высокой концентрации. Это не связано с использованием ДМСО в качестве растворителя, поскольку добавление эквивалентного количества ДМСО не приводило к отличному от контроля изменению поверхностного электростатического потенциала. Повышение указанного потенциала, вероятно, вызвано структурными изменениями поверхности мембраны, связанными с присоединением и встраиванием моноядерного тиосульфатного динитрозильного комплекса железа $[Fe(S_2O_3)(NO)_2]$, который образуется в результате гидролиза комплекса **3** [11].

Данные результаты измерений относительны и должны рассматриваться только как индикативные для процесса связывания АНС с мембраной с области полярных головок фосфолипидов. При взаимодействии НКЖ с биологическими мембранами изменения поверхностного электростатического потенциала могут быть более заметными, поскольку большинство мембранных белков, все нативные заряженные липиды, а также многие поверхностно-адсорбированные молекулы создают на поверхности мембраны слой зарядов, который может достигать толщины 20 нм [12].

Глубина встраиваемости в липидный бислой также исследовалась методом тушения флуоресценции. Флуоресцентные метки (эозин Y и пирен) были добавлены к суспензии липосом в концентрциях 2 и 10 мкМ соответственно. Малые аликвоты концентрированных растворов НКЖ последовательно добавлялись к суспензии липосом. Спектр флуоресценции эозина Y записывался от 530 до 600 нм, длина волны возбуждения 517 нм. Спектр флуоресценции пирена записывался от 350 до 600 нм, длина волны возбуждения 337 нм.

Результаты представлены на рис. 2 в виде классических штерн-фольмеровских графиков тушения флуоресценции зонда исследуемыми нитрозильными [Fe–S]-комплексами.

Из угла наклона линейных анаморфоз в координатах Штерна–Фольмера были найдены значения константы равновесия комплексов НКЖ с молекулами эозина (табл. 3). Для комплекса **2** процесс тушения флуоресценции не описывается линейной зависимостью в координатах Штерна–Фольмера. Наиболее вероятная причина такого отклонения от линейной зависимости – низкая

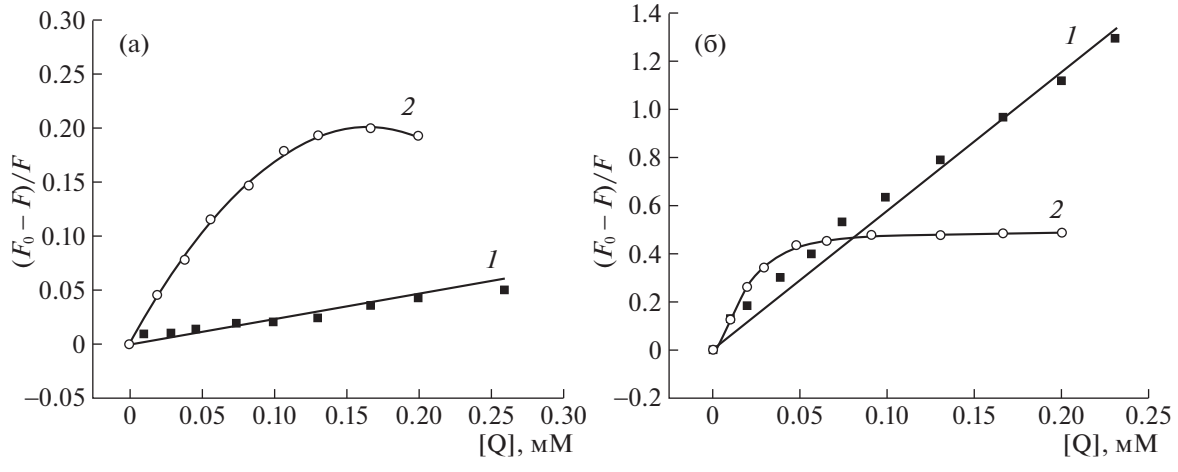


Рис. 2. Тушение флуоресценции эозина Y соединениями **1** и **2** в буфере *трис*-HCl (pH 7.2, 0.02 М) (а) и в суспензии фосфатидилхолиновых липосом (б).

растворимость комплекса **2** в воде в силу его липофильной природы. Поэтому для вычисления констант равновесия был взят линейный участок зависимости, где при низких концентрациях соединения он хорошо растворяется. Таким образом, можно считать, что для соединений **1** и **2** значения констант равновесия близки, при этом в суспензии липосом значения в несколько раз выше, чем в буфере, что указывает на эффективное взаимодействие НКЖ с мембраной, а именно с полярными головками липидов, так как молекулы эозина связываются с мембраной в этой области. Для соединения **3** подобный эксперимент провести было невозможно из-за того, что он не растворим в воде. Полученные результаты указывают на способность НКЖ взаимодействовать с полярными головками липидов, сорбируясь на границе раздела фаз вода/мембрана, что хорошо коррелирует с данными, полученными из анализа связывания АНС с мембраной липосом.

