

**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА (ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА) –
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

АКЕНТЬЕВА Н.П., САНИНА Н.А., ГИЗАТУЛЛИН А.Р.

**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ
КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА
(ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА) –
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**





ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ
ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

АКЕНТЬЕВА Н.П., САНИНА Н.А., ГИЗАТУЛЛИН А.Р.

**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ
ЖЕЛЕЗА (ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА) –
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ
ЛЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**



МОСКВА
2023

УДК 57, 577, 577.1, 576, 576.08
ББК 28, 28.07, 28.072
А38

А38 Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. /
Акентьева Н.П., Санина Н.А., Гизатуллин А.Р. – М.: РАН, 2023. – 414 с.

ISBN 978-5-907366-99-2

В монографии рассматриваются вопросы, связанные с исследованием цитопротекторных свойств динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ), доноров оксида азота, которые могут использоваться в кардиологии для терапии сердечно-сосудистых заболеваний, и в кардиоонкологии для снижения токсичности противоопухолевых препаратов. Значительное внимание уделено исследованию влияния ДНКЖ на метаболизм клеток, а именно на жизнеспособность клеток, уровень глутатиона, активных форм кислорода, синтез АТФ, на митохондриальный мембранный потенциал. Изучено влияние ДНКЖ на активность ферментов (миелопероксидаза, матриксная металлопротеиназа, ренин, гистондеацетилаза, поли (АДФ-рибоза) -полимераза), являющихся биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний. В работе разработаны методы для таргетной доставки ДНКЖ в клетки организма: увеличение стабильности ДНКЖ, пролонгированное выделение оксида азота за счет инкапсулирования ДНКЖ в состав наночастиц (хитозан-гиалуроновая кислота).

Книга рассчитана на научных сотрудников, врачей различного профиля, преподавателей и студентов вузов медицинских и биологических специальностей.

УДК 57, 577, 577.1, 576, 576.08
ББК 28, 28.07, 28.072

ISBN 978-5-907366-99-2

© Акентьева Н.П., Санина Н.А., Гизатуллин А.Р.

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|-----------|
| Список сокращений..... | 8 |
| Введение | 10 |
| Глава I. Роль оксида азота в регуляции биологических процессов | 16 |
| 1. Открытие оксида азота (NO) | 16 |
| 2. Физические свойства оксида азота | 17 |
| 3. Образование оксида азота в организме | 17 |
| 4. Физиологические эффекты оксида азота | 19 |
| 5. Роль оксида азота в функционировании сердечно-сосудистой системы | 21 |
| 6. Общая характеристика доноров оксида азота | 23 |
| 1.6.1. Нитрат / нитрит / нитрозосоединения | 24 |
| 1.6.2. N-диазениумдиолаты | 25 |
| 1.6.3. S-нитрозотиолы | 26 |
| 7. Динитрозильные комплексы железа, доноры NO: структура, свойства | 27 |
| 8. Применение ДНКЖ (доноров NO) в медицине | 28 |
| 9. Кардиотоксическое и кардиопротекторное действие доноров оксида азота | 32 |
| Глава II. Ферменты-биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний | 34 |
| 2.1. Миелопероксидаза, свойства и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний | 36 |
| 2.1.1. Свойства миелопероксидазы | 36 |
| 2.1.2. Молекулярные мишени миелопероксидазы | 39 |
| 2.1.3. Влияние миелопероксидазы на уровень оксида азота | 41 |
| 2.1.4. Механизмы участия миелопероксидазы в развитии сердечно-сосудистых заболеваний | 42 |
| 2.1.5. Ингибиторы миелопероксидазы с кардиопротекторными эффектами | 45 |
| 2.2. Матриксные металлопротеиназы, характеристика и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний | 48 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.1. Структура и регулирование матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) | 51 |
| 2.2.2. Ингибирование активности ММП-9 под действием оксида азота | 53 |
| 2.2.3. Роль ММП в сердечно-сосудистых заболеваниях | 54 |
| 2.2.4. Тканевые и синтетические ингибиторы ММП | 55 |
| 2.2.5. Влияние ММП на формирование и дестабилизацию атеросклеротической бляшки | 58 |
| 2.2.6. Использование доноров/миметиков NO, ингибиторов ММП в качестве терапевтических агентов | 60 |
| 2.3. Свойства и функции поли (АДФ-рибоза)полимеразы | 62 |
| 2.3.1. Поли (АДФ-рибоза)полимераза – биомаркер развития сердечно-сосудистых заболеваний | 65 |
| 2.3.2. Ингибиторы поли (АДФ-рибоза) полимеразы | 66 |
| 2.4. Ренин, его функция и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний | 69 |
| 2.4.1. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система | 69 |
| 2.4.2. Изменения нейрогуморальной активности в остром периоде инфаркта миокарда | 70 |
| 2.4.3. Применение ингибиторов ренина для лечения сердечно-сосудистых заболеваний | 72 |
| 2.4.4. Пептиды управляют ингибированием ренина | 73 |
| 2.4.5. Новая эра непептидных ингибиторов ренина | 75 |
| 2.5. Гистондеацетилазы, роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний | 77 |
| 2.5.1. Свойства гистондеацетилаз (HDAC) | 77 |
| 2.5.2. Роль HDAC1, 2, 5 и 9 в росте, развитии и функционировании сердца | 78 |
| 2.5.3. Терапевтическое действие ингибиторов HDAC | 80 |
| Глава III. Факторы, влияющие на жизнеспособность клеток | 84 |
| 3.1. Цитопротекторные свойства глутатиона в организме человека ... | 88 |
| 3.2. Роль глутатионовой системы в механизмах кардиопротекции | 91 |
| 3.3. Цитотоксичные свойства активных форм кислорода | 95 |
| 3.4. Регуляторные свойства активных форм кислорода | 96 |

| | | |
|----------|--|-----|
| 3.5. | Роль НАДН-дегидрогеназного комплекса в жизнеспособности клеток | 98 |
| 3.6. | Митохондриальное разобщение окислительного фосфорилирования, образование АФК и кардиопротекция | 101 |
| 3.6.1. | Митохондриальная утечка протонов | 103 |
| 3.6.2. | Разобщение митохондрий, утечка протонов и генерация АФК | 104 |
| 3.6.3. | Разобщающие белки и образование АФК | 123 |
| 3.6.4. | Митохондриальное разобщение и его роль в кардиопротекции | 106 |
| 3.6.5. | Роль химических разобщителей в кардиопротекции | 108 |
| 3.6.6. | Разобщающие белки и их роль в кардиопротекции | 109 |
| 3.6.6.1. | Белок-разобщитель UCP1 | 109 |
| 3.6.6.2. | Белок-разобщитель UCP2 | 111 |
| 3.6.6.3. | Белок-разобщитель UCP3 | 113 |

Глава IV. Наночастицы для таргетной доставки лекарственных препаратов 117

| | | |
|------|---|-----|
| 4.1. | Тканевый таргетинг | 118 |
| 4.2. | Клеточный таргетинг | 118 |
| 4.3. | Молекулярный таргетинг | 119 |
| 4.5. | Наночастицы для доставки оксида азота | 119 |
| 4.6. | Наночастицы хитозан – гиалуроновая кислота для стабилизации и доставки ДНКЖ | 122 |

Глава V. Динитрозильные комплексы: синтез, структура, NO-донорная активность 126

| | | |
|------|--|-----|
| 5.1. | Синтез катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее алифатическими производными | 126 |
| 5.2. | Молекулярное и кристаллическое строение катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными | 134 |
| 5.3. | ИК-спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными | 145 |
| 5.4. | Мессбауэровская спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными | 150 |
| 5.5. | ЭПР-спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными | 152 |

5.6. Исследование NO-донорной активности катионных ДНКЖ ... 158

Глава VI. Влияние динитрозильных комплексов железа на ферментативные мишени сердечно-сосудистых заболеваний 172

6.1. Эффект динитрозильных комплексов железа на активность миелопероксидазы 172

6.2. Влияние динитрозильных комплексов железа на активность матриксной металлопротеиназы 175

6.3. Ингибирование активности поли (АДФ-рибоза)-полимеразы под действием динитрозильных комплексов железа 178

6.4. Эффект динитрозильных комплексов железа на активность ренина 180

6.5. Влияние динитрозильных комплексов железа на активность гистондеацетилазы 182

Глава VII. Цитопротекторные свойства динитрозильных комплексов железа 184

7.1. Влияние динитрозильных комплексов железа на жизнеспособность клеток 184

7.2. Влияние ДНКЖ на доксорубин-индуцированную токсичность в фибробластах 187

7.3. Влияние динитрозильных комплексов железа на митохондриальный мембранный потенциал 188

7.4. Влияние динитрозильных комплексов железа на митохондриальный мембранный потенциал клеток в присутствии доксорубина 190

7.5. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень внутриклеточного восстановленного глутатиона 191

7.6. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень аденозинтрифосфата в клетках 193

7.7. Влияние ДНКЖ на активность АТФ-азы в клеточных лизатах фибробластов 193

7.8. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень активных форм кислорода в клетках 195

Глава VIII. Цитотоксичная активность динитрозильного комплекса железа на клетках множественной миеломы 197

Глава IX. Таргетная доставка динитрозильных комплексов железа в составе наночастиц в клетки 202

| | | |
|------|--|-----|
| 9.1. | Исследование физико-химических свойств наночастиц хитозан-гиалуронової кислоты: размер и дзета-потенциал | 202 |
| 9.2. | Исследование локализации наночастиц с доксорубицином в клетках | 204 |
| 9.3. | Анализ локализации наночастиц (гиалуронової кислоты – хитозан), меченных родамином | 205 |
| 9.4. | Исследование выделения NO из наночастиц-ДНКЖ с помощью электрохимического метода | 206 |
| 9.5. | Влияние комплекса наночастицы-ДНКЖ на жизнеспособность клеток | 208 |
| | Заключение | 211 |
| | Выводы | 238 |
| | Рекомендации по использованию научных выводов и перспективы дальнейших исследований | 240 |
| | Список научных публикаций авторов | 242 |
| | Список литературы | 250 |

Список сокращений

- ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа
- МРО – миелопероксидаза
- ММР – матриксная металлопротеиназа
- PARP – поли (АДФ-рибоза)-полимераза
- HDAC – гистондеацетилаза
- АФК – активные формы кислорода
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- NO – оксид азота
- НЧ – наночастицы
- CS – хитозан
- ГК/НА – гиалуриновая кислота
- RHAMM – рецептор гиалуронан опосредованной подвижности (от англ. Receptor for hyaluronan mediated motility/Hyaluronan-mediated motility receptor
- EDRF – эндотелиальный релаксирующий фактор (от англ. Endothelium-derived relaxing factor)
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- nNOS – нейрональная синтаза оксида азота (от англ. Neuron NO-synthase)
- eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота (от англ. Endothelium NO-synthase)
- iNOS – индуцируемая синтаза оксида азота (от англ. induced NO-synthase)
- ЛПНП – липопротеины низкой плотности
- ЛПВП – липопротеины высокой плотности.
- VSMC – клетка гладкой мускулатуры сосудов (от англ. Vascular smooth muscle cell)
- SNP – нитропруссид натрия (от англ. Sodium Nitroprusside)
- SNAP – S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин
- RSNO – S-нитрозотиолы
- JNK – протеинкиназы/c-Jun NH₂-терминальные киназы
- SOD – супероксиддисмутаза
- ХО – ксантиноксидаза

- HOCl – гипохлористая кислота
- TIMP – тканевые ингибиторы MMP
- ECM – внеклеточный матрикс (от англ. Extracellular Matrix)
- EGF – эпидермальный фактор роста (от англ. Epidermal Growth Factor)
- PDGF – тромбоцитарный фактор роста (от англ. Platelet-derived growth factor)
- PPARs – рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (от англ. Peroxisome proliferator-activated receptors)
- ИМ / МІ – инфаркт миокарда
- FDA – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (от англ. Food and Drug Administration)
- РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система (от англ. RAS)
- АГ – артериальная гипертония
- АТГ – ангиотензиноген
- SAHA – субероиланилид гидроксамовой кислоты (от англ. Suberoylanili de Hydroxamic Acid)
- GSH – восстановленный глутатион
- GSSG – окисленный глутатион
- UCP – разобщающие белки
- БЖТ – бурая жировая ткань
- ИР – ишемия-реперфузия
- RET – обратный транспорт электронов (от англ. Reverse Electrons Transport)
- DNP – 2,4-динитрофенол
- FCCP – карбонилцианид-п-три-фтор-рометокси фенилгидразон
- СССР – карбонилцианид м-хлорфенилгидразон
- GSIS – стимулированная глюкозой секреция инсулина
- ИПК – ишемическое прекондиционирование
- DLS – динамическое светорассеяние (от англ. Dynamic Light Scattering)

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смерти во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ССЗ занимают первое место по смертности в мире [1]. По оценкам ВОЗ, ежегодно от сердечно-сосудистых заболеваний умирает 17,9 миллиона человек, что составляет 31 % всех смертей в мире [1, 2]. Сердечно-сосудистые заболевания составляют 49 % причин всех смертей населения Европы [1]. Смертность от ССЗ и инвалидность являются значительным бременем во многих странах, и, несмотря на снижение смертности за последние два десятилетия, экономические потери от сердечно-сосудистых заболеваний возросли в странах с низким и средним уровнем дохода [2]. Для России патология сердечно-сосудистой системы является крайне актуальной проблемой, поскольку определяет более половины случаев инвалидности и смертности взрослого населения [1, 2]. В частности, артериальная гипертензия является серьезным заболеванием, значительно повышающим вероятность инфаркта, риск инсульта, развития почечной недостаточности, глаукомы и слепоты. Артериальная гипертензия является одной из основных причин преждевременной смерти во всем мире [3]. Кроме того, по статистике ВОЗ, от ишемической болезни сердца умерло 7,4 млн человек, а от инсульта – 6,7 млн человек в 2013 г. [3]. Имеющиеся на данный момент времени гипотензивные препараты характеризуются кратковременным действием и проявляют много побочных эффектов, таких как гипокалиемия, кардиоваскулярные осложнения и так далее. Поэтому синтез новых потенциальных кардиологических препаратов и изучение их механизма действия являются актуальной и важной задачей.

Кроме того, кардиотоксичность, обусловленная химиотерапией, является одним из наиболее значительных побочных эффектов при лечении онкологических заболеваний и вызывает значительную смертность среди выживших после рака. Онкологические заболевания находятся на втором месте после ССЗ по смертности [4]. Рак вызывает значительную долю смертей во всем мире, и в частности в Соединенных Штатах Америки и России [4, 5]. Согласно статистическим данным, в 2013 г. от рака умерло более 8 миллионов человек. Смертность от рака переместилась с третьей ведущей причины смерти в 1990 г. на вторую ведущую причину смерти в 2013 г. после болезней сердца [6]. Следует отметить, что современная противоопухолевая терапия, включающая химиотерапию, лучевую терапию, таргетную терапию, позволяет сохранить жизнь и

-
1. Сердечно-сосудистые заболевания. // Информационный бюллетень ВОЗ. 2015. № 317. P. 1–10
 2. Collins D.R., Tompson A.C., Onakpoya I.J., Roberts N., Ward A.M., Heneghan C.J. Global cardiovascular risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease in adults: systematic review of systematic reviews. // *BMJ Open*. 2017. V. 7. № 3. e013650 doi: 10.1136/bmjopen-2016-013650
 3. Global action plan for the prevention and control of NCDs. // WHO. 2013. 55.1-40.
 4. Zaorsky N. G., Churilla T. M., Egleston B. L., Fisher S. G., Ridge J. A., Horwitz E. M. et al. Causes of death among cancer patients. // *Ann. Oncol.* 2017. V. 28. P. 400–407. doi:10.1093/annonc/mdw604
 5. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer statistics, 2014. // *CA Cancer J. Clin.* 2014. V. 64. №1. P. 9–29. doi: 10.3322/caac.21208.
 6. Coleman M. P., Gatta G., Verdecchia A., Esteve J., Sant M., Storm H. et al. EURO CARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. // *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2003.14 (Suppl 5), v128–v149.

социальную адаптацию онкологических больных на десятилетия. Однако при лечении рака происходит воздействие на ткани сердца, что приводит к очень тяжелому осложнению – токсической кардиомиопатии [7]. Среди побочных эффектов химиотерапевтических средств на сердечно-сосудистую систему наиболее частым и серьезным является сердечная недостаточность с систолической желудочковой дисфункцией. Кроме того, другие токсические эффекты включают ишемию миокарда, систолическую или диастолическую дисфункцию миокарда, хроническую сердечную недостаточность, артериальную или легочную гипертонию, инсульты, перикардит, аритмию, тромбоэмболические заболевания, крайне неблагоприятно влияющие на выживаемость этих пациентов [7-9]. В течение нескольких десятилетий кардиомиопатия, вызванная химиотерапией лечения рака, в основном была связана с применением кумулятивных доз антрациклинов (доксорубицин, эпирубицин) и трастузумаба, которые являются химиотерапевтическими агентами с наиболее выраженными кардиологическими побочными эффектами [4, 7-9, 10-12].

Исследованиями в области молекулярной кардиологии установлена центральная роль оксида азота (NO) в регуляции тонуса сосудов сердечно-сосудистой системы и метаболизма миокарда [13-15]. Оксид азота представляет собой газообразную липофильную молекулу, генерируемую в клетках тремя различными изоформами синтетаза оксида азота (NOS): нейрональной (nNOS), индуцируемой (iNOS) и эндотелиальной NOS (eNOS) [16]. Молекула NO является сигнальным биорегулятором, влияющим на различные физиологические и патологические процессы в клетке [16, 17].

7. Łacko A., Włodarska I., Zymliński R., Mazur G., Wróbel T., Gisterek I. Cardiac toxicity in cancer therapy. // *Pol. Merkur. Lekarski*. 2002. V. 13. № 73. P.79–85.
8. Truong J., Yan A.T., Cramarossa G., Chan K.K. Chemotherapy-induced cardiotoxicity: detection, prevention, and management. // *Can. J. Cardiol*. 2014. V. 30. №8. P. 869–878. doi:10.1016/j.cjca.2014.04.029
9. Adão R., de Keulenaer G., Leite-Moreira A., Brás-Silva C. Cardiotoxicity associated with cancer therapy: pathophysiology and prevention strategies. // *Rev. Port. Cardiol*. V. 201332. № 5. P. 395–409. doi: 10.1016/j.repc.2012.11.002
10. Carrillo-Larco R.M., Bernabe-Ortiz A. A divergence between underlying and final causes of death in selected conditions: an analysis of death registries in Peru. // *PeerJ*. 2018. V.6.e5948. doi: 10.7717/peerj.5948.
11. Ng M. Y., Zhang H., Weil A., Singh V. et al. A new assay measuring direct interaction of nonsense suppressors with the eukaryotic protein synthesis machinery. // *ACS Med. Chem. Lett*. 2018. V. 9. № 12. P.1285–1291. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett>.
12. Fidale T. M., Antunes H. K. M., Alex Dos Santos L., Rodrigues de Souza F., Deconte S.R., Borges Rosa de Moura F. et al. Increased dietary leucine reduces doxorubicin-associated cardiac dysfunction in rats. // *Front Physiol*. 2018. V. 8. № 1042. doi: 10.3389/fphys.2017.01042
13. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. // *Biosci. Rep*. 1999. V.19. P.133–154.
14. Jose C., Melser S., Benard G., Rossignol R. Mitoplasticity: adaptation biology of the mitochondrion to the cellular redox state in physiology and carcinogenesis. // *Antioxid. Redox. Signal*. 2013. V.18. № 7. P.808–849. doi: 10.1089/ars.2011.4357.
15. Lu T., Wang Y., Hung Ch., Chiou Sh., Liaw W. Bioinorganic Chemistry of the Natural [Fe(NO)₂] Motif: Evolution of a Functional Model for NO-Related Biomedical Application and Revolutionary Development of a Translational Model. // *Inorg. Chem*. 2018. V. 57. № 20. P.12425–12443. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b01818>
16. Shibata K., Shimokawa H., Yanagihara N., Otsuji Y., Tsutsui M. Nitric oxide synthases and heart failure—lessons from genetically manipulated mice. // *J. UOEH*. 2013. V. 35. № 2. P.147–158.
17. Chatterjee A., Black S. M., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. // *Vascul. Pharmacol*. 2008. V.49. P.134–140. doi: 10.1016/j.vph.2008.06.008

Оксид азота играет важную роль в защите организма от возникновения и развития ССЗ. Молекула NO участвует в регуляции тонуса мелких и средних сосудов, вазодилатации, способствует расслаблению гладкой мускулатуры, проявляет антикоагулянтные свойства, подавляет адгезию моноцитов и тромбоцитов и выработку вазоконстрикторов, ингибирует окисление липопротеинов низкой плотности и синтез цитокинов, а также влияет на иммунный ответ и нейротрансмиссию [18-21]. Концентрация NO является ключевым фактором, определяющим его биологическое действие [22-24]. Известно, что при высоких концентрациях (> 1 мкмоль) NO оказывает цитотоксическое действие за счет образования высокореакционноспособного соединения пероксинитрита [25]. При низких концентрациях (<1 мкмоль) NO проявляет цитопротекторные свойства и поддерживает гомеостаз сердечно-сосудистой и нервной систем [18-20, 23, 24, 26]. Кардиопротекторные функции NO направлены на регулирование артериального давления, тонуса сосудов, ингибирование агрегации тромбоцитов и адгезии лейкоцитов, блокирование пролиферации гладкомышечных клеток [27-30]. Снижение продукции и биодоступности NO связано с развитием многих хронических заболеваний, включая артериальную гипертензию, ишемически-реперфузионное повреждение, атеросклероз и сахарный диабет [25, 31-33]. Нарушение биодоступности NO приводит к утрате кардиопротекторного эффекта, а в ряде случаев может даже усиливать прогрессирование заболеваний. Снижение уровня NO в клетках в основном обусловлено нарушением работы NO-синтетаз и усилением поглощения NO активными формами кислорода (АФК).

-
18. Tegeder I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. // *Cell Signal*. 2019. V.53. P. 348–356. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.10.019
 19. Raffetto J. D., Calanni F., Mattana P., Khalil R. A. Sulodexide promotes arterial relaxation via endothelium-dependent nitric oxide-mediated pathway. // *Biochem Pharmacol*. 2019. V.166. P. 347–356. doi: 10.1016/j.bcp.2019.04.021
 20. Naseem K. M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // *Mol. Aspects. Med*. 2005. V. 26. № 1–2. P. 33–65.
 21. Park J.W., Piknova B., Dey S., Noguchi C.T., Schechter A.N. Compensatory mechanisms in myoglobin deficient mice preserve NO homeostasis. // *Nitric Oxide*. 2019. V. 90. P. 10–14. doi:10.1016/j.niox.2019.06.001
 22. Wink D.A., Mitchell J.B. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. // *Free Radic. Biol. Med*. 1998. V. 25. P. 434–456. doi: 10.1002/jcp.25903
 23. Thelitz S., Bekker J.M., Ovardia B., Stuart R.B., Johengen M.J., Black S.M., Fineman J.R. Inhaled nitric oxide decreases pulmonary soluble guanylate cyclase protein levels in 1-month-old lambs. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004. V. 127. № 5. P.1285–1292. doi: 10.1016/j.jtcvs.2003.07.024.
 24. Komatsu S., Kitazawa T., Ikebe M. Visualization of stimulus-specific heterogeneous activation of individual vascular smooth muscle cells in aortic tissues. // *J. Cell Physiol*. 2018. V.233. № 1. P.434–446.
 25. Ferrer-Sueta G., Campolo N., Trujillo M., Bartsaghi S., Carballal S., Romero N. et al. Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. // *Chem. Rev*. 2018. V.118. № 3. P.1338–1408. doi: 10.1021/acs.chemrev.
 26. Davis K. L., Martin E., Turko I. V., Murad F. Novel effects of nitric oxide. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2001.V. 41. P. 203–236.
 27. Taysi S., Tascan A. S., Ugur M. G., Demir M. Radicals, oxidative/nitrosative stress and preeclampsia. // *Mini Rev. Med. Chem*. 2019. V.19. №3. P. 178–193. doi:10.2174/1389557518666181015151350
 28. Omar S. A., Webb A. J., Lundberg J. O., Weitzberg E. Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. // *J. Intern. Med*. 2016. V. 279. № 4. P. 315–336. doi: 10.1111/joim.12441
 29. Xia Z., Vanhoutte P. M. Nitric oxide and protection against cardiac ischemia. // *Curr. Pharm. Des*. 2011.V.17. № 18. P. 1774–1782.

В настоящее время в кардиологии для лечения ишемической болезни сердца широко используются препараты, являющиеся донорами NO [29, 30, 34]. NO является кардиопротекторным медиатором при различных кардиологических процессах, таких как ишемия, артериальная гипертензия, инсульт и др. [29]. Недавно был разработан новый митохондриально-ориентированный чувствительный к супероксиду донор NO, обеспечивающий значительную защиту от ишемического/реперфузионного повреждения в кардиомиоцитах крыс (клетки H9c2) и изолированных сердцах крыс [30]. Наиболее распространенными препаратами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний являются нитроглицерин, нитросорбид, нитропруссид и нитрит, которые выделяют NO в клетках и тканях в процессе их метаболизма [35-38]. Однако эти препараты часто нестабильны, неспецифичны, токсичны и имеют ряд побочных эффектов [39]. Известные побочные эффекты нитратной терапии включают головную боль, приливы, головокружение и постуральную гипотензию [40]. Кроме того, эти препараты имеют много других недостатков. Например, нитропруссид натрия проявляет цианидную токсичность, изменение психического состояния, судороги, метаболический ацидоз, а нитросорбид и нитроглицерин могли вызывать метгемоглобинемию, утомляемость и вялость [41, 42].

В последние годы экспоненциально возрастает интерес к изучению нитрозильных комплексов переходных металлов, в частности комплексов железа,

30. Hou J., He H., Huang S., Qian M., Wang J., Tan X. et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun. (Camb)*. 2019. V.55. № 9. P. 1205–1208. doi: 10.1039/c8cc07304j.
31. Sanina N. A., Shmatko N. Yu, Korchagin D. V., Shilov G. V., Terent'ev A. A., Stupina T. S. et al. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *J. Coord. Chem.* 2016. V. 69. P. 812–825.
32. Piacenza L., Alvarez M.N., Peluffo G., Radi R. Fighting the oxidative assault: the Trypanosoma cruzi journey to infection. // *Curr Opin Microbiol.* 2009. V.12. № 4. P. 415–421. doi: 10.1016/j.mib.2009.06.011.
33. Piacenza L., Trujillo M., Radi R. Reactive species and pathogen antioxidant networks during phagocytosis. // *J. Exp. Med.* 2019. V. 216. № 3. P. 501–516. doi:10.1084/jem.20181886.
34. Keefer L. K. Fifty years of diazeniumdiolate research. From laboratory curiosity to broad-spectrum biomedical advances. // *ACS Chem. Biol.* 2011. V. 6. P. 1147–1155.
35. Münzel T., Schulz E. Treatment of coronary heart disease with nitric oxide donors. // *Pharm. Unserer. Zeit.* 2010. V. 39. № 5. P. 359–368. doi: 10.1002/pauz.201000381
36. Gatzke N., Hillmeister P., Dülsner A., Güc N., Dawid R., Smith K. H. et al. Nitroglycerin application and coronary arteriogenesis. // *PLoS One.* 2018. V.13. № 8. e0201597. doi: 10.1371/journal.pone.0201597
37. Lu L., Rao X., Cong R., Zhang C., Wang Z., Xu J. et al. Design, synthesis and biological evaluation of nitrate derivatives of sauroponol A and B as potent vasodilatory agents. // *Molecules.* 2019. V. 24. №3. pii: E583. doi:10.3390/molecules24030583
38. Liu B., Liu J., Wang J., Sun F., Jiang S., Hu F. et al. Adiponectin protects against cerebral ischemic injury through AdipoR1/AMPK pathways. // *Front. Pharmacol.* 2019. V.10. № 597. doi: 10.3389/fphar.2019.00597.
39. Kapelko V. I., Lakomkin V. L., Abramov A. A., Lukoshkova E. V., Undrovinas N. A., Khapchaev. et al. Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. Article ID 9456163. P.10. doi.org/10.1155/2017/9456163
40. Tardiolo G., Bramanti P., Mazzon E. Migraine: experimental models and novel therapeutic approaches. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 12. pii: E2932. doi: 10.3390/ijms20122932
41. Divakaran S., Loscalzo J. The role of nitroglycerin and other nitrogen oxides in cardiovascular therapeutics. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017. V. 70. № 19. P. 2393–2410. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.1064
42. Shumakov K. B., Dudylina A. L., Ivanova M. V., Pugachenko I. S., Ruuge E. K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria. // *Biofactors.* 2018. V. 44. №3. P. 237–244. doi: 10.1002/biof.1418.

обладающих цитопротекторными свойствами [43]. Однако такие соединения часто плохо растворимы в воде, недолговечны и токсичны для организма, а также они не могут длительно генерировать NO [38]. Кроме того, молекулярный механизм их действия и метаболические эффекты в клетках изучены недостаточно. Поэтому разработка новых кардиологических препаратов с улучшенными свойствами, пролонгированного действия, с контролируемым высвобождением действующего вещества (оксида азота) очень важна для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

При лечении онкологических больных часто развивается сердечная недостаточность из-за высокой токсичности противоопухолевых препаратов [44–48]. Сердечная недостаточность является одним из наиболее опасных клинических проявлений кардиотоксичности, и сердечная недостаточность может возникнуть сразу или через годы после химиотерапевтического лечения. Поэтому особое значение имеет разработка новых кардиологических препаратов с цитопротекторными свойствами без побочных эффектов, которые можно использовать для лечения онкологических заболеваний с целью поддержания функции клеток сердечно-сосудистой системы и всего организма. Эти препараты могут быть использованы в кардиоонкологии для снижения токсичного действия химиотерапевтических препаратов на сердце. Разработка новых стратегий снижения сердечной токсичности имеет большое клиническое значение. Таким образом, синтез препаратов, снижающих токсическое действие химиотерапии и повышающих жизнеспособность нормальных клеток (фибробластов и кардиомиоцитов), является актуальной проблемой кардиоонкологии.

Обнаружение нитрозильных комплексов железа в организме привело к быстрому развитию нового направления исследований, основанного на применении синтетических аналогов высокореактивных нитрозильных соединений в качестве пролекарств [43, 49, 50]. Моно- и биядерные нитрозильные ком-

-
43. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzoska K., Wojciuk K., Wojciuk G., Kruszewski M. Nitrosyl Iron Complexes—synthesis, structure and biology. // *Dalton. Trans.* 2011. V. 40. P. 8273–8289. <http://dx.doi.org/10.1039/c0dt01244k>
 44. Hrynchak I., Sousa E., Pinto M., Costa V. M. The importance of drug metabolites synthesis: the case-study of cardiotoxic anticancer drugs. // *Drug. Metab. Rev.* 2017. V. 49. №2. P. 158–196. doi: 10.1080/03602532.2017.1316285
 45. Cuomo A., Rodolico A., Galdieri A., Russo M., Campi G., Franco R. et al. Heart failure and cancer: mechanisms of old and new cardiotoxic drugs in cancer patients. // *Card. Fail. Rev.* 2019. V. 5. № 2. P. 112–118. doi: 10.15420/cfr.2018.32.2
 46. Kuriakose R. K., Kukreja R.C., Xi L. Potential therapeutic strategies for hypertension-exacerbated cardiotoxicity of anticancer drugs. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. Article ID 8139861. P. 9. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8139861>
 47. Wenningmann N., Knapp M., Ande A., Vaidya T.R., Ait-Oudhia S. Insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: molecular mechanisms, preventive strategies, and early monitoring. // *Mol. Pharmacol.* 2019. V. 96. № 2. P. 219–232. doi: 10.1124/mol.119.115725
 48. Reis-Mendes A.F., Sousa E., de Lourdes Bastos M., Costa V.M. The role of the metabolism of anticancer drugs in their induced-cardiotoxicity. // *Curr. Drug. Metab.* 2015. V.17. № 1. P. 75–90.
 49. Sanina N. A., Aldoshin S. M., Shmatko N. Y. et al. Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations [Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂]. // *New J. Chem.* 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
 50. Sanina N. A., Aldoshin S. M. Structure and properties of iron nitrosyl complexes with functionalized sulfur-containing ligands. // *Russian Chemical Bulletin.* 2011. V. 60. № 7. P. 1223–1251.

плексы железа с функциональными серосодержащими лигандами имеют некоторые преимущества перед другими низкомолекулярными NO-донорными агентами. В частности, эти соединения выделяют NO при физиологических значениях pH без какой-либо активации (фото-, термической или окислительно-восстановительной), их можно выделить в кристаллическом состоянии [43, 49, 50]. Это делает данные соединения перспективными в качестве доноров оксида азота для применения в медицине. В Институте проблем химической физики РАН были синтезированы и изучаются на данный момент представители нового класса водорастворимых катионных моноядерных динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с функциональными серосодержащими лигандами – тиомочевинной и ее производными. Однако до настоящего времени в литературе отсутствовали данные о влиянии ДНКЖ на ферменты-биомаркеры ССЗ, на метаболические процессы в клетках, и недостаточно изучено их цитопротекторное действие.

Следует отметить, что в биологических средах большинство синтетических доноров NO обладают плохой стабильностью. Это приводит к быстрому высвобождению NO, что значительно ограничивает их применение. В настоящее время для стабилизаций доноров NO используются наночастицы. Наночастицы, полученные из полисахаридов, широко применяются для доставки лекарств из-за их способности к биологическому разложению и биосовместимости [51, 52]. В данном исследовании для создания наночастиц нами были выбраны хитозан (CS), природный полисахарид и гиалуроновая кислота (HA), несультфатированный гликозаминогликан. Данные полисахариды и их производные часто используются для сборки нанокомплексов или для модификации других наночастиц из-за их биосовместимости и быстрой биодеградации. Кроме того, HA широко используется в качестве вектора доставки, поскольку она может специфично связываться с CD44, RHAMM рецепторами на поверхности клеток организма [53].

Предлагаемая читателю монография посвящена обобщению результатов многолетних исследований, посвященных изучению цитопротекторных свойств ДНКЖ и их стабилизации в составе наночастиц (хитозан-гиалуроновая кислота), что имеет практическое значение для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Исследования, которым посвящена монография, вносят вклад в идентификацию молекулярных мишеней действия ДНКЖ, развитие представлений о роли ДНКЖ в регуляции ключевых метаболических процессов, таких как уровень активных форм кислорода, уровень восстановленного глутатиона, АТФ, митохондриального мембранного потенциала и жизнеспособности клеток.

-
51. Oh E. J., Park K., Kim K. S. et al. Target specific and long-acting delivery of protein, peptide, and nucleotide therapeutics using hyaluronic acid derivatives. // *Journal of Controlled Release*. 2010. V. 141. № 1. P. 2–12.
 52. Mohammed M. A., Syeda J. T. M., Wasan K. M., Wasan E. K. An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. // *Pharmaceutics*. 2017. V. 9. № 4.
 53. Liu Z., Jiao Y., Wang. Y. et al. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008. V. 60. № 15. P. 1650–1662.

Глава I

Роль оксида азота в регуляции биологических процессов

1.1. Открытие оксида азота (NO)

Впервые оксид азота (NO) был обнаружен в биологических объектах профессором биологических наук А.Ф. Ваниным в 1965 году. С помощью электронного парамагнитного резонанса он показал радикалы неизвестной природы, обнаружив их гипотензивное действие. Однако только в 1985 году он понял, что данные радикалы имеют отношение к окиси азота [54].

Следующим, кто занимался поиском сигнальной молекулы, был фармаколог Р. Фарчготт. В 1980 году в своих экспериментах он показал действие ацетилхолина на расширение кровеносных сосудов в случае целостности стенки сосуда [55]. Исходя из своих опытов, он сделал вывод о том, что неповрежденные эндотелиальные клетки продуцируют сигнал, расслабляющий гладкую мускулатуру сосудов. Этот сигнал молекулы был назван EDRF (эндотелиальный релаксирующий фактор).

Поиском сигнальной молекулы независимо от Р. Фарчготта занимался и доктор Л. Игнарро из Калифорнийского университета, который заключил, что эндотелиальный релаксирующий фактор полностью идентичен окиси азота [56].

В 1977 году врач-фармаколог Ф. Мюрад из Медицинского института Техасского университета (Хьюстон, США) установил, что нитроглицерин и другие родственные сосудорасширяющие вещества освобождают окись азота, которая расширяет гладкую мускулатуру клеток [57].

Таким образом, в 1986 году Р. Фарчготт и Л. Игнарро получили сходные данные, что вызвало множество последующих исследований во всем мире. 10 декабря 1998 г. в Стокгольме (Швеция) трем ученым из США – Р. Фарчготту, Л. Игнарро и Ф. Мюраду – была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине за открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в сердечно-сосудистой системе [58].

-
54. Петренко Ю. Окись азота и судьба человека. // Наука и жизнь. – 2007. – № 1.
 55. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. // Nature. 1980. V.288. № 57890. P.373-376. doi: 10.1038/288373a0.
 56. Ignarro L.J. Physiology and pathophysiology of nitric oxide. // Kidney Int Suppl. 1996. V.55. S2-5.
 57. Bian K., Murad F. Nitric oxide (NO)-biogenesis, regulation, and relevance to human diseases. // Front Biosci. 2003. V. 8. d264-78. doi: 10.2741/997.
 58. Rabelink A.J. Nobelprijs Geneeskunde en Fysiologie 1998 vanwege de betekenis van stikstofmonoxide als signaalmolecuul. Nobel prize in Medicine and Physiology 1998 for the discovery of the role of nitric oxide as a signalling molecule. // Ned Tijdschr Geneesk. 1998. V.142. № 52. P. 2828–2830.

1.2. Физические свойства оксида азота

Монооксид азота по своей природе является бесцветным газом, без запаха, он обладает высокой реакционной способностью. Молекулярная масса оксида азота составляет 30,01 г/моль, растворимость в воде – 74 см³ /дм³, показатель преломления – 1,0002697, температура плавления – 163,6°С, температура кипения – 151,7°С [59].