Чтобы убедиться в присутствии исследуемых НКЖ в области жирнокислотных остатков фосфолипидов, был использован гидрофобный зонд пирен, локализующийся в области жирнокислотных остатков фосфолипидов [13]. Пирен обладает рядом особенностей, позволяющих получать информацию о структуре и состоянии гидрофобной области фосфолипидных мембран. Время жизни возбужденного синглетного состояния пирена составляет ~100 нс [13], что в ~100 раз больше, чем у эозина Y. Это позволяет исследовать более медленные диффузионные процессы в структуре модельных или биологических мембран. Еще одна особенность пирена – способность возбужденных молекул зонда образовывать комплексы с невозбужденными молекулами пирена – так называемые эксимеры. Спектр флуоресценции эксимера сдвинут в длинноволновую область по сравнению с мономером. Согласно литературным данным, полученным методом ПМР, пирен при введении в структуру мембран локализован в области гидрофобных углеводородных цепей фосфолипидов [14]. Известно, что спектр флуоресценции пирена состоит из двух компонент: максимума на длине волны 394 нм, относящегося к мономерной форме пирена, и широкого пика в диапазоне 475 нм, соответствующего эксимерной форме пирена. Эксимеры пирена образуются при ассоциации возбужденных и невозбужденных молекул зонда, и процесс их образования является диффузионно-контролируемым [15]. При использовании пирена в качестве флуоресцентного зонда за время жизни возбужденного состояния (80–120 нс в липосомах) мономеры пирена успевают переместиться в мембране на 20–40 Å, что позволяет анализировать структуру мембран в этом диапазоне расстояний. Различные случаи статического и динамического тушения пирена в эксимерной и мономерной форме другими молекулами в мембране могут дать ценную информацию о структуре мембраны и мембранотропности изучаемых соединений.

Таблица 3. Значения констант равновесия исследуемых НКЖ с эозином Y и пиреном и ингибирование ($I_{ХЛ}$) хемилюминесценции комплексами в концентрации 0.01 мМ

НКЖ	$K_{пирен}$, $М^{-1}$	$K_{эозин/мемб}$, $М^{-1}$	$K_{эозин/буфер}$, $М^{-1}$	$I_{ХЛ}$, %
1	2.5×10^4	0.57×10^4	0.02×10^4	60 ± 6
2	38×10^4	10^4	0.17×10^4	90 ± 4
3	37×10^4	–	–	92 ± 2

В настоящей работе исследовалось взаимодействие НКЖ с липосомами по регистрации изменения интенсивности флуоресценции пирена, встроенного в структуру липосом (рис. 3).

При добавлении к суспензии липосом растворов НКЖ наблюдалось эффективное тушение флуоресценции пирена (рис. 3а), а также изменение соотношения между “мономерным” ($F_м$) и “эксимерным” ($F_э$) пиками (рис. 3б). Это указывает на эффективное взаимодействие НКЖ с возбужденными молекулами пирена как в мономерной, так и в эксимерной форме, приводящее к их тушению. Значения констант равновесия приведены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, для комплексов **2** и **3** значения констант равновесия на порядок выше, что, вероятно, обусловлено более эффективным взаимодействием липофильных комплексов с молекулами пирена. При исследовании процесса эксимеризации пирена было выявлено, что связывание комплексов с липидами модельных мембран приводило к уменьшению соотношения $F_э/F_м$. Поскольку соотношение $F_э/F_м$ рассматривается как параметр скорости латеральной диффузии молекул в липидном бислое, полученные данные свидетельствуют об уменьшении свободного объема бислоя при образовании контактов комплексов с липидами.