Источником оксида азота в природе являются разряды молнии во время грозы. При сгорании топлива примерно 90 % оксидов азота превращается в монооксид азота, а оставшиеся 10 % превращаются в диоксид азота [60]. В процессе химических превращений большая часть NO переходит в N₂O, который также является бесцветным газом, но со сладковатым привкусом. Большие концентрации этого газа в смеси с кислородом применяют для наркоза.

Известно, что оксид азота вырабатывается многими видами клеток организма, в частности эндотелиоцитами, эпителиоцитами, мезангиоцитами, миоцитами, лимфоцитами, нейтрофилами, тромбоцитами, макрофагами, моноцитами, фибробластами, нейронами, гепатоцитами, тучными клетками, и NO контролирует многие функции и биохимические процессы в клетках [61, 62]. В последние годы важным открытием стало установление роли оксида азота как внутриклеточного мессенджера.

1.3. Образование оксида азота в организме

Оксид азота является небольшой, относительно стабильной, незаряженной и легко диффундирующей молекулой. Малый размер и отсутствие заряда обуславливают высокое проникновение молекул оксида азота через клеточные мембраны и субклеточные структуры [63]. Однако из-за высокой реакционной способности расстояние такой диффузии ограничивается 1 мм, а время полужизни молекул NO составляет 5-10 секунд [64]. Поскольку NO является свободным радикалом (молекула с неспаренным электроном), реакции с NO включают стабилизацию неспаренного электрона.

-
59. Голдовская Л.Ф. Химия окружающей среды: учеб., для вузов. – М.: Мир. 2005. – 296 с.
 60. Салей А.П., Рецкий М.И. Роль оксида азота в формировании мотивационного поведения и обучения // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. – 2003. – № 1. – С. 75–80.
 61. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Карпюк В.Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // Астма. – 2001. – . 2. № 2. – С. 5–14.
 62. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике. – Донецк: ООО «Юго-Восток Лтд.». 2001. – 258 с.
 63. Thomas D. D., Ridnour L. A., Isenberg J. S. et al. The chemical biology of nitric oxide: Implications in cellular signaling. // Free Radical Biology and Medicine. 2008. Vol. 45. № 1. P. 18–31.
 64. Thomas D. D., Liu X., Kantrow S. P., Lancaster J. R. The biological lifetime of nitric oxide: implications for the perivascular dynamics of NO and O₂. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2001. – V. 98. – № 1. – P. 355–360.

Моноксид азота вызывает большой интерес в биологии и химии. Обычно оксид азота вырабатывается в организме за счет действия ферментов (рисунок 1).

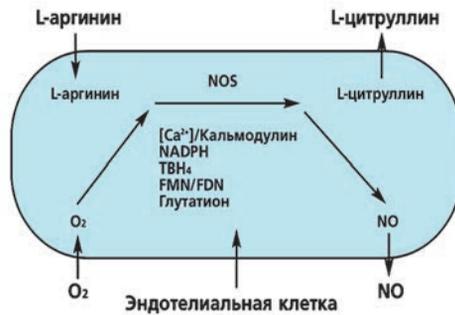


Рис. 1. Синтез NO в организме. *Адаптировано из Метельская и др. 2005 [65]*

В организме оксид азота синтезируется семейством ферментов синтаз оксида азота (NOS), катализирующих образование оксида азота и цитруллина из аргинина, кислорода и NADPH путем пятиэлектронного окисления гуанидин-азотного конца L-аргинина (рисунок 2). Три различные изоформы NOS были идентифицированы у людей и других организмов [66]. Две из них экспрессируются постоянно, а именно нейрональная NOS (nNOS; NOS-1) и эндотелиальная NOS (eNOS; NOS-3). Оба фермента регулируются кальцием и кальмодулином, а также посттрансляционными модификациями ферментов. Третья изоформа – индуцируемая NOS (iNOS; NOS-2). Эта iNOS регулируется цитокиновой стимуляцией и производит количество NO, намного превышающее количество, продуцируемое двумя другими изоформами. Всем этим ферментам для правильного функционирования требуется несколько кофакторов, включая тетрагидриобиптерин (BH₄), никотинамид-аденин-динуклеотидфосфат (NADPH), флавинадениндинуклеотид и флавиномононуклеотид [67].

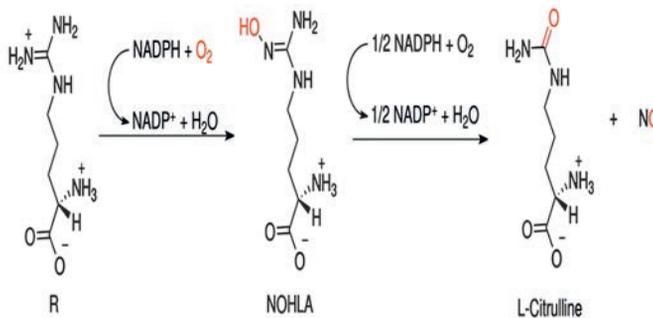


Рис. 2. Двухстадийное окисление аргинина, катализируемое NO-синтазой. *Адаптировано из: Stuehr D., 2004 [67]*

66. Barbato J. E., Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease // Journal of vascular surgery. – 2004. – V. 40. – № 1. – P. 187–193.
67. Stuehr D. Enzymes of the L-Arginine to Nitric Oxide Pathway. // The Journal of nutrition. – 2004. – V. 134. – P. 2748S–2751S; discussion 2765S.

Обычно оксид азота вырабатывается в организме за счет действия ферментов. Однако зачастую выработанного ферментами NO недостаточно, поэтому требуется использовать вещества, обладающие NO-донорной способностью.

1.4. Физиологические эффекты оксида азота

Оксид азота выполняет множество различных функций в биологических системах. Изучение биосинтеза и метаболизма оксида азота являются актуальными проблемами науки и медицины. Еще в 1998 году Ферид Мурад в своих опытах показал, что оксид азота действует как сигнальная молекула, а также расслабляет кровеносные сосуды. Он также изучал действие нитроглицерина, который является вазодилататором, то есть расширяет кровеносные сосуды и тем самым снижает артериальное давление [57, 68].

На данный момент физиологические эффекты, оказываемые оксидом азота на организм, подробно изучены, и их можно разделить на три группы, а именно: регуляторное, защитное и повреждающее действие [69-71]. В настоящее время хорошо изучена роль NO в нервной системе. Установлено, что молекула оксида азота является одним из самых важных нейромедиаторов в нервной системе (рисунок 3).

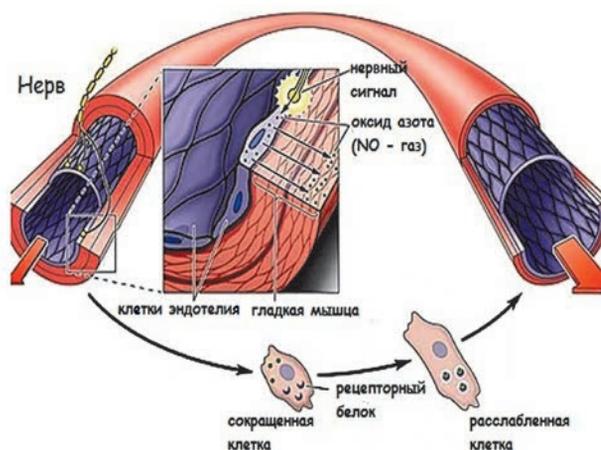


Рис. 3. Влияние оксида азота на кровеносные сосуды. *Адаптировано из Thomas et al., 2008 [69]*

57. Bian K., Murad F. Nitric oxide (NO)-biogenesis, regulation, and relevance to human diseases. // *Front Biosci.* 2003. V. 8. d264-78. doi: 10.2741/997.
68. Bian K., Doursout M.F., Murad F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2008. V. 10. № 4. P.304–310. doi: 10.1111/j.1751-7176.2008.06632.x.
69. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolocci N., Ambs S., Colton C.A., Harris C.C., Roberts D.D., Wink D.A. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. // *Free Radic Biol Med.* 2008. V.45. №1. P.18–31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
70. Полетаев А.Б., Морозов С.Г., Ковалев И.В. Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. – М.: Медицина, 2002. – 168 с.
71. Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // *Анестезиология и реаниматология.* – 2001. – № 1. – С. 8–13.

Функция оксида азота в нервной системе заключается в активации процесса выброса нейромедиаторов из нервных окончаний во время синаптической передачи. Кроме того, сама молекула NO может играть роль нейромедиатора [72-74]. Ингибиторы синтеза оксида азота (нитроаргинин, гемоглобин) защищают нейроны, снижая их гибель на 73 % [75, 76]. Известна также функция оксида азота в процессах мыслительной деятельности, где NO является прямым участником и регулятором одновременно [77, 78]. Помимо вазодилатации, эта молекула запускает индукцию биосинтеза, играет роль в иммунной системе, регулирует тонус в гладкомышечных органах, таких как желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), органы дыхания [79]. В пищеварительной системе оксид азота принимает участие в моторной функции ЖКТ [80]. Воздействуя на кровообращение слизистой желудка, оксид азота защищает гепатоциты от действия токсичных веществ (например, этанола). При поступлении в организм различных окислителей может действовать как антиоксидант путем сохранения в клетках восстановленного глутатиона.

Установлено, что оксид азота принимает активное участие в физиологических процессах в почке, в частности регулирует почечную гемодинамику, гломерулярную фильтрацию, ингибирует транспорт Na^+ и увеличивает его экскрецию. Также известно, что понижение образования уровня оксида азота приводит к губительным повреждениям эндотелия сосудов почек, сетчатки и нижних конечностей. Это важно для людей с сахарным диабетом, так как повреждения сосудов приводят к развитию осложнений и риску ампутации конечностей.

Следует также отметить важную роль оксида азота в регуляции работы легких. Показано, что NO ускоряет движение ресничек реснитчатого эпителия, индуцирует активность апикальных анионных и базолатеральных калиевых каналов эпителиоцитов, способствует механической элиминации инфекционных агентов.

-
72. Салей А.П., Рецкий М.И. Роль оксида азота в формировании мотивационного поведения и обучения // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. – 2003. – № 1. – С. 75–80.
 73. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике. – Донецк: ООО «Юго-Восток Лтд.», 2001. – 258 с.
 74. Harlev E., Nevo E., Lansky E.P., Ofir R., Bishayee A. Anticancer potential of aloes: antioxidant, antiproliferative, and immunostimulatory attributes // *Planta Med.* 2012. V. 78. P. 843–852.
 75. Гриневич В.В., Акмаев И.Г., Волкова О.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. – СПб. Symposium, 2004. – 159 с.
 76. Bredt D.S. Nitric Oxide Signaling in Brain: Potentiating the Gain with YC-1. // *Molecular Pharmacology.* – 2003. – № 63. – P. 1206–1208.
 77. Мацко М.А. Соотношение некоторых медиаторов стрессреализующих и стресслимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 14–16.
 78. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 6. – С. 7–80.
 79. Chaikijurajai T., Tang W. H. W. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // *Expert opinion on therapeutic targets.* – 2020. – V. 24. – № 7. – P. 695–705.
 80. Малахов В.О. Основные стадии хронических церебральных заболеваний (патогенез, клиника, лечение, профилактика). – Харьков: Ранок, 2004. – 228 с.

Кроме того, установлена важная роль оксида азота в регуляции иммуно-нейро-эндокринной системы [81-83]. Запуск стресс-реакции происходит за счет активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadрениновой системы [84].

Оксид азота также выполняет функцию медиатора воспаления. Каждая фаза асептического воспаления ассоциирована с определенными изоформами NOS. На ранней фазе воспалительной реакции под действием медиаторов (гистамина, брадикинина, простагландинов и лейкотриенов) происходит стимуляция продукции оксида азота с помощью nNOS [85]. Параллельно усиливается активность eNOS. В клетках сосудистого эндотелия NO активирует растворимую гуанилатциклазу, что приводит к усиленному образованию цГМФ, который вызывает релаксацию гладкомышечных клеток сосудов, увеличивая сосудистую проницаемость [86]. Дальнейшее изучение всех функций NO является актуальной задачей.

1.5. Роль оксида азота в функционировании сердечно-сосудистой системы

Монооксид азота – это простая молекула газа со свободным электроном. Мишенью монооксида азота в клетках является фермент гуанилатциклаза, в активном центре которого NO присоединяется к атому железа и таким образом увеличивает активность фермента. Это, в свою очередь, инициирует образование молекулы-мессенджера цГМФ (циклического гуанозинмонофосфата), который расслабляет гладкомышечные клетки сосудистой стенки. Если оксида азота недостаточно или он почти отсутствует, ввиду того что эндотелий не функционирует должным образом, образуется меньше цГМФ, что в конечном итоге может привести к негативным последствиям и болезням сердечно-сосудистой системы.

В настоящее время известно, что оксид азота является сигнальной молекулой, которая регулирует широкий диапазон физиологических и патологических процессов в клетке [87]. Концентрация NO является главным факто-

-
81. Казаков В.Н., Снегирь М.А., Снегирь А.Г., Гайдарова Е.В., Ивнев Б.Б., Натрус Л.В. Пути взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем в регуляции функций организма // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2004. – Т. 13. – № 1. – С. 3–10.
 82. Крыжановский С.А., Вититнова М.Б. Современные лекарственные средства: Новейший справочник. // 3 е изд., сокр. М.: РИПОЛ классик. 2007. С. 800–825.
 83. Мацко М.А. Соотношение некоторых медиаторов стресс реализующих и стресс лимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 14–16
 84. Damiano J.S., Gress A.E., Hazlehurst L.A. et al. Cell adhesion mediated drug resistance: Role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. // Blood 1999. V. 93. P.1658–1667.
 85. Rich P.R. The molecular machinery of Keilin's respiratory chain. // Biochemical Society Transactions. 2003. V. 31(pt 6). P. 1095–1105.
 86. Полетаев А.Б., Морозов С.Г., Ковалев И.В. Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. – М.: Медицина, 2002. – 168 с.
 87. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. // Biosci Rep. 1999. V.19. № 3. P.133–54. doi: 10.1023/a:1020265417394.

ром, определяющим его биологический эффект. При низких концентрациях NO ($< 1 \mu\text{M}$) проявляет цитопротекторные свойства, поддерживает гомеостаз сердечно-сосудистой и нервной системы, а при высоких концентрациях NO ($> 1 \mu\text{M}$) проявляет цитотоксичные эффекты за счет образования высокореакционного соединения-пероксинитрита [88; 89].

Известно, что оксид азота играет важную роль в кардиопротекции против возникновения и развития ССЗ. В сердечно-сосудистой системе оксид азота поддерживает релаксацию гладкой мускулатуры в стенках кровеносных сосудов [54, 75]. NO регулирует тонус мелких и средних кровеносных сосудов, вазодилатацию, способствует расслаблению гладкой мускулатуры, обладает антикоагулянтными свойствами, ингибирует адгезию моноцитов и тромбоцитов, ингибирует продукцию вазоконстрикторов, окисление липидов низкой плотности (ЛНП) и синтез цитокинов, влияет на иммунный ответ и нейротрансмиссию [90]. Более того, NO поддерживает целостность сосудов, ингибируя пролиферацию VSMC, агрегацию тромбоцитов и адгезию лейкоцитов к эндотелию [91]. В сердце NO играет основную роль в тонусе сосудов коронарных артерий в состоянии покоя, тем самым регулирует сократимость миокарда [26, 92]. Физическое или биологическое повреждение эндотелия нарушает продукцию и биодоступность NO, что играет роль в развитии гипертонии, реперфузионном повреждении и атеросклерозе [93]. Благодаря этим защитным эффектам, важной роли NO в сосудистом гомеостазе можно предположить, что экзогенное введение этого соединения-медиатора может быть эффективным для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Огромную роль в поддержании сердечно-сосудистой системы оксид азота играет при инфаркте миокарда. Известно, что при инфаркте миокарда наблюдаются участки некроза кардиомиоцитов. Оксид азота стимулирует ангиогенез, то есть процесс образования новых кровеносных сосудов на месте отмерших, тем самым восстанавливая поврежденные участки сердца [80].

-
88. Davis K. L., Martin E., Turko I. V., Murad F. Novel Effects of Nitric Oxide. // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 2001. – V. 41. – № 1. – P. 203–236.
 89. Wink D. A., Mitchell J. B. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. // *Free radical biology & medicine*. – 1998. – V. 25. – № 4–5. – P. 434–456.
 54. Петренко Ю. Окись азота и судьба человека. // *Наука и жизнь*. – 2007. – № 1.
 75. Гриневич В.В., Акмаев И.Г., Волкова О.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. – СПб. Symposium, 2004. – 159 с
 90. Drexler H. Nitric oxide and coronary endothelial dysfunction in humans. // *Cardiovasc Res*. 1999. V. 43. № 3. P. 572–9. doi: 10.1016/s0008-6363(99)00152-2.
 91. Liu V.W.T., Huang P.L. Cardiovascular roles of nitric oxide: a review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice. // *Cardiovascular research*. – 2008. – V. 77. – № 1. – P. 19–29.
 26. Davis K.L., Martin E., Turko I.V., Murad F. Novel effects of nitric oxide. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2001. V. 41. P. 203–236.
 92. Massion P.B., Feron O., Dessy C., Balligand J. L. Nitric oxide and cardiac function: Ten years after, and continuing. // *Circulation Research*. – 2003. – V. 93. – № 5. – P. 388–398.
 93. Loscalzo J., Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. // *Progress in Cardiovascular Diseases*. – 1995. – V. 38. – № 2. – P. 87–104.
 80. Малахов В.О. Основные стадии хронических церебральных заболеваний (патогенез, клиника, лечение, профилактика). – Харьков: Ранок, 2004. – 228 с.

NO способствует синтезу факторов роста эндотелия сосудов, синтезу сигнальных белков, которые также стимулируют ангиогенез, он тормозит пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток, гипертрофию сосудов, поддерживая всем этим нормальную структуру сосудистой стенки [94].

Любое нарушение в биодоступности NO ведет к потере кардиозащитных действий и в некоторых случаях может даже усиливать прогрессию заболеваний. Известно, что снижение производства или биодоступности NO является одной из причин дисфункции эндотелия при артериальной гипертонии, сердечной недостаточности, кардиомиопатии, миокардида и др. [95]. Сердечная недостаточность часто развивается при лечении онкологических больных из-за высокой токсичности противоопухолевых препаратов. Поэтому синтез лекарственных препаратов, понижающих токсичное действие химиотерапии и усиливающих жизнеспособность нормальных клеток организма (фибробластов, кардиомиоцитов), является важной задачей кардиологии и кардиоонкологии [96].

1.6. Общая характеристика доноров оксида азота

Доноры NO представляют собой гетерогенную группу соединений, которые обладают способностью выделять NO или родственные NO соединения, такие как ион нитрозония (NO^+) или нитроксильный анион (NO), *in vitro* или *in vivo*, независимо от его эндогенных источников. Существует большое количество доноров NO, включая нитраты, нитриты, N-нитрозо, C-нитрозо, S-нитрозо, комплексы металл/NO и диазениумдиолаты [97, 98]. Несмотря на то что эти соединения считаются донорами NO, они проявляют различные фармакокинетические свойства, которые определяют тип и степень их биологического действия [99]. Различия между ними заключаются в способе высвобождения, количестве и времени, в течение которого выделяется NO. Кроме того, доноры NO демонстрируют зависимость от pH и чувствительность к окислителям и восстановителям, которые влияют на то, какие производные NO образуются. Некоторые доноры NO производят альтернативные продукты, которые могут образоваться в процессе их метаболизма.

-
94. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в неспецифической защите респираторного тракта // Здоровье ребенка. – 2009. – № 1. – С. 16.
 95. Miyamoto Y., Saito Y., Kajiyama N. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Positively Associated With Essential Hypertension. // Hypertension. – 1998. – V. 32. – № 1. – P. 3-8.
 96. Акентьева Н., Гизатуллин А., Санина Н. и др. Влияние динитрозильных комплексов железа (доноров NO) на метаболические процессы в фибробластах лёгких человека. // Доклады Академии наук. – 2018. – Т. 483. – № 4. – С. 452–456.
 97. Jalbuena R.C., Tyrer H.W. Accuracy of electronic deposition of cells onto microscope slides using a cytometric positioning system. // Biomedical sciences instrumentation. – 1991. – V. 27. – P. 9–19.
 98. Wimalawansa S.J. Nitric oxide and bone. // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2010. – V. 1192. – № 1. – P. 391–403.
 99. Miller M.R., Megson I.L. Recent developments in nitric oxide donor drugs. // British Journal of Pharmacology. – 2007. – V. 151. – № 3. – P. 305–321.

В фундаментальных и клинических исследованиях наиболее часто используются следующие доноры NO: органические нитраты (нитроглицерин, изосорбид-5-мононитрат, никорандил, тетранитрат пентаэритрита); нитропруссид натрия (SNP), diazeniumдиолаты (JS-K, спермин NONOate и ProLi-NONOate); S-нитрозотиолы (S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин (SNAP) и S-нитрозоглутатион) [100].

1.6.1. Нитрат / нитрит / нитрозосоединения

В настоящее время органические нитраты наиболее часто используются для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В данную группу препаратов входят нитроглицерин (тринитрат глицерина), динитрат изосорбида, мононитрат изосорбида и изоамилнитрит. Эти соединения выделяют NO при воздействии определенных эндогенных ферментов [99]. При длительном использовании органических нитратов наблюдается развитие толерантности к нитратам, вызывающее тахифилаксию, а также появление побочных эффектов, включая усиление окислительного стресса, эндотелиальную и вегетативную дисфункцию сердца [101]. Для снижения толерантности разработаны подходы медленного высвобождения NO из изосорбида мононитрата и динитрата [102], а для снижения окислительного стресса, вызванного нитратами, применяют антиоксиданты [101].

В настоящее время другим известным донором NO является нитропруссид натрия [103]. Нитропруссид натрия используется для быстрого снижения артериального давления при гипертонических кризах. Следует отметить, что нитропруссид натрия относительно стабилен и не выделяет NO спонтанно в физиологической среде. Показано, что для генерации NO требуется либо световой, либо ткане-специфичный способ высвобождения [103]. Основным недостатком у этого донора NO является возможность высвобождения любой из пяти цианидных групп, включенных в структуру [104]. В связи с этим основными осложнениями при терапии нитропруссидом натрия являются гипотензия и токсичность из-за накопления цианида [105].

-
100. Scatena R., Bottoni P., Pontoglio A., Giardina B. Pharmacological modulation of nitric oxide release: new pharmacological perspectives, potential benefits and risks. // *Current medicinal chemistry*. – 2010. – V. 17. – № 1. – P. 61–73.
 101. Gori T., Parker J. D. Nitrate-induced toxicity and preconditioning: a rationale for reconsidering the use of these drugs. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2008. – V. 52. – № 4. – P. 251–254.
 102. Ahmadinejad M., Eghbal B., Sorgenicht W. et al. Slow-release isosorbide-5-mononitrate – a new once daily therapeutic modality for angina pectoris. // *European Heart Journal*. – 1988. – V. 9. – № suppl_A. – P. 135–139.
 103. Grossi L., D'Angelo S. Sodium nitroprusside: mechanism of NO release mediated by sulfhydryl-containing molecules. // *Journal of medicinal chemistry*. – 2005. – V. 48. – № 7. – P. 2622–2626.
 104. Bates J.N., Baker M.T., Guerra R.J., Harrison D.G. Nitric oxide generation from nitroprusside by vascular tissue. Evidence that reduction of the nitroprusside anion and cyanide loss are required. // *Biochemical pharmacology*. – 1991. – V. 42 Suppl. – P. S157–65.
 105. Hottinger D.G., Beebe D.S., Kozhimannil T. et al. Sodium nitroprusside in 2014: A clinical concepts review. // *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*. – 2014. – V. 30. – № 4. – P. 462–471

1.6.2. N-диазениумдиолаты

Диазениумдиолаты (NONOates) – класс доноров NO, которым в последнее время уделяется большое внимание из-за простоты их синтеза и выделения предсказуемых количеств NO из этих продуктов [106]. Эти соединения состоят из диолатной группы $[N(O^-)N=O]$, связанной с нуклеофильным аддуктом (первичным или вторичным амином или полиамином) через атом азота [107]. NONOates самопроизвольно разлагаются в растворе при физиологическом значении pH и температуры с образованием до 2-х молярных эквивалентов NO. Скорость разложения NONOates зависит от структуры нуклеофила [108]. В настоящее время описан ряд NONOates с различным периодом полураспада [109]. Привлекательной особенностью этого класса соединений является то, что их разложение не катализируется тиолами или ферментами, если они специально не разрабатывались для этого. Высвобождение NO следует простой кинетике первого порядка, поэтому скорость высвобождения NO может быть точно предсказана [99]. Модификация структуры нуклеофильного аддукта для защиты концевой кислородной диолатной группы может стабилизировать соединение в растворе и потенциально вызывать селективное высвобождение NO в различных органах, сосудистых руслах или определенных типах клеток [99, 110].

Биологическая активность NONOates была протестирована на различных экспериментальных моделях *in vitro*, таких как спазм сосудов, легочная гипертензия и адгезия / агрегация тромбоцитов [34, 99]. В настоящее время известно только об одном клиническом исследовании диазениумдиолатов на примере DETA/NO. Вдыхаемый DETA/NO снижает сопротивление легочных сосудов, не влияя на системное артериальное давление или сердечный выброс у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом [111]. Следует отметить, что возможно образование токсичных побочных продуктов в результате реакции между продуктами разложения NONOates, которые могут привести к образованию канцерогенных нитрозаминов [107, 112].

-
106. Keefer L.K. Progress Toward Clinical Application of the Nitric Oxide-Releasing Diazeniumdiolates. // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2003. – V. 43. – № 1. – P. 585–607.
 107. Maragos C.M., Morley D., Wink D.A. et al. Complexes of NO with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide. Vasorelaxant effects. // Journal of medicinal chemistry. – 1991. – V. 34. – № 11. – P. 3242–3247.
 108. Hrabie J.A., Klose J.R., Wink D.A., Keefer L.K. New nitric oxide-releasing zwitterions derived from polyamines. // The Journal of Organic Chemistry. – 1993. – V. 58. – № 6. – P. 1472–1476.
 109. Morley D., Keefer L.K. Nitric oxide/nucleophile complexes: a unique class of nitric oxide-based vasodilators. // Journal of cardiovascular pharmacology. – 1993. – V. 22 Suppl 7. – P. S3–9.
 110. Saavedra J. E., Billiar T. R., Williams D. L. et al. Targeting nitric oxide (NO) delivery *in vivo*. Design of a liver-selective NO donor prodrug that blocks tumor necrosis factor- α -induced apoptosis and toxicity in the liver. // Journal of Medicinal Chemistry. – 1997. – V. 40. – № 13. – P. 1947–1954.
 99. Miller M.R., Megson I.L. Recent developments in nitric oxide donor drugs. // British Journal of Pharmacology. – 2007. – V. 151. – № 3. – P. 305–321.
 34. Keefer L.K. Fifty years of diazeniumdiolate research. From laboratory curiosity to broad-spectrum biomedical advances. // ACS Chem. Biol. 2011. V. 6. P. 1147–1155.
 111. Lam C.F., V van Heerden P., Sviri S. et al. The effects of inhalation of a novel nitric oxide donor, DETA/NO, in a patient with severe hypoxaemia due to acute respiratory distress syndrome. // Anaesthesia and intensive care. – 2002. – V. 30. – № 4. – P. 472–476.
 112. Lam C.-F., Caterina P., Filion P. et al. The safety of aerosolized diethylenetriamine nitric oxide adduct after single-dose administration to anesthetized piglets and multiple-dose administration to conscious rats. // Toxicology and applied

1.6.3. S-нитрозотиолы

Класс S-нитрозотиолов (RSNO, доноры NO) охватывает широкий спектр различных соединений, которые содержат простую химическую связь между тиоловой (сульфгидрильной) группой (R-SH) и фрагментом NO. S-нитрозотиолы переносят NO^+ через плазматическую мембрану с помощью протеин-дисульфидных изомераз [99; 113]. На скорость высвобождения NO из RSNO влияют различные факторы, такие как свет, тепло, переходные металлы, тиолы, супероксид и ферменты, такие как ксантинооксидаза [114], супероксид дисмутаза [115], протеин-дисульфид-изомеразы [116] и различные дегидрогеназы [117].

S-нитрозотиолы обладают рядом потенциальных преимуществ перед другими классами доноров NO. Во-первых, некоторые соединения демонстрируют тканевую избирательность, например S-нитрозоглутатион является селективным для артерий, а не для вен, придавая им гемодинамический профиль действия, отличный от классических органических нитратов. Кроме того, S-нитрозотиолы являются мощными антиагрегантами, ингибируют агрегацию в дозах, которые не влияют на тонус сосудов [118]. Установлена способность S-нитрозотиолов напрямую переносить формы NO^+ , что позволяет проявлять биологическую активность через цепь других тиолов без высвобождения свободного NO. За счет этого механизма биоактивации S-нитрозотиолы являются более устойчивыми к условиям окислительного стресса [99]. Следует отметить, что S-нитрозотиолы не вызывают толерантности при длительном применении [119]. Однако на данный момент роль RSNO в различных биологических процессах мало изучена [120].

-
99. Miller M. R., Megson I. L. Recent developments in nitric oxide donor drugs. // *British Journal of Pharmacology*. – 2007. – V. 151. – № 3. – P. 305–321.
 34. Keefer L. K. Fifty years of diazeniumdiolate research. From laboratory curiosity to broad-spectrum
113. Zai A., Rudd M. A., Scribner A. W., Loscalzo J. Cell-surface protein disulfide isomerase catalyzes transnitrosation and regulates intracellular transfer of nitric oxide. // *The Journal of clinical investigation*. – 1999. – V. 103. – № 3. – P. 393–399.
 114. Trujillo M., Alvarez M. N., Peluffo G. et al. Xanthine oxidase-mediated decomposition of S-nitrosothiols. // *The Journal of biological chemistry*. – 1998. – V. 273. – № 14. – P. 7828–7834.
 115. Jourdain D., Laroux F. S., Miles A. M. et al. Effect of superoxide dismutase on the stability of S-nitrosothiols. // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 1999. – V. 361. – № 2. – P. 323–330.
 116. Ramachandran N., Root P., Jiang X. M. et al. Mechanism of transfer of NO from extracellular S-nitrosothiols into the cytosol by cell-surface protein disulfide isomerase. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – V. 98. – № 17. – P. 9539–9544.
 117. Liu L., Hausladen A., Zeng M. et al. A metabolic enzyme for S-nitrosothiol conserved from bacteria to humans. // *Nature*. – 2001. – V. 410. – № 6827. – P. 490–494.
 118. Ramsay B., Radomski M., De Belder A. et al. Systemic effects of S-nitroso-glutathione in the human following intravenous infusion. // *British journal of clinical pharmacology*. – 1995. – V. 40. – № 1. – P. 101–102.
 119. Hanspal I. S., Magid K. S., Webb D. J., Megson I. L. The effect of oxidative stress on endothelium-dependent and nitric oxide donor-induced relaxation: implications for nitrate tolerance. // *Nitric oxide : biology and chemistry*. – 2002. – V. 6. – № 3. – P. 263–270.
 120. Liang H., Nacharaju P., Friedman A., Friedman J. M. Nitric oxide generating/releasing materials. // *Future science OA*. – 2015. – V. 1. – № 1.

1.7. Динитрозильные комплексы железа, доноры NO: структура, свойства

Динитрозильные комплексы железа представляют координационные комплексы железа, которые связаны с двумя молекулами NO и, как правило, с двумя дополнительными тиолатными или аминок-лигандами [121]. Такой комплекс находится в динамическом равновесии со всеми компонентами. Таким образом, существование динитрозильного комплекса в виде одиночного вещества невозможно, даже и при получении его из биологического объекта. С помощью метода химического синтеза также невозможно получить ДНКЖ в чистом виде, так как всегда будет иметься смесь лигандов. Лигандами в ДНКЖ выступают такие вещества как глутатион, цистеин, гистидин, липоевая кислота и др. В случае, когда в качестве лиганда выступают остатки аминокислот (например, цистеин), образуются высокомолекулярные соединения.

На данный момент известно существование ДНКЖ в двух формах – одноядерной (один атом железа) форме $[(RS)_2Fe(NO)_2]$, которая является парамагнитной, и димерной биядерной формой $[(RS)_2Fe(NO)_4]$, которая является диамагнитной [122]. Моноядерная форма имеет характерный ЭПР сигнал при $g = 2,04$. В химических системах существует равновесие между моноядерной и биядерной формами. Преобладание одной из форм зависит от концентрации тиолата и pH. Обе формы обладают потенциальной биологической активностью [123].

В тканях животных ДНКЖ существует в виде биядерной формы, а в культурах клеток в моноядерной. Научного объяснения данному явлению не существует до сих пор. Природа лиганда обуславливает стабильность данного комплекса. В клетках ДНКЖ могут образовываться как из тиолатов с низкой молекулярной массой, так и из тиолатов с высокой молекулярной массой. ДНКЖ, которые образуются из тиолатов с высокой молекулярной массой, являются наиболее стабильными и с наименьшей вероятностью высвобождают NO посредством спонтанного распада [123; 124]. Моноядерные комплексы являются нестабильными и могут легко собираться и разбираться.

Механизм действия оксида азота связан в первую очередь с взаимодействием комплексов оксида азота с железом. Обычно оксид азота образует координационную связь с железом гемовой группы белка. Образование нитрозильных комплексов гемового железа (гем-FeNO) вызывает изменения структуры связанного с гемом белка, и, как следствие, меняется функция белка в сторону усиления (активация) или снижения (инактивация). Подобные изменения в структуре белка происходят в молекуле гемоглобина при связывании железом молекулы кислорода.

-
121. Keszler A., Diers A. R., Ding Z., Hogg N. Thiolate-based dinitrosyl iron complexes: Decomposition and detection and differentiation from S-nitrosothiols. // Nitric oxide : biology and chemistry. – 2017. – V. 65. – P. 1–9.
 122. Mikoyan V. D., Burgova E. N., Borodulin R. R., Vanin A. F. The binuclear form of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in animal tissues. // Nitric oxide : biology and chemistry. – 2017. – V. 62. – P. 1–10.
 123. Boese M., Mordvintcev P. I., Vanin A. F. et al. S-nitrosation of serum albumin by dinitrosyl-iron complex. // The Journal of biological chemistry. – 1995. – V. 270. – № 49. – P. 29244–29249.
 124. Graziano M., Lamattina L. Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story. // Trends in plant science. – 2005. – V. 10. – № 1. – P. 4–8.

1.8. Применение ДНКЖ (доноров NO) в медицине

В медицинской практике для лечения сердечно-сосудистой системы актуальным является использование препаратов, основанных на донорах оксида азота (рисунок 4).



Рис. 4. Применение доноров оксида азота для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Адаптировано из Дроботова, 2011 [125]

Преимущество таких препаратов состоит в том, что в организме они быстро разлагаются, выделяя при этом NO. Одним из таких препаратов является нитроглицерин и его аналоги, которые состоят из органических нитратов. Несмотря на преимущества использования таких препаратов, у них есть и недостатки, к ним относится в первую очередь привыкание.

Донорами NO также являются динитрозильные комплексы железа, которые на данное время находят широкое применение в практике. За все время изучения динитрозильных комплексов железа было обнаружено множество их функций, начиная от сосудо-расширяющей и гипотензивной и заканчивая противоопухолевой активностью. Известно, что динитрозильные комплексы железа оказывают положительное влияние на многие процессы внутри организма, а именно – они расслабляют сосуды, понижают артериальное давление, препятствуют образованию тромбов. Способность нейтрализовать вторичные продукты перекисного окисления липидов позволяет им проявлять антиоксидантные свойства. Известно, что динитрозильные комплексы железа способствуют повышению эластичности эритроцитов, ускоряют заживление ран, подавляют слияние тромбоцитов и апоптоз нормальных клеток организма. Избыток оксида азота также оказывает биологические эффекты, смысл которых заключается в инактивации железосодержащих ферментов и торможении роста и развития клеток.

125. Дроботова Д.Ю. Гипотензивное и кардиопротекторное действие динитрозильных комплексов железа как физиологических доноров оксида азота. // Кардиологический вестник. 2011. Т. 2. С. 2–5.

Наряду с регуляцией оксидом азота роста опухолей ДНКЖ также запускают процесс подавления роста опухолей. Так, например, ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами могут избирательно подавлять рост опухоли.

Эта избирательность обусловлена быстрым разрушением ДНКЖ в активно делящихся клетках и высвобождением больших количеств NO. Известно, что в больших концентрациях оксид азота является активатором апоптоза. Из литературы известно, что в клетках лейкоза человека NO запускает апоптоз посредством активации каспаз. Как известно, каспазы играют важную роль в процессах апоптоза, некроза и воспалительных процессах. Еще одна функция, способствующая повышению терапевтической эффективности оксида азота, это регуляция клеточного иммунитета. Комбинированное применение доноров NO с известными цитостатиками усиливает их действие, так как доноры NO повышают проницаемость гемато-энцефалического барьера.

ДНКЖ являются донорами NO, которые могут эффективно применяться для лечения сердечно-сосудистых заболеваний из-за их сосудорасширяющей активности [126; 127]. Ранее было показано, что комплекс динитрозил железа (II) – L-цистеин активировал гуанилатциклазу и расслаблял выделенные сегменты артерий без эндотелия. Однако данный комплекс был нестабильным и легко разлагался с периодом полураспада 2 мин при 10 мкМ и температуре 37°C. В сегментах аорты кролика без эндотелия комплекс трансформировался в макромолекулярный динитрозильный комплекс железа, который связывался с белками сосудистой стенки. В таком виде динитрозильный комплекс железа был более стабильным (до 2 ч при 37°C) [128].

Ранее было показано, что ДНКЖ индуцируют накопление белка теплового шока HSP70 в тканях крыс и оказывают замедленный защитный эффект против ишемических и реперфузионных повреждений сердца. Предполагаемый механизм накопления HSP70, индуцированный ДНКЖ, связан со способностью комплексов выделять NO в форме катиона нитрозония (NO⁺). Катион нитрозония взаимодействует с SH-группами фактора транскрипции HSP70 (HSF), образуя промежуточную форму – S-нитрозотиол. Дегградация этой промежуточной формы приводит к образованию высокорективных тиоловых радикалов, которые вызывают тримеризацию и активацию HSF [128].

Из литературы известно, что ДНКЖ накапливаются в высокомолекулярных липопротеинах, таких как фрагменты липидных бислоев [129, 130]. Показано, что образование ДНКЖ может защищать клетки от быстрого увеличения

-
- 126 Timoshin A.A., Vanin A.F., Orlova T.R. et al. Protein-bound dinitrosyl-iron complexes appearing in blood of rabbit added with a low-molecular dinitrosyl-iron complex: EPR studies. // *Nitric Oxide*. – 2007. – V. 16. – № 2. – P. 286–293.
 127. Vanin A.F., Manukhina E.B. CHAPTER 3 – Hypotensive, vasodilatory and anti-aggregative properties of dinitrosyl-iron complexes. // *Radicals for Life / E. Van Faassen, A. Fyodorovich Vanin eds.* – Amsterdam: Elsevier, 2007. – P. 75–96.
 128. Mülsch A., Mordvintcev P., Vanin A.F., Busse R. The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron(II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiols. // *FEBS letters*. – 1991. – V. 294. – № 3. – P. 252–256.
 129. Giannone G., Takeda K., Kleschyov A.L. Novel activation of non-selective cationic channels by dinitrosyl iron-thiosulfate in PC12 cells. // *The Journal of physiology*. – 2000. – V. 529 Pt 3. – № Pt 3. – P. 735–745.
 130. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzóska K. et al. Nitrosyl iron complexes - Synthesis, structure and biology. // *Dalton Transactions*. – 2011. – V. 40. – № 33. – P. 8273–8289.

уровня лабильного пула железа, которое наблюдается во время воспаления. И это делает клетку менее восприимчивой к окислительному стрессу [130, 131].

Впервые Ванин и его коллеги разработали метод получения водорастворимого ДНКЖ с глутатионом. Было выявлено, что препарат проявлял гипотензивную и сосудорасширяющую активность [132], а также подавлял агрегацию тромбоцитов [133]. Кроме того, использование этого препарата на крысах защищало кавернозную ткань от ее трансформации в фиброзную [134]. Показано, что препарат имеет низкую токсичность, и до сих пор не было обнаружено мутагенной или проапоптотической активности препарата. За исключением этого единственного случая, попытки выделения ДНКЖ из водных растворов в большинстве случаев заканчивались неудачей. С точки зрения применения в фармакологии крайне важно получение ДНКЖ в чистой кристаллической форме. Поэтому основное внимание уделялось синтезу, проводимому в органических растворителях, таких как тетрагидрофуран, диэтиловый эфир и метанол [130, 135, 136]. Полученные таким образом соединения легко выделялись, однако их кристаллические формы отличались от аналогов, синтезированных в водных растворах.

Однако ДНКЖ могут проявлять и цитотоксичные свойства, вызывать повреждение клеток. Такое действие объясняется, прежде всего, образованием пероксинитрита из оксида азота, а также способностью ДНКЖ при высоких концентрациях блокировать железо-серные активные центры в белках, в том числе и тех, которые участвуют в дыхании клетки. Многие ученые, добавляя доноры различной природы к NO, обнаруживали интересный результат. Почти все основные характеристики жизнедеятельности клетки, такие как рост, деление, апоптоз, регулируются как раз молекулой оксида азота [137]. NO связывается с супероксидом и образует пероксинитрит (ONOO⁻). Пероксинитрит, являясь сильнейшим окислителем, может вызывать повреждение клетки. Макрофаги организма намеренно производят NO в таких больших количествах, чтобы его токсичных метаболитов хватило для борьбы с вредными бактериями, а также для борьбы с добро-

-
131. Kruszewski M., Bartłomiejczyk T., Iwanenko T. et al. Effect of labile iron pool on genotoxicity induced by nitric oxide. 2004.
 132. Vanin A.F., Mokh V.P., Serezhenkov V.A., Chazov E.I. Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands. // Nitric oxide : biology and chemistry. – 2007. – V. 16. – № 3. – P. 322–330.
 133. Arkhipova M.A., Mikoian V.D., Vanin A.F. Effect of exogenous donors of nitric oxide and inhibitors of its enzymatic synthesis on experimental ischemic thrombosis in conjunctive veins of the rabbit eyes. // Biofizika. – 2008. – V. 53. – № 2. – P. 315–325.
 134. Кузнецов И.С., Сerezhenkov В.А., Романцова Т.И., Ванин А.Ф. Роль метформина как донора оксида азота в регуляции углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. // Сахарный диабет. – 2013. – № 3 (60). – С. 41–45.
 135. Tsai M.-L., Liaw W.-F. Neutral {Fe(NO)₂}₉ Dinitrosyliron Complex (DNIC) [(SC₆H₄-o-NHCOPh)(Im)Fe(NO)₂] (Im = Imidazole): Interconversion among the Anionic/Neutral {Fe(NO)₂}₉ DNICs and Roussin's Red Ester. // Inorganic Chemistry. – 2006. – V. 45. – № 17. – P. 6583–6585.
 136. Tsou C.-C., Lu T.-T., Liaw W.-F. EPR, UV-Vis, IR, and X-ray Demonstration of the Anionic Dimeric Dinitrosyl Iron Complex [(NO)₂Fe(μ-StBu)₂Fe(NO)₂]-: Relevance to the Products of Nitrosylation of Cytosolic and Mitochondrial Aconitases, and High-Potential Iron Proteins. // Journal of the American Chemical Society. – 2007. – V. 129. – № 42. – P. 12626–12627.

качественными и злокачественными опухолями.

В последние годы наблюдается экспоненциальный рост интереса к изучению нитрозильных комплексов переходных металлов, в частности комплексов железа, обладающих цитопротекторными свойствами [130]. Однако зачастую подобные соединения характеризуются плохой водорастворимостью, являются короткоживущими и токсичными соединениями для организма [39].

В настоящее время наиболее изученными являются низкомолекулярные ДНКЖ, используемые в качестве транспортеров NO, а именно динитрозильные комплексы железа с цистеином (ДНКЖ – Cys) и с глутатионом (ДНКЖ – GSH) [130]. Среди экзогенных синтетических доноров NO особый интерес представляют водорастворимые катионные динитрозильные комплексы железа с различными функциональными серосодержащими лигандами (тиомочевинной и ее производными). Они образуются при связывании NO с ядром Fe²⁺ [130, 138]. Биядерные комплексы нитрозила железа (ДНКЖ) обладают некоторыми преимуществами по сравнению с другими низкомолекулярными донорами NO, в частности эти соединения выделяют NO при физиологических значениях pH без какой-либо активации, и кроме того они могут быть выделены в кристаллическом состоянии [50, 139]. Следует отметить также, что эти соединения являются менее токсичными по сравнению с известными полиядерными нитрозильными комплексами железа, и это является несомненным преимуществом для биологических и медицинских исследований и применений [140]. В настоящее время показано, что ДНКЖ являются эффективными донорами NO, обладают высокой растворимостью в водной среде и выделяют NO без дополнительной фото-, термической или ферментативной активации. Поэтому идентификация молекулярных мишеней действия ДНКЖ, влияние ДНКЖ на метаболические процессы в клетке и изучение механизма их действия является перспективным направлением для разработки новых лекарственных препаратов с целью лечения ССЗ [141].

-
137. Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Оксид азота – с гемоглобином и не только. *Химия и жизнь*. 2008. V. 4. P. 22–25
 130. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzóška K. et al. Nitrosyl iron complexes - Synthesis, structure and biology. // *Dalton Transactions*. – 2011. – V. 40. – № 33. – P. 8273–8289.
 39. Kapelko V. I., Lakomkin V. L., Abramov A. A., Lukoshkova E. V., Undrovinas N. A., Khapchaev. et al. Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017. Article ID 9456163. P.10. doi.org/10.1155/2017/9456163
 138. Rahmanto Y.S., Kakinowski D.S., Lane D.J.R. // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – PP. 6960.
 50. Sanina N. A., Aldoshin S. M. Structure and properties of iron nitrosyl complexes with functionalized sulfur-containing ligands. // *Russian Chemical Bulletin*. 2011. V. 60. № 7. P. 1223–1251.
 139. Chmura A., Szaciłowski K., Waksmundzka-Góra A., Stasicka Z. Photochemistry of the [Fe4(μ3-S)3(NO)7]- complex in the presence of S-nucleophiles: a spectroscopic study. // *Nitric Oxide*. 2006. V.14. № 3. P. 247–260. doi:10.1016/j.niox.2005.10.005.
 140. Borodulin R.R., Kubrina L.N., Mikoyan V.D., Poltorakov A.P., Shvydkiy V.O., Burbaev D.Sh., Serezhenkov V.A., Yakhontova E.R., Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with glutathione as NO and NO⁺ donors. // *Nitric Oxide*. 2013. V. 29. P. 4–16. doi: 10.1016/j.niox.2012.11.001.
 141. Sanina N.A., Manzhos R.A., Emel'yanova N.S. et al. Redox reactions of cationic nitrosyl iron complexes with thiourea and its aliphatic derivatives: The experiment and DFT investigation. // *Journal of Molecular Structure*. – 2019. – V. 1181. – P. 253–260.

1.9. Кардиотоксическое и кардиопротекторное действие доноров оксида азота

Кардиотоксическое и кардиопротекторное действие используемых в экспериментальных исследованиях и в клинике доноров оксида азота являлось предметом целого ряда исследований. Хотя нитропруссид натрия (SNP) является эффективным гипотензивным препаратом и часто используется в детских отделениях интенсивной терапии и для лечения острой сердечной недостаточности, клиническое применение SNP ограничено его кардиотоксичностью [142]. В высоких концентрациях он стимулирует образование активных форм кислорода, что приводит к запуску апоптоза. В исследовании, выполненном на длительно культивируемых кардиомиоцитах взрослых крыс, было обнаружено, что лечение с SNP сначала приводит к постепенной деградации клеточного цитоскелета, а затем к появлению характерных апоптотических ядер [143]. Применение субтоксических доз SNP вызывало снижение сократительной способности кардиомиоцитов, без изменения внутриклеточной концентрации кальция. Ультраструктурный анализ культивируемых кардиомиоцитов продемонстрировал изменения в структуре митохондрий и дезинтеграцию саркомеров.

Среди возможных причин кардиотоксического действия SNP рассматривают фосфорилирование активированной стрессом протеинкиназы/c-Jun NH₂-терминальной киназы (JNK) и активацию апоптотического сигнального пути, включая снижение регуляции Bcl-2 и расщепление каспазы-3. Обнаружено, что ингибитор некроза NecroX-5 способен подавлять SNP-индуцированную гибель кардиомиоцитов H9c2 путем ингибирования активации JNK и подавления регуляции экспрессии белка Bcl-2 и расщепления каспазы-3 [144]. В литературе описаны также исследования по влиянию доноров NO на цитотоксические эффекты антрациклиновых антибиотиков, широко применяемых в химиотерапии опухолей различного генеза. Основным ограничением, препятствующим их широкому применению, является проявляемая ими кардиотоксичность. В исследовании было показано, что донор NO (JS-K) может усиливать цитостатическое и проапоптотическое действие доxorубина на клетки почечной карциномы [145]. Установлено также, что эти эффекты JS-K были связаны с p53-зависимыми клеточными сигнальными путями. Кроме того, было показано, что JS-K защищал

-
142. Sun J., Aponte A.M., Menazza S., Gucek M., Steenbergen C., Murphy E. Additive cardioprotection by pharmacological postconditioning with hydrogen sulfide and nitric oxide donors in mouse heart: S-sulfhydration vs. S-nitrosylation. // *Cardiovasc Res.* – 2016. – V.110 – № 1 – P. 96–106.
 143. Chiusa M., Timolati F., Perriard J.C., Suter T.M., Zuppinger C. Sodium nitroprusside induces cell death and cytoskeleton degradation in adult rat cardiomyocytes in vitro: implications for anthracycline-induced cardiotoxicity. // *Eur. J. Histochem.* – 2012. – V. 56. – № 2.:e15.
 144. Lee S., Lee S.J., Kim S.H., Ko K.S., Rhee B.D., Xu Z., Kim N., Han J. NecroX-5 suppresses sodium nitroprusside-induced cardiac cell death through inhibition of JNK and caspase-3 activation. // *Cell Biol. Int.* – 2014. – V.38. – № 6. – P.702–707.
 145. Qiu M., Ke L., Zhang S., Zeng X., Fang Z., Liu J. JS-K, a GST-activated nitric oxide donor prodrug, enhances chemo-sensitivity in renal carcinoma cells and prevents cardiac myocytes toxicity induced by Doxorubicin. // *Cancer Chemother Pharmacol.* 2017. – V.80. – № 2. P.275–286.

кардиомиоциты H9c2 от токсичности, вызванной доксорубицином (Dox), и снижал продукцию активных форм кислорода, вызванную Dox. Другой донор NO – молсидомин проявлял высокое кардиопротекторное действие в различных моделях повреждения тканей при ишемии/реперфузии, а также на моделях острой кардиотоксичности антрациклиновых антибиотиков. Используя кардиомиобласты H9c2 и выделенные кардиомиоциты, было обнаружено, что кардиопротекторным действием обладает также его активный метаболит SIN-1, но только при высоких дозах даунорубицина [146]. В культуре клеток лейкоза человека HL-60 SIN-1 усиливал цитотоксичность даунорубицина (при низких концентрациях), но при этом оказывал защитное действие на эти клетки при использовании даунорубицина в высоких концентрациях. Однако в экспериментах на животных молсидомин не смог значительно уменьшить смертность, развитие сердечной недостаточности и морфологические повреждения, вызванные даунорубицином. Молсидомин также не изменял даунорубицин-индуцированное перекисное окисление липидов миокарда, нисходящую регуляцию супероксиддисмутазы (MnSOD), восходящую регуляцию NO-1, IL-6 и не влиял на молекулярные маркеры ремоделирования сердца.

Таким образом, исследования показали, что доноры NO могут оказывать как кардиотоксическое, так и кардиопротекторное действие. Характер их воздействия на кардиомиоциты определяется их химическим строением, концентрацией и, вероятно, пролиферативной активностью клеток-мишеней. В этой связи представляется чрезвычайно актуальным подробное исследование кардиотоксической и кардиопротекторной активности новой группы доноров NO, представляющих собой миметики нитрозильных ферредоксинов – динитрозильных комплексов железа [49, 147].

-
146. Lenčová-Popelová O., Jansová H., Jirkovský E., Bureš J., Jirkovská-Vávrová A., Mazurová Y., Reimerová P., Vostatková L., Adamcová M., Hroch M., Pokorná Z., Kovaříková P., Šimůnek T., Štěrba M. Are cardioprotective effects of NO-releasing drug molsidomine translatable to chronic anthracycline cardiotoxicity settings? // *Toxicology*. – 2016. – V.372. P. 52–63.
 49. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations [Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂]. // *New J. Chem.* 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
 147. Truzzi D.R., Medeiros N.M., Augusto O., Ford P.C. Dinitrosyl Iron Complexes (DNICs). From Spontaneous Assembly to Biological Roles. *Inorg Chem.* // 2021. – V. 60. – №21. – P.15835–15845. doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c00823.

Глава II

Ферменты-биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний

Сердечно-сосудистые заболевания – это термин, используемый для обозначения ряда заболеваний, поражающих сердце и кровеносные сосуды. К ним относятся гипертония (высокое кровяное давление), ишемическая болезнь сердца (инфаркт), цереброваскулярные заболевания (инсульт), сердечная недостаточность и другие сердечные заболевания. По оценке ВОЗ, ССЗ ежегодно уносят около 17,9 миллиона жизней, являясь причиной смерти номер один во всем мире [148].

Ишемическая болезнь сердца и цереброваскулярные заболевания являются наиболее распространенными формами сердечно-сосудистых заболеваний. Для данных заболеваний основным патологическим процессом выступает атеросклероз. Атеросклероз – хроническое воспалительное заболевание, характеризующееся накоплением липидов и воспалительных клеток в стенках артерий средних и крупных размеров [149]. Первым событием в развитии атеросклероза является повреждение эндотелия. Это вызывает инфильтрацию и накопление холестерина, ЛПНП в субэндотелиальном пространстве. ЛПНП окисляются с образованием окисленных ЛПНП (ох-ЛПНП) при патологических состояниях [150]. Частицы модифицированного липопротеина увеличивают экспрессию молекул клеточной адгезии, таких как белок адгезии сосудистых клеток-1 [VCAM-1], гликопротеинов (Р и Е-селектинов) в эндотелиальных клетках, что приводит к привлечению лейкоцитов (в основном моноцитов и Т-лимфоцитов) в субэндотелиальное пространство. При взаимодействии хемо-аттрактантных белков, таких как хемо-аттрактантные белки моноцитов (MCP-1), эотаксин и интерферон (INF- γ), эти воспалительные клетки мигрируют внутрь сосудов.

Моноциты дифференцируются в макрофаги, экспрессируют скавенджер-рецепторы (SR), такие как CD36, SRA, LOX-1, и поглощают модифицированные липопротеины. Эти нагруженные липидами макрофаги из-за их внешнего вида называются пенистыми клетками, а их присутствие в стенке артерии является признаком раннего атеросклеротического поражения. Т-лимфоциты и тучные клетки, которые мигрируют внутрь сосудов, вместе с пенистыми клетками высвобождают различные цитокины, которые способствуют воспалению и генерации АФК. Факторы роста и АФК, выделяемые этими клетками, стимулируют миграцию гладкомышечных клеток и отложение коллагена, что приводит к развитию атероматозной

-
148. Thomas H., Diamond J., Vieco A. et al. Global atlas of cardiovascular disease. // *Glob Heart*. – 2018. – V. 13. – P. 143-163.
149. Hansson G. K., Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. // *Nature immunology*. – 2011. – V. 12. – № 3. – P. 204–212.
150. Ketelthuth D.F.J., Hansson G.K. Cellular immunity, low-density lipoprotein and atherosclerosis: break of tolerance in the artery wall. // *Thrombosis and haemostasis*. – 2011. – V. 106. – № 11. – P. 779–786.

бляшки (рисунок 5). Важно отметить, что АФК индуцируют экспрессию SR в гладкомышечных клетках, вызывая их преобразования в пенные клетки. Кроме того, АФК также вызывают активацию матричных металлопротеиназ (ММР), которые разрушают фиброзную стенку атероматозной бляшки и базальную мембрану эндотелиальных клеток, что приводит к физическому разрушению бляшки. Физическое разрушение бляшки также может происходить в результате поверхностной эрозии эндотелиальных клеток вследствие повреждения их базальной мембраны, разрушения микрососудов в бляшке, вызывающего микрокровоизлияние/тромбоз или разрушения фиброзного колпачка, обнажающего протромбогенное содержимое бляшки [151].

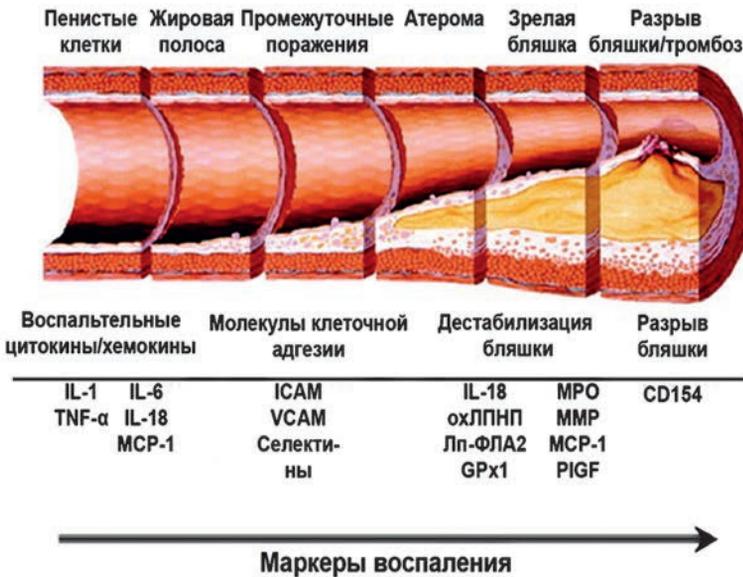


Рис. 5. Биомаркеры воспаления и нестабильности атероматозной бляшки. Стадии развития и разрушения атероматозной бляшки. *Адаптировано из Koenig et al., 2007 [152]*

Патогенез атеросклероза включает активацию провоспалительных сигнальных путей, экспрессию цитокинов/хемокинов и усиление окислительного стресса. Окислительный стресс возникает из-за повышенного образования АФК и/или снижения антиоксидантной защиты организма [153].

151. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2012. – V. 32. – № 9. – P. 2045–2051.
 152. Koenig W., Khuseyinova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2007. – V. 27. – № 1. – P. 15–26.
 153. Peluso I., Morabito G., Urban L., Ioannone F., Serafini M. Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. // *EndocrMetab Immune Disord Drug Targets*. 2012. V. 12. № 4. P. 351–360.

АФК играют важную роль в воспалительных реакциях, апоптозе, росте клеток и изменении сосудистого тонуса, а также в окислении холестерина ЛПНП [154]. Продукция АФК в стенке сосуда увеличивается во всех состояниях, которые считаются факторами риска атеросклеротических ССЗ, таких как гипертония, диабет, ишемия и дислипидемия. Основными источниками окислительного стресса в стенке сосудов являются митохондрии, синтазы оксида азота, липоксигеназа, миелопероксидаза (МРО), ксантиноксидаза (ХО) и NAD (P) H-оксидазы [155].

Далее будут подробно рассмотрены ферменты, которые участвуют и/или влияют на развитие атеросклероза, а также других ССЗ.

2.1. Миелопероксидаза, свойства и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний

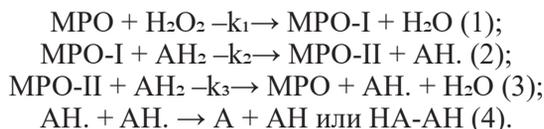
2.1.1. Свойства миелопероксидазы

Миелопероксидаза (МРО) (H₂O₂-оксидоредуктаза, К.Ф. 1.11.1.7) является членом подсемейства пероксидаз. Молекула МРО представляет собой димер, в каждой из субъединиц которого находится по одному атому железа, хелатированного протопорфирином IX [156]. Миелопероксидаза является гемсодержащим белком, обладающим пероксидазной активностью.

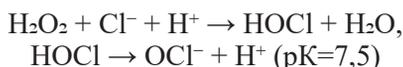
Основным субстратом МРО является перекись водорода, которая продуцируется *in vivo* при «дыхательном взрыве». Продуктами катализируемых МРО реакций являются сильные окислители (в частности, гипохлорит), реактивные производные азота и свободные радикалы, которые в свою очередь инициируют перекисное окисление липидов и вызывают модификацию белков, включая галогенирование, нитрирование, окисление и образование сшивок [157, 158]. Кроме того, физиологическим субстратом МРО может служить также оксид азота, который при этом выступает лигандом для гемовой группы [159]. При взаимодействии нативного фермента МРО с H₂O₂ первоначально происходит двухэлектронное окисление МРО до

-
154. Zhang D. X., Gutterman D. D. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2007. – V. 292. – № 5. – P. H2023–H2031.
 155. Förstermann U., Xia N., Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. // Circulation research. – 2017. – V. 120. – № 4. – P. 713–735.
 156. Fiedler T.J., Davey C.A., Fenna R.E. X-ray crystal structure and characterization of halide-binding sites of human myeloperoxidase at 1.8 Å resolution. // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 16. P. 11964–11971.
 157. Zhang R., Brennan M.L., Shen Z., MacPherson J.C., Schmitt D., Molenda C.E., Hazen S.L. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. // J Biol Chem. 2002. V. 277. № 48. P. 46116–46122. doi: 10.1074/jbc.M209124200.
 158. Podrez E.A., Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. // Free Radic Biol Med. 2000. V. 28. № 12. P. 1717–1725. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00229-x.
 159. Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // J Biol Chem. 2000. V. 275. № 48. P. 37524–37532. doi: 10.1074/jbc.275.48.37524.

соединения-I (МРО-I) с периодом жизни $\approx 0,1$ с (реакция 1) [160]. Затем происходит последовательное одноэлектронное восстановление обратно до нативного фермента через редокс-состояние МРО-II (реакции 2 и 3) [161]:



Кроме того, МРО выполняет одну из ключевых функций в антимикробной системе, опосредованной нейтрофильными лейкоцитами. Бактерицидный эффект обусловлен образованием высокореактивного соединения – гипохлорида (OCl), который атакует клетку микроорганизма [162]:



Каталитический цикл миелопероксидазы представлен на рисунке 6.

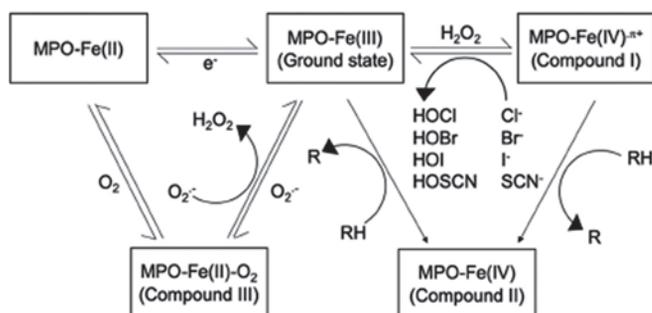


Рис.6. Каталитический цикл миелопероксидазы. *Адаптировано из Marquez et al., 1995* [161]

МРО в основном состоянии (МРО-Fe(III)) окисляется под действием H_2O_2 и превращается в соединение I (МРО-Fe(IV) $^{2+}$), которое может восстанавливаться обратно до основного состояния либо по циклу галогенирования, либо по циклу перекисного окисления, в зависимости от кон-

160. Шафран М.Г. Миелопероксидаза нейтрофильных лейкоцитов. // Успехи совр. биологии. 1981. Т.92. № 3 (6). С. 365–378

161. Marquez L.A., Dunford H.B. Kinetics of Oxidations of Tyrosine and Dityrosine by Myeloperoxidase Compounds I and II. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. № 5. P.30434–30440.

162. Морозов В.И., Цыпленков Н.В., Кокряков В.Н., Волков К.Н. и др. Выделение и характеристика миелопероксидазы лейкоцитов перитонеального экссудата. // Биохимия. 1997. Т. 62. № 6. С. 729–737.

центрации H_2O_2 . В цикле галогенирования галогенид (Cl^- , Br^- или I^-) или псевдогалогенид (SCN^-) используется для производства гипогалоидной кислоты (HOCl , HOBr , HOI или HOSCN). В цикле перекисного окисления соединение II (MPO-Fe(IV)) образуется как промежуточное соединение. МРО в основном состоянии также может восстанавливаться до MPO-Fe(II) или соединения III (MPO-Fe(II)-O_2) с помощью e^- или O^{2-} , соответственно. MPO-Fe(II) может быть преобразован обратно в форму основного состояния или в соединение III путем связывания с O_2 . Соединение III также может быть преобразовано обратно в форму основного состояния с помощью O^{2-} , что приводит к образованию H_2O_2 .

МРО наиболее широко экспрессируется в иммунных клетках, таких как нейтрофильные полиморфно ядерные лейкоциты (нейтрофилы) и лимфоциты, моноциты и макрофаги, а также продуцируется в других клетках организма [163-165]. Миелопероксидаза находится в цитоплазматических мембранно-связанных азурофильных гранулах и во время стимуляции этих гранул МРО либо секретируется внутрь фагосомы, либо выделяется во внеклеточное пространство путем дегрануляции или экзоцитоза [166]. Полный биохимический механизм дегрануляции нейтрофилов пока не понятен, но установлено, что окислительный стресс играет ключевую роль в высвобождении МРО из этих клеток [167, 168]. С помощью цитохимических методов и электронной микроскопии, а также биохимических методов с использованием меченых предшественников было обнаружено, что МРО образуется на ранних стадиях формирования нейтрофилов в эндоплазматической сети, затем поступает в цистерны комплекса Гольджи, от которых отшнуровываются пузырьки, где и накапливается МРО. При слиянии этих пузырьков на стадии промиелоцита формируются азурофильные гранулы. Отмечена интенсивная продукция порфирина на стадии миелобласта. Прекращение синтеза МРО совпадает с прекращением формирования азурофильных гранул и переходом клетки на следующую стадию [160].

-
163. Liu W.-Q., Zhang Y.-Z., Wu Y. et al. Myeloperoxidase-derived hypochlorous acid promotes ox-LDL-induced senescence of endothelial cells through a mechanism involving β -catenin signaling in hyperlipidemia. // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2015. – V. 467. – № 4. – P. 859–865.
 164. Khan A.A., Rahmani A.H., Aldebasi Y.H., Aly S.M. Biochemical and pathological studies on peroxidases—An updated review. // *Global journal of health science*. – 2014. – V. 6. – № 5. – P. 87.
 165. Nicholls S.J., Hazen S.L. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2005. – V. 25. – № 6. – P. 1102-1111.
 166. Chen Y., Hashiguchi N., Yip L., Junger W. G. Hypertonic saline enhances neutrophil elastase release through activation of P2 and A3 receptors. // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2006. – V. 290. – № 4. – P. C1051–C1059.
 167. Naegelen I., Beaume N., Plançon S. et al. Regulation of neutrophil degranulation and cytokine secretion: a novel model approach based on linear fitting. // *Journal of immunology research*. – 2015. – V. 2015.
 168. Lacy P. Mechanisms of degranulation in neutrophils. // *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. – 2006. – V. 2. – № 3. – P. 1–11.
 160. Шафран М.Г. Миелопероксидаза нейтрофильных лейкоцитов. // *Успехи совр. биологии*. 1981. Т.92. № 3 (6). С. 365–378

Фермент МРО обладает уникальным свойством, так как способен окислять хлорид-анион (Cl^-) до гипохлористой кислоты (HOCl) в физиологических условиях, а также образовывать другие окислительные соединения, такие как HOBr и HOscn [169]. Миелопероксидаза является высококатионным ферментом ($P_i > 10$), который легко связывается с различными отрицательно заряженными структурами, такими как бактериальные поверхности, компоненты внеклеточного матрикса и клеточные мембраны, в том числе мембраны эндотелиальных клеток и самих нейтрофилов [170-176]. Долгое время считалось, что МРО является бактерицидным ферментом, основной функцией которого является генерирование активных форм кислорода, которые способствуют уничтожению поглощенных патогенов. Тем не менее в последнее время появились данные о том, что МРО также участвует в регуляции клеточного гомеостаза и является важным фактором в возникновении и развитии различных воспалительных заболеваний и ССЗ. В этом контексте наибольший интерес представляет роль МРО в развитии и прогрессировании ССЗ.

2.1.2. Молекулярные мишени миелопероксидазы

Миелопероксидаза окисляет большое разнообразие биомолекул как в патогенах, так и в организме за счет образования гипо(псевдо)-галогеновых кислот (HOCl , HOBr , HOscn) и токсичных окислительных соединений, таких как радикал оксида азота (NO^*) и пероксинитрит (ONOO^-) [177]. Изучение цитотоксичных эффектов МРО показало, что эти окислительные молекулы реагируют с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами.

-
169. Vanhamme L., Boudjeltia K.Z., Van Antwerpen P., Delporte C. The other myeloperoxidase: Emerging functions. // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2018. – V. 649. – P. 1–14.
 170. Miyasaki K. T., Zambon J. J., Jones C. A., Wilson M. E. Role of high-avidity binding of human neutrophil myeloperoxidase in the killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. // *Infection and immunity*. – 171. Selvaraj R. J., Zgliczynski J. M., Paul B. B., Sbarra A. J. Enhanced Killing of Myeloperoxidase-Coated Bacteria in the Myeloperoxidase-H₂O₂-Cl⁻ System. // *Journal of Infectious Diseases*. – 1978. – V. 137. – № 4. – P. 481–485.
 172. Davies M.J., Hawkins C.L., Pattison D.I., Rees M. D. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. // *Antioxidants & redox signaling*. – 2008. – V. 10. – № 7. – P. 1199–1234.
 173. Yang J.J., Preston G.A., Pendergraft W.F. et al. Internalization of proteinase 3 is concomitant with endothelial cell apoptosis and internalization of myeloperoxidase with generation of intracellular oxidants. // *The American journal of pathology*. – 2001. – V. 158. – № 2. – P. 581–592.
 174. Baldus S., Eiserich J. P., Mani A. et al. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. // *The Journal of clinical investigation*. – 2001. – V. 108. – № 12. – P. 1759–1770.
 175. Ballieux B., Zondervan K. T., Kievit P. et al. Binding of proteinase 3 and myeloperoxidase to endothelial cells: ANCA-mediated endothelial damage through ADCC? // *Clinical & Experimental Immunology*. – 1994. – V. 97. – № 1. – P. 52–60.
 176. Hess C., Sadallah S., Schifferli J.-A. Induction of neutrophil responsiveness to myeloperoxidase antibodies by their exposure to supernatant of degranulated autologous neutrophils. // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2000. – V. 96. – № 8. – P. 2822–2827.
 177. Dai P., Harada Y., Takamatsu T. Highly efficient direct conversion of human fibroblasts to neuronal cells by chemical compounds. // *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. – 2015. – V. 56. – № 3. – P. 166–170.

Три основных окислителя – HOCl, HOSCN и HOBr, продуцируемые МРО, были исследованы на их реакционную способность с биомолекулами [178, 179]. Показано, что белки являются основными мишенями для окислителей МРО *in vivo*. Действительно, кинетическая реакционная способность МРО способствует взаимодействию с белками, свободными аминокислотами и аминокислотными соединениями, за которыми следуют антиоксиданты, а затем липиды и нуклеиновые кислоты. В белках в первую очередь окисляются аминокислоты цистеин и метионин, но МРО также может окислять лизин, концевые аминокислотные группы триптофана, гистидина или тирозина [178]. При окислении при этом образуются в основном классические окисленные формы этих аминокислотных остатков. Следует особо отметить окислительный продукт действия миелопероксидазы, это 3-хлор-тирозин, поскольку он является специфичным диагностическим маркером активности МРО [179]. Кроме того, карбамиллированный лизин (или гомотитруллин), другой продукт активности МРО, предпочтительно образуется под действием HOSCN и также является индикатором активности МРО *in vivo* [178, 179].

Миелопероксидаза также взаимодействует с ДНК или РНК и вызывает окислительно-зависимые повреждения, приводящие к одноцепочечным или двухцепочечным разрывам. Миелопероксидаза главным образом катализирует образование 8-оксо-2'-деоксигуанозина (8-оксо-dG), который хоть и не специфичен для МРО, но является общей характеристикой повреждения нуклеиновых кислот. Конкретными продуктами, обусловленными уникальным производством HOCl под действием МРО, являются 5-хлор-2'-дезоксцитидин (CldCyt), 8-хлор-2'-деоксиадиенозин (CldAdo), 8-хлор-2'-дезоксигуанозин (CldGua) и 5-хлораурацил (ClUra) [180, 181].

Следует отметить, что производимый МРО эффект зависит от образующегося окислителя и наличия субстратов для окисления. Например, такие окислители, как HOCl и HOSCN, преимущественно окисляют белки, однако было обнаружено, что HOSCN способен также окислять липиды, причем более эффективно, чем HOCl [182]. Кроме того, локализация, высвобождение МРО и ее адсорбция также влияют на ее токсичные эффекты. Например, при высвобождении в систему кровообращения катионно заряженная МРО быстро адсорбируется на электроотрицательно заряженных

-
178. Pattison D.I., Hawkins C.L., Davies M. J. What are the plasma targets of the oxidant hypochlorous acid? A kinetic modeling approach. // *Chemical research in toxicology*. – 2009. – V. 22. – № 5. – P. 807–817.
 179. Malle E., Marsche G., Arnhold J., Davies M. J. Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2006. – V. 1761. – № 4. – P. 392–415.
 180. Badouard C., Masuda M., Nishino H. et al. Detection of chlorinated DNA and RNA nucleosides by HPLC coupled to tandem mass spectrometry as potential biomarkers of inflammation. // *Journal of Chromatography B*. – 2005. – V. 827. – № 1. – P. 26–31.
 181. Henderson J.P., Byun J., Takeshita J., Heinecke J. W. Phagocytes produce 5-chlorouracil and 5-bromouracil, two mutagenic products of myeloperoxidase, in human inflammatory tissue. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – V. 278. – № 26. – P. 23522–23528.
 182. Ismael F.O., Proudfoot J.M., Brown B.E. et al. Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants HOCl and HOSCN with low-density lipoprotein (LDL): Implications for foam cell formation in atherosclerosis. // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2015. – V. 573. – P. 40–51.

поверхностях, таких как эндотелий или липопротеины. После связывания с липопротеинами МРО предпочтительно окисляет белковые компоненты, такие как аполипопротеин В (АpoB-100) в липопротеинах низкой плотности и аполипопротеин А (АpoA-1) в липопротеинах высокой плотности (ЛПВП). Наконец, МРО-продуцированная НОС1 или химически добавленная НОС1 обладают различными специфичными действиями в отношении окисленных остатков на ЛПНП [183]. Таким образом, внутриклеточная локализация МРО, обусловленная либо неосинтезом, либо эндоцитозом после дегрануляции нейтрофилов, влияет на проявление специфичных внутриклеточных токсичных эффектов.