Известно, что физическое состояние липидного бислоя оказывает влияние на скорость окисления липидов в липосомах [16]. Целый ряд антиоксидантов, оказывающих терапевтическое воздействие, например, лазароиды [17, 18], пробукол [19, 20] и α-токоферол [21–23] селективно связываются с определенными доменами или участками в липидном бислое, провоцируя изменения в молекулярной упаковке и динамике липосомальных мембран. Предположено, что природа и место взаимодействия лекарственного средства с бислоем могут играть роль в эффективности этих соединений как антиоксидантов в перекисном окислении липидов (ПОЛ). Образующиеся в ор-

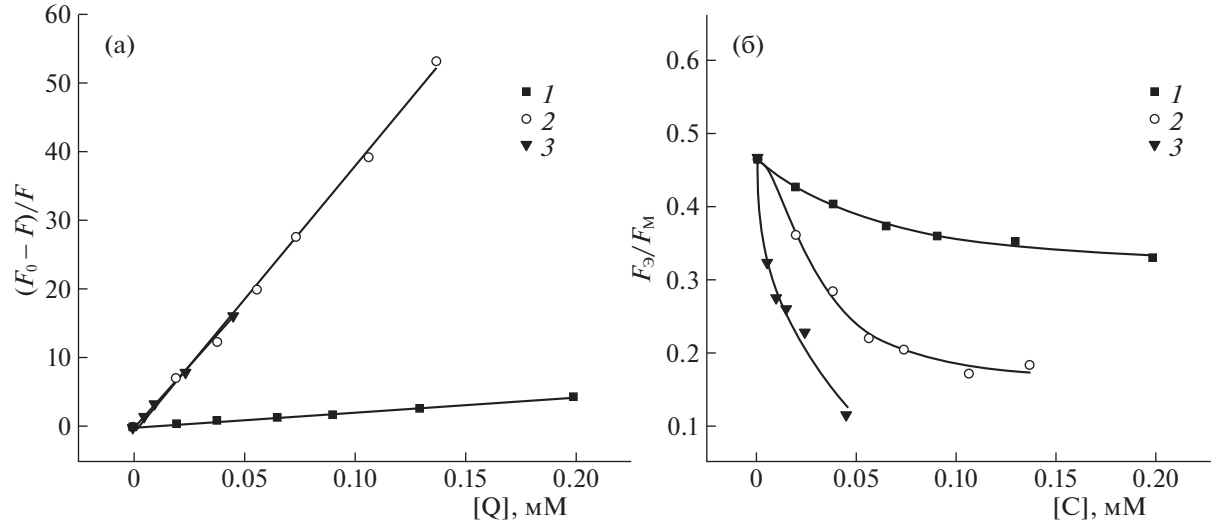


Рис. 3. Тушение флуоресценции пирена НКЖ в суспензии фосфатидилхолиновых липосом (а); изменение коэффициента эксимеризации пирена в зависимости от концентрации исследуемых НКЖ (б).

ганизме свободные радикалы нарушают структуру мембран клеток, что приводит к развитию различных патологических состояний [24]. Однако степень участия окислительного стресса в развитии патологии весьма вариабельна, поскольку эффективность системы антиоксидантной защиты организма может быть ограничена при некоторых заболеваниях. Поэтому низкомолекулярные соединения – перехватчики (ловушки) радикалов могут играть важную роль в предупреждении разрушающего воздействия активных форм кислорода. В настоящей работе антиоксидантная активность НКЖ изучалась с помощью высокочувствительного метода хемилюминесценции (ХЛ) с использованием люминола в качестве активатора ХЛ. Данный метод позволяет определять общее количество радикалов, связанное в образце, путем определения площади под кинетической кривой люминесценции (светосуммы ХЛ за заданное время). Результаты, представленные в табл. 1 показывают, что в концентрации 10 мкМ все исследуемые НКЖ снижали светосумму ХЛ: комплекс **1** – на 60%, а комплексы **2** и **3** – на 90 и 92% соответственно. Ранее нами было показано, что антиоксидантное действие тетранитрозильного комплекса железа (ТНКЖ) обусловлено взаимодействием выделяемого оксида азота с радикалами липидов, в результате чего происходит обрыв цепи свободнорадикального окисления. Этот вывод может быть справедливым и для комплексов, исследуемых в настоящей работе, поскольку доноры NO могут быть эффективными антиоксидантами как *in vitro*, так и *in vivo*, благодаря тому, что для ингибирования процесса ПОЛ требуются наномолярные концентрации NO [25].

Таким образом, в настоящей работе установлено, что исследуемые НКЖ взаимодействуют с липидным бислоем как в области полярных головок фосфолипидов, так и в области неполярных остатков жирных кислот. В то время как на разделе фаз вода/мембрана исследуемые НКЖ не влияют на подвижность головных групп фосфатидилхолина, в гидрофобной фазе исследуемые комплексы влияют на упорядочение углеводородных цепей жирных кислот. Встраивание комплексов в мембрану вызывает уменьшение свободного объема бислоя, при этом микровязкость мембраны растет. Выраженные мембранотропные свойства НКЖ коррелируют с их способностью влиять на процесс перекисного окисления липидов. При этом комплексы **2** и **3**, имеющие высокую константу связывания с гидрофобным зондом пиреном, служат наиболее эффективными антиоксидантами. Поскольку НКЖ могут действовать как модуляторы свойств бислоя, то, вероятно, они могут влиять и на активность некоторых мембраносвязанных белков. Это предстоит продемонстрировать в дальнейших исследованиях для лучшего понимания молекулярных механизмов биологического действия данных соединений.