2.1.3. Влияние миелопероксидазы на уровень оксида азота

Известно, что оксид азота, продуцируемый эндотелиальной синтазой оксида азота (eNOS), является сосудорасширяющим средством и играет важную роль в регуляции тонуса кровеносных сосудов [184]. Кроме того, NO подавляет связывание циркулирующих клеток с эндотелием и пролиферацию гладкомышечных клеток в сосудистой стенке [185]. Вместе взятые, эти данные указывают на то, что NO играет ключевую роль в сосудистом гомеостазе, и, следовательно, недостаточное производство и/или повышенное поглощение NO может ухудшить сосудистую функцию и ускорить развитие атеросклероза. Существуют убедительные свидетельства того, что МРО, действуя по нескольким механизмам, может снижать биодоступность NO. Во-первых, NO служит субстратом для пероксидаз, а МРО, таким образом, может служить каталитическим поглотителем NO [186]. Во-вторых, удаление NO реакционноспособными веществами, продуцируемыми миелопероксидазой, может дополнительно снижать биодоступность NO. В-третьих, НОС1 может реагировать с атомами азота субстрата NOS-аргинина с образованием хлорированных разновидностей аргинина, которые являются ингибиторами всех изоформ NOS и, как было показано, нарушают зависимость от эндотелия релаксацию аорты крысы [187]. Наконец, было показано, что хлорноватистая кислота является мощным индуктором

-
183. Delporte C., Boudjeltia K.Z., Noyon C. et al. Impact of myeloperoxidase-LDL interactions on enzyme activity and subsequent posttranslational oxidative modifications of apoB-100. // *Journal of lipid research.* – 2014. – V. 55. – № 4. – P. 747–757.
184. Chen K., Pittman R. N., Popel A. S. Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. // *Antioxidants & redox signaling.* – 2008. – V. 10. – № 7. – P. 1185–1198.
185. Jeremy J.Y., Rowe D., Emsley A.M., Newby A.C. Nitric oxide and the proliferation of vascular smooth muscle cells. // *Cardiovascular research.* – 1999. – V. 43. – № 3. – P. 580–594.
186. Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2000. – V. 275. – № 48. – P. 37524–37532.
187. Yang J., Ji R., Cheng Y. et al. L-arginine chlorination results in the formation of a nonselective nitric-oxide synthase inhibitor. // *Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* – 2006. – V. 318. – № 3. – P. 1044–1049.

расщепления эндотелиальных NOS, тем самым превращая NOS в фермент, продуцирующий супероксид [188]. Хотя в настоящее время точное влияние этих механизмов на уровень оксида азота неизвестно, ясно, что МРО способна истощать уровень NO в сосудистой стенке как каталитическими, так и некаталитическими способами.

2.1.4. Механизмы участия миелопероксидазы в развитии сердечно-сосудистых заболеваний

В настоящее время сохраняется потребность в биомаркерах, с помощью которых врачи могли бы предположить индивидуальный риск развития острого коронарного синдрома. Исследования последних лет указывают, что одним из таких биомаркеров может являться миелопероксидаза [189]. Было установлено, что повышенный системный уровень МРО (содержание МРО в нейтрофилах и в крови) был ассоциирован с наличием коронарных артериальных заболеваний (рисунок 7)[190].



Рис. 7. Схематичное представление сердечно-сосудистых заболеваний, в которых были определены повышенные уровни МРО. *Адаптировано из Ramachandra Ch., 2020 [190]*

-
188. Xu J., Xie Z., Reece R. et al. Uncoupling of endothelial nitric oxidase synthase by hypochlorous acid: role of NAD (P) H Oxidase-Derived Superoxide and Peroxynitrite. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* – 2006. – V. 26. – № 12. – P. 2688–2695.
189. Lau D., Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2006. V. 111. №1. P.16–26.
190. Ramachandra C.J.A., Ja K.P.M.M., Chua J., Cong S., Shim W., Hausenloy D. J. Myeloperoxidase As a Multifaceted Target for Cardiovascular Protection. // *Antioxidants & Redox signaling.* 2020.V. 32. № 15.

Кроме того, повышенный уровень МРО в крови прогнозировал риск развития неблагоприятных кардиологических событий (инфаркт миокарда, внезапная смерть и др.) у больных с грудной болью и острым коронарным синдромом [189, 191-193].

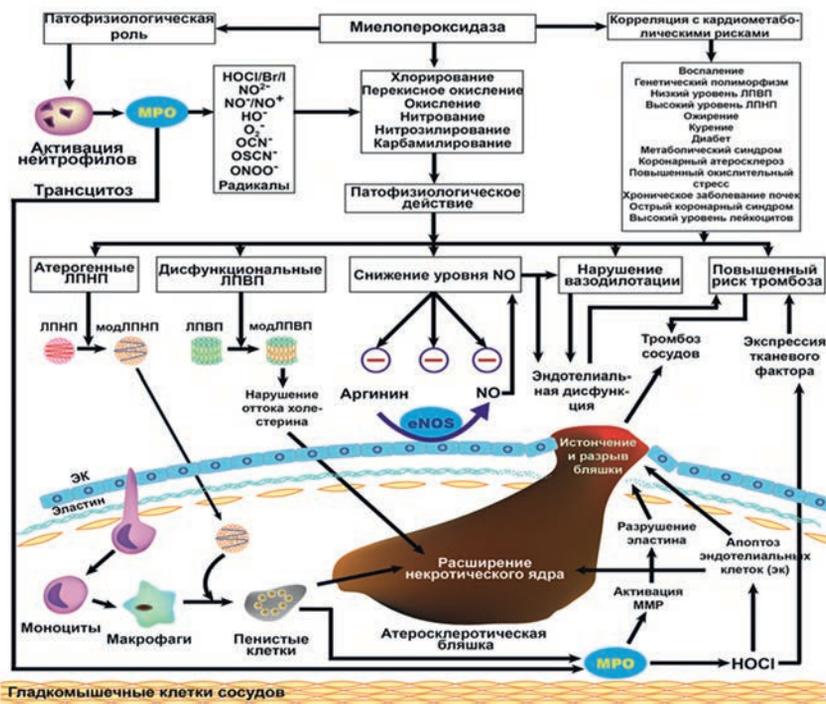


Рис. 8. Предполагаемые механизмы участия миелопероксидазы в сердечно-сосудистых заболеваниях. *Адаптировано из: Ndrepepa G., 2019 [194]*

Существует множество молекулярных механизмов для объяснения ассоциации между МРО и сердечно-сосудистыми заболеваниями (рисунок 8).

Наиболее изученными мишенями МРО, имеющими отношение к сердечно-сосудистым заболеваниям, являются липопротеины плазмы, систе-

191. Zhang R., Brennan M.L., Fu X., Aviles R.J., Pearce G.L., Penn M.S., Topol E.J., Sprecher D.L., Hazen S.L. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. // JAMA. 2001. V. 286. №17. P. 2136-42. doi: 10.1001/jama.286.17.2136.
192. Baldus S., Heeschen C., Meinertz T., Zeiher A.M., Eiserich J.P., Münzel T., Simoons M.L., Hamm C.W. CAPTURE Investigators. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. // Circulation. 2003. V. 108. № 12. P. 1440-1445. doi:10.1161/01.CIR.0000090690.67322.51.
193. Brennan M.L., Penn M.S., Van Lente F., Nambi V., Shishehbor M.H., Aviles R.J., Goormastic M., Pepoy M.L., McErlan E.S., Topol E.J., Nissen S.E., Hazen S.L. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. // N Engl J Med. 2003. V. 349. № 17. P. 1595-1604. doi:10.1056/NEJMoa035003.
194. Ndrepepa G. Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. // Clinica Chimica Acta. – 2019. – V. 493. – P. 36-51.

ма NO, эндотелий, протеиназы матрикса и атеросклеротические бляшки. В опытах *in vitro* было показано, что МРО может переводить липопротеины низкой плотности в так называемую «атерогенную», легко захватываемую макрофагами форму за счет окисления лизиновых остатков и нитрирования аполипопротеина В-100 и инициации перекисного окисления липидов [195]. Кроме того, МРО может переводить липопротеины высокой плотности в дисфункциональную форму за счет нитрирования и хлорирования тирозиновых остатков в аполипопротеине А-I, нарушая тем самым клеточный транспорт холестерина [196]. Предполагают, что таким образом МРО может способствовать возникновению и росту атеросклеротической бляшки. Следует отметить особое участие МРО в дестабилизации атеросклеротических бляшек, что указывает на необходимость поиска ингибиторов МРО для снижения воспалительных процессов в кровеносных сосудах. Существуют различные механизмы, в которых продукты МРО могут способствовать нестабильности атеросклеротических бляшек. Эти механизмы способствуют деградации эластина и коллагена, апоптозу эндотелиальных клеток и ингибированию пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, что в конечном итоге приводит к истончению бляшек, увеличивая их склонность к эрозии или разрыву. Помимо этого, продукты МРО в атеросклеротической бляшке создают протромботическую среду, повышающую риск местного тромбоза [197, 198]. В опытах *in vitro* было показано, что низкие концентрации гипохлорита, генерированного МРО, вызывают активацию эндотелиоцитов, сопровождающуюся увеличением экспрессии Р-селектина и тканевого фактора, что приводит к повышению тромбогенности эндотелиальной поверхности. Высокие концентрации гипохлорита приводят к апоптозу эндотелиоцитов. Кроме того, МРО может вызывать активацию латентной матриксной металлопротеазы-7 [199].

В пользу возможности участия МРО в атерогенезе свидетельствуют многочисленные клинические данные. Так, иммуногистохимически и с помощью масс-спектрометрии было показано присутствие МРО и продуктов опосредованных ею реакций (хлорированные и нитрированные остатки тирозина, хлорированные липиды) в атеросклеротической бляшке по срав-

-
195. Podrez E.A., Poliakov E., Shen Z., Zhang R., Deng Y., Sun M., Finton P.J., Shan L., Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.L., Hoff H.F., Salomon R.G., Hazen S.L. A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. // *J Biol Chem*. 2002. V. 277. № 41. P. 38517–38523. doi: 10.1074/jbc.M205924200.
 196. Marsche G., Hammer A., Oskolkova O., Kozarsky K.F., Sattler W., Malle E. Hypochlorite-modified high density lipoprotein, a high affinity ligand to scavenger receptor class B, type I, impairs high density lipoprotein-dependent selective lipid uptake and reverse cholesterol transport. // *J Biol Chem*. 2002. V. 277. № 35. P. 32172–32179. doi: 10.1074/jbc.M200503200.
 197. Chaikijurajai T., Tang W. H. W. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // *Expert opinion on therapeutic targets*. – 2020. – V. 24. – № 7. – P. 695–705.
 198. Teng N., Maghzal G. J., Talib J. et al. The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture. // *Redox Report*. – 2017. – V. 22. – № 2. – P. 51–73.
 199. Hazen S.L. Myeloperoxidase and plaque vulnerability. // *ArteriosclerThrombVase Biol*. 2004. V. 24. № 7. P. 1143–1146.

нению с нормальной интимой [200, 201]. Анализ аполипопротеина А-I, выделенного из плазмы крови больных с ССЗ, выявил повышенное содержание нитрированных и хлорированных остатков тирозина по сравнению со здоровыми субъектами [202]. Патоморфологическое исследование поврежденных бляшек у внезапно умерших больных показало солокализацию МРО и гипохлоритмодифицированных белков, ассоциированных с внутрикоронарными тромбами [203]. Предполагают также, что за счет потребления эндогенного NO в качестве субстрата МРО может участвовать в развитии дисфункции эндотелия, являющейся одним из ранних изменений атерогенеза и характеризующейся развитием ненормальной сосудистой реактивности и экспрессией различных провоспалительных и протромботических факторов. Так, было показано, что МРО усиливает катаболизм NO во время ишемии миокарда и реперфузии [204]. Была установлена обратная корреляция между сывороточным уровнем МРО и поток-опосредованной дилатацией плечевой артерии [205].

Таким образом, МРО производит большое количество высокоактивных окислителей, которые могут взаимодействовать со многими клеточными компонентами.

2.1.5. Ингибиторы МРО с кардиопротекторными эффектами

Основная роль МРО в развитии ССЗ состоит в том, что повышенная активность МРО может вызывать образование дисфункциональных липопротеинов с высоким индексом атерогенности, снижение доступности NO, эндотелиальную дисфункцию и нестабильность атеросклеротических бляшек [194]. Это указывает на то, что МРО является важной терапевти-

-
200. Daugherty A., Dunn J.L., Rateri D.L., Heinecke J.W. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. // *J Clin Invest.* 1994. V. 94. № 1. P. 437–444. doi: 10.1172/JCI117342.
201. Thukkani A.K., McHowat J., Hsu F.F., Brennan M.L., Hazen S.L., Ford D.A. Identification of alpha-chloro fatty aldehydes and unsaturated lysophosphatidylcholine molecular species in human atherosclerotic lesions. // *Circulation.* 2003. V. 108. № 25. P. 3128–3133. doi: 10.1161/01.CIR.0000104564.01539.6A.
202. Heng L., Nukuna B., Brennan M.L., Sun M., Goormastic M., Settle M., Schmitt D., Fu X., Thomson L., Fox P.L., Ischiropoulos H., Smith J.D., Kinter M., Hazen S.L. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. // *J Clin Invest.* 2004. V. 114. № 4. P.529–541. doi: 10.1172/JCI21109.
203. Ugiyama S., Okada Y., Sukhova G.K., Virmani R., Heinecke J.W., Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. // *Am J Pathol.* 2001. V. 158. № 3. P. 879–891. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64036-9.
204. Baldus S., Heitzer T., Eiserich J.P., Lau D., Mollnau H., Ortak M., Petri S., Goldmann B., Duchstein H.J., Berger J., Helmchen U., Freeman B.A., Meinertz T., Münzel T. Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion. // *Free Radic Biol Med.* 2004. V. 37. № 6. P. 902–911. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.003.
205. Vita J.A., Brennan M.L., Gokce N., Mann S.A., Goormastic M., Shishebor M.H., Penn M.S., Keaney J.F. Jr., Hazen S.L. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. // *Circulation.* 2004. V. 110. № 9. P. 1134–1139. doi: 10.1161/01.CIR.0000140262.20831.8F.
194. Ndrepepa G. Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. // *Clinica Chimica Acta.* – 2019. – V. 493. – P. 36–51.

ческой мишенью. Следовательно, лекарственные препараты, которые будут нацелены на ингибирование активности МРО, могут снизить степень воспаления и окислительного стресса [206]. Однако в настоящее время не существует эффективных ингибиторов МРО. Некоторые противовоспалительные соединения требуют высоких концентраций для эффективного ингибирования или могут только обратимо ингибировать МРО. Кроме того, многие известные ингибиторы МРО очень токсичны или легко окисляются с потерей их ингибиторной функции, что делает их плохими кандидатами в качестве потенциальных препаратов (таблица 1) [207, 208].

Таблица 1

Ингибиторы МРО с кардиопротекторными эффектами

Адаптировано с модификациями из Thanat Chaikijurajai et al., 2020 [208]

| Лекарство | Класс | Тип исследования | Обнаруженный эффект |
|------------|-------------------------------|--|---|
| АВАН | Гидразиды бензойной кислоты | <i>In vitro</i> , образцы человека от пациентов с САД и здоровых контрольных групп | АВАН ингибировал активность МРО и адгезию нейтрофилов у пациентов с САД |
| | | <i>In vitro</i> , мышьяная модель атеросклероза | Высокие дозы АВАН ослабляли воспаление, сосудистый окислительный стресс и улучшали функцию эндотелия |
| INV-315 | Производное феруловой кислоты | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | INV-315 был связан с уменьшением воспаления, активностью МРО, размером бляшек и улучшением функции эндотелия |
| PF-1355 | Производное тиюрацила | <i>In vivo</i> , мышьяная модель САД | PF-1355 уменьшает воспаление, активность МРО, ишемическое реперфузионное повреждение, ремоделирование сердца и улучшает сердечную функцию |
| PF-0628999 | Производное тиюрацила | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | PF-0628999 уменьшил воспаление бляшки и площадь некротического ядра |
| AZM198 | Производное 2-тиоксантинов | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | AZM198 увеличивал толщину фиброзной шапочки и снижал активность МРО |
| | | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | AZM198 был связан с улучшением функции эндотелия и снижением активности МРО |

206. Ali M. et al. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. // JACC Basic to Transl. Sci. 2016. V.1. № 7. P. 633–643.
207. Galijasevic S. The development of myeloperoxidase inhibitors. // Bioorganic Med. Chem. Lett. Elsevier Ltd. 2019. V. 29. № 1. P. 1–7.
208. Chaikijurajai T., Tang W. H. W. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // Expert Opin Ther Targets. 2020. V. 24. № 7. P. 695–705. doi:10.1080/14728222.2020.1762177.

| Лекарство | Класс | Тип исследования | Обнаруженный эффект |
|---|--------------------------|--|--|
| Триазолопиримидины | | <i>In vitro</i> , образцы человека и мыши | Триазолопиримидин ингибировал окисление apoA-1 на HDL и уменьшал количество HОС1, продуцируемого нейтрофилами |
| Ацетаминофен | | <i>In vitro</i> , образцы человека | Ацетаминофен ингибировал МРО-опосредованное окисление LDL |
| КУС | | <i>In vitro</i> , образцы человека и крупного рогатого скота | КУС ингибировал выработку HОС1 и окисление LDL, опосредованное МРО |
| Флавоноиды (эпикатехин, кверцетин, таксифолин и лютеолин) | Флавоноиды | <i>In vitro</i> , образцы человека | Флавоноиды ингибировали МРО-опосредованный окисление LDL |
| Эпикатехин | Флавоноиды | <i>In vitro</i> , образцы человека | Эпикатехин ингибировал МРО-опосредованное окисление LDL и ослаблял эндотелиальную дисфункцию, вызванную окисленными LDL |
| Кверцетин | Флавоноиды | <i>In vitro</i> , образцы человека <i>In vivo</i> , кроличья модель атеросклероза <i>In vitro</i> , образцы человека | Кверцетин ингибировал МРО-опосредованный окисление LDL Кверцетин снижал активность МРО в аорте кроликов Кверцетин ингибировал выработку HОС1 и улучшал функцию эндотелия |
| Тиоцианат | Альтернативные субстраты | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | Тиоцианат уменьшает размер зубного налета при стабильном уровне МРО Тиоцианат натрия был связан с уменьшением образования бляшек и улучшением функции эндотелия |
| Нитроксидный радикал | Альтернативные субстраты | <i>In vivo</i> , мышьяная модель атеросклероза | Нитроксидный радикал стабилизировал бляшки за счет увеличения содержания коллагена и уменьшения содержания липидов |

Сокращения: АВАН – гидразид аминокислоты; apoA-1 – аполипопротеин А-1; САD – ишемическая болезнь сердца; HDL – липопротеин высокой плотности; КУС – N-ацетил-лизил-тирозилцистеин; МРО – миелопероксидаза.

Поэтому необходимы новые подходы к поиску ингибиторов МРО, которые могут быть потенциальными кардиологическими препаратами.

Таким образом, на основании вышесказанного поиск и идентификация ингибиторов активности МРО являются важными для лечения ССЗ.

2.2. Матриксные металлопротеиназы, характеристика и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний

Матриксные металлопротеиназы (ММП, КФ. 3.4.24) представляют собой семейство цинк-зависимых эндопротеаз, ответственных за ремоделирование тканей и деградацию белков внеклеточного матрикса (ЕСМ) [209]. Эти ферменты играют решающую роль при развитии таких физиологических процессов, как морфогенез, резорбция и ремоделирование тканей, миграция, адгезия, дифференцировка и пролиферация клеток, а также при патологических состояниях (ревматоидный артрит, гломерулонефрит, пародонтиты, изъязвление роговой оболочки глаз и др.) – рисунок 9 [210].

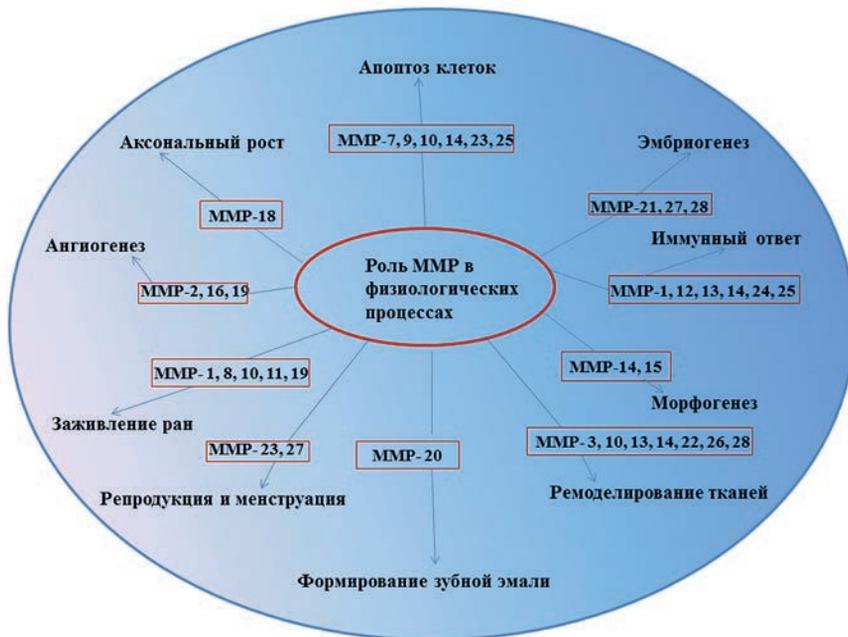


Рис. 9. Роль ММП в физиологических процессах. *Адаптировано из Ning Cui et al., 2017 [210]*

Особое место отводится ММП в генерализации процессов инвазии и метастазирования опухолей [211]. Результаты на модельных раковых системах предполагают, что увеличенные уровни металлопротеиназ коррелируют с инвазивностью и метастатическим потенциалом [211].

-
209. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. // Cardiovascular Research. – 2006. – V. 69. – № 3. – P. 562–573.
210. Cui N., Hu M., Khalil R. A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. // Prog Mol Biol Transl Sci. 2017. V. 147. P. 1–73. doi:10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
211. Solov'eva N.I. Matrix metalloproteinases and their biological functions. // BioorgKhim. 1998. V. 24. № 4. P. 245–255.

В настоящее время также известно, что MMP являются биомаркерами и медиаторами развития ССЗ. Повышение уровня матриксных металлопротеиназ коррелирует со многими патологическими процессами и заболеваниями, включая артроз, инфаркт, фиброз, артрит, глаукому, цирроз, рассеянный склероз, аневризму аорты и многие другие (рисунок 10)[212-216].



Рис. 10. Роль MMP в патологических состояниях. *Адаптировано из Ning Cui et al., 2017 [210]*

212. Hirohata S., Inagaki J., Ohtsuki T. Diverse Functions of a Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motif-1. // *Yakugaku Zasshi*. 2017. V.137. P. 811–814. doi.org/10.1248/yakushi.16-00236-4.
213. Güneş M.F., Akpınar M.B., Cömertoğlu I., Akyol S., Demirçelik B., Gürel Ö.M., Aynekin B., Erdemli H.K., Ateş M., Eryonucu B., Demircan K. The Investigation of a Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs (ADAMTS) 1, 5 and 16 in Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections. // *Clin Lab* 2016. V. 62. P. 425–433.
214. Atale N., Mishra C.B., Kohli S., Mongre R.K., Prakash A., Kumari S., Yadav U.C.S., Jeon R., Rani V. Anti-inflammatory Effects of S. cumini Seed Extract on Gelatinase-B (MMP-9) Regulation against Hyperglycemic Cardiomyocyte Stress. // *Oxid Med Cell Longev*. 2021. 2021: 8839479. doi.org/10.1155/2021/8839479.
215. Hu Q., Ecker M. Overview of MMP-13 as a Promising Target for the Treatment of Osteoarthritis. // *Int J MolSci*. 2021. V. 22. P. 1742. doi.org/10.3390/ijms22041742.
216. Nandi S.S., Katsurada K., Sharma N.M., Anderson D.R., Mahata S.K., Patel K.P. MMP9 inhibition increases autophagic flux in chronic heart failure. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020. V. 319. P. H1414–H1437. doi.org/10.1152/ajpheart.00032.2020.
210. Cui N., Hu M., Khalil R. A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. // *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017. V. 147. P. 1–73. doi:10.1016/bs.pmbts.2017.02.005

Поэтому ММР являются важными мишенями для доклинических испытаний противоопухолевых и кардиологических препаратов (NO, Fe-S-соединения).

ММР секретируются эндотелиальными клетками, гладкомышечными клетками сосудов, фибробластами, остеобластами, макрофагами, нейтрофилами и лимфоцитами [217]. Большинство ММР секретируется клетками в виде неактивных ферментов, в обычных условиях в тканях обнаруживаются незначительные количества ММР, при этом их активация приводит к протеолитическому разложению окружающих клетку белков [218-220]. Активацию большинства ММР осуществляют протеазы типа плазмина и активатора пламиногена урокиназного типа [218, 219]. Некоторые ММР могут активизировать друг друга. В норме существует биологический механизм ограничения протеолиза тканей, вызванного активными ММР, в виде секреции клетками стромы тканевых ингибиторов металлопротеаз (ТИМР). Это белки небольшого размера, способные формировать нековалентные комплексы со многими членами семейства матриксных металлопротеаз [218].

В настоящее время семейство ММР насчитывает не менее 28 изоферментов. На основании первичной структуры, субстратной специфичности и клеточной локализации их разделяют, как правило, на 5 основных подсемейств: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины, ММР мембранного типа (МТ) [221]. За исключением ММР-7, ММР-23 и ММР-26, большинство членов семейства ММР имеют гомологию с аминокислотной последовательностью ММР-1 (коллагеназа 1). Однако известны также новые, недавно описанные и недостаточно изученные ММР, которые не относятся ни к одному из названных подсемейств, а выделяются в отдельную группу «другие ферменты». Известны также 4 представителя семейства тканевых ингибиторов ММР [222, 223].

Важную роль в регуляции различных клеточных процессов играет ММР-9.

-
217. MacColl E, Khalil R. A. Matrix metalloproteinases as regulators of vein structure and function: implications in chronic venous disease. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2015. – V. 355. – № 3. – P. 410–428.
 218. Birkedal-Hansen H., Moore W.G., Bodden M.K., Windsor L.J., Birkedal-Hansen B., DeCarlo A., Engler J.A. Matrix metalloproteinases: a review. // *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993. V. 4. № 2. P. 197–250. doi: 10.1177/10454411930040020401.
 219. Kleiner D.E. Jr., Stetler-Stevenson W.G. Structural biochemistry and activation of matrix metalloproteinases. // *Curr Opin Cell Biol*. 1993. V. 5. № 5. P. 891-897. doi: 10.1016/0955-0674(93)90040-w.
 220. Werb Z. ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology. // *Cell*. 1997. V. 91. № 4. P. 439–442. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80429-8.
 221. Liu J. , Khalil R. A. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. // *Progress in molecular biology and translational science*. – 2017. – V. 148. – P. 355–420.
 222. Ганусевич И.И. Роль матриксных металлопротеаз (ММП) при злокачественных новообразованиях. // *Онкология*. – 2010, том 12, №1, С. 10–16.
 223. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. // *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001. V.17. P. 463-516. doi: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.463.

2.2.1. Структура и регулирование матриксной металлопротеиназы-9

ММР-9 и ММР-2 классифицируются как желатиназы из-за их способности перерабатывать синтетический желатин. Это обозначение является условным, поскольку они могут переваривать различные матриксные белки и обладают способностью расщеплять различные биологически активные молекулы, включая трансмембранные белки [224]. Структурно ММР-9 состоит из несколько доменов, включая пре-, про- и каталитический домены, которые соединяются с С-концевым гемопексина-подобным доменом через линкер [225]. Домен гемопексина действует не только как субстрат-связывающий домен, но также может взаимодействовать с интегринами на поверхности клетки, запускать антиапоптозные сигнальные пути при хроническом лимфоцитарном лейкозе [226, 227]. Все ММР обладают каталитическим доменом из 165-170 аминокислот, который необходим для протеолиза [228]. Каталитический домен имеет различную глубину и доступность, состоит из шести боковых карманов, расположенных вокруг иона цинка, который окружен тремя гистидиновыми остатками [229]. S1'-карман имеет наибольшую вариабельность среди ММР как по глубине, так и по аминокислотному составу. Эти характеристики сделали его привлекательной мишенью для разработки низкомолекулярных ингибиторов. Желатиназы также имеют три фибронектинподобные вставки в каталитическом центре, и эти различия частично объясняют их разную субстратную специфичность [230, 231]. ММР-9 в основном регулируется на уровне транскрипции с помощью различных воспалительных факторов, но также и через посттранскрипционные события, такие как секреция белка, активация, эндогенные ингибиторы и клеточно-поверхностные взаимодействия [232]. Синтез *de novo* больших количеств

-
224. Cauwe B., Van den Steen P.E., Opendakker G. The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases. // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2007. V. 42. P.113–185.
225. Murphy G., Knauper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the “hemopexin” domain? // *Matrix Biol.* 1997. V. 15. P. 511–518.
226. Roeb E., Schleinkofer K., Kernebeck T., Potsch S., Jansen B., Behrmann I., Matern S., Grotzinger J. The matrix metalloproteinase 9 (mmp-9) hemopexin domain is a novel gelatin binding domain and acts as an antagonist. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 50326–50332.
227. Redondo-Munoz J., Ugarte-Berzal E., Terol M.J., Van den Steen P.E., Hernandez del Cerro M., Roderfeld M., Roeb E., Opendakker G., Garcia-Marco J.A., Garcia-Pardo A. Matrix metalloproteinase-9 promotes chronic lymphocytic leukemia b cell survival through its hemopexin domain. // *Cancer Cell.* 2010. V. 17. P. 160–172.
228. Nagase H., Woessner Jr. J.F. Matrix metalloproteinases. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 21491–21494.
229. Bode W., Gomis-Ruth F.X., Stockler W. Astacins, serralytins, snake venom and matrix metalloproteinases exhibit identical zinc-binding environments (HEXXHXXGXXH and Met-turn) and topologies and should be grouped into a common family, the ‘metzincins’. // *FEBS Lett.* 1993. V. 331. P. 134–140.
230. Browner M. F., Smith W.W., Castelano A.L. Matrilysin-inhibitor complexes: common themes among metalloproteases. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. P. 6602–6610.
231. Van den Steen P.E., Dubois B., Nelissen I., Rudd P.M., Dwek R.A., Opendakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 37. P. 375–536.
232. Stamenkovic I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. // *Semin. Cancer Biol.* 2000. V.10. P. 415–433.

ММР-9 может быстро индуцироваться цитокинами, факторами роста или изменениями в клеточных взаимодействиях или взаимодействиях между клетками и внеклеточным матриксом [233]. Как и многие другие протеиназы, ММР-9 создается в «про»-форме как неактивный зимоген. При этом продомен маскирует расщелину активного центра и предотвращает гидрирование каталитического иона цинка. Взаимодействие между сульфгидрильной группой на консервативном остатке цистеина в продомене и ионом цинка представляет этот «цистеиновый переключатель» [234-236]. Поэтому активация фермента требует либо протеолитического удаления про-пептида, либо разрушения связи Zn^{2+} – цистеин. ММР-9 чаще всего активируется другими протеазами, такими как сериновые протеазы, трипсин, плазмин, химаза и другие ММР [237, 238], но также может быть активирована нагреванием, конформационными изменениями, связыванием с субстратом, тяжелыми металлами и ртуть-органическими соединениями, такими как аминоксиды, а также окислителями и алкилирующими агентами [239–243]. Поэтому предполагается, что про-ММР-9 секретируется в ЕСМ, чтобы активироваться. Однако могут быть задействованы и другие механизмы. Например, было высказано предположение, что активация про-ММР-9 может происходить в плазматической мембране. Показано, что взаимодействие МТ1-ММР/ММР-2 с про-ММР-9 на плазматической мембране индуцирует полную активацию ММР-9 *in vitro* и в тех же условиях ММР-3 также способна активировать ММР-9 [244]. Кроме

-
233. Vu T.H., Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. // *Genes Dev.* 2000. V. 14. P. 2123–2133.
 234. Springman E.B., Angleton E.L., Birkedal-Hansen H., Van Wart H.E. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a “cysteine switch” mechanism for activation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 364–368.
 235. Becker J.W., Marcy A.I., Rokosz L.L., Axel M.G., Burbaum J.J., Fitzgerald P.M., Cameron P.M., Esser C.K., Hagmann W.K., Hermes J.D. et al. Stromelysin-1: three-dimensional structure of the inhibited catalytic domain and of the C-truncated proenzyme. // *Protein Sci.* 1995. V. 4. P.1966–1976.
 236. Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metallo- proteinase gene family. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 5578–5582.
 237. Overall C.M., Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. // *Nat. Rev. Cancer.* 2002. V. 2. P. 657–672.
 238. Van den Steen P.E., Dubois B., Nelissen I., Rudd P.M., Dwek R.A., Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 37. P. 375–536.
 239. Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metallo-proteinase gene family. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 5578–5582.
 240. Bannikov G.A., Karelina T.V., Collier I.E., Marmer B.L., Goldberg G.I. Substrate binding of gelatinase B induces its enzymatic activity in the presence of intact propeptide. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 16022–16027.
 241. Peppin G.J., Weiss S.J. Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1986. V. 83. P. 4322–4326.
 242. Gu Z., Kaul M., Yan B., Kridel S.J., Cui J., Strongin A., Smith J.W., Liddington R.C., Lipton S.A. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. // *Science.* 2002. V. 297. P. 1186–1190.
 243. Paquette B., Bisson M., Theriault H., Lemay R., Pare M., Banville P., Cantin A.M. Activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 by 2- and 4-hydroxyestradiol. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2003. V. 87. P. 65–73.
 244. Toth M., Chvyrkova I., Bernardo M.M., Hernandez-Barrantes S., Fridman R. Pro-MMP-9 activation by the МТ1-MMP/MMP-2 axis and MMP-3: role of TIMP-2 and plasma membranes. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 308. P. 386–395.

того, было показано, что тромбин вызывает активацию про-ММР-9 и ассоциацию с $\beta 1$ -интегрином в клетках костного мозга человека через PI 3-киназный путь, который является ключевой стадией в инвазивности опухоли, индуцированной тромбином [245].

2.2.2. Ингибирование активности ММР-9 под действием оксида азота

Наблюдаемые биологические эффекты NO обычно связаны с образованием из NO пероксинитрита и супероксида [246-251]. Кроме того, NO не только может реагировать непосредственно с сульфгидрилами, металлическими центрами, включая железо/серу и Zn^{2+} -тиолатные группы, но также может реагировать через металл-независимые механизмы за счет образования гидроксильных или карбоксильных радикалов, которые образуются в результате различных реакций разложения [252-258]. В литературе имеются работы, предоставляющие доказательства активации ММР-9 под действием NO. Однако также есть существенные доказательства об ингибировании активности ММР-9 под действием NO. Например, очищенный ММР-9 фермент инкубировали с донором NO-спермином-NONOate и NO / супероксидным донором SIN-1, которые образуют пероксинитрит. В обоих случаях инкубация с эти-

-
245. Radjabi A.R., Sawada K., Jagadeeswaran S., Eichbichler A., Kenny H.A., Montag A., Bruno K., Lengyel E. Thrombin induces tumor invasion through the induction and association of matrix metalloproteinase-9 and beta1-integrin on the cell surface. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 2822–2834.
246. Castro L., Rodríguez M., Radi R. Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 29409–29415.
247. Okamoto T., Akaike T., Nagano T., Miyajima S., Suga M., Ando M., Ichimori K., Maeda H. Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1997. V. 342. P. 261–274.
248. Hibbs Jr. J.B., Taintor R.R., Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. // *Science.* 1987. V. 235. P. 473–476.
249. Radi R., Rodríguez M., Castro L., Telleri R. Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. V. 308. P. 89–95.
250. Moro M.A., Darley-Usmar V.M., Goodwin D.A., Read N.G., Zamora-Pino R., Feelisch M., Radomski M.W., Moncada S. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1994. V. 91. P. 6702–6706.
251. Villa L.M., Salas E., Darley-Usmar V.M., Radomski M.W., Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1994. V. 91. P. 12383–12387.
252. Radi R., Beckman J.S., Bush K.M., Freeman B.A. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 4244–4250.
253. Rubbo H., Denicola A., Radi R. Peroxynitrite inactivates thiol-containing enzymes of *Trypanosoma cruzi* energetic metabolism and inhibits cell respiration. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. V. 308. P. 96–102.
254. Crow J.P., Beckman J.S., McCord J.M. Sensitivity of the essential zinc-thiolate moiety of yeast alcohol dehydrogenase to hypochlorite and peroxynitrite. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. P. 3544–3552.
255. Ischiropoulos H., Zhu L., Chen J., Tsai M., Martin J.C., Smith C.D., Beckman J.S. Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1992. V. 298. P. 431–437.
256. Alvarez B., Radi R. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. // *Amino Acids.* 2003. V. 25. P. 295–311.
257. Augusto O., Bonini M.G., Amanso A.M., Linares E., Santos C.C., De Menezes S.L. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology. // *Free Radic. Biol. Med.* 2002. V. 32. P. 841–859.
258. Radi R. Peroxynitrite reactions and diffusion in biology. // *Chem. Res. Toxicol.* 1998. V. 11. P. 720–772.

ми соединениями привела к значительному снижению активности MMP-9 [259]. Это интересное исследование предполагает, что NO не напрямую модулирует активацию про-MMP-9. Кроме того, был протестирован широкий ряд доноров NO, таких как S-нитрозо-глутатион (GSNO), спермин NONO-ат (SPERNO), DETA-NONOate (DETA-NO) и DEA-NONOate (DEA-NO) и S-нитрозоцистеин (CSNO) на очищенном проферменте MMP-9. Следует отметить, что из этих доноров NO только SNOC вызывал какое-либо увеличение активности MMP-9. При высоких концентрациях DETA-NO ингибировал активность желатиназы, измеренную с использованием флуоресцентного субстрата. Установлено, что донор NO, DETA-NO, заметно ингибировал активность фермента из-за взаимодействия с активным центром MMP. Однако в ряде исследований было показано, что NO может вызывать также прямую активацию про-MMP-9. Различия в результатах объясняются использованием разных доноров NO с различными свойствами, разной скоростью высвобождения, количеством NO и продолжительностью действия. Кроме того, установлено, что при низких концентрациях доноры NO повышают активность MMP, а при высоких концентрациях ингибируют активность фермента. Биологическая значимость этого явления пока не выяснена.

2.2.3. Роль MMP в сердечно-сосудистых заболеваниях

MMP играют важную роль в поддержании структуры и функции сосудов, но также участвуют в патологических процессах, таких как ремоделирование тканей сердечно-сосудистой системы, формирование и дестабилизация атеросклеротических бляшек [260, 261]. MMP строго регулируются на разных уровнях, поскольку они могут разрушать компоненты внеклеточного матрикса и широкий спектр субстратов, активировать другие изоформы MMP, а также высвобождать факторы роста. MMP регулируются на транскрипционном и трансляционном уровне, активацией форм зимогена, внеклеточными или эндогенными ингибиторами [262]. Клеточная экспрессия MMP основана на последовательной активации нескольких сигнальных путей, приводящих к синергическому воздействию на промотор MMP большего количества транскрипционных факторов. Наиболее важными транскрипционными факторами являются *NF-κB*, активирующий белок (AP-1) и *Sp-1* [263, 264]. Кроме того, на экспрессию гена MMP влияют и другие факторы,

-
259. Phillips P.G., Birnby L.M. Nitric oxide modulates caveolin-1 and matrix metalloproteinase-9 expression and distribution at the endothelial cell/tumor cell interface. // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004. V. 286. P. L1055–L1065.
 260. Loftus I. M., Naylor A. R., Bell P. R. F., Thompson M. M. Matrix metalloproteinases and atherosclerotic plaque instability. // *British Journal of Surgery.* – 2002. – V. 89. – № 6. – P. 680–694.
 261. Myasoedova V.A., Chistiakov D.A., Grechko A. V., Orekhov A. N. Matrix metalloproteinases in pro-atherosclerotic arterial remodeling. // *Journal of molecular and cellular cardiology.* – 2018. – V. 123. – P. 159–167.
 262. Page-McCaw A., Ewald A. J., Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. // *Nature reviews Molecular cell biology.* – 2007. – V. 8. – № 3. – P. 221–233.
 263. Younger S. T., Corey D. R. Transcriptional gene silencing in mammalian cells by miRNA mimics that target gene promoters. // *Nucleic Acids Research.* – 2011. – V. 39. – № 13. – P. 5682–5691.
 264. Kim D. H., Sætrom P., Snøve O., Rossi J. J. MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2008. – V. 105. – № 42. – P. 16230–16235.

такие как цитокины, хемокины или факторы роста, такие как интерлейкин-1 (*IL-1*), интерлейкин-6 (*IL-6*), фактор некроза опухоли альфа (*TNF- α*), эпидермальный фактор роста (*EGF*) и тромбоцитарный фактор роста (*PDGF*). Экспрессия MMP может также модулироваться активными формами кислорода и механическим повреждением клеток. В то же время экспрессия MMP может быть снижена с помощью противовоспалительных молекул, таких как NO, трансформирующий фактор роста бета (*TGF- β*), интерлейкин-4 (*IL-4*), интерлейкин-10 (*IL-10*), интерферон - γ и рецептор, активирующий пролиферацию пероксисом (*PPAR*) [265].

2.2.4. Тканевые и синтетические ингибиторы MMP

Активность MMP может подавляться тканевыми и синтетическими ингибиторами, а также антибиотиками [266]. Эндогенные тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP) широко распространены во многих тканях и обладают различными биологическими функциями (таблица 2, таблица 3) [267, 268].

Таблица 2

Дифференциальная биологическая функциональность тканевых ингибиторов MMP (TIMP), потенциально имеющих отношение к ремоделированию после инфаркта миокарда

Адаптировано из Spinale F.G., 2014 [268]

| Эффекты TIMP | TIMP-1 | TIMP-2 | TIMP-3 | TIMP-4 |
|---|----------------|----------------|----------------------|-----------------------------|
| Рост клеток/ Пролиферация | ++ | - | + | - |
| Апоптоз клеток | - | + | + | + |
| Обработка цитокинов | | | ++ | + |
| Трансдифференцировка фибробластов | + | +++ | | + |
| Формирование комплекса про-MMP | про-MMP-9 | про-MMP-2 | про-MMP-2 | про-MMP-2 |
| Трансгенная делеция и ремоделирование после инфаркта миокарда | ↑ Дилатация LV | ↑ Дилатация LV | Разрыв, ↑ воспаления | Дилатация LV, ускоренный HF |

TIMP представляют собой 4 уникальных белка с малой молекулярной массой (~20 кДа), которые являются совершенно разными генными про-

265. Johnson J. L. Matrix metalloproteinases: Influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. // Expert Review of Cardiovascular Therapy. – 2007. – V. 5. – № 2. – P. 265–282.
266. Gupta S. P. Matrix metalloproteinase inhibitors: specificity of binding and structure-activity relationships. // Experientia supplementum (2012). – 2012. – V. 103. – P. v-vi.
267. Chen Q., Jin M., Yang F. et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. // Mediators of inflammation. – 2013. – V. 2013.
268. Spinale F.G., Villarreal F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // BiochemPharmacol. 2014. V. 90. № 1. P. 7–15. doi: 10.1016/j.bcp.2014.04.011.

дуктами, с гомологией 50 % или менее. ТИМР-1 был идентифицирован в конце 1970-х годов, а ТИМР-4 впервые был описан в конце 1990-х годов. Установлено, что ТИМР связываются с активными ММР в стехиометрическом соотношении 1:1, и эти молекулы оказывают уникальное и дифференцированное воздействие на ключевые аспекты биологии внеклеточного матрикса, имеющие отношение к процессу ремоделирования после инфаркта миокарда [268]. Были идентифицированы различные эффекты специфических ТИМР в отношении роста клеток и жизнеспособности. Например, ТИМР-1 оказывал сильное влияние на рост фибробластов и пролиферацию, тогда как ТИМР-2 и ТИМР-4 оказывали незначительный или отрицательный эффект [268]. С другой стороны, было показано, что ТИМР-1 снижал относительную скорость апоптоза, в то время как другие ТИМР могли ускорять гибель клеток [268]. Что касается ТИМР-2, то он оказывал сильное влияние на трансдифференцировку фибробластов. В отличие от других ТИМР, ТИМР-3 модулировал процессинг цитокинов посредством ингибирования диз-интегрин-металлопротеаз [268]. Краткое изложение клинических исследований, включающих более 5 000 субъектов, в которых измеряли ТИМР после инфаркта миокарда, показано в таблице 3 [268].

Таблица 3

Влияние тканевых ингибиторов матриксной металлопротеиназы на динамику у пациентов с ишемической болезнью сердца и связь с клиническими исходами

Адаптировано из Spinale F.G., 2014 [268].

| Пациенты (n) | Биомаркер(ы) | Первичное наблюдение |
|--------------|---|---|
| 233 | PINP, ICTP, PIIINP, MMP-1, TIMP-1 | Продольные изменения во всех маркерах ЕСМ, при которых ICTP ассоциировался с большим прогрессированием симптомов HF |
| 1009 | PIIINP, MMP-1, TIMP-1, hsCRP, IL-18, IL-10 | Показатели увеличения текучести ЕСМ, связанные с функциональными возможностями и результатами |
| 39 | MMP-1, TIMP-1 и Биопсия | Сдвиг в балансе MMP-1 / TIMP-1 в пользу деградации ЕСМ, о чем свидетельствует гистология биопсии ЕСМ |
| 85 | Портфолио ММР и ТИМР, последовательно проверенных | Определенное количество ММР и ТИМР увеличивается после МИ и ассоциируется с прогрессирующим ремоделированием LV |
| 100 | ТИМР-1, -2, -4 | Ранние изменения уровня ТИМР-4 в плазме крови, связанные со степенью дилатации LV через 3 месяца после инфаркта миокарда (MI) |

268. Spinale F.G., Villarreal F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // *BiochemPharmacol.* 2014. V. 90. № 1. P. 7–15. doi: 10.1016/j.bcp.2014.04.011.

| Пациенты (n) | Биомаркер(ы) | Первичное наблюдение |
|--------------|----------------------------|---|
| 404 | TIMP-1, MMP-9, NTproBNP | Изменения в MMP-9, связанные с неблагоприятным ремоделированием после MI, определяемым по дилатации LV и уровням TIMP-1, продемонстрировали прогностический риск для комбинированной конечной точки события (HF/смерть) |
| 1313 | TIMP-1, -2, -4 | Одномерная и составная оценка взаимосвязи с основными прогрессирующими сердечно-сосудистыми событиями |
| 30 | MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 | Соотношение MMP-9/TIMP-1, связанное с разрывом коронарной бляшки |
| 500 | NTpro-BNP, TIMP-1 | TIMP-1, предсказывающий отдаленный исход при ишемической болезни сердца |
| 389 | MMP-9, TIMP-1 | TIMP-1, предсказывающий смертность после MI |
| 556 | TIMP-1, TIMP-1 полиморфизм | TIMP-1, связанный с ухудшением сердечной недостаточности после MI |
| 1082 | MMP-9, TIMP-1 | TIMP-1 ассоциирован с сердечно-сосудистым риском у пожилых людей |

В целом, эти исследования выявили увеличение относительного уровня TIMP-1 в плазме у пациентов после инфаркта миокарда, но уровни TIMP-2 и TIMP-4 либо не изменились, либо были снижены по сравнению с референтными значениями [268]. Однако эти уровни TIMP также сопровождалась устойчивым увеличением уровня MMP в плазме в постинфарктный период, а повышенные уровни MMP сохранялись в течение нескольких недель до месяцев. Более того, относительная величина повышения уровня MMP связана с частотой и степенью неблагоприятного постинфарктного ремоделирования у пациентов [268].

К синтетическим ингибиторам MMP относятся статины, которые оказывают плеiotропные эффекты *in vivo*, включая влияние на сигнальные механизмы, которые приводят к ингибированию MMP [269]. Что касается антибиотиков, то на данный момент доксициклин является единственным ингибитором MMP, одобренным Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для клинического использования [270].

-
268. Spinale F.G., Villarreal F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // *BiochemPharmacol.* 2014. V. 90. № 1. P. 7–15. doi: 10.1016/j.bcp.2014.04.011.
269. Qiang B., Toma J., Fujii H. et al. Statin therapy prevents expansive remodeling in venous bypass grafts. // *Atherosclerosis.* – 2012. – V. 223. – № 1. – P. 106–113.
270. Saeed M., Arun M.Z., Guzeloglu M., Onursal C., Gokce G., Korkmaz C.G., Reel B. Low-dose doxycycline inhibits hydrogen peroxide-induced oxidative stress, MMP-2 up-regulation and contractile dysfunction in human saphenous vein grafts. // *Drug Des DevelTher.* 2019. V. 13. P. 1791–1801. doi: 10.2147/DDDT.S187842.

2.2.5. Влияние MMP на формирование и дестабилизацию атеросклеротической бляшки

Следует отметить особую роль MMP в формировании и дестабилизации атеросклеротических бляшек. Известно, что атеросклероз протекает в несколько отдельных этапов, многие из которых связаны с изменением активности MMP [271]. В атеросклеротической бляшке нарушение регуляции MMP связано с инфильтрацией лейкоцитов, миграцией гладкомышечных клеток сосудов (VSMC) и ремоделированием матрикса [271, 272]. Гладкомышечные клетки сосудов содержат MMP-2, а макрофаги/пенистые клетки содержат MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 и MMP-9 [273]. Дестабилизация бляшек может быть вызвана протеолизом фибриллярных коллагенов под действием MMP-1, MMP-8 и MMP-13 [273, 274]. Кроме того, повышенная активность MMP-7 приводит к расщеплению белка N-кадгерина, который отвечает за адгезию клеток, влияет на апоптоз VSMC, что

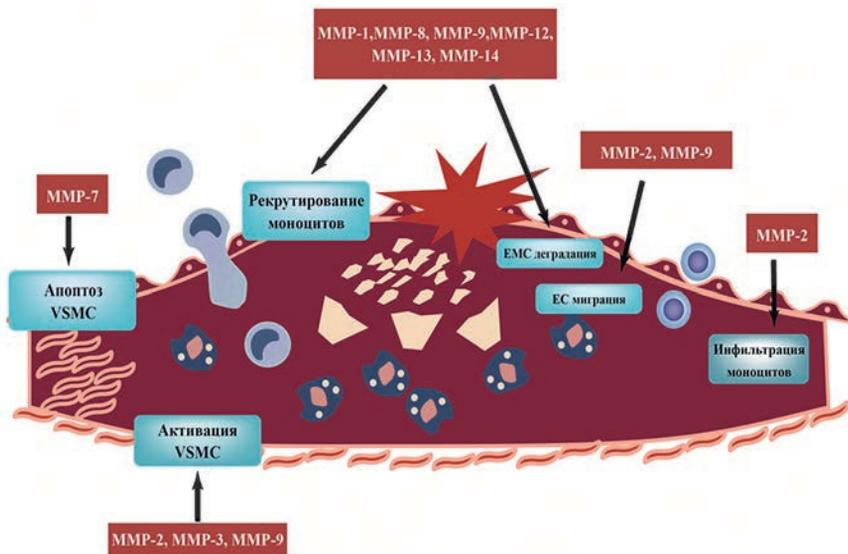


Рис. 11. Влияние MMP на формирование и дестабилизацию атеросклеротической бляшки. Адаптировано из: Olejarz W. et al., 2020 [278]

271. Plutzky J. The vascular biology of atherosclerosis. // The American Journal of Medicine. – 2003. – V. 115. – № 8, Supplement 1. – P. 55–61.
272. Lijnen H. R. Metalloproteinases in development and progression of vascular disease. // Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis. – 2003. – V. 33. – № 5-6. – P. 275–281.
273. Galis Z. S., Khatri J. J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. // Circulation research. – 2002. – V. 90. – № 3. – P. 251–262.
278. Olejarz W., Łacheta D., Kubiak-Tomaszewska G. Matrix Metalloproteinases as Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability. // International journal of molecular sciences. – 2020. – V. 21. – № 11. P. 1–20. 3946. doi: 10.3390/ijms21113946. PMID: 32486345.

приводит к нестабильности бляшек [275, 276]. Известно также, что экспрессия MMP-2, MMP-3 и MMP-9 повышается по действием белка амфотерина (HMGB1), что усиливает разрыв бляшек (рисунок 11) [277, 278].

Из различных изоформ MMP регуляция и активирование MMP-9 связаны с различными патологическими состояниями. Избирательное ингибирование MMP-9 имеет важное терапевтическое значение для лечения различных воспалительных и ССЗ. Сердечно-сосудистые заболевания являются причиной большинства человеческих смертей во всем мире, и все они связаны с аномалиями MMP-9. Например, изменения в кардиоваскулярном внеклеточном матриксе регулируются желатиназами и их тканевыми ингибиторами и связаны с воспалением [278, 279]. Показано на животных моделях, что нокаут изоформы MMP-2 и MMP-9 демонстрировали сниженную деградацию эластина аорты и защищали от гипертрофии миокарда, фиброза и дисфункции [280, 281]. Постинфарктные модели и модели левого желудочка с аритмогенезом показали, что промоторы гена MMP-9 временно активируются, особенно в области повреждения миокарда [282, 283]. Промоторная область гена MMP-9 включает проксимальную активирующую область сайт белка-1 (AP-1), который обеспечивает усиленный транскрипционный ответ на широкий спектр цитокиновых и клеточных стимулов [284]. В клинических исследованиях были показаны ассоциации между активностью MMP-9, маркерами воспаления и ремоделированием

-
274. Molloy K. J., Thompson M. M., Jones J. L. et al. Unstable carotid plaques exhibit raised matrix metalloproteinase-8 activity. // *Circulation*. – 2004. – V. 110. – № 3. – P. 337–343.
 275. Sukhova G. K., Schönbeck U., Rabkin E. et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. // *Circulation*. – 1999. – V. 99. – № 19. – P. 2503–2509.
 276. Williams H., Johnson J. L., Jackson C. L. et al. MMP-7 mediates cleavage of N-cadherin and promotes smooth muscle cell apoptosis. // *Cardiovascular research*. – 2010. – V. 87. – № 1. – P. 137–146.
 277. Inoue S., Nakazawa T., Cho A. et al. Regulation of arterial lesions in mice depends on differential smooth muscle cell migration: a role for sphingosine-1-phosphate receptors. // *Journal of vascular surgery*. – 2007. – V. 46. – № 4. – P. 756–763.
 278. Olejarz W., Łacheta D., Kubiak-Tomaszewska G. Matrix Metalloproteinases as Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability. // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – V. 21. – № 11. P. 1–20. 3946. doi: 10.3390/ijms21113946. PMID: 32486345.
 279. Kuwahara F., Kai H., Tokuda K., Takeya M., Takeshita A., Egashira K., Imaizumi T. Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation? // *Hypertension*. 2004. V. 43. P. 739–745.
 280. Collier P., Watson C.J., Voon V., Phelan D., Jan A., Mak G., Martos R., Baugh J.A., Ledwidge M.T., McDonald K.M. Can emerging biomarkers of myocardial remodeling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? // *Eur. J. Heart Fail*. 2011. V. 13. P. 1087–1095.
 281. Basalyga D.M., Simionescu D.T., Xiong W., Baxter B.T., Starcher B.C., Vyavahare N.R. Elastin degradation and calcification in an abdominal aorta injury model: role of matrix metalloproteinases. // *Circulation*. 2004. V. 110. P. 3480–3487.
 282. Heymans S., Lupu F., Terclavers S., Vanwetswinkel B., Herbert J.-M., Baker A., Collen D., Carmeliet P., Moons L. Loss or inhibition of uPA or MMP-9 attenuates LV remodeling and dysfunction after acute pressure overload in mice. // *Am. J. Pathol*. 2005. V. 166. P. 15–25.
 283. Mukherjee R., Colbath G.P., Justus C.D., Bruce J.A., Allen C.M., Hewett K.W., Saul J.P., Gourdie R.G., Spinale F.G. Spatiotemporal induction of matrix metalloproteinase-9 transcription after discrete myocardial injury. // *FASEB J*. 2010. V. 24. P. 3819–3828.
 284. Mukherjee R., Snipes J.M., Saunders S.M., Zavadzka J.A., Spinale F.G. Discordant activation of gene promoters for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of the metalloproteinases following myocardial infarction. // *J. Surg. Res*. 2012. V.172. P. 59–67.

миокарда в постинфарктный период, фиброзом, а также дисфункцией левого желудочка и сердечной недостаточностью [285–289].

Таким образом, учитывая важную роль ММР в дестабилизации атеросклеротических бляшек, поиск новых ингибиторов ММР является актуальным для лечения атеросклероза.

2.2.6. Использование доноров/миметиков NO, ингибиторов ММР, в качестве терапевтических агентов

Поиски клинического применения ингибиторов ММР продолжают уже несколько десятков лет. Наиболее часто встречающиеся проблемы во время клинических исследований связаны с низкой эффективностью и побочными эффектами, которые в свою очередь связаны с неадекватной специфичностью к изоформам ММР. В настоящее время наши знания о роли отдельных изоформ ММР в различных процессах и регуляции этих ферментов значительно расширились. Однако взаимосвязи между различными изоформами ММР, их физиологическая роль и участие в патологических процессах оказались более сложными, чем предполагалось изначально.

Таким образом, реальная проблема заключается не только в разработке селективных ингибиторов изоформ ММР (которые могут выполнять множественные роли *in vivo*), а скорее в регуляции нарушенной функции ферментов, которая специфически связана с патологией. Этот комплекс проблем требует изучения факторов, контролирующих экспрессию и активность ММР. По мере того как все больше становится понятной роль эндогенного NO при различных заболеваниях, нитраты и другие доноры NO могут оказаться полезными в качестве терапевтических агентов для ингибирования активности ММР.

В настоящее время NO входит в состав нескольких известных фармакологических препаратов, гибридов NO-лекарство, с целью повышения эффективности и уменьшения побочных эффектов полученных фармакологических лекарств. Из этих гибридов NO с нестероидными противовоспалительными препаратами (NO-NSAIDs), NO-глюкокортикоидами и NO-сальбутамол были тщательно изучены на предмет их противовоспалительного

-
285. Mukherjee R., Mingoia J.T., Bruce J.A., Austin J.S., Stroud R.E., Escobar G.P., McClister Jr. D.M., Allen C.M., Alfonso-Jaume M.A., Fini M.E., Lovett D.H., Spinale F.G. Selective spatiotemporal induction of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 transcription after myocardial infarction. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. V. 291. P. H2216–H2228.
 286. Martos R., Baugh J., Ledwidge M., O'Loughlin C., Conlon C., Patle A., Donnelly S.C., McDonald K. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. // *Circulation.* 2007. V.115. P. 888–895.
 287. Martos R., Baugh J., Ledwidge M., O'Loughlin C., Murphy N.F., Conlon C., Patle A., Donnelly S.C., McDonald K. Diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction: improved accuracy with the use of markers of collagen turnover. // *Eur. J. Heart Fail.* 2009. V.11. P. 191–197.
 288. Zile M.R., Desantis S.M., Baicu C.F., Stroud R.E., Thompson S.B., McClure C.D., Mehurg S.M., Spinale F.G. Plasma biomarkers that reflect determinants of matrix composition identify the presence of left ventricular hypertrophy and diastolic heart failure. // *Circ. Heart Fail.* 2011. V. 4. P. 246–256.
 289. Kuliczowski W., Urbaniak J., Hallen J., Wozniak M., Polonski L., Mysiak A., Atar D., Zembala M., Serebruany V. Matrix metalloproteinases and the activity of their tissue inhibitors in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty. // *Kardiol. Pol.* 2013. V. 71. P. 453–463.

действия [290-299]. Однако ингибирующее действие этих соединений на MMP-9 не было исследовано.

Тринитрат глицерина (GTN) уже давно используется в клинической практике и имеет хорошо выраженную токсичность [300]. Его потенциал в качестве ингибитора MMP был продемонстрирован, когда он снижал уровень MMP-9 в плазме за счет увеличения связывания фермента с мембраной и ингибирования его высвобождения [301, 302]. Однако в литературе есть также данные, что GTN активировал про-MMP-9 [303], повышал активность MMP-9 за счет увеличения NF-активации κ B и увеличения экспрессии MMP-9 [304, 305]. Установлено также, что семейство гибридов барбитуратов-нитратов ингибировало каталитическую активность MMP-9 и уменьшало секрецию MMP-9. Гибриды сильнее ингибировали инвазивность опухолевых клеток, чем их нитратные аналоги [306]. Эти многообещающие результаты

290. Rigas B., Kashfi K. Nitric-oxide-donating NSAIDs as agents for cancer prevention. // *Trends Mol. Med.* 2004. V. 10. P. 324–330.
291. Yeh R.K., Chen J., Williams J.L., Baluch M., Hundley T.R., Rosenbaum R.E., Kalala S., Traganos F., Bernardini F., del Soldato P., Kashfi K., Rigas B. NO-donating nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) inhibit colon cancer cell growth more potently than traditional NSAIDs: a general pharmacological property? // *Biochem.Pharmacol.* 2004. V. 67. P. 2197–2205.
292. Williams J.L., Kashfi K., Ouyang N., del Soldato P., Kopelovich L., Rigas B. NO-donating aspirin inhibits intestinal carcinogenesis in Min (APC(Min/+)) mice. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 313. P. 784–788.
293. Thatcher G.R., Nicolescu A.C., Bennett B.M., Toader V. Nitrates and NO release: contemporary aspects in biological and medicinal chemistry. // *Free Radic. Biol.Med.* 2004. V. 37. P. 1122–1143.
294. Fiorucci S., Antonelli E., Distrutti E., Del Soldato P., Flower R.J., Clark M.J., Morelli A., Perretti M., Ignarro L.J. NCX-1015, a nitric-oxide derivative of prednisolone, enhances regulatory T cells in the lamina propria and protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002. V. 99. P. 15770–15775.
295. Paul-Clark M.J., Mancini L., Del Soldato P., Flower R.J., Perretti M. Potent antiarthritic properties of a glucocorticoid derivative, NCX-1015, in an experimental model of arthritis. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002. V. 99. P. 1677–1682.
296. Turesin F., del Soldato P., Wallace J.L. Enhanced anti-inflammatory potency of a nitric oxide-releasing prednisolone derivative in the rat. // *Br. J. Pharmacol.* 2003. V.139. P. 966–972
297. Lagente V., Advenier C. New nitric oxide-donating drugs for the treatment of airway diseases. // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2004. V. 5. P. 537–541.
298. Lagente V., Naline E., Guenon I., Corbel M., Boichot E., Burgaud J.L., Del Soldato P., Advenier C. A nitric oxide-releasing salbutamol elicits potent relaxant and anti-inflammatory activities. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004. V. 310. P. 367–375.
299. Turner D.L., Ferrari N., Ford W.R., Kidd E.J., Paquet L., Renzi P., Broadley K.J. TPI 1020, a novel anti-inflammatory, nitric oxide donating compound, potentiates the bronchodilator effects of salbutamol in conscious guinea-pigs. // *Eur. J.Pharmacol.* 2010. V. 641. P. 213–219.
300. Marsh N., Marsh A. A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2000. V. 27. P. 313–319.
301. Sawicki G., Salas E., Murat J., Miszta-Lane H., Radomski M.W. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. // *Nature.* 1997. V. 386. № 6625. P. 616-619. doi: 10.1038/386616a0.
302. Fiotti N., Altamura N., Moretti M., Wassermann S., Zacchigna S., Farra R., Dapas B., Consoloni L., Giacca M., Grassi G., Giansante C. Short term effects of doxycycline on matrix metalloproteinases 2 and 9. // *Cardiovasc Drugs Ther.* 2009. V. 23. №2. P. 153–159. doi: 10.1007/s10557-008-6150-7.
303. Krishnatry A.S., Kamei T., Wang H., Qu J., Fung H.L. Identification of nitroglycerin-induced cysteine modifications of pro-matrix metalloproteinase-9. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011. V. 25. P. 2291–2298.
304. Krishnatry A.S., Fung S.M., Brazeau D.A., Soda D., Fung H.L. Nitroglycerin alters matrix remodeling proteins in THP-1 human macrophages and plasma metalloproteinase activity in rats. // *Nitric Oxide.* 2011. V. 24. P. 66–76.
305. Death A.K., Nakhla S., McGrath K.C., Martell S., Yue D.K., Jessup W., Celermajer D.S. Nitroglycerin upregulates matrix metalloproteinase expression by human macrophages. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002. V. 39. P. 1943–1950.
306. Wang J., O'Sullivan S., Harmon S., Keaveny R., Radomski M.W., Medina C., Gilmer J.F. Design of barbiturate-nitrate hybrids that inhibit MMP-9 activity and secretion. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 2154–2162.

иллюстрируют потенциал использования доноров NO или нитрат-гибридов для лечения заболеваний, при которых MMP-9 играет роль в патофизиологии. Поэтому поиск новых доноров NO, являющихся ингибиторами MMP, является весьма актуальным в кардиологии и в кардиоонкологии [307]. Изучение механизма действия NO на метаболические процессы в клетке имеет ключевое значение для эффективного использования этих соединений в качестве терапевтических агентов.

2.3. Свойства и функции поли (АДФ-рибоза)-полимеразы

Поли (АДФ-рибоза) – полимеразы (PARP, КФ 2.4.2.30) – представляют собой семейство ферментов, которые катализируют поли-АДФ-рибозилирование белков, осуществляя их посттрансляционную модификацию [309, 310]. Существует 18 членов семейства PARP, которые кодируются разными генами и имеют гомологию в консервативном каталитическом домене [309]. Клеточными субстратами для PARP являются ядерные белки, которые участвуют в метаболизме нуклеиновых кислот, модуляции структуры хроматина, синтезе и репарации ДНК [310]. Следует отметить, что в присутствии разрывов цепи ДНК PARP автомодифицируется и является одним из основных акцепторов поли-АДФ-рибозы *in vivo* [310].

Известно, что PARP участвует во многих клеточных процессах, таких как восстановление ДНК и поддержание целостности генома, регуляция экспрессии различных белков на уровне транскрипции, клеточной гибели посредством некроза и апоптоза, регуляции клеточной репликации и дифференцировки, регуляции активности теломеразы и деградации белков посредством убиквитинирования [311-317]. Поли (АДФ-рибозил)ирова-

-
307. Huerta S., Chilka S., Bonavida B. Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). // *Int. J. Oncol.* 2008. V. 33. P. 909–927.
 308. Krishnatry A.S., Kamei T., Wang H., Qu J., Fung H.L. Identification of nitroglycerin-induced cysteine modifications of pro-matrix metalloproteinase-9. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011. V. 25. P. 2291–2298.
 309. Amé J.C., Spenlehauer C., de Murcia G. The PARP superfamily. // *Bioessays.* – 2004. – V. 26. – № 8. – P. 882–893.
 310. D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G. G. Poly(ADP-ribosylation) reactions in the regulation of nuclear functions. // *Biochemical Journal.* – 1999. – V. 342. – № 2. – P. 249–268.
 311. Shall S., de Murcia G. Poly (ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? // *Mutation Research/DNA Repair.* – 2000. – V. 460. – № 1. – P. 1–15.
 312. Kim M. Y., Mauro S., Gévry N. et al. NAD⁺-dependent modulation of chromatin structure and transcription by nucleosome binding properties of PARP-1. // *Cell.* – 2004. – V. 119. – № 6. – P. 803–814.
 313. Virág L., Szabó C. The Therapeutic Potential of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. // *Pharmacological Reviews.* – 2002. – V. 54. – № 3. – P. 375–429.
 314. Schreiber V., Dantzer F., Amé J. C., De Murcia G. Poly (ADP-ribose): novel functions for an old molecule. // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2006. – V. 7. – № 7. – P. 517–528.
 315. Saxena A., Saffery R., Wong L. H. et al. Centromere proteins Cenpa, Cenpb, and Bub3 interact with poly(ADP-ribose) polymerase-1 protein and are poly(ADP-ribosylated). // *Journal of Biological Chemistry.* – 2002. – V. 277. – № 30. – P. 26921–26926.
 316. Samper E., Goytisolo F. A., De Murcia J. M. et al. Normal telomere length and chromosomal end capping in poly(ADP-ribose) polymerase-deficient mice and primary cells despite increased chromosomal instability. // *Journal of Cell Biology.* – 2001. – V. 154. – № 1. – P. 49–60.
 317. Bürkle A. Poly(ADP-ribose): The most elaborate metabolite of NAD⁺. // *FEBS Journal.* – 2005. – V. 272. – № 18. – P. 4576–4589.

ние является одной из разновидностей посттрансляционной модификации белков. Оно имеет большое значение для регуляции многих клеточных процессов как в норме, так и в условиях патологии [318]. Реакция поли(АДФ-рибозил)ирования осуществляется белками семейства PARP. Донором остатков АДФ-рибозы выступает НАД⁺. При этом доминирующая роль во всех процессах, связанных с поли(АДФ-рибозил)ированием белков, принадлежит ядерному белку PARP-1. Поли(АДФ-рибоза)-полимераза-1 (PARP-1) – наиболее изученный член семейства, который регулирует функции белка с помощью поли(АДФ-рибозил)ирования) и экспрессии генов в качестве кофактора транскрипции [319]. PARP-1 катализирует перенос ADP-рибозы от никотинамидадениндинуклеотида (NAD⁺) и конъюгирует PAR с различными белками, а также с самим PARP-1, что приводит к различным физиологическим процессам, влияет на регуляцию функции белков, белок-белковые взаимодействия, вызывает конформационные изменения в белках (рисунок 12)[320-322].

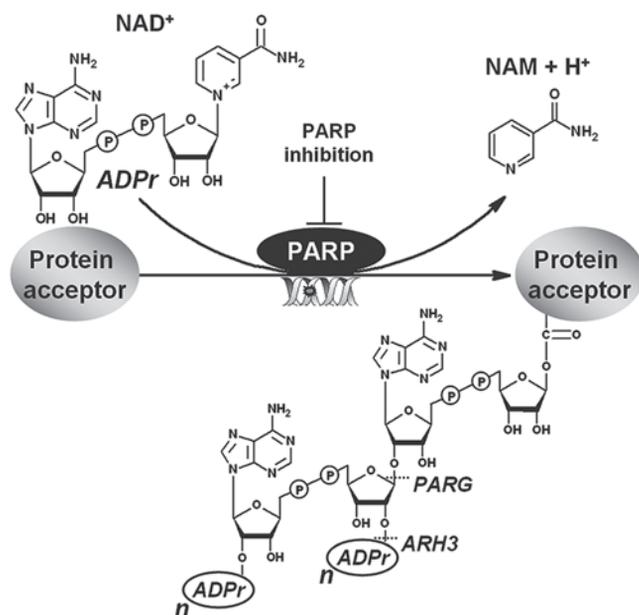


Рис.12. Реакция поли(АДФ-рибозил)ирования. Адаптировано из Sousa F.G. et al., 2012 [322]

318. Diefenbach J., Burkle A. Introduction to poly(ADP-ribose) metabolism. // Cell. Mol. Life Sci. – 2005. – V. 62. – P. 721–730.
319. Hegedűs C., Virág L. Inputs and outputs of poly(ADP-ribosylation): Relevance to oxidative stress. // Redox biology. – 2014. – V. 2. – P. 978–982.
320. Krishnakumar R., Gamble M. J., Frizzell K. M. et al. Reciprocal Binding of PARP-1 and Histone H1 at Promoters Specifies Transcriptional Outcomes. // Science. – 2008. – V. 319. – № 5864. – P. 819–821.
321. Kraus W. L., Lis J. T. PARP goes transcription. // Cell. – 2003. – V. 113. – № 6. – P. 677–683.
322. Sousa F.G., Matuo R., Soares D.G., Escargueil A.E., Henriques J.A., Larsen A.K., Saffi J. PARPs and the DNA damage response. // Carcinogenesis. 2012. V. 33. № 8. P. 1433–1440. doi: 10.1093/carcin/bgs132.

В ответ на повреждение ДНК или другие клеточные стимулы PARP 1-3 гидролизуют NAD⁺ и катализируют последовательный перенос фрагмента АДФ-рибозы к белковым акцепторам, высвобождая никотинамид (NAM) и один протон (H⁺). Звенья ADPr связаны друг с другом гликозидными рибозо-рибозными связями, что приводит к линейным или многоветвленным полианионам поли (ADP-рибоза). Эти полимеры PAR быстро разлагаются ферментами поли (АДФ-рибоза) гликогидролазой (PARG) и поли(АДФ-рибоза)-гидролазой 3 (ARH3).

Поли (АДФ-рибоза)-полимераза 1 является регулятором транскрипции, влияет на экспрессию воспалительных генов, в том числе ядерного фактора-кВ (NF - кВ), фактора некроза опухоли-альфа (TNF-alpha), интерлейкин-1-β (IL1-β), IL-6, на белок внутриклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и толл-подобный рецептор 4 (TLR4) [323-326]. Кроме того, показано участие PARP-1 в таких клеточных процессах как репарация ДНК, реорганизация структуры хроматина, регуляция транскрипции и др. Влияние PARP-1 на эти процессы реализуется главным образом посредством поли (АДФ-рибозил)ирования разнообразных белков, таких как гистоны, топоизомеразы I и II, ДНК-лигазы I и II, ДНК полимеразы α и β, РНК-полимеразы I и II, p53, PCNA и др.; всего известно более 30 таких белков-мишеней [327]. Базальная активность PARP-1 в клетке невысокая, однако при возникновении повреждений ДНК ее активность возрастает многократно. В последнее время было обнаружено, что активность PARP-1 также регулируется посредством различных посттрансляционных модификаций: моно (АДФ-рибозил)ирования, фосфорилирования, ацетилирования и др. [328]. PARP-1 играет важную роль в реализации различных механизмов клеточной гибели: некроза, аутофагии и каспаза-независимого апоптоза (партанатоза) [329]. Активация PARP-1 также может приводить к развитию воспалительной реакции за счет усиления экспрессии различных провоспалительных генов [330]. Столь широкий спектр функций делает PARP-1 и всю систему

-
323. Hassa P.O., Hottiger M.O. The functional role of poly (ADP-ribose) polymerase 1 as novel coactivator of NF-κB in inflammatory disorders. // Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. – 2002. – V. 59. – № 9. – P. 1534–1553.
 324. Liaudet L., Pacher P., Mabley J. G. et al. Activation of poly(ADP-Ribose) polymerase-1 is a central mechanism of lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation. // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2002. – V. 165. – № 3. – P. 372–377.
 325. Ha H. C., Hester L. D., Snyder S. H. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2002. – V. 99. – № 5. – P. 3270–3275.
 326. Zerfaoui M., Errami Y., Naura A. S. et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a determining factor in Crm1-mediated nuclear export and retention of p65 NF-κB upon TLR4 stimulation. // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). – 2010. – V. 185. – № 3. – P. 1894–1902.
 327. Thomas C., Tulin A.V. Poly-ADP-ribose polymerase: machinery for nuclear processes. // Mol. Aspects Med. – 2013. – V. 34. – № 6. – P. 1124–1137.
 328. Luo X., Kraus W.L. On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. // Genes Dev. – 2012. – V. 26. – № 5. – P. 417–432.
 329. Aredia F., Scovassi A.I. Poly(ADP-ribose): a signaling molecule in different paradigms of cell death. // Biochem. Pharmacol. – 2014. – V. 92. – № 1. – P. 157–163.
 330. Szabo C. Cardioprotective effects of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. // Pharmacol. Res. – 2005. – V. 52. – № 1. – P. 34–43.

поли(АДФ-рибозил)ирования белков перспективной мишенью для терапии ряда распространенных заболеваний, включая диабет, сердечно-сосудистые, онкологические и нейродегенеративные заболевания [331, 332].

2.3.1. Поли (АДФ-рибоза)-полимераза – биомаркер развития сердечно-сосудистых заболеваний

Поли (АДФ-рибоза)-полимераза является биомаркером развития ишемической болезни сердца [333-335]. Чрезмерная активация PARP-1, например, при ишемическом реперфузионном повреждении может приводить к гликолитическому ингибированию, истощению NAD⁺ и, как следствие, истощению АТФ в клетке [336, 337]. Значительное истощение уровня АТФ приводит к некротической гибели клеток. Поэтому ингибирование PARP1 или делеция его гена защищает от ишемии-реперфузии [336] и диабета [338].

Известно также, что повышенная активность PARP-1 влияет на эндотелиальные клетки кровеносных сосудов. Значительная активация PARP-1 способствует устойчивому сосудистому воспалению и эндотелиальной дисфункции [339-341]. PARP-1 облегчает сборку инфламмосомы в артериальной стенке и изменяет соотношение между ММР и ТИМР в пользу ММР, что может способствовать разрушению атеросклеротических бляшек [342].