Исследование взаимодействия исследуемых соединений с липосомами поддержано грантом Российского научного фонда (проект № 22-24-00764).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vanin A.F.* // Nitric Oxide. 2009. № 1 (21). С. 1–13. https://doi.org/10.1016/j.niox.2009.03.005

2. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al.* // Inorganic Chemistry Comm. 2014. (49). C. 44. https://doi.org/10.1016/j.inoche.2014.09.016

3. *Sanina N.A., Isaeva Y.A., Utenyshev A.N. et al.* // Inorganica Chimica Acta. 2021. (527). C. 120559. https://doi.org/10.1016/j.ica.2021.120559

4. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al.* // New Journal of Chemistry. 2015. № 2 (39). C. 1022. https://doi.org/10.1039/C4NJ01693A

5. *Haynes D.H., Staerk H.* // The Journal of Membrane Biology. 1974. № 1 (17). C. 313. https://doi.org/10.1007/BF01870190

6. *Ma J.Y., Ma J.K., Weber K.C.* // Journal of Lipid Research. 1985. № 6 (26). C. 735–744. https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)34331-5

7. *Rooijen N. Van, Sanders A.* // Journal of Immunological Methods. 1994. № 1–2 (174). C. 83. https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90012-4

8. *Montero M.T., Pijoan M., Merino-Montero S. et al.* // Langmuir. 2006. № 18 (22). C. 7574. https://doi.org/10.1021/la060633c

9. *Haynes D.H.* // The Journal of Membrane Biology. 1974. № 1 (17). C. 341. https://doi.org/10.1007/BF01870191

10. *Hughes Z.E., Mark A.E., Mancera R.L.* // The Journal of Physical Chemistry B. 2012. № 39 (116). C. 11911. https://doi.org/10.1021/jp3035538

11. *Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N.S. et al.* // Dalton Transactions. 2022. № 22 (51). C. 8893–8905. https://doi.org/10.1039/D2DT01011A

12. *Cevc G.* // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Biomembranes. 1990. № 3 (1031). C. 311–382. https://doi.org/10.1016/0304-4157(90)90015-5

13. *Lakowicz J.R.* Ed. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Boston, MA: Springer US, 2006. ISBN: 978-0-387-31278-1.

14. *Podo F., Blasie J.K.* // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1977. № 3 (74). P. 1032.

15. *Förster T., Kasper K.* // Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie. 1955. № 10 (59). C. 976.

16. *Mclean L., Hagaman K.* // Free Radical Biology and Medicine. 1992. № 2(12). C. 113. https://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90004-Z

17. *Hinzmann J.S., McKenna R.L., Pierson T.S. et al.* // Chemistry and Physics of Lipids. 1992. № 2 (62). C. 123. https://doi.org/10.1016/0009-3084(92)90090-C

18. *Audus K.L., Guillot F.L., Mark Braughler J.* // Free Radical Biology and Medicine. 1991. № 4 (11). C. 361. https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90152-S

19. *McLean L.R., Hagaman K.A.* // Biochemistry. 1989. № 1 (28). C. 321. https://doi.org/10.1021/bi00427a043

20. *Dache T.C., Motta C., Neufcour D., Jacotot B.* // Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. 1991. № 1 (10). C. 51. https://doi.org/10.3164/jcbn.10.51

21. *Fukuzawa K., Chida H., Tokumura A., Tsukatani H.* // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1981. № 1 (206). C. 173. https://doi.org/10.1016/0003-9861(81)90078-3

22. *Urano S., Inomori Y., Sugawara T. et al.* // Journal of Biological Chemistry. 1992. № 26 (267). C. 18365. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)36970-4

23. *Suzuki Y.J., Tsuchiya M., Wassall S.R. et al.* // Biochemistry. 1993. № 40 (32). C. 10692. https://doi.org/10.1021/bi00091a020

24. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al.* // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2007. № 1 (39). C. 44. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001

25. *Hummel S.G., Fischer A.J., Martin S.M. et al.* // Free Radical Biology and Medicine. 2006. № 3 (40). C. 501. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.047