-
331. Lupo B., Trusolino L. Inhibition of poly(ADP-ribosyl)ation in cancer: old and new paradigms revisited. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – V. 1846. – № 1. – P. 201–215.
 332. Pacher P., Szabo C. Role of the peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human disease. // *Am. J. Pathol.* – 2008. – V. 173. – № 1. – P. 2–13.
 333. Hatachi G., Tsuchiya T., Miyazaki T., Matsumoto K., Yamasaki N., Okita N., Nanashima A., Higami Y., Nagayasu T. The poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitor PJ34 reduces pulmonary ischemia-reperfusion injury in rats. // *Transplantation.* 2014. V. 98. P. 618–624. doi.org/10.1097/TP.0000000000000305. 20.
 334. Korkmaz-Icöz S., Radovits T., Loganathan S., Li S., Ruppert M., Benke K., Brlecic P., Szabó C., Karck M., Szabó G. Prolonging hypothermic ischaemic cardiac and vascular storage by inhibiting the activation of the nuclear enzyme poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase. // *Eur J Cardiothorac Surg.* 2017. V. 51. P. 829–835. https://doi.org/10.1093/ejcts/ezw426.
 335. Sahin K., Durdagi S. Identifying new piperazine-based PARP1 inhibitors using text mining and integrated molecular modeling approaches. // *J Biomol Struct Dyn.* 2021. V. 39. P. 681–690. doi.org/10.1080/07391102.2020.1715262.
 336. Devalaraja-Narashimha K., Padanilam B. J. PARP-1 inhibits glycolysis in ischemic kidneys. // *Journal of the American Society of Nephrology.* – 2009. – V. 20. – № 1. – P. 95–103.
 337. Andrabi S. A., Umanah G. K. E., Chang C. et al. Poly (ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2014. – V. 111. – № 28. – P. 10209–10214.
 338. Shevalye H., Stavniichuk R., Xu W. et al. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibition counteracts multiple manifestations of kidney disease in long-term streptozotocin-diabetic rat model. // *Biochemical pharmacology.* – 2010. – V. 79. – № 7. – P. 1007–1014.
 339. Bai P., Virág L. Role of poly(ADP-ribose) polymerases in the regulation of inflammatory processes. *FEBS Lett.* 2012. V. 586. № 21. P. 3771–3777. doi: 10.1016/j.febslet.2012.09.026.
 340. Carrillo A., Monreal Y., Ramírez P. et al. Transcription regulation of TNF-alpha-early response genes by poly(ADP-ribose) polymerase-1 in murine heart endothelial cells. // *Nucleic acids research.* – 2004. – V. 32. – № 2. – P. 757–766.
 341. Hassa P. O., Haenni S. S., Buerki C. et al. Acetylation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 by p300/CREB-binding protein regulates coactivation of NF-kappaB-dependent transcription. // *The Journal of biological chemistry.* – 2005. – V. 280. – № 49. – P. 40450–40464.
 342. Xu S., Bai P., Little P. J., Liu P. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) in atherosclerosis: from molecular mechanisms to therapeutic implications. // *Medicinal research reviews.* – 2014. – V. 34. – № 3. – P. 644–675.

Активация PARP-1 также ингибирует сиртуин1 (SIRT1), который обладает противовоспалительным эффектом [342]. При значительном повреждении ДНК наблюдается чрезмерная активация PARP-1, что вызывает разрушение атеросклеротических бляшек и некротическую гибель клеток [342]. На основании вышеизложенного ингибиторы PARP1 могут быть потенциальными лекарственными препаратами для лечения ишемии и атеросклероза.

2.3.2. Ингибиторы поли (АДФ-рибоза)-полимеразы

Применение ингибиторов PARP может быть весьма эффективным для лечения целого ряда патологий, прежде всего онкологических заболеваний. В настоящее время в противоопухолевой терапии существуют две стратегии использования ингибиторов PARP, первая из которых направлена на усиление токсичности некоторых химиотерапевтических препаратов и радиотерапии (адьювантная терапия), а вторая – на применение в монотерапии опухолей при наличии определенных нарушений в системе репарации ДНК, например при дефектных генах BRCA1, BRCA2 [343]. Как следует из накопленных к настоящему времени клинических данных, использование ингибиторов PARP в адьювантной терапии злокачественных заболеваний дает хорошие результаты в сочетании с алкилирующими химиотерапевтическими средствами и радиотерапией [344]. В настоящее время порядка 10 ингибиторов PARP находятся на разных стадиях клинических испытаний как противоопухолевые средства. Известно также, что ингибиторы PARP могут быть успешно использованы в терапии ряда сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся острым или хроническим воспалением, а также при хирургических операциях на сердце и в трансплантологии (таблица 4) [345, 346]. Кроме того, ингибиторы PARP проявляли терапевтический потенциал для лечения заболеваний, связанных с окислительным стрессом, нейродегенеративных заболеваний, диабета 2-го типа, болезни Паркинсона, панкреатита, дегенерации сетчатки (таблица 4) [346].

-
342. Xu S., Bai P., Little P. J., Liu P. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) in atherosclerosis: from molecular mechanisms to therapeutic implications. // *Medicinal research reviews*. – 2014. – V. 34. – № 3. – P. 644–675.
343. Lupo B., Trusolino L. Inhibition of poly(ADP-ribosylation) in cancer: old and new paradigms revisited. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – V.1846. – № 1. – P. 201–215.
344. Curtin N.J., Szabo C. Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. // *Mol. Aspects Med*. – 2013. – V. 34. – № 6. – P. 1217–1256.
345. Pacher P., Szabo C. Role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: the therapeutic potential of PARP inhibitors. // *Cardiovasc. Drug Rev*. – 2007. – V. 25. – № 3. – P. 235–260.
346. Curtin N.J., Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition: past, present and future. // *Nat Rev Drug Discov*. 2020. V. 19. № 10. P. 711–736. doi: 10.1038/s41573-020-0076-6.

Таблица 4
Клинически одобренные ингибиторы PARP на моделях ССЗ, ней-
родегенеративных и воспалительных заболеваний
Адаптировано с модификациями из Curtin et al., 2020 [346].

| Экспериментальная модель | Смоделированная болезнь | Лекарственное средство (концентрация или доза/дозировка) | Эффекты |
|---|---|---|--|
| Эндотелиальные клетки, подвергнутые воздействию высоких концентраций глюкозы | Диабетическая сосудистая дисфункция | Велипариб (5 μM) | Защита от фрагментации ДНК |
| Гепатоциты AML12 | Жировая болезнь печени | Олапариб (100 nM) | Повышенная клеточная биоэнергетика, индукция митохондриального биогенеза и индукция генов, связанных с липолизом |
| Человеческие CD4+ Т-клетки, стимулированные анти-CD3 и анти-CD28 | Астма, воспаление | Олапариб (1-5 μM) | Благоприятная модуляция цитокиновых реакций и субпопуляция Т-клеток |
| Культированные человеческие нейроны, подвергнутые NMDA или недостаток кислорода/глюкозы | Нейротоксичность, нейродегенерация | Олапариб (2 μM) | Нейропротекция |
| Моноциты в совместной культуре с эндотелиальными клетками | Нейровоспаление, инсульт | Олапариб или талазопариб (10 μM) | Снижение адгезии и миграции клеток |
| Клетки ARPE-19, подвергшиеся окислительному стрессу | Дегенерация сетчатки | Олапариб (10 μM). Защита от гибели клеток и регуляция генов, связанных с воспалением | |
| Миотрубки C2C12, подвергшиеся окислительному стрессу | Миопатии | Велипариб или олапариб (100 nM) | Поддержание клеточной биоэнергетики |
| Клетки H9c2, подвергшиеся окислительному стрессу | Инфаркт миокарда | Олапариб (10 μM) | Защита от гибели клеток и митохондриальной дисфункции |
| Смешанные культуры спинного мозга, выделенные из эмбрионов крыс, подвергнутых воздействию TDP43 | ALS | Велипариб (10 μM) | Защита от дегенерации нейронов |
| Первичные кортикальные нейроны, подвергнутые кислородной/глюкозной депривации | Нейротоксичность, нейродегенерация | Велипариб (10 μM) | Нейропротекция и поддержание уровня NAD ⁺ |
| U937 клетки, подвергшиеся окислительному стрессу | Заболевания, связанные с окислительным стрессом | Олапариб (1-30 μM) | Защита от гибели клеток и поддержание клеточной биоэнергетики |
| Клетки HPDE, подвергшиеся окислительному стрессу | Панкреатит | Олапариб (1-30 μM) | Защита от гибели клеток и поддержание клеточной биоэнергетики |
| Первичные нейроны коры головного мозга мыши, подвергнутые воздействию α -синуклеина | Нейродегенеративные заболевания | Велипариб, рукапариб или талазопариб (1 μM) | Защита от гибели клеток |

346. Curtin N.J., Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition: past, present and future. // Nat Rev Drug Discov. 2020. V. 19. № 10. P. 711–736. doi: 10.1038/s41573-020-0076-6.

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

| Экспериментальная модель | Смоделированная болезнь | Лекарственное средство (концентрация или доза/дозировка) | Эффекты |
|---|--|--|---|
| Кардиомиоциты HL-1 или изолированные кардиомиоциты предсердий крыс, подвергнутые тахипейсингу | Фибрилляция предсердий, нарушения сердечного ритма | Олапариб (5-20 μM) или велипариб (5-40 μM) | Защита от истощения NAD^+ и окислительного повреждения белка / ДНК, предотвращение ремоделирования каналов и улучшение электрофизиологии |
| Клетки hVSMCs или MC3T3, подвергнутые условиям, вызывающим кальцификацию | Кальцификация сосудов, атеросклероз | Олапариб, велипариб или рукапариб (3 μM) | Ингибирование кальцификации сосудов |
| <i>Drosophila reripurae</i> подвергли тахипакингу | Фибрилляция предсердий | Олапариб или велипариб (200 - 400 μM) | Защита от истощения NAD^+ и улучшение сократительной способности сердца |
| Мыши db/db | Диабет 2 типа | Велипариб (15 мг кг^{-1}) ежедневно | Улучшенная сосудистая функция <i>ex vivo</i> |
| Потеря дофаминергических нейронов у трансгенных мышей AIMP2 | Болезнь Паркинсона | Рукапариб (0,125-1,25 мг кг^{-1}) | Профилактика дегенерации дофаминергических нейронов |
| Мыши, подвергнутые окклюзии МСА | Острый ишемический инсульт | Олапариб (3-5 мг кг^{-1}) | Уменьшение размера инфаркта и улучшение сосудистой и неврологической функции |
| Гетеротопическая трансплантация сердца крысам Льюиса | Отторжение трансплантата | Олапариб (10 мг кг^{-1}) ежедневно | Улучшенная сердечная функция и благоприятная регуляция экспрессии генов в пересаженном сердце |
| Интрастриатальная инъекция α -синуклеина мышам | Нейродегенерация | Велипариб (125 мг кг^{-1}) | Защита от потери дофаминергических нейронов |
| Мыши, подвергшиеся ожоговой травме | Ожоги третьей степени | Олапариб (10 мг кг^{-1}) ежедневно | Улучшенная функция органов, уменьшенная выработка медиаторов воспаления и ускоренное заживление ран |

Сокращения: ALS – боковой амиотрофический склероз; ARDS – острый респираторный дистресс-синдром; HMGB1 – белок группы В1 с высокой подвижностью; HPDE – эпителиальный проток поджелудочной железы человека; hVSMC – клетка гладкой мускулатуры сосудов человека; МСА – средняя мозговая артерия; NMDA – N-метил-D-аспартат; PARP – поли (АДФ-рибоза)полимераза; TDP43 – ДНК-связывающий белок TAR 43.

Ранее была проведена I фаза клинических испытаний ингибитора PARP INO-1001, рассматриваемого как потенциальный кардиопротектор при комбинированной терапии ряда сердечно-сосудистых патологий. Также была изучена фармакокинетика и фармакодинамика этого ингибитора у больных с инфарктом миокарда [347].

346. Curtin N.J., Szabo C. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition: past, present and future. // *Nat Rev Drug Discov.* 2020. V. 19. № 10. P. 711–736. doi: 10.1038/s41573-020-0076-6.

347. Morrow D.A., Brickman C.M., Murphy S.A. et al. A randomized, placebo-controlled trial to evaluate the tolerability, safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of a potent inhibitor of poly(ADPribose) polymerase (INO-1001) in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of the TIMI 37 trial. // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2009. – V. 27. – P. 359–364.

2.4. Ренин, его функция и роль в развитии ССЗ

2.4.1. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система

Компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) относятся к основным регуляторам сосудистого тонуса, артериального давления, функционального состояния сердца электролитного и кислотно-основного равновесия, а также баланса натрия [348, 349]. Компоненты РААС также принимают участие в развитии артериальной гипертензии (АГ), атеросклероза, ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, оказывают влияние на их клиническое течение [350, 351].

Ренин – ключевой фермент РААС синтезируется в юкстагломерулярном аппарате почек из своего предшественника проренина. Ренин запускает преобразование ангиотензиногена (АТГ) в неактивный ангиотензин I (Анг-I), далее ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) преобразовывает Анг-I в активный сосудосуживающий ангиотензин II (Анг-II), который оказывает свое воздействие через связь с двумя подтипами рецепторов: AT1 и AT2 (рисунок 13).

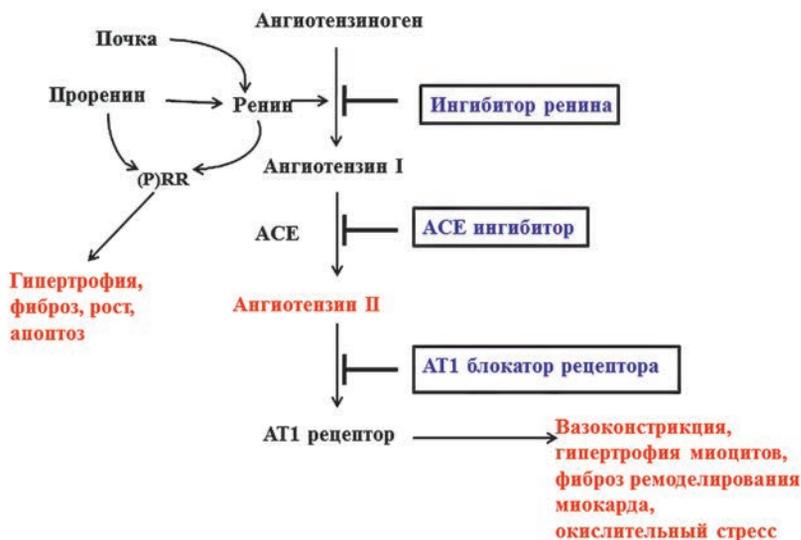


Рис. 13. Ренин-ангиотензиновая система (РАС) и потенциальные участки, на которые воздействуют лекарства. *Адаптировано из Ramya et al., 2020 [352]*

348. Гормоны и почки. / Под ред. Б.М. Бреннера, Дж.Г. Стейна. – М.: Медицина, 1983. – 336 с.
349. Свищенко Е.П., Коваленко В.Н. Гипертоническая болезнь, вторичные гипертензии. – Издательство К.: Лебедь, 2002. – 504 с.
350. Уильямс Г.Г. Альдостерон. Почечная эндокринология. // – М.: Медицина, 1987. – С. 272–295.
351. Brewster U.C., Setara J.F., Perazella M.A. The renin-angiotensin-aldosterone system: cardiorenal effects and implications for renal and cardiovascular disease states. // Amer. J. Med. Sci. – 2003. – V. 326. – P.15–24.
352. Ramya K., Suresh R., Kumar H.Y., Kumar B.R.P., Murthy N.B.S. Decades-old renin inhibitors are still struggling to find a niche in antihypertensive therapy. A fleeting look at the old and the promising new molecules. // Bioorg Med Chem. 2020. V. 28. № 10. P. 115466. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115466.

Преимущественно Анг-II связывается с АТ1-рецепторами, что приводит к вазоконстрикторному, пролиферативному, провоспалительному эффекту и, в целом, к развитию склеротических изменений тканей и сосудов. Именно через активацию АТ1-рецепторов Анг-II стимулирует секрецию альдостерона надпочечниками. Стимуляция АТ2-рецепторов приводит к прямо противоположному эффекту: вазодилатации, антипролиферации, антисклеротическому действию. Однако экспрессия АТ2-рецепторов у взрослого человека выражена меньше, чем экспрессия АТ1-рецепторов [353].

Высвобождение ренина увеличивается в ответ на ограничение поступления натрия, уменьшение объема плазмы, снижение перфузионного давления в почках и при переходе в вертикальное положение тела. Следствием активации симпатической нервной системы считают опосредованное β -адренорецепторами высвобождение ренина почками, что, в свою очередь, повышает уровень ангиотензина [354].

Ренин встречается в двух основных формах: обыкновенный ренин с молекулярной массой около 40 000 Да и связанный, или «большой», ренин с молекулярной массой около 60 000 Да. Обе формы ренина обнаружены в плазме крови и экстрактах почечной ткани. «Большой» ренин (проренин) представляет собой неактивную форму фермента при физиологических значениях рН, он приобретает активность после воздействия среды с кислотой рН или кислыми протеазами [355]. Ренин свободно фильтруется почками и почти полностью реабсорбируется почечными канальцами. Инактивируется этот фермент главным образом в печени [356]. Точная структура ренина не установлена. Физиологические эффекты самого ренина неизвестны. Все они связаны с образованием ангиотензина. Физиологические реакции на ангиотензин могут определяться как чувствительностью его органов-мишеней, так и его концентрацией в плазме крови, причем вариабельность реакций связана с изменением числа и родства ангиотензиновых рецепторов [357].

2.4.2. Изменения нейрогуморальной активности в остром периоде инфаркта миокарда

Инфаркт миокарда является стрессовой ситуацией, активирующей симпато-адреналиновую систему. Кроме того, в ответ на гемодинамическую перегрузку и уменьшение массы функционирующего миокарда для поддержания адекватной насосной функции сердца включаются компенсатор-

353. Dihn D.T., Frauman A.G., Jonston C.I., Fabiani M.E. Angiotensin receptors: distribution, signaling and function. // *Clinical Sci.* – 2001. – № 100. – P. 481–492.

354. Свищенко Е.П., Коваленко В.Н. Артериальная гипертензия. Практическое руководство. – К.: Морион, 2001. – 528 с.

355. Шхвацабая И.К., Чихладзе Н.М. Гиперальдостеронизм и артериальная гипертензия. – М.: Медицина, 1984. – 136 с.

356. Brown M.J. Renin: friend or foe. // *Heart.* – 2007. – V. 93. – P. 1026–1033.

357. Теппермен Д.Ж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 656 с.

ные механизмы, активируются плазменные и локальные (миокардиальные) нейрогормональные системы [358]. Нейрогуморальные сдвиги реализуются в форме вазоконстрикторных и вазодилаторных воздействий. Первые реализуются через симпато-адреналовую (САС), ренин-ангиотензин-альдостероновую системы (РААС), вазопрессин, антидиуретический гормон, серотонин, эндотелин, тромбоксан А2, вторые – через калликреин-кининовую систему, предсердный натрий-уретический пептид, простагландины I2 и E2, эндотелий-зависимый расслабляющий фактор [359, 360].

Активация РААС начинается в первые 3 суток инфаркта миокарда, затрагивает как циркулирующее, так и тканевое звенья системы и отмечается практически у всех больных. Регистрируется увеличение содержания ренина в крови, возрастает экспрессия АПФ и содержание ангиотензина II (АII) в пораженном миокарде и перинфарктной зоне, а также активируются другие тканевые ферменты, способствующие образованию ангиотензина II [361]. Показано, что в первые часы инфаркта миокарда уровень ангиотензина II в плазме увеличивается в среднем в 8 раз [362]. В перинфарктной зоне увеличивается экспрессия рецепторов к ангиотензину II. Именно ангиотензин II, вырабатываемый в тканевой РААС, принимает самое непосредственное участие в процессах гипертрофии и гиперплазии, он стимулирует рост фибробластов, синтез коллагена, продукцию цитокинов, изменения генетического ответа клетки, ведущего к активации апоптоза [363]. Активация РААС ведет к повышению выработки некоторых цитокинов (P, L, E-селектинов, интерлейкинов-6 и 8, фактора некроза опухоли α , эндотелина-1). Негативное влияние провоспалительных цитокинов обусловлено отрицательным инотропным действием, вазоконстрикторным эффектом за счет нарушения эндотелий зависимой дилатации артериол. Кроме того, цитокины способствуют разрушению внеклеточного коллагенового матрикса миокарда, гипертрофии кардиомиоцитов и дилатации желудочков, что усиливает ремоделирование сердца [364, 365]. Ангиотензин II стимулирует образование альдостерона, что сопровождается повышени-

-
358. Dostal D.E, Baker K.M. Evidence for a role of an intracardiac reninangio tensin system in normal and failing hearts. // Trends Cardiovasc Med. 1993. V. 3. P. 67–74.
359. Белов Ю.В., Варакин В.А. Современное представление о постинфарктном ремоделировании левого желудочка. // РМЖ. 2002. V. 10. № 10. P. 469–471.
360. Dargie H.J., McAlpine H.M., Morton J.J. Neuroendocrine activation in acute myocardial infarction. // J Cardiovasc Pharmacol. 1987. V. 9 (Suppl2). P. 21–24.
361. Мареев В.Ю. Блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы на разных уровнях. // Практикующий врач. – 2000. – № 18. – С. 23–24.
362. Heusch G., Rose J., Ehring T. Cardioprotection by ACE inhibitors in myocardial ischaemia/reperfusion. The importance of bradykinin. // Drugs. 1997. V.54 (Suppl 5) P.31–41. doi: 10.2165/00003495-199700545-00006.
363. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Соболева Ю.В. и др. Физиология и фармакология ренин-ангиотензиновой системы. // Кардиология. 1997. № 11. С. 91–95.
364. Мареев В.Ю. Блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы на разных уровнях. // Практикующий врач. – 2000. – № 18. – С. 23–24.
365. Палеев Н.Р., Палеев Ф.Н. Цитокины и их роль в патогенезе заболеваний сердца. // Клиническая медицина, 2004. № 5. С. 4–7.

ем преднагрузки в результате увеличения объема циркулирующей крови за счет задержки натрия и воды [366]. Усиленное выведение калия из организма помогает реализации проаритмогенного действия АП, что в сочетании с гиперкатехоламинемией приводит к появлению желудочковых аритмий [367]. Альдостерон способствует отложению коллагена 3-го типа в миокарде и стенках сосудов, вызывая их фиброзное ремоделирование [368]. В то же время АП стимулирует повышение секреции гипофизом антидиуретического гормона, что также приводит к гиперволемии. Кроме того, антидиуретический гормон усиливает периферическую вазоконстрикцию за счет индукции фосфорилирования цАМФ с увеличением концентрации ионов Ca^{2+} в гладкомышечных элементах сосудов. Следует отметить, что АП обладает ферментативной активностью в отношении брадикинина, вызывает его инактивацию, что снижает выработку эндотелием сосудов NO и простагландинов и способствует формированию эндотелиальной дисфункции и вазоконстрикции [369]. Таким образом, активация нейрогормональных систем способствует развитию ишемии миокарда (расширение зоны некроза, рецидив инфаркта миокарда, ранняя постинфарктная стенокардия), нарушению ритма сердца, ремоделированию миокарда и острой сердечной недостаточности.

2.4.3. Применение ингибиторов ренина для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

На глобальном уровне самая высокая смертность приходится на сердечно-сосудистые заболевания. ВОЗ сообщает, что от сердечных заболеваний и инсульта умирает больше всего людей [370].

В настоящее время с целью снижения активности нейрогуморальных систем в клинической практике применяются блокаторы β -адренергических и ангиотензиновых рецепторов, ингибиторы ангиотензин превращающего фермента и антагонисты альдостерона. На разных стадиях клинических испытаний также находятся несколько новых групп препаратов: ингибиторы ренина, вазопептидаз, антагонисты эндотелиевых рецепторов [371].

-
366. Бузиашвили Ю.И., Ключников И.В., Мелконян А.М. и др. Ишемическое ремоделирование левого желудочка (определение, патогенез, диагностика, медикаментозная и хирургическая коррекция). // Кардиология. 2002. № 10. С. 88–95.
367. Барбараш О.Л., Бернс С.А., Монингер И.Г. и др. Взаимосвязь проаритмических маркеров и показателей дисфункции миокарда у больных ИБС с умеренной сердечной недостаточностью. Эффективность спиронолактона в снижении риска возникновения желудочковых аритмий. // Сердце. 2006. № 6. С. 292–295.
368. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. Москва, Медиа Медика. 2000. С. 266.
369. Hornig B., Drexler H. Reversal of endothelial dysfunction in humans. // Coron Artery Dis. 2001. V.12(6). P.463-73. doi: 10.1097/00019501-200109000-00005.
370. WHO report on cardiovascular diseases. // World Health Organization. 2017.
371. Кокорин В.А., Волов Н.А., Дударева А.В., Сытник Н.В., Гэн Хайшу. Нейрогуморальные нарушения и методы их коррекции у больных, перенесших инфаркт миокарда. // Российский кардиологический журнал. 2009. № 1 (75). С. 62–68.

Гипертоническая болезнь является значительным фактором риска сердечного приступа, сердечной недостаточности, хронического заболевания почек, повреждения почек и инсульта. Если оставить гипертонию без лечения, то болезнь прогрессирует до поражения органов-мишеней сердца и почек и в конечном итоге приводит к смерти [372]. Схема лечения гипертонии часто включает более одного класса препаратов, которые управляют кровяным давлением. Один из нескольких классов препаратов, одобренных для лечения артериальной гипертензии, – это препараты, блокирующие ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Этот путь считается самым значительным научным достижением в лечении артериальной гипертонии и других ССЗ.

В этом разделе обсуждается разработка ингибиторов ренина за несколько десятилетий, открытие пептидов и непептидов, последние разработки и открытие терапевтического потенциала алискирена, единственного доказанного ингибитора ренина с 2007 года.

Ренин является привлекательной мишенью, поскольку он является определяющим этапом в синтезе ангиотензина II. Ингибиторы ренина заметно снижают активность ренина в плазме и, следовательно, ограничивают продукцию ангиотензина I из ангиотензиногена. За последние три десятилетия была проделана интенсивная работа над созданием ингибиторов ренина, хотя терапевтическое значение ингибиторов ренина было признано с 1957 г. [373]. Исследование началось с антител и пептидов [374]. Первый ингибитор ренина появился в 1972 г. [375]. После нескольких лет исследований произошёл переход от пептидов к непептидам. Исследованиям по разработке ингибиторов ренина способствовало появление новых методов компьютерного молекулярного моделирования, дизайн лекарств на основе структуры и кристаллографические методы. Впервые о структуре проренина было сообщено в 1989 г., а позже было сообщено о структуре ренина [376]. Это помогло химикам двигаться быстрее вперед в исследовании ингибиторов ренина.

2.4.4. Пептиды управляют ингибированием ренина

За последние шесть десятилетий были проведены обширные исследования с целью обнаружения клинически эффективных ингибиторов ренина. Исследование ингибиторов ренина началось с синтеза пептидов. Исследование Скега и его коллег в 1957 году послужило основой для исследования

-
372. Jagadeesh G., Balakumar P., Stockbridge N. How well do aliskiren's purported mechanisms track its effects on cardiovascular and renal disorders? // *Cell Signal*. 2012. V. 24. № 8. P. 1583–1591.
373. Poulsen K., Burton J., Haber E. Competitive inhibitors of renin. // *Biochemistry*. 1973. V. 12. № 20. P. 3877–3882.
374. Sielecki A.R., Hayakawa K., Fujinaga M. et al. Structure of recombinant human renin, a target for cardiovascular-active drugs, at 2.5Å resolution. // *Science*. 1989. V. 243. № 4896. P. 1346–1351.
375. Gross F., Lazar J., Orth H. Inhibition of the renin-angiotensinogen reaction by pepstatin. // *Science*. 1972. V. 175. № 4022. P. 656–660.
376. Gross F., Lazar J., Orth H. Inhibition of the renin-angiotensinogen reaction by pepstatin. // *Science*. 1972. V. 175. № 4022. P. 656–660.

пептидов [377]. Ренин представляет собой тетра-декапептидный субстрат с последовательностью *Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser* [378]. Были предприняты попытки синтезировать пептид, имитирующий рениновый сегмент [379]. Было показано, что белки, такие как гемоглобин разных видов, цепи глобина, фрагменты глобина, Р-фрагменты лактоглобулина В проявляли ингибирующее действие на ренин [380]. В середине 1970-х годов сообщалось о пептидах, полученных из субстрата ренина. Ненасыщенные пептидные производные были более активны, чем насыщенные пептиды [381]. Полипептиды, такие как *АНМОА-Val-Phe-OCH₃*, *His-АНМОА-Val-Phe-OCH₃* и *АНМОА-Ile-His-OCH₃*, синтезированные из пептидных фрагментов ангиотензина, также показали конкурентное ингибирование ренина [382]. Позднее были опробованы структурно отличающиеся пептиды. Включение циклогексил-аланилового аналога статина, (3*S*, 4*S*)-4-амино-5-циклогексил-3-гидрокси-пентановой кислоты (АСНРА) к производным октапептида создало наиболее мощные ингибиторы ренина [383]. Ряд тетрапептидов, содержащих статины с добавлением различных гидрофобных ароматических групп в карбоксильный конец, показал конкурентное ингибирование ренина. Более того, активность соединений увеличивалась в семь раз по сравнению со статинами, когда были синтезированы фтор-кето пептиды. Присутствие фтор-группы повышало активность более чем в 930 раз при связывании с ферментом. Позднее компания Merck (Германия) разработала макроциклические ингибиторы ренина, такие как глутамат-производные и серин-производные макроциклы [384].

Ключевая стратегия структурной модификации производных пептидов была направлена на использование их пептидной природы, улучшение специфического связывания с ренином. Было синтезировано большое количество пептидо-миметиков. Однако пептиды имели многочисленные недостатки, включая низкую кишечную абсорбцию и повышенный метаболизм в печени. Было разработано несколько поколений пептидных ингибиторов

-
377. Skeggs L.T., Kahn J.R., Lentz K., Shumway N.P. The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. // *J Exp Med.* 1957. V. 106. № 3. P. 439–453.
 378. Burton J., Poulsen K., Haber E. Competitive inhibitors of renin Inhibitors eective atphysiological pH. // *Biochemistry.* 1975. V.14. №17. P. 3892–3898.
 379. Haber E. Defining the physiologic and pathophysiologic roles of renin: the role of specific inhibitors. // *Am J Kidney Dis.* 1985. V. 5. № 4. P. 14-22. doi: 10.1016/s0272-6386(85)80060-3.
 380. Workman R.J., McKown M.M., Gregerman R.I. Renin Inhibition by proteins and peptides. // *Biochemistry.* 1974. V. 13. № 15. P. 3029–3035.
 381. Turcotte J.G., Yu C.S., Lee H.L., Pavanaram S.K., Sen S., Smeby R.R. Synthesis of lysophosphatidylethanolamine analogs that inhibit renin activity. // *J Med Chem.*1975. V. 18. № 12. P.1184–1190.
 382. Johnson R.L., Verschoor K. Inhibition of renin by angiotensinogen peptide fragments containing the hydroxy amino acid residue 5-amino-3-hydroxy-7-methyloctanoic acid. // *J Med Chem.* 1983. V. 26. № 10. P.1457–1462.
 383. Boger J., Payne L.S., Perlow D.S. et al. Renin inhibitors. Syntheses of subnanomolar,competitive, transition-state analog inhibitors containing a novel analog of statine. // *J Med Chem.* 1985. V. 28. № 12. P. 1779–1790.
 384. Weber A.E., Steiner M.G., Krieter P.A. et al. Highly potent, orally active diester macrocyclic human renin inhibitors. // *J Med Chem.* 1992. V. 35. № 21. P. 3755–3773.

ренина, однако все они обладали рядом недостатков, а именно – низкой растворимостью, высокой молекулярной массой и плохой биодоступностью.

Таким образом, исследователи должны были сосредоточиться на пептидах, чтобы достичь улучшенной пероральной биодоступности.

2.4.5. Новая эра непептидных ингибиторов ренина

За последние два десятилетия значительный прогресс в области медицинской химии способствовал быстрому развитию нового класса лекарственных веществ, которые эффективно ингибировали ренин.

Такие соединения включали (2*S*, 3*R*, 4*S*)-2-амино-1-циклогексил-3, 4-дигидрокси-6-(2-пиридил) гексан, который ингибировал ренин как *in vivo*, так и *in vitro*. Все соединения проявляли активность в наномолярных или даже субнано-молярных концентрациях при тестировании *in vitro* (выделенный ренин человека) и *in vivo* на обезьянах. Одно из таких соединений, N-концевое производное пиперидил янтарной кислоты, ингибировало активность ренина человека при $IC_{50} = 0,38$ нМ [385]. Компания Roche (Швейцария) разработала 3, 4-дизамещенный пиперидин в качестве ведущего фрагмента. Систематическая оптимизация структуры этого класса соединений привела к производным пиперидина, которые ингибировали ренин в пикомолярном диапазоне [386]. Появление производных пиперидина привело к новому пониманию механизма ингибирования ренина. Сначала были разработаны производные кето-пиперазина, а позже оптимизация C-кольца привела к синтезу алискирена [387]. В то же время некоторые исследователи перешли от пептидов и непептидов к изучению активных компонентов растений. Эфирное масло (хаутгуйнин натрия), ингибирующее ренин, было получено из многолетнего растения *Houttuynia cordata* [388]. Используя кристаллографические методы и компьютерное молекулярное моделирование, ученые из нескольких фармацевтических компаний синтезировали несколько мощных и селективных ингибиторов ренина. Соединения, которые привлекли внимание всего мира, описаны ниже.

Vitae-GSK: на основе алкиламинов были разработаны новые лекарства. Из них, VTP-27999 показал почти 90 % ингибирование ренина [389].

Дайичи Санкио: исследования были сосредоточены в основном на производных на основе алискирена для достижения улучшенной пероральной биодоступности. В отличие от 3, 4-пиперидина (компания Roche, Швейца-

-
385. Heitsch H., Henning R., Kleemann H.W. et al. Renin inhibitors containing a pyridyl amino diol derived C-terminus. // J Med Chem. 1993. V. 36. № 19. P. 2788–2800.
386. Oefner C., Binggeli A., Breu V. et al. Renin inhibition by substituted piperidines: a novel paradigm for the inhibition of monomeric aspartic proteinases? // Chem Biol. 1999. V. 6. № 3. P. 127–131.
387. Holsworth D.D., Cai C., Cheng X.M. et al. Ketopiperazine-based renin inhibitors: optimization of the “C” ring. // Bioorg Med Chem Lett. 2006. V.16. № 9. P. 2500–2504.
388. Yuan L., Wu J., Aluko R.E., Ye X. Kinetics of renin inhibition by sodium houttuynifonate analogs. // Biosci Biotechnol Biochem. 2006. V. 70. № 9. P. 2275–2280.
389. Yokokawa F. Recent progress on the discovery of non-peptidic direct renin inhibitors for the clinical management of hypertension. // Expert Opin Drug Discov. 2013. V. 8. № 6. P. 673–690.

рия), компания *Daiichi Sankyo* (Япония) разработала 3, 5-пиперидин, который продемонстрировал хорошее связывание с ренином.

Компания *Novartis* (Швейцария) разработала 3, 5-пиперидины и транс-3, 4-дизамещенные пирролидины. Все они относятся к новому классу ингибиторов ренина [390]. Большинство разработанных ингибиторов ренина являются молекулярными модификациями пиперидина и морфолин-3-карбоксамидных аналогов [391-394].

Многие компании инвестировали время и деньги в исследование и производство сотен соединений, демонстрирующих хорошую ингибирующую активность к ренину. Однако не всем им удалось пройти клинические испытания на данный момент. Только одно соединение было успешным, которое представляет собой алискирен. Это соединение было одобрено Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (США) в марте 2007 г. для лечения гипертонии (таблица 5) [394-396].

Таблица 5
Фармакокинетические свойства пероральных ингибиторов ренина
Адаптировано из Staessen et al., 2006 [397].

| | Биодоступность, % | IC50 (nmol/L) | Период полураспада плазмы, h(SD) |
|-----------|-------------------|---------------|----------------------------------|
| Алискирен | 2,7 | 0,6 | 23,7 (7,6) |
| CGP 38560 | <1,0 | 0,7 | 1,1 |
| Эналкирен | NA | 14,0 | 1, 6 (0,4) |
| Ремикирен | <1,0 | 0,8 | 9,4 (4,1) |
| Занкирен | NA | 1,1 | NA |

Примечание: IC50 – это концентрация, необходимая для 50% ингибирования ренина человека. NA = данные отсутствуют

Однако и это соединение имеет ряд ограничений и побочных эффектов. Хотя алискирен обладает кардиопротекторным и ренопротекторным действием, он проявляет плохую биодоступность. Самыми серьезными небла-

-
390. Lorthiois E., Breitenstein W., Cumin F. et al. The discovery of novel potent trans-3, 4-disubstituted pyrrolidine inhibitors of the human aspartic protease renin from in silico three-dimensional (3D) pharmacophore searches. // *J Med Chem.* 2013. V. 56. № 6. P. 2207–2217.
 391. Chen A., Bayly C., Bezenon O. et al. Design and optimization of a substituted amino propanamide series of renin inhibitors for the treatment of hypertension. // *Bioorg Med Chem Lett.* 2010. V. 20. № 7. P. 2204–2209.
 392. Imaeda Y., Tokuhara H., Fukase Y. et al. Discovery of TAK-272: a novel, potent, and orally active renin inhibitor. // *ACS Med Chem Lett.* 2016. V. 7. № 10. P. 933–938.
 393. Hara T., Nishimura S., Yamamoto T. et al. TAK-272 (imarikiren), a novel renin inhibitor, improves cardiac remodeling and mortality in a murine heart failure model. // *PLoS ONE.* 2018. V. 13. № 8. P. 1–16.
 394. Scheiper B., Matter H., Steinhagen H. et al. Discovery and optimization of a new class of potent and non-chiral indole-3-carboxamide-based renin inhibitors. // *Bioorg Med Chem Lett.* 2010. V.20. № 21. P. 6268–6272.
 395. Jagadeesh G., Balakumar P., Stockbridge N. How well do aliskiren's purported mechanisms track its effects on cardiovascular and renal disorders? // *Cell Signal.* 2012. V. 24. № 8. P.1583–1591.
 396. Balakumar P., Maung-U. K., Jagadeesh G. Prevalence and prevention of cardiovascular disease and diabetes mellitus. // *Pharmacol Res.* 2016. V.113(Pt A). P. 600–609. doi: 10.1016/j.phrs.2016.09.040.

гоприятными последствиями являются гиперкалиемия и почечная дисфункция, которые ведут к повышенной смертности [397]. Кроме того, алискирен при дозе ≥ 300 мг/день вызывает желудочно-кишечные симптомы, такие как диспепсия, боль в животе и желудочно-кишечный рефлюкс [398, 399].

Ингибиторы ренина являются привлекательными кандидатами для лечения гипертонии, артериальной гипертензии и других ССЗ. Прямой ингибитор ренина, алискирен, появившийся в 2007 году как клинически эффективная молекула, применяется и по сей день. Алискирен – производное кето-пиперазина с хорошим связыванием и высокой специфичностью к ренину. Огромное количество медицинских химиков разработало новые химические молекулы, используя структурный дизайн и молекулярное моделирование для разработки новых лекарств. Однако не было обнаружено ни одного химического соединения, которое было бы клинически эффективно по сравнению с алискиреном. Полученные соединения страдали плохой биодоступностью, коротким периодом полувыведения, слабой антигипертензивной эффективностью, высокой липофильностью, высокой молекулярной массой. Поэтому разработка новых ингибиторов ренина с улучшенной клинической эффективностью и безопасностью по сравнению с алискиреном все еще продолжается. Открытие нового лекарственного вещества является востребованным, поскольку ожидается, что новые антигипертензивные препараты будут демонстрировать большое разнообразие в их клиническом применении, помимо снижения артериального давления.

2.5. Гистондеацетилазы, роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний

2.5.1. Свойства гистондеацетилаз

Гистондеацетилазы (HDAC, КФ 3.5.1) – это ферменты, катализирующие удаление ацетильной группы ϵ -N-ацетил-лизина гистонов, внесенные ферментами гистонацетилазами в остатки K3 и K14 гистона H3 и K5, K8, K12 и K16 гистона H4, а также остатки некоторых лизинов гистонов H2A и H2B [400]. Семейство HDAC является обширным и древним, восходящим к прокариотам. Геномы млекопитающих кодируют 18 белков с высококонсервативным доменом деацетилазы. Эти белки можно разделить на четыре семейства (класс I, IIa, IIb и IV), которые отличаются по структуре, фер-

-
397. Staessen J.A., Li Y., Richart T. Oral renin inhibitors. // *Lancet*. 2006. V. 368. № 9545. P.1449–1456. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69442-7.
398. Solomon S.D., Hee Shin S., Shah A. et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren on left ventricular remodelling following myocardial infarction with systolic dysfunction. // *Eur Heart J*. 2011. V. 32. № 10. P. 1227–1234.
399. Solomon S.D., Appelbaum E., Manning W.J. et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren, the angiotensin receptor blocker losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. // *Circulation*. 2009. V. 119. № 4. P. 530–537.
400. Krum H., McMurray J.J., Abraham W.T. et al. The Aliskiren Trial to Minimize Outcomes in Patients with Heart failure trial (ATMOSPHERE): revised statistical analysis plan and baseline characteristics. // *Eur J Heart Fail*. 2015. V. 17. №10. P. 1075–1083.

ментативной функции, субклеточной локализации и паттернам экспрессии [401]. Помимо этих классических HDAC, геномы млекопитающих кодируют другую группу деацетилаз, сиртуины, которые иногда называют HDAC класса III. Представители I и II классов ингибируются трихостатином А, в то время как представители других классов нечувствительны к нему.

Гистондеацетилазы являются частью обширного семейства ферментов, играющих решающую роль в многочисленных биологических процессах в основном за счет их репрессивного влияния на транскрипцию [400]. Модифицируя гистоны и изменяя конформацию хроматина, гистондеацетилазы играют важную роль в регуляции экспрессии генов. В то время как гиперацетилирование гистонов под действием гистонацетилаз обычно связано с повышением транскрипционной активности, гистондеацетилазы вызывают гипoaцетилирование и, как следствие, репрессию генов. Гипоацетилирование приводит к уменьшению промежутка между нуклеосомой и намотанной на нее ДНК. Более плотная упаковка ДНК уменьшает ее доступность для транскрипционных факторов, что приводит к транскрипционной репрессии. Обычно гистондеацетилазы действуют в составе крупных комплексов, вместе с другими белками подавляющими активность хроматина. Субстратами гистондеацетилаз могут быть не только гистоны, но и некоторые другие белки (p53, E2F, α -тубулин и MyoD)[401].

2.5.2. Роль HDAC1, 2, 5 и 9 в росте, развитии и функционировании сердца

Экспрессия многих изоформ HDAC в эукариотических клетках связана с их специфичностью и участием в регуляции ключевых клеточных процессов. Анализ мышей с нокаутом HDAC выявил весьма специфические функции отдельных изоформ HDAC в развитии ряда заболеваний [400]. Мутантные мыши, лишённые отдельных HDAC, представляли собой мощный инструмент для определения функций HDAC *in vivo* и идентификации молекулярных мишеней HDAC с целью разработки ингибиторов различных заболеваний. Показано, что HDAC1 и HDAC2 играют важную роль в функционировании сердца, так как глобальная делеция генов HDAC1 и HDAC2 приводит к летальным фенотипам [400]. Установлено, что делеция всех аллелей HDAC1 и 2 приводит к неонатальной летальности, сопровождающейся аритмией, кардиомиопатией и активизацией генов, кодирующих скелетные мышцы, специфичные сократительные белки и кальциевые каналы в сердце [401]. Было обнаружено, что у мышей удаление HDAC1 и HDAC2 вызывает летальность через 2 дня. Транскрипционный анализ у этих животных показал, что только 1,6 % транскриптов были активирова-

401. Montgomery R.L. et al. Histone deacetylases 1 and 2 redundantly regulate cardiac morphogenesis, growth, and contractility. // *Genes Dev.* 2007. V. 21. P. 1790–1802.

400. Krum H., McMurray J.J., Abraham W.T. et al. The Aliskiren Trial to Minimize Outcomes in Patients with Heart failure trial (ATMOSPHERE): revised statistical analysis plan and baseline characteristics. // *Eur J Heart Fail.* 2015. V. 17. №10. P. 1075–1083.

ны и что делеция HDAC1 и HDAC2 в сердце подавляла специфичные генные программы, участвующие в обработке ионов Ca^{2+} и в сократительной способности (рисунок 14) [401].

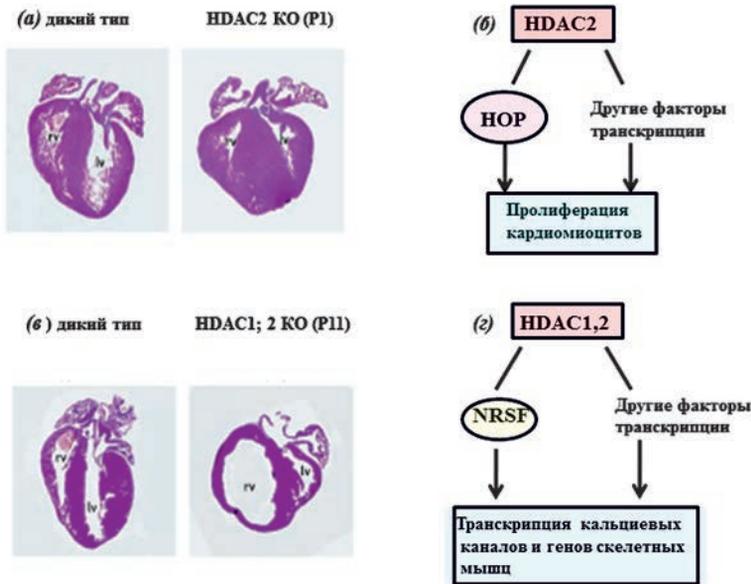


Рис.14. Контроль развития сердца с помощью делеции гистондеацетилазы 1 (HDAC1) и HDAC2. (а) – гистологические срезы сердец мышей дикого типа и мышей с нокаутом HDAC2 (KO) в постнатальный день 1 (P1). Наблюдается избыточное количество кардиомиоцитов в мутантном сердце, которые заполняют камеры левого желудочка (lv) и правого желудочка (rv); (б) – роль HDAC2 в подавлении пролиферации кардиомиоцитов путем ингибирования гомео-доменного белок (HOP); (в) – гистологические срезы сердца мышей дикого типа и мышцы с сердечной делецией HDAC1 и 2 на P11. Наблюдается расширение правого желудочка у мутанта, что свидетельствует о сердечной недостаточности; (г) – роль HDAC1 и 2 в регуляции кальциевых каналов и генов скелетных мышц у кардиомиоцитов за счет подавления фактора нейрон-рестриктивного сайленсера (NRSF) и других факторов транскрипции. *Адаптировано из Haberland et. al., 2009 [401]*

Таким образом, потеря HDAC1 и HDAC2 приводит к потере факторов транскрипции, что приводит к aberrантной транскрипционной активности генов, участвующих в потоке кальция и сократительной способности, что приводит к сердечной аритмии и внезапной смерти [402]. Показано, что делеция HDAC3 в кардиомиоцитах также приводила к резкому усилению накопления липидов в сердце. Эти мыши доживали до 3-4-месячного возраста, после чего у них обнаруживалась массивная гипертрофия сердца и

401. Montgomery R.L. et al. Histone deacetylases 1 and 2 redundantly regulate cardiac morphogenesis, growth, and contractility. // *Genes Dev.* 2007. V. 21. P. 1790–1802.
 402. Haberland M., Montgomery R. L., Olson E. N. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. // *Nat Rev Genet.* 2009. V. 10. №1. P. 32–42. doi:10.1038/nrg2485.

дерепрессия генов, контролирующих поглощение жирных кислот. Кроме того, наблюдались аномалии, имитирующие метаболические нарушения, наблюдаемые при диабетических кардиомиопатиях. Кроме того, делеция HDAC3 приводила к выраженному фиброзу сердца. С другой стороны, гиперэкспрессия HDAC3 в сердце приводила к увеличению толщины миокарда, что было связано с повышенной гиперплазией кардиомиоцитов [401]. Мыши, лишённые HDAC5 или HDAC9, были жизнеспособными, однако они демонстрировали склонность к летальным дефектам межжелудочковой перегородки и утончению стенок миокарда, которые обычно возникают из-за аномалий роста и созревания кардиомиоцитов [403].

Таким образом, отсутствие HDAC5 и HDAC9, вероятно, нарушает точную скоординированную экспрессию генов, необходимых для дифференцировки, пролиферации и морфогенеза кардиомиоцитов, которые лежат в основе формирования сердца [404]. Установлено также, что HDAC5 и HDAC9 играли роль в подавлении роста сердца в ответ на сигнализацию стресса [405]. Мыши, у которых отсутствовали HDAC5 или HDAC9, были гиперчувствительны к сердечному стрессу в результате избыточной рабочей нагрузки или нейрогуморальной сигнализации [406, 407].

2.5.3. Терапевтическое действие ингибиторов HDAC

Участие ацетилирования и деацетилирования гистонов во многих аспектах развития и тканевого гомеостаза позволяет предположить, что ингибирование HDAC с помощью фармакологических ингибиторов приведет к значительным эффектам вследствие глобального подавления экспрессии генов. Однако было обнаружено, что ингибирование HDAC соединениями, которые ингибируют большинство или все изоформы HDAC, хорошо переносятся *in vivo* и специфично блокирует многочисленные программы экспрессии генов, связанные с заболеваниями. Если учитывать драматические фенотипы, появляющиеся в результате делеций гена HDAC, возникает вопрос: почему ингибиторы HDAC так хорошо переносятся *in vivo*? В настоящее время имеется три объяснения этому явлению. Во-первых, генетическая делеция HDAC приводит к полному отсутствию фермента, тогда как ингибиторы не приводят к полному ингибированию активности HDAC. Во-вторых, генетическая делеция HDAC навсегда устраняет продукт гена, в то время как дей-

-
401. Montgomery R.L. et al. Histone deacetylases 1 and 2 redundantly regulate cardiac morphogenesis, growth, and contractility. // *Genes Dev.* 2007. V. 21. P. 1790–1802.
 403. Kuwahara K. et al. NRSF regulates the fetal cardiac gene program and maintains normal cardiac structure and function. // *EMBO J.* 2003. V. 22. № 23. P. 6310–6321. doi: 10.1093/emboj/cdg601.
 404. Chang S. et al. Histone deacetylases 5 and 9 govern responsiveness of the heart to a subset of stress signals and play redundant roles in heart development. // *Mol Cell Biol.* 2004. V. 24. P. 8467–8476.
 405. Song K. et al. The transcriptional coactivator CAMTA2 stimulates cardiac growth by opposing class II histone deacetylases. // *Cell.* 2006. V. 125. P. 453–466.
 406. Backs J., Olson E.N. Control of cardiac growth by histone acetylation/deacetylation. // *Circ Res.* 2006. V. 98. P. 15–24.
 407. Hill J.A., Olson E.N. Cardiac plasticity. // *N Engl J Med.* 2008. V. 358. № 13. P. 1370–1380. doi: 10.1056/NEJMra072139.

ствии ингибитора носит временный характер. В-третьих, и, возможно, это наиболее важно, HDAC участвуют во многих белковых транскрипционных комплексах. Генетическая делеция HDAC нарушает комплексы, с которыми был связан фермент, в то время как ингибиторы блокируют ферментативную активность, не обязательно разрушая репрессивный комплекс. Классические ингибиторы HDAC, такие как трихостатин А или субероиланилид гидроксамовой кислоты (SAHA), в основном являются ингибиторами «пан-HDAC», то есть они блокируют с одинаковым сродством активность всех изоформ, кроме HDAC класса Па. Например, значения IC_{50} для SAHA составляют: HDAC1 = 37,1 нМ; HDAC3 = 44,6 нМ; HDAC6 = 40,9 нМ [408]. Если учитывать, что разные изоформы HDAC управляют совершенно разными программами экспрессии генов в процессе развития заболеваний, очевидно, что селективные к изоформам ингибиторы должны привести к улучшению эффективности и безопасности препаратов. Во многих скрининговых исследованиях использовался класс Па HDAC, очищенных из клеток млекопитающих, для разработки специфичных к изоформе класса Па ингибиторов, и, что удивительно, были идентифицированы соединения, которые блокировали класс Па, но не класс I. Эти соединения, вероятно, функционируют как низкомолекулярные ингибиторы белок-белковых взаимодействий, а не как ингибиторы HDAC [409]. Поскольку эти соединения на данный момент проходят клинические испытания, важно понимать, что они могут проявлять биологические свойства, которые отличаются от классических ингибиторов HDAC. В настоящее время ингибиторы HDAC из нескольких химических классов прошли клинические испытания, например SAHA (продается как Вориностат, торговая марка Золинза) был одобрен для лечения кожных заболеваний, рефрактерной Т-клеточной лимфомы [410]. Однако точный механизм действия ингибиторов HDAC на опухолевые клетки в настоящее время неизвестен, и были предложены многочисленные объяснения, такие как изменения в транскрипции генов, индукция апоптоза, производство активных форм кислорода и блокирование клеточного цикла [411-413]. Показано, что генетическая делеция HDAC3 приводит к нарушению клеточного цикла, вызывает поврежде-

-
408. Kim Y., Phan D., van Rooij E., Wang D.Z., McAnally J., Qi X., Richardson J.A., Hill J.A., Bassel-Duby R., Olson E.N. The MEF2D transcription factor mediates stress-dependent cardiac remodeling in mice. // *J Clin Invest*. 2008. V.118. № 1. P. 124–132. doi: 10.1172/JCI33255.
 409. Lee A.Y., Paweletz C.P., Pollock R.M., Settlege R.E., Cruz J.C., Secrist J.P., Miller T.A., Stanton M.G., Kral A.M., Ozerova N.D., Meng F., Yates N.A., Richon V., Hendrickson R.C. Quantitative analysis of histone deacetylase-1 selective histone modifications by differential mass spectrometry. // *J Proteome Res*. 2008. V. 7. № 12. P. 5177–5186. doi: 10.1021/pr800510p.
 410. Bolden J.E., Peart M.J., Johnstone R.W. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. // *Nature Rev Drug Discov*. 2006. V. 5. P.769–784.
 411. Duvic M., Talpur R., Ni X., Zhang C., Hazarika P., Kelly C., Chiao J.H., Reilly J.F., Ricker J.L., Richon V.M., Frankel S.R. Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). // *Blood*. 2007. V. 109. № 1. P. 31–39. doi: 10.1182/blood-2006-06-025999.
 412. Xu W.S., Parmigiani R.B., Marks P.A. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. // *Oncogene*. 2007. V. 26. P. 5541–5552.
 413. Marks P.A. Discovery and development of SAHA as an anticancer agent. // *Oncogene*. 2007. V. 26. P.1351–1356.

ние ДНК [414]. Одним из самых загадочных аспектов действия HDAC является то, что фармакологическое ингибирование активности HDAC обеспечивает терапевтическую пользу для разнообразных заболеваний.

В таблице 6 представлен обзор заболеваний, при которых ингибирование HDAC было полезным, а также предлагаемые механизмы действия.

Таблица 6

Ингибиторы HDAC, действующие против Zn^{2+} – зависимых HDAC и сердечно-сосудистых заболеваний, при которых ингибиторы показали положительный эффект

Адаптировано с модификациями из Pussoon Chun, 2020 [415].

| Класс | Ингибитор HDAC | Селективность HDAC | Положительный эффект на сердечно-сосудистые заболевания |
|--|--|--------------------|---|
| Алифатические кислоты (короткоцепочечные жирные кислоты) | VPA (вальпроевая кислота) | Класс I, IIa | Гипертрофия, HTN, MI, AF NR |
| | AN-9, масляная кислота, PBA, PTBA | Класс I | Гипертрофия, HF |
| | NaB (бутират натрия) | Класс I, IIa | |
| Бензамиды | CS055 (HBI-8000, хидамид), 4SC202 (доматинонат) | Класс I | NR |
| | PD-106 (пимелевый дифениламид 106) | | MI |
| | CI-994 (тацедиалин) | Класс I, IV | AF |
| | MS-275 (SNDX-275, энтинонат) | | HTN, MI, HF |
| | MGCD0103 (моцетинонат) | HDAC3 | Гипертрофия, HF |
| | RGFP966 | HDAC6 | Гипертрофия, HTN |
| | BRD3308 Тубастатин А, тубацин | | NR MI, HF, AF |
| Циклические пептиды | Апицидин FK228 (депсипептид, ромидесин) | Класс I | Гипертрофия NR |
| Производные гидроксамовой кислоты | Ингибиторы Pan-HDAC CHR-2845, FR276457, JNJ-26481585, LAQ-824, LBH-589 (панобинонат), PCI-24781, PXD101 (белинонат), SB939 ITF2357 (гивинонат) СВНА (бисгидроксамид м-карбоновой кислоты), MPT0E014 TSA (трихостатин А) SANA (субэроиланилид гидроксаминной кислоты, воринонат) | Класс I, II, IV | NR MI, HF Гипертрофия HF, AF Гипертрофия MI, AF Гипертрофия, HTN, MI, HF |

414. Marks P.A., Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. // Nature Biotechnol. 2007. V. 25. P. 84–90.

415. Chun P. Therapeutic effects of histone deacetylase inhibitors on heart disease. // Arch. Pharm. Res. 2020. V. 43. P.1276–1296. doi.org/10.1007/s12272-020-01297-0 .

| Класс | | Ингибитор HDAC | Селективность HDAC | Положительный эффект на сердечно-сосудистые заболевания |
|-------|--------|--|--|---|
| | Другие | SK-7041 MC1568 ACY-1215 CHR-3996 KBH-A145 ACY-738 | Класс I Класс IIa HDAC6 Класс I HDAC1 HDAC6 | Гипертрофия HTN MI NR |

Сокращения: AF – фибрилляция предсердий; HTN – гипертония; MI – инфаркт миокарда; HF – сердечная недостаточность; NR – неизвестно

Следует отметить, что ингибиторы HDAC были эффективными для лечения различных заболеваний, включая инфекционные, иммунологические заболевания, травматический шок, а также гипертрофию сердца и нейродегенеративные заболевания, а при определенных обстоятельствах ингибиторы HDAC даже были способны «вылечить» генетические заболевания у людей [415-424]. Хотя объединяющей теории, объясняющей полезное снижение активности деацетилазы при таких разнообразных патофизиологических состояниях, в настоящее время неизвестно, заманчиво предположить, что большинство этих заболеваний имеют эпигенетическое происхождение (то есть аномальное ацетилирование гистонов) и что лечение ингибиторами HDAC сбрасывает эпигенетическую память клетки в предболезненное состояние.

416. Bhaskara S., Chyla B.J., Amann J.M., Knutson S.K., Cortez D., Sun Z.W., Hiebert S.W. Deletion of histone deacetylase 3 reveals critical roles in S phase progression and DNA damage control. // *Mol Cell*. 2008. V. 30. № 1. P. 61–72. doi: 10.1016/j.molcel.2008.02.030.
417. Lehrman G., Hogue I.B., Palmer S., Jennings C., Spina C.A., Wiegand A., Landay A.L., Coombs R.W., Richman D.D., Mellors J.W., Coffin J.M., Bosch R.J., Margolis D.M. Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. // *Lancet*. 2005. V. 366. № 9485. P. 549–555. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67098-5.
418. Fischer A., Sananbenesi F., Wang X., Dobbin M., Tsai L.H. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. // *Nature*. 2007. V. 447. P. 178–182.
419. Reddy P., Sun Y., Toubai T., Duran-Struock R., Clouthier S.G., Weisiger E., Maeda Y., Tawara I., Krijanovski O., Gatza E., Liu C., Malter C., Mascagni P., Dinarello C.A., Ferrara J.L. Histone deacetylase inhibition modulates indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent DC functions and regulates experimental graft-versus-host disease in mice. // *J Clin Invest*. 2008. V. 118. № 7. P. 2562–2573. doi: 10.1172/JCI34712.
420. Kong Y., Tannous P., Lu G., Berenji K., Rothermel B.A., Olson E.N., Hill J.A. Suppression of class I and II histone deacetylases blunts pressure-overload cardiac hypertrophy. // *Circulation*. 2006. V. 113. №22. P. 2579–88. doi: 10.1161/circulationaha.106.625467.
421. Granger A., Abdullah I., Huebner F., Stout A., Wang T., Huebner T., Epstein J.A., Gruber P.J. Histone deacetylase inhibition reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice. // *FASEB J*. 2008. V. 22. № 10. P. 3549–60. doi: 10.1096/fj.08-108548.
422. Zhang B., West E.J., Van K.C., Gurkoff G.G., Zhou J., Zhang X.M., Kozikowski A.P., Lyeth B.G. HDAC inhibitor increases histone H3 acetylation and reduces microglia inflammatory response following traumatic brain injury in rats. // *Brain Res*. 2008. V. 1226. P.181–191. doi: 10.1016/j.brainres.2008.05.085.
423. Williams J.A., Barreiro C.J., Nwakanma L.U., Lange M.S., Kratz L.E., Blue M.E., Berrong J., Patel N.D., Gott V.L., Troncoso J.C., Johnston M.V., Baumgartner W.A. Valproic acid prevents brain injury in a canine model of hypothermic circulatory arrest: a promising new approach to neuroprotection during cardiac surgery. // *Ann Thorac Surg*. 2006. V. 81. № 6. P. 2235–2241; doi: 10.1016/j.athoracsur.2005.12.060.
424. Almeida A.M., Murakami Y., Baker A., Maeda Y., Roberts I.A., Kinoshita T., Layton D.M., Karadimitris A. Targeted therapy for inherited GPI deficiency. // *N Engl J Med*. 2007. V. 356. № 16. P. 1641–1647. doi: 10.1056/NEJMoa063369.

Глава III

Факторы, влияющие на жизнеспособность клеток

3.1. Цитопротекторные свойства глутатиона в организме человека

Важную роль для жизнеспособности клетки играет контроль метаболизма и процессов развития, осуществляемый за счет тиол-дисульфидного обмена. SH-группы остатков цистеина важны для функционирования ферментов и процессов, лежащих в основе ответов на факторы окружающей среды и внутриклеточной передачи информации – клеточного сигналинга. Базовым механизмом тиол-опосредованного окислительно-восстановительного (редокс) контроля в клеточном метаболизме является способность тиольных групп обратимо изменять свое редокс-состояние с последующим изменением конформационных, каталитических или регуляторных функций белка. В основе клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза, с помощью которого может поддерживаться редокс-состояние тиольных групп белков, лежит соотношение восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона, присутствующего в большинстве клеток в малой концентрации [425]. Глутатион (γ -глутамил-цистеинил-глицин) – одно из основных внутриклеточных низкомолекулярных тиолсодержащих соединений, синтезирующихся почти во всех эукариотических клетках. Восстановленный глутатион – это трипептид, состоящий из аминокислот L-глутамата, L-цистеина и глицина (рисунок 15) [425].

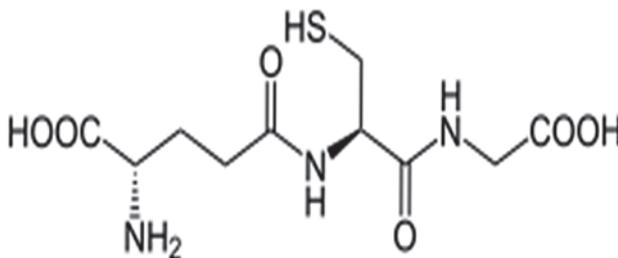


Рис. 15. Структура глутатиона. Адаптировано из Nagy, 2013 [425]

425. Nagy P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. // Antioxidants & Redox Signaling. 2013. V.18. P. 1623–1641.

Восстановленный глутатион меньше подвержен окислению, что делает его более подходящим для поддержания внутриклеточного редокс-потенциала. Восстановленный глутатион участвует в регуляции клеточного редокс-зависимого сигналинга, активности транскрипционных факторов, также является внутриклеточным антиоксидантом, захватывая свободные радикалы, косубстрата в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых глутатионпероксидазой (GPx) и глутатионтрансферазой (GST), и выступает в качестве агента, восстанавливающего окисленный глутаредоксин (Grx), необходимый для восстановления дисульфидов [425, 426]. Сохранение оптимального соотношения GSH/GSSG является важным условием для жизнеспособности клетки. Снижение уровня GSH ниже показателей нормы может служить индикатором нарушения клеточного редокс-статуса и изменения редокс-зависимой регуляции генов. Нарушение внутриклеточного баланса восстановленного глутатиона наблюдается при патологиях, включая злокачественные новообразования [426]. Благодаря своему строению и высокой внутриклеточной концентрации (1-10 мМ, 10 мМ для клеток печени и разных типов раковых клеток) восстановленный глутатион выполняет антиоксидантные функции, участвует в поддержании клеточного редокс-статуса, в работе системы детоксикации, в синтезе эйкозаноидов, в регуляции многих механизмов клеточного сигналинга, в частности при регуляции клеточного цикла, экспрессии генов, апоптоза [427].

Глутатион присутствует в клетке в основном в восстановленной форме, тогда как количество окисленного не превышает 1 % от его общего внутриклеточного содержания. Примерно 85-90 % GSH находится в цитозоле, но некоторая его часть после синтеза в цитозоле оказывается в митохондриях, ядре, пероксисомах, эндоплазматическом ретикулуме [428]. Поддержание оптимального соотношения GSH/GSSG в клетке является важным фактором для ее нормального функционирования и выживания. Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения. Установлено, что дисбаланс в регуляции GSH наблюдается при широком ряде патологий, таких как рак, нейродегенеративные заболевания, муковисцидоз, ВИЧ [427, 428]. Синтез GSH *de novo* проходит в два АТФ-зависимых этапа, которые включены в цикл шести ферментативных реакций, получивших название γ -глутамильного цикла [428]. Первый этап – это реакция образования пептидной связи между цистеином и глутаминовой кислотой, которая катализируется γ -глутамилцистеинлигазой (γ -GCL) и является скоростью-лимитирующей реакцией в синтезе GSH. Второй этап – это реакция, катализируемая глута-

426. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. // Успехи биологической химии. 2014. Т.54. С. 299–314.

427. Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. // Biome di cine & Pharmacotherapy. 2013. V. 57. P.145–155.

428. Green R. M., Graham M., O'Donovan M. R., Chipman J. K., Hodges N. J. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. // Mutagenesis. 2006. V. 21. P. 383–390.

тионсинтетазой (GS), приводящая к образованию GSH в результате связывания глицина с γ -глутамилцистеином. Фермент, способный гидролизовать специфическую связь в молекуле GSH между остатками глутаминовой кислоты и цистеина, γ -г-глутамилтрансфераза (γ -GT), локализован на внешней стороне цитоплазматической мембраны определенных типов клеток и обеспечивает перенос γ -глутамильного остатка на аминокислоту, делая возможным ее транспорт в клетку [428]. Образующийся в результате действия γ -GT дипептид цистеинилглицин расщепляется дипептидазой с образованием цистеина и глицина, которые становятся субстратами для γ -GCL и GS, соответственно. Затем γ -глутамилциклотрансфераза обеспечивает разрыв связи γ -глутамильного остатка с аминокислотой с образованием свободной аминокислоты и 5-оксипролина, который под действием оксипролиназы дециклизуется, образуя глутаминовую кислоту, которая также становится субстратом для γ -GCL [428]. Таким образом, внеклеточный глутатион может быть разрушен, и входящие в его состав аминокислоты способны вновь попасть внутрь клетки, где опять возможно их включение в состав молекулы GSH.

Большая часть содержания восстановленного глутатиона в плазме крови обеспечивается его синтезом в печени, поэтому сбой этого процесса в данном органе ведут к нарушениям гомеостаза глутатиона [428]. Восполнение содержания GSH осуществляется не только за счет синтеза *de novo*, но и активности глутатионредуктазы (GR), которая восстанавливает GSSG в присутствии НАДФН (H^+) до GSH. Поддержание оптимального соотношения GSH/GSSG (100/1) в клетке является существенным для нормального ее функционирования и выживания [426]. Содержание глутатиона в клетках снижается в процессе старения даже при отсутствии заболеваний, что приводит к повышению окислительных процессов в организме [429]. Часто можно наблюдать недостаток этого соединения уже в молодом возрасте [426]. Глутатион является низкомолекулярным антиоксидантом и может участвовать в неферментативной антиоксидантной защите, выступая эффективным скэвенджером (ловушкой) свободных радикалов [429].

При развитии в клетке окислительного стресса наблюдается повреждение молекул углеводов, липидов, белков и нуклеиновых кислот, что приводит к нарушению функциональной способности и гибели клетки. Окислительный стресс может влиять на состояние ядерного хроматина, что вызывает изменение экспрессии генов [429]. Развитие окислительного стресса приводит к одно- или двухцепочечным разрывам ДНК. Повреждения в митохондриях, вызванные окислительным стрессом, сопровождаются сниже-

428. Green R. M., Graham M., O'Donovan M. R., Chipman J. K., Hodges N. J. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. // *Mutagenesis*. 2006. V. 21. P. 383–390.

426. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. // *Успехи биологической химии*. 2014. Т.54. С. 299–314.

429. Galano A., Alvarez-Idaboy J. R. Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals. // *RSC Advances*. 2011. V.1. P. 1763–1771.

нием трансмембранного потенциала, изменением проницаемости мембран и ускорением высвобождения апоптотических факторов, что приводит к гибели клеток. При физиологических условиях активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА) принимают участие в процессах редокс-сигналинга, которые являются быстрыми, специфическими и обратимыми реакциями, регулирующими активность белков, важных для жизнедеятельности клетки [429, 430]. Процессы, связанные с осуществлением редокс-сигналинга, могут происходить в различных частях клетки или компартмента, вовлекая разные редокс-пары, как например GSH/GSSG. Особенное внимание уделяется в настоящее время изменениям в соотношении GSH/GSSG как основного показателя редокс-статуса и важного фактора сигнальной трансдукции [430, 431]. При нормальных условиях соотношение GSH/GSSG составляет 100:1, что минимизирует окислительное действие АФК/АФА. Нарушение данного соотношения оказывает существенное влияние на процессы сигнальной трансдукции, контроля экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференцировки, состояние клеточного метаболизма и жизнедеятельности клетки в целом [431]. Сверхпродукция глутатионилированных белков является индикатором развития окислительного стресса, впоследствии приводящего к клеточной гибели (рисунок 16)[432].



Рис. 16. Роль глутатиона в редокс-регуляции процессов жизнедеятельности клетки. Адаптировано из Thomas et al., 2008 [432]

429. Galano A., Alvarez-Idaboy J. R. Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals. // RSC Advances. 2011. V.1. P. 1763–1771.
430. Jones D. P. Redefining oxidative stress. // Antioxidants & Redox Signaling. 2006. V. 8. P.1865–1879.
431. Cai Z., Yan L.J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. // Journal of Biochemical and Pharmacological Research. 2013. V.1. P. 15–26.
432. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolucci N., Ambs S., Colton C.A., Harris C.C., Roberts D.D., Wink D.A. The Chemical Biology of Nitric Oxide: Implications in Cellular Signaling. // Free Radic Biol Med. 2008. V. 45. № 1. P.18–31. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.

Восстановленный глутатион синтезируется исключительно в цитоплазме, откуда он поступает в митохондрии, пероксисомы, эндоплазматический ретикулум и ядро. Более 70 % общего пула GSH приходится на цитозоль, ядро и митохондрии способны накапливать до 10 % и 30 % от общего внутриклеточного содержания глутатиона [428, 433].

В начале G1-фазы клеточного цикла восстановленный глутатион накапливается в ядре, поэтому он играет важную роль в сохранении редокс-статуса ядра [434]. У животных активация процессов окисления в цитоплазме, вызываемая эпидермальным фактором роста, ведет к накоплению активных форм кислорода, что приводит к активации каскадных процессов фосфорилирования, репликации ДНК и запуску процесса деления клетки. Снижение уровня GSH в цитоплазме в фазе G1 может способствовать росту АФК [434].

3.2. Роль глутатионовой системы в механизмах кардиопротекции

Установлена взаимосвязь между метаболизмом восстановленного глутатиона и такими болезнями, как кистозный фиброз, ВИЧ, старение, нейродегенеративные болезни, инфаркт миокарда [427, 428]. Для предупреждения осложнений инфаркта миокарда необходимо уменьшить прогрессирующее повреждение кардиомиоцитов, расстройство метаболизма которых наступает с первых секунд ишемии миокарда [435]. Нарушение метаболизма кардиомиоцитов сопровождается серией биохимических процессов, приводящих к некрозу кардиомиоцитов. Термин «ишемия миокарда» означает состояние, когда приток кислорода в сердечную мышцу становится недостаточным для поддержания скорости окислительных процессов в клетке [435]. При этом происходит активация каскада реакций, которые прекращают всю функциональную активность клеток миокарда, разрушая и уничтожая их органеллы. Электрические и сократительные свойства клеток миокарда порождены сложной системой ионного равновесия, поддерживаемого за счет макроэргических соединений. Системы клеточной регуляции и поддержания ион-

-
428. Green R. M., Graham M., O'Donovan M.R., Chipman J. K., Hodges N. J. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. // *Mutagenesis*. 2006. V. 21. P. 383–390.
433. Lluís J.M., Morales A., Blasco C., Colell A., Mari M., GarciaRuiz C., Fernandez-Checa J. C. Critical role of mitochondrial glutathione in the survival of hepatocytes during hypoxia. // *The Journal of Biological Chemistry*. 2005. V. 280. P. 3224–3232.
434. Carpenter G., Cohen S. Epidermal growth factor. // *The Journal of Biological Chemistry*. 1990. V. 265. P.7709–7712.
427. Townsend D.M., Tew K.D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2013. V. 57. P.145–155.
428. Green R.M., Graham M., O'Donovan M. R., Chipman J. K., Hodges N. J. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. // *Mutagenesis*. 2006. V. 21. P. 383–390.
435. Пархоменко А.Н. Кардиопротекция при остром инфаркте миокарда. // *Кардиология*. 2004. № 2. С. 6–11.

ного равновесия включают системы, передающие гормональный сигнал (аденилатциклаза, фосфолипаза С), системы активного транспорта (Са-насосы, Na/K-насосы), вторичные системы активного транспорта (обмен Na/протон, Na/Ca антипорт, котранспорт Na/K/Cl), ионные каналы (Na, K, Ca), некоторые ферментные системы (протеинкиназа С, цАМФ-зависимая протеинкиназа), системы, регулируемые кальмодулином [435]. Через несколько секунд после начала ишемических изменений возникают метаболические нарушения, которые затрагивают прежде всего электрическую активность, сократительную функцию клеток и при продолжающейся ишемии угрожают их жизнеспособности. Снижение снабжения кислородом и поступления субстрата уменьшает продукцию энергии митохондриями. Вследствие этого активизируется анаэробный гликолиз, направленный на образование АТФ, но этого недостаточно для обеспечения энергетических потребностей клеток миокарда [435]. Запасы АТФ, креатинфосфата и других высокоэнергетических фосфатов в клетке невелики, поэтому очень скоро наступают энергетическое голодание, а снижение уровня АТФ менее чем на 10 % по сравнению с нормой приводит к необратимому повреждению миокарда. При анаэробном гликолизе происходит накопление ионов H⁺ и лактата, что приводит к внутриклеточному ацидозу [435]. Внутриклеточный ацидоз в сочетании с энергетическим дефицитом тормозит большинство биохимических реакций в клетке, протекающих при участии ферментов. В результате этого появляются множественные нарушения ионного равновесия, в частности прекращается работа трансмембранных ионо-обменных каналов, особенно тех, которые являются АТФ-зависимыми, сохраняется лишь пассивное передвижение ионов.

Реперфузионное повреждение вызывает снижение сократимости кардиомиоцитов первичной ишемизированной зоны, что усугубляет нарушения внутрисердечной гемодинамики в острой фазе инфаркта миокарда. Дисфункция левого желудочка как следствие ишемии вначале является обратимой, и ранняя реперфузия может привести к восстановлению нормального метаболизма и сократимости миокарда [435]. При поздней реперфузии сократительная способность восстанавливается лишь в ишемизированной зоне и в большинстве случаев через определенный промежуток времени. Состояние замедленного восстановления функциональной способности сердечной мышцы, называемое «оглушенным» миокардом, во многом порождается дефицитом АТФ и Ca²⁺ перегрузкой, которые возникают во время ишемии и усугубляются при реперфузии [435].

При ишемии в избытке образуются свободные радикалы, еще в большем количестве они появляются при реперфузии, вызывая перекисное окисление фосфолипидов, что служит дополнительным фактором структурной деградации мембраны [435]. Свободные радикалы способны вызывать нарушения в структуре мембранных белков и изменять локализацию ряда

435. Пархоменко А.Н. Кардиопротекция при остром инфаркте миокарда. // Кардиология. 2004. № 2. С. 6–11.

белков-ионообменников. Этим могут быть объяснены изменения движения ионов, что наблюдается перед наступлением разрушения мембраны. Повреждающим мембранный аппарат кардиомиоцитов прооксидантным факторам в организме противодействует сложная многокомпонентная антиоксидантная система, представленная ферментативными (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза) и неферментативными (жиро- и водорастворимые витамины E, A, C, K, глутатион, флавоноиды, полифенолы и др.) звеньями, которые ингибируют реакции свободнорадикального окисления на стадии образования как свободных радикалов, так и перекисей.

Несмотря на большое число экспериментальных исследований, где были показаны положительные свойства многих медикаментозных средств, применение большинства препаратов в клинической практике не дало положительных результатов. Поэтому методы метаболической коррекции состояний, обусловленных ишемией/реперфузией, продолжают интенсивно разрабатываться. Если ранее усилия исследователей концентрировались на изучении метаболических свойств гемодинамически активных лекарственных средств, то в последнее время все большее внимание привлекают препараты, обладающие свойствами антиоксидантов и мембранопротекторов. К их числу относится нетоксичный биофлавоноид кверцетин, который воздействует на активность ферментов, принимающих участие в деградации фосфолипидов (фосфолипазу, липоксигеназу, циклооксигеназу) и в свободнорадикальных процессах, ферментов продукции оксида азота, протеинкиназы и др. Развитию окислительного стресса противодействует, в частности, глутатионпероксидаза. Она способна, кроме обезвреживания пероксида водорода, восстанавливать гидропероксиды жирных кислот, перекиси белкового или нуклеинового происхождения.

Глутатион является основным компонентом антиоксидантных систем почти всех клеток и органов. Он играет важную функцию в защите клеток организма, являясь сильным антиоксидантом. Глутатион играет ключевую роль в кардиопротекции, так как он защищает клетки организма от активных кислородных соединений, повышает резистентность клеток к негативному воздействию стресс-факторов, выполняет коэнзимные функции. Кроме того, он влияет на биосинтез нуклеиновых кислот, на пролиферацию клеток и поддерживает функциональное состояние биологических мембран. На фоне дефицита восстановленного глутатиона развиваются оксидативный и карбонильный стрессы, которые существенно смещают тиол-дисульфидное равновесие в сторону окисленных тиолов, что способствует митохондриальной дисфункции с дефицитом энергетических запасов клетки и усугублению гипоксии. В организме человека нехватка глутатиона ведет к возникновению многих болезней, таких как ССЗ, болезнь Паркинсона, тирозинемия I типа и другие. Эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали, что нехватка глутатиона может привести к повреждению митохондрий и гибели клеток, вызванных увеличением числа токсичных форм кислорода, приводящих к повышению количества свободных радикалов. Глутатион способен предотвращать повреждения клеток посредством соединения с токсическими веществами и/или их метаболитами. Обезвреживание ксенобиотиков

глутатионом может осуществляться тремя различными способами: путем конъюгации субстрата с глутатионом, в результате нуклеофильного замещения и в результате восстановления органических пероксидов до спиртов.

Система обезвреживания с участием глутатиона играет уникальную роль в формировании резистентности организма к самым различным воздействиям и является наиболее важным защитным механизмом клетки. В ходе биотрансформации некоторых ксенобиотиков при участии глутатиона образуются тиоэферы, которые затем превращаются в меркаптаны, среди которых обнаружены токсичные продукты. Но конъюгаты глутатиона с большинством ксенобиотиков менее реакционноспособны и более гидрофильны, чем исходные вещества, а поэтому менее токсичны и легче выводятся из организма. Глутатион связывает огромное количество липофильных соединений (физическое обезвреживание), предотвращая их внедрение в липидный слой мембран и нарушение функций клетки.

Таким образом, глутатион улучшает стабильность клеточной мембраны, защищает мембрану клеток, увеличивает активность ферментов и способствует детоксикации и восстановительной активности печени путем уничтожения свободных радикалов.

В настоящее время имеются лекарственные препараты, содержащие в составе глутатион, такие как глатион (производитель: Шаньдун Луи Фармасьютикал Ко. Лтд., Китай). Глутатион входит в состав многих биологически активных добавок, например, Solgar (США), антиоксидантная формула (Эвалар, Россия), Anti-Age Ацетил-глутатион (Эвалар, Россия). Однако поиск веществ, регулирующих уровень глутатиона в организме человека, продолжается.

3.3. Цитотоксичные свойства активных форм кислорода

Активные формы кислорода включают ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси органического и неорганического происхождения. В основном это небольшие молекулы с исключительной реактивностью благодаря наличию неспаренного электрона на внешнем электронном уровне. Активные формы кислорода по химическому составу агрессивные вещества, играющие значительную роль в регуляции основных функций клетки. В зависимости от силы воздействующего на клетку патогенного фактора они могут выступать либо индукторами процессов адаптации, либо индукторами апоптоза, также способны оказывать разрушающее действие на клеточные структуры и приводить к свободно-радикальному окислению липидов, белков, нуклеиновых кислот, что лежит в основе патогенеза многих заболеваний [436].

В клетке активные формы кислорода образуются в процессе разных окислительно-восстановительных реакций. К АФК относят супероксид

436. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов в адаптации организма к изменению уровня кислорода. // Проблемы гипоксии. 2004. С. 112–138.

анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), гидропероксидный радикал (HO_2^{\cdot}), синглетный кислород, гипохлорит ($HOCl$), окись азота (NO) и пероксинитрит ($ONOO^-$), которые обладают высокой окислительной активностью (рисунок 17).



Рис. 17. Основные активные формы кислорода: супероксидный анион-радикал, гидропероксидный радикал, перексид водорода, гидроксидный радикал. Адаптировано из Brandes, 2005 [437]

Одним из главных производителей активных форм кислорода в клетке являются пероксисомы, в которых находится ряд ферментов, связанных с метаболизмом перекиси водорода. Известно, что H_2O_2 используется клеткой в основном для детоксикации ксенобиотиков и практически вся расходуется внутри этих органелл [438].

Установлено, что АФК являются высокореакционноспособными соединениями и легко переходят из одной формы в другую, окисляя при этом различные молекулы [437, 438]. Около 95% потребляемого клеткой кислорода восстанавливается в митохондриях до воды в процессе окислительно-фосфорилирования, при этом из молекулы кислорода образуется две гидроксильные OH -группы, с участием фермента цитохром с-оксидазы [437]. Другие 5% кислорода в результате разных реакций превращаются в активные формы кислорода. АФК постоянно образуются в клетках, как продукты нормального метаболизма кислорода, и являются медиаторами важных внутриклеточных сигнальных путей. Избыточная выработка АФК может привести к окислительному стрессу. АФК отвечают за индукцию иммунной

437. Brandes R.P., Janiszewski M. Direct detection of reactive oxygen species ex vivo. // *Kidney Int.* 2005. V. 67. № 5. P.1662–1664. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00258.x.

438. Новиков В.Е., Пожилова Е.В., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки. // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2015. Т. 14. № 2. С. 13–15.

системы и мобилизацию систем ионного транспорта, также могут приводить к клеточной смерти, апоптозу. Защита клеток от АФК осуществляется антиоксидантными ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза) и низкомолекулярными антиоксидантами [439].

В процессах окисления определенных субстратов в клетках образуется энергия. В ходе окислительного фосфорилирования главными ферментами метаболизма кислорода у млекопитающих являются оксидазы и оксигеназы. Помимо 4-электронного восстановления O_2 до H_2O в дыхательной цепи митохондрий происходит и 1-, 2-, 3-электронное восстановление с образованием АФК по реакции: $O_2 (+e^-) \rightarrow *O^{2-} (+e^-, 2H^+) \rightarrow H_2O_2 (+e^-) \rightarrow HO* \rightarrow (+e^-, 2H^+) \rightarrow 2H_2O$ [437]. Активные формы кислорода образуются во всех частях клетки. 95-98% вдыхаемого O_2 расходуется на выработку энергии и окислительный метаболизм субстратов, 2-5% O_2 переходит в активные формы кислорода. Средняя концентрация АФК в тканях человека составляет 10^{-8} мМ. При снижении эффективности антиоксидантных систем организма АФК могут оказывать повреждающее воздействие на клетки и вызывать различные заболевания [440].

Митохондрии больше всех других органелл подвержены атаке АФК, повреждению мембранных липидов, белков, ДНК и гибели. Когда митохондрии не справляются с проблемой детоксикации образуемых ими АФК, несмотря на имеющиеся механизмы защиты, то в клетке развивается окислительный стресс. При этом происходят специфические изменения клеточных компонентов, в частности повреждаются мембранные структуры из-за перекисного окисления липидов, происходит окисление белков по остаткам тирозина, цистеина и серина, повреждение ДНК, смещение редокс-потенциала клетки из-за окисления глутатиона и НАД(Ф)Н. Кроме того, наблюдается разрушение мембран митохондриальных структур и митохондриальных ДНК [441]. Окислительный стресс является причиной множества дегенеративных заболеваний, старения и гибели клеток. Образование АФК с участием митохондрий играет важную роль в индукции апоптоза при патофизиологических процессах в нейронах, кардиомиоцитах, а также в процессе старения. Считается, что предрасположенность нервной ткани к окислительному стрессу связана с высоким уровнем окислительного метаболизма и повышенной генерацией кислородных радикалов, большим содержанием липидов и прооксидантов, относительно низкой активностью антиоксидантных систем и наличием нейронов с высоким содержанием NO-синтазы [442].

Механизмы канцерогенеза и процессы трансформации нормальных клеток в раковые являются одной из актуальных проблем онкологии. В процессах

-
439. Маркова Е.О., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Пожилова Е.В. Комплексное соединение аскорбиновой кислоты с антигипоксантами и антиоксидантными свойствами. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2013. Т. 12. № 1. С. 27–32.
 440. Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: в физиологии, патологии и естественном старении. // Труды ИСА РАН. 2006. Т. 19. С. 50–52.
 441. Новиков В.Е., Пономарева Н.С., Яснецов В.В., Кулагин К.Н. Фармакотерапия отека головного мозга: современное состояние проблемы. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2021. Т. 20, №3, С. 25–41.
 442. Силачев Д.Н. Изучение новых нейропротекторов на модели фокальной ишемии головного мозга. // Диссертация, место защиты: Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. Москва, 2009. С. 22.

пролиферации и апоптоза опухолевых клеток предполагается участие свободных радикалов и их разновидностей, которые способны взаимодействовать с органическими соединениями и инициировать цепь химических реакций [443]. АФК влияют на развитие и прогрессирование онкологических заболеваний путем индукции мутаций ДНК, нестабильности генома и проонкогенной сигнализации [443]. С другой стороны, высокие уровни свободных радикалов могут быть токсичными для раковых клеток и потенциально вызывать их гибель. Способность свободных радикалов либо вызывать, либо ингибировать образование опухолей связана с изменением функции радикалов в зависимости от конкретных условий. Такими условиями могут быть: интенсивность свободно-радикальных процессов, их локализация и динамика. Имеются данные о дозозависимом характере влияния свободных радикалов, которые в высоких концентрациях ингибируют пролиферацию, а в низких – проявляют рост стимулирующую активность по отношению к опухолевым клеткам. Высокая концентрация H_2O_2 способствует росту и пролиферации клеток рака молочной железы, а чрезмерное внутриклеточное содержание H_2O_2 приводит к гибели клеток рака молочной железы [443, 444]. Известно, что рост опухолевых клеточных линий подавляется в условиях острого окислительного стресса. В условиях хронического стресса наблюдается усиление роста клеток и повышение их выживаемости. Если при остром окислительном стрессе происходит повреждение компонентов клетки, то при хроническом окислительном стрессе стимуляция канцерогенеза может происходить путем изменения экспрессии генов, связанных с раком и вызывающих мутацию и трансформацию [444].

На клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы *HepG2* было показано, что обработка перекисью водорода приводит к окислительному стрессу и снижению антиоксидантной активности. Обработанные *HepG2* клетки обладали высокой способностью к миграции и инвазивности. Совместное применение антиоксидантов ацетата токоферола и S-аденозилметионина эффективно ослабляло экспрессию фактора *Nrf2* и 8-гидроксидеоксигуанозина в *HepG2* клетках [443].

Самым распространенным патологическим состоянием, приводящим к значительной вспышке образования АФК, является гипоксия и последующая реоксигенация. При продолжительной гипоксии изменяется активность ряда клеточных ферментов, происходит истощение и повреждение антиоксидантных защитных систем и быстрое восстановление компонентов дыхательной цепи за счет обращения АТФ-синтазной реакции, используемой для создания протонного градиента в условиях недостатка кислорода. В результате всех этих изменений при последующей реоксигенации утечка электронов с комплексов дыхательной цепи и генерация супероксид радикала значительно увеличивается [445].

443. Павлов В.Н., Рахматуллина И.Р., Фархутдинов Р.Р., Пушкарев В.А., Данилко К.В., Галимова Э.Ф., Баймурзина Ю.Л., Петрова И.В., Мочалов К.С. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы. // Креативная хирургия и онкология. 2017. С. 54–55.

444. Glasauer A., Chandel N. S. Targeting antioxidants for cancer therapy. // Biochem Pharmacol. 2014. С. 32–33.

445. Lukyanova L. D., Sukoyan G. V., Kirova Y. I. Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1 α accumulation. // Bull. Exp. Biol. Med. 2013. Т. 154. № 5. С. 597–601.

3.4. Регуляторные свойства активных форм кислорода

На протяжении длительного времени в биологической и особенно медицинской литературе основной акцент делали на вредных эффектах АФК и оксидативных модификаций. Они действительно существуют, но теперь уже нет сомнений, что образование АФК и оксидативных модификаций может также приносить и пользу.

Серьезной проблемой для многоклеточных организмов является борьба с вредными микроорганизмами, вирусами, а также с поврежденными и злокачественными клетками. Важную роль в этом играют фагоциты (нейтрофилы и макрофаги), которые захватывают микроорганизмы, а затем убивают их, используя АФК в качестве основного оружия, повреждающего макромолекулы и мембраны путем их оксидативных модификаций [439]. Макрофаги разрушают поврежденные, старые или иммунологически несовместимые клетки, а также способствуют уничтожению злокачественных клеток и клеток, пораженных вирусами. Остеокласты (специализированные макрофаги) применяют АФК для разрушения кости, обязательного условия ее обновления. Во всех этих случаях клетки-защитники быстро поглощают большое количество O_2 (дыхательный взрыв) и затем используют его для образования АФК при помощи расположенной в плазматической мембране НАДФН-оксидазы дыхательного взрыва [439, 444]. Показано, что мутация, приводящая к инактивации этого фермента, вызывает хронический септический грануломатоз, при этом фагоцитированные микроорганизмы остаются живыми, что приводит к повторным хроническим инфекциям и чревато сепсисом [440].

В последнее время обнаружены также новые функции АФК – регуляторные. Показано, что АФК стимулируют накопление в клетке вторых посредников циклонуклеотидов – цАМФ и цГМФ, при этом последний образуется в результате активации NO^* (но не другими АФК) гиалоплазматической гуанилилциклазы [437, 439]. АФК вызывают накопление ионов Ca^{2+} в цитозоле и стимуляцию фосфорилирования белков в результате активации протеинкиназ (особенно протеинкиназы C) и протеин тирозинкиназ и ингибирования протеинфосфатаз, активируют белок Ras, играющий важную роль в передаче сигналов в ядро клетки [443]. В последнее время проводятся исследования о возможной роли АФК в регуляции гормонов. В пользу этого свидетельствуют

-
439. Маркова Е.О., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Пожилова Е.В. Комплексное соединение аскорбиновой кислоты с антигипоксантными и антиоксидантными свойствами. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2013. Т. 12. № 1. С. 27–32. 443.
444. Glasauer A., Chandel N. S. Targeting antioxidants for cancer therapy. // *Biochem Pharmacol.* 2014. С. 32–33.
440. Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: в физиологии, патологии и естественном старении. // Труды ИСА РАН. 2006. Т. 19. С. 50–52.
437. Brandes R.P., Janiszewski M. Direct detection of reactive oxygen species ex vivo. // *Kidney Int.* 2005. V. 67. № 5. P.1662–1664. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00258.x.
439. Маркова Е.О., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Пожилова Е.В. Комплексное соединение аскорбиновой кислоты с антигипоксантными и антиоксидантными свойствами. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2013. Т. 12. № 1. С. 27–32.
443. Павлов В.Н., Рахматуллина И.Р., Фархутдинов Р.Р., Пушкарев В.А., Данилко К.В., Галимова Э.Ф., Баймурзина Ю.Л., Петрова И.В., Мочалов К.С. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы. // Креативная хирургия и онкология. 2017. С. 54–55.

накопление АФК при воздействии факторов роста клеток, цитокинов, инсулина, паратирина, витамина Д3, модификация эффектов гормонов под влиянием АФК и снижение их активности при блокаде антиоксидантами.

Очевидно, что роль АФК в защите организма шире, чем предполагалось ранее, а именно – она включает не только фагоцитоз опасных клеток, но и запуск других воспалительных реакций и иммунных процессов.

3.5. Роль НАДН-дегидрогеназного комплекса в жизнеспособности клеток

НАДН-дегидрогеназа – это мультибелковый комплекс дыхательной цепи переноса электронов. Этот комплекс играет центральную роль в процессах клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования, почти 40 % протонного градиента для синтеза АТФ создаются именно этим комплексом. НАДН-дегидрогеназа окисляет никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и восстанавливает одну молекулу убихинона, которая выходит в мембрану. На каждую окисленную молекулу НАДН комплекс переносит через мембрану четыре протона (рисунок 18) [446].

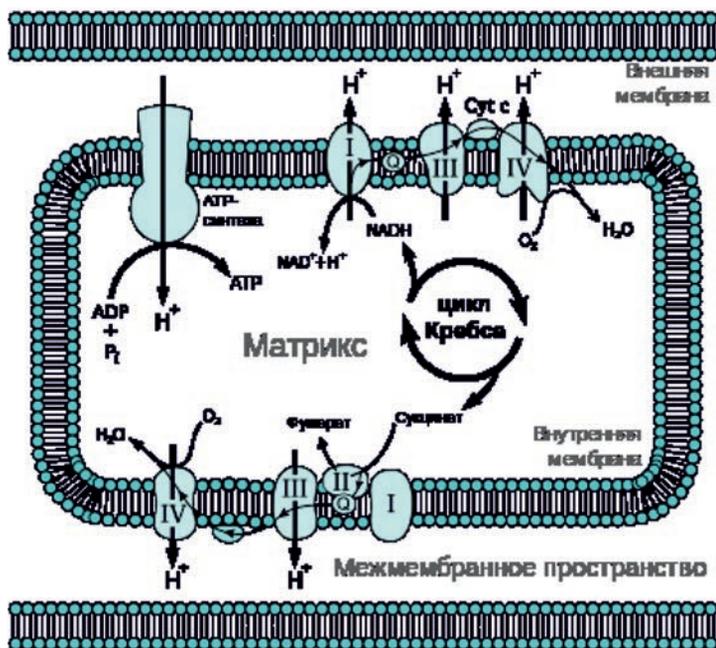


Рис.18. Электрон-транспортная цепь митохондрий является местом проведения окислительного фосфорилирования у эукариот. НАДН /NADH и сукцинат, образовавшиеся в ходе цикла трикарбоновых кислот, окисляются, и их энергия передается АТФ-синтазе, которая за ее счет синтезирует АТФ. Адаптировано из Efremov, 2010 [446]

446. Efremov R. G., Baradaran R., Sazanov L. A. The architecture of respiratory complex I. // Nature. – 2010. – V. 465. № 7297. – P. 441– 445. – doi:10.1038/nature09066.

НАДН-дегидрогеназный комплекс окисляет НАДН, образовавшийся в матриксе в ходе цикла трикарбоновых кислот. Электроны от НАДН используются для восстановления мембранного переносчика, убихинона, который переносит их к следующему комплексу электрон-транспортной цепи митохондрий, комплексу III или цитохром-*bc*1-комплексу [447]. Образовавшийся в ходе реакции электрохимический потенциал используется для синтеза АТФ. Реакция, катализируемая комплексом НАДН-дегидрогеназой, обратима, этот процесс называется аэробное сукцинат-индуцированное восстановление НАД⁺. В условиях большого потенциала на мембране и избытка восстановленных убихинонов комплекс может восстанавливать НАД⁺ с использованием их электронов и пропускать протоны обратно в матрикс. Восстановление убихинона осуществляется ферментами сукцинатдегидрогеназой, глицерол-3-фосфатдегидрогеназой или митохондриальной дигидро-оротат-дегидрогеназой [448].

В дыхательной цепи есть три участка, где выделяемая свободная энергия используется для синтеза АТФ. Эти участки являются пунктами энергетического сопряжения между переносом электронов и синтезом АТФ. Первый участок от НАДН до убихинона, второй – от убихинона до цитохрома-*c*, третий – от цитохрома-*c* до кислорода. Начальным компонентом этого пути является фермент НАДН-дегидрогеназа, имеющий в качестве простетической группы рибофлавин содержащий флавиномононуклеотид (ФМН), а также белки, включающие серу и железо [449]. Фермент катализирует перенос водорода с НАДН на ФМН. В процессе реакции водород сначала присоединяется к ФМН, соединенному с ферментом, а затем передается на убихинон. При этом атомы водорода сначала присоединяются к ФМН в составе НАДН-дегидрогеназы (первая полуреакция), а затем передаются на убихинон (вторая полуреакция) [446-449]. Флавиновые коферменты (ФАД и ФМН) прочно связаны с ферментом как простатические группы, поэтому ферменты, в состав которых они входят, называются флавопротеины. Флавиномононуклеотид, или рибофлавинфосфат, связан с белковой частью фермента. При одном обороте цикла генерируется три молекулы НАДН. Они вновь окисляются внутренней НАДН-дегидрогеназой терминальной цепи переноса электронов. Три пары электронов передаются затем по цепи на кислород с образованием трех молекул АТФ на каждую перенесенную пару электронов. Следовательно, в общей сложности образуется 9 молекул АТФ. Еще две молекулы АТФ в сукцинат-дегидрогеназной реакции и одна молекула АТФ на уровне субстратного фосфорилирования. Общее число

447. Rochaix J.D. Regulation of photosynthetic electron transport. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2011. V.1807(3). P. 375–83. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.11.010.

446. Efremov R.G., Baradaran R., Sazanov L.A. The architecture of respiratory complex I. // *Nature*. – 2010. – V. 465. № 7297. – P. 441– 445. – doi:10.1038/nature09066.

448. Grivennikova V.G., Kotlyar A.B., Karliner J.S., Cecchini G., Vinogradov A.D. Redox-dependent change of nucleotide affinity to the active site of the mammalian complex I. // *Biochemistry*. 2007. С. 38–46.

449. Побежимова Т. П., Колесниченко А. В., Грабельных О.И. Методы изучения митохондрий растений. // *Полярграфия и электрофорез*. 2004. С. 98.

молекул АТФ, синтезируемое на один оборот цикла трикарбоновых кислот, составляет 12. Следовательно, полное окисление свободной молекулы гексозы сопряжено с образованием 36 молекул АТФ, а окисление глюкозо-1-фосфата – 37 молекул АТФ [449].

3.6. Митохондриальное разобщение окислительного фосфорилирования, образование АФК и кардиопротекция

Хемиосмотическая теория, предложенная Питером Митчеллом в 1961 г., гласит, что окисление субстрата и синтез АТФ косвенно связаны через электрохимический протонный градиент или протон движущую силу (Δp) через внутреннюю митохондриальную мембрану [450]. Окислительное фосфорилирование, однако, неполностью сопряжено, так как протоны могут просачиваться через внутреннюю митохондриальную мембрану и возвращаться в митохондриальный матрикс независимо от АТФ-синтазы и, следовательно, без АТФ синтеза. Эта рассеивающая энергию, бесполезная утечка протонов – протонная транслокация в межмембранное пространство по специфической дыхательной цепи комплексов и возвращение в матрицу через внутреннюю митохондриальную мембрану – встречается во всех эукариотических клетках и отвечает за высокую долю скорости клеточного метаболизма (до 25% основного обмена у крысы) [451–454].

Активные формы кислорода обычно считаются токсичными, побочными продуктами аэробного метаболизма и основной причиной макро-молекулярных повреждений. Однако при контролируемом производстве АФК играют важную сигнальную роль [455]. Митохондрии являются основным источником клеточных АФК: одиннадцать участков продукции супероксида (O_2^-) и/или перекиси водорода (H_2O_2) относятся к метаболизму субстрата, транспорту электронов и окислительному фосфорилированию, которые в настоящее время обнаружены в митохондриях млекопитающих [456]. Важно отметить, что существует тесная связь между утечкой протонов и генерацией АФК с помощью митохондриальной дыхательной цепи: митохондриальное образо-

-
449. Побежимова Т. П., Колесниченко А. В., Грабельных О. И. Методы изучения митохондрий растений. // Полярнография и электрофорез. 2004. С. 98.
450. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by chemi-osmotic type of mechanism. // Nature. 1961. V. 191. P. 144–148.
451. Stuart J.A., Cadenas S., Jekabsons M.B., Roussel D., Brand M.D. Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. // Biochim. Biophys. Acta. 2001. V. 1504. № 1. P. 144–158.
452. Rolfé D.F., Newman J.M., Buckingham J.A., Clark M.G., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. // Am. J. Phys. 1999. V. 276. P. C692–C699.
453. Nobes C.D., Brown G.C., Olive P.N., Brand M.D. Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 12903–12909.
454. Rolfé D.F., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. // Am. J. Phys. 1996. V. 271. P. C1380–C1389.
455. Hamanaka R.B., Chandel N.S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. // Trends Biochem. Sci. 2010. V. 35. P. 505–513.
456. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. // Biochem. J. 2009. V. 417. P. 1–13.

вание супероксида показывает строгую зависимость от Δp в изолированных митохондриях [457, 458]. Разобщители и АДФ, которые стимулируют АТФ синтез, увеличивают частоту дыхания и снижают Δp , уменьшают образование АФК в изолированных митохондриях [459]. Механически это включает изменение окислительно-восстановительного состояния кофермента Q: в условиях высокого Δp дыхание замедляется, увеличивается стационарное дыхание и концентрация убисемихинонового радикала (QH \cdot), который способствует образованию супероксида. Эти наблюдения подтверждают роль эндогенной митохондриальной протонной проводимости в защите от продукции АФК [460]. Было высказано предположение, что частичное понижение Δp за счет мягкого разобщения окислительного фосфорилирования ослабляет производство АФК [461-463]. Таким образом, модуляция утечки протонов является потенциальной терапевтической мишенью для многих заболеваний, связанных с чрезмерным производством АФК, включая ожирение, диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания и процессы старения.

Разобщающие белки (UCP) являются белками-переносчиками внутренней мембраны, которые способны вызывать утечку протонов и рассеивать Δp . В отличие от UCP1, который опосредует адаптивный термогенез в бурой жировой ткани (БЖТ), физиологические функции UCP2 и UCP3 точно не установлены [464-467]. Экспрессия мРНК UCP2 встречается повсеместно в позвоночных, и этот белок можно обнаружить в селезенке, почках, тимусе, поджелудочной железе, центральной нервной системе и макрофагах [468-470]. Экспрессия UCP3 характерна для скелетных мышц, БЖТ и серд-

-
457. Liu S.S. Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. // *Biosci. Rep.* 1997. V.17. № 3. P. 259–272.
458. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. // *FEBS Lett.* 1997. V. 416. P. 15–18.
459. Boveris A., Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. // *Biochem. J.* 1973. V.134. P. 707–716.
460. Skulachev V.P. Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. // *Q. Rev. Biophys.* 1996. V. 29. P.169–202.
461. Papa S., Skulachev V.P. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. // *Mol. Cell. Biochem.* 1997. V. 174. P. 305–319.
462. Brand M.D. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. // *Exp. Gerontol.* 2000. V. 35. P. 811–820.
463. Brookes P.S. Mitochondrial H(+) leak and ROS generation: an odd couple. // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. V. 38. P. 12–23.
464. Nicholls D.G. A history of UCP1. // *Biochem. Soc. Trans.* 2001. V. 29. P. 751–755.
465. Nedergaard J., Cannon B. The 'novel' uncoupling' proteins UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions. // *Exp. Physiol.* 2003. V. 88. P. 65–84.
466. Nedergaard J., Ricquier D., Kozak L.P. Uncoupling proteins: current status and therapeutic prospects. // *EMBO Rep.* 2005. V. 6. P. 917–921.
467. Echtay K.S. Mitochondrial uncoupling proteins—what is their physiological role? // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 43. P. 1351–1371.
468. Fleury C., Neverova M., Collins S., Raimbault S., Champigny O., Levi-Meyrueis C., Bouillaud F., Seldin M.F., Surwit R.S., Ricquier D., Warden C.H. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. // *Nat. Genet.* 1997. V. 15. P. 269–272.
469. Pecqueur C., Alves-Guerra M.C., Gelly C., Levi-Meyrueis C., Couplan E., Collins S., Ricquier D., Bouillaud F., Miroux B. Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 8705–8712.
470. Azzu V., Affourtit C., Breen E.P., Parker N., Brand M.D. Dynamic regulation of uncoupling protein 2 content in INS-1E insulinoma cells. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 1777. P. 1378–1383.

ца [471-473]. UCP2 и UCP3 не работают в связке, если они специально не активированы. Напротив, они разъединяются при активации жирными кислотами [474, 475], аналогично UCP1 [464]. UCP2, по-видимому, играет важную роль при диабете, поскольку регулирует стимулированную глюкозой секрецию инсулина (GSIS) в β -клетках поджелудочной железы [476-478]. Предположили, что UCP2 функционирует как унипорт для анионного пирувата, который снижает окисление пирувата по мере увеличения мембранного потенциала [479]. Это согласуется с предполагаемой ролью UCP2 в предотвращении иммуноопосредованной патологии как части механизма, контролирующего переключение с глюкозы на липидный метаболизм [480, 481]. Совсем недавно было показано, что UCP2 способен экспортировать метаболиты C4 (малат, оксалоацетат и аспартат) из митохондрий в цитозоль для цитозольного фосфата и что его активность регулирует окисление субстрата, ограничивая митохондриальное окисление глюкозы и усиление глутаминолиза [482]. Действительно, нокаут UCP2 клетки подвергаются метаболическому переключению с окисления жирных кислот на глюкозный метаболизм [483]. Кроме того, было предложе-

-
471. Boss O., Samec S., Paoloni-Giacobino A., Rossier C., Dulloo A., Seydoux J., Muzzin P., Giacobino J.P. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. // *FEBS Lett.* 1997. V. 408. P. 39–42.
 472. Vidal-Puig A., Solanes G., Grujic D., Flier J.S., Lowell B.B. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. V. 235. P. 79–82.
 473. Aguirre E., Cadenas S. GDP and carboxyatractylate inhibit 4-hydroxynonenal-activated proton conductance to differing degrees in mitochondria from skeletal muscle and heart. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P.1716–1726.
 474. Zackova M., Jezek P. Reconstitution of novel mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. // *Biosci. Rep.* 2002. V. 22. P. 33–46.
 475. Echtay K.S., Winkler E., Frischmuth K., Klingenberg M. Uncoupling proteins 2 and 3 are highly active H(+) transporters and highly nucleotide sensitive when activated by coenzyme Q (ubiquinone). // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001. V. 98. P. 1416–1421.
 476. Brand M.D., Parker N., Affourtit C., Mookerjee S.A., Azzu V. Mitochondrial uncoupling protein 2 in pancreatic beta-cells. // *Diabetes Obes. Metab.* 2010. V. 12 (Suppl 2). P. 134–140.
 477. Robson-Doucette C.A., Sultan S., Allister E.M., Wikstrom J.D., Koshkin V., Bhattacharjee A., Prentice K.J., Sereda S.B., Shirihai O.S., Wheeler M.B. Beta-cell uncoupling protein 2 regulates reactive oxygen species production, which influences both insulin and glucagon secretion. // *Diabetes.* 2011. V. 60. P. 2710–2719.
 478. Zhang C.Y., Baffy G., Perret P., Krauss S., Peroni O., Grujic D., Hagen T., Vidal Puig A.J., Boss O., Kim Y.B., Zheng X.X., Wheeler M.B., Shulman G.I., Chan C.B., Lowell B.B. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. // *Cell.* 2001. V.105. P. 745–755.
 479. Bouillaud F. UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V.1787. P. 377–383.
 480. Newell M.K., Villalobos-Menuety E., Schweitzer S.C., Harper M.E., Camley R.E. Cellular metabolism as a basis for immune privilege. // *J. Immune Based TherVaccines.* 2006. V. 4. P. 1.
 481. Harper M.E., Antoniou A., Villalobos-Menuety E., Russo A., Trauger R., Vendemio M., George A., Bartholomew R., Carlo D., Shaikh A., Kupperman J., Newell E.W., Bespalov I.A., Wallace S.S., Liu Y., Rogers J.R., Gibbs G.L., Leahy J.L., Camley R.E., Melamed R., Newell M.K. Characterization of a novel metabolic strategy used by drug-resistant tumor cells. // *FASEB J.* 2002. V.16. P. 1550–1557.
 482. Vozza A., Parisi G., De Leonardi F., Lasorsa F.M., Castegna A., Amoresse D., Marmo R., Calcagnile V.M., Palmieri L., Ricquier D., Paradies E., Scarcia P., Palmieri F., Bouillaud F., Fiermonte G. UCP2 transports C4 metabolites out of mitochondria, regulating glucose and glutamine oxidation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014. V.111. P. 960–965.
 483. Pecqueur C., Bui T., Gelly C., Hauchard J., Barbot C., Bouillaud F., Ricquier D., Miroux B., Thompson C.B. Uncoupling protein-2 controls proliferation by promoting fatty acid oxidation and limiting glycolysis-derived pyruvate utilization. // *FASEB J.* 2008. V. 22. P. 9–18.

но, что UCP3 играет важную роль в регуляции метаболизма жирных кислот, а его сверхэкспрессия увеличивает транспорт и окисление жирных кислот [484, 485]. Было обнаружено, что UCP3 необходим для усиления, скорости окисления жирных кислот, вызванного голоданием за счет окислительного стресса [485]. Тем не менее эти авторы показали, что UCP3 сам по себе не является переносчиком жирных кислот, как было предложено ранее [486, 487]. Кроме того, и в результате их активации супероксидом и HNE, UCP2 и UCP3 замыкают петлю отрицательной обратной связи для генерации митохондриальных АФК [488, 489]. Кроме того, UCP2 и UCP3 регулируются глутатионилированием, а повышение уровня АФК вызывает деглутатионилирование UCP2 и UCP3, активируя протонную утечку и снижение эмиссии АФК [490].

Все больше данных свидетельствует о том, что UCP2 и UCP3 оказывают защитное действие на сердце, улучшение состояния при ишемии-реперфузии (ИР), ожирении, диабете и атеросклерозе. В этой главе рассматриваются молекулярная основа митохондриальной утечки протонов и ее связь с генерацией АФК, а также роль UCP2 и UCP3 как медиаторов индуцируемой протонной проводимости и обсуждается окислительное повреждение с особым акцентом на кардиопротекторный эффект.

3.6.1. Митохондриальная утечка протонов

Окисление субстратов приводит к образованию восстанавливающих кофакторов (НАДН и $FADH_2$), которые отдают электроны в электрон-транспортную цепь. Как только электроны проходят по дыхательной цепи, освобождающаяся энергия используется комплексами I, III и IV для переноса протонов в межмембранное пространство, создавая Δp через внутреннюю митохондриальную мембрану, который имеет электрические (мембранный потенциал, $\Delta\psi_m$) и химические (рН градиент, ΔpH) компоненты. Возвращение протонов в митохондриальную матрицу вниз по их электрохимическому градиенту через АТФ-синтазу управляет синтезом АТФ. Этот процесс синтеза АТФ из АДФ и P_i обусловлен переносом электронов от NADH или

-
484. Bezaire V., Spriet L.L., Campbell S., Sabet N., Gerrits M., Bonen A., Harper M.E. Constitutive UCP3 overexpression at physiological levels increases mouse skeletal muscle capacity for fatty acid transport and oxidation. // *FASEB J.* 2005. V.19. P. 977–979.
485. Seifert E.L., Bezaire V., Estey C., Harper M.E. Essential role for uncoupling protein-3 in mitochondrial adaptation to fasting but not in fatty acid oxidation or fatty acid anion export. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 25124–25131.
486. Himms-Hagen J., Harper M.E. Physiological role of UCP3 may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis. // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2001. V. 226. P. 78–84.
487. Schrauwen P., Hoeks J., Hesselink M.K. Putative function and physiological relevance of the mitochondrial uncoupling protein-3: involvement in fatty acid metabolism? // *Prog. Lipid Res.* 2006. V. 45. P. 17–41.
488. Mailloux R.J., Harper M.E. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 51. P. 1106–1115.
489. Azzu V., Jastroch M., Divakaruni A.S., Brand M.D. The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P. 785–791.
490. Mailloux R.J., Seifert E.L., Bouillaud F., Aguer C., Collins S., Harper M.E. Glutathionylation acts as a control switch for uncoupling proteins UCP2 and UCP3. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. P. 21865–21875.

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

$FADH_2$ к O_2 , так называемому окислительному фосфорилированию, которое является основным источником АТФ в аэробных не фотосинтезирующих клетках. Как было сказано выше, этот процесс не полностью сопряжен, так как некоторые протоны возвращаются в митохондриальный матрикс через пути, независимые от АТФ-синтазы (рисунок 19) [491].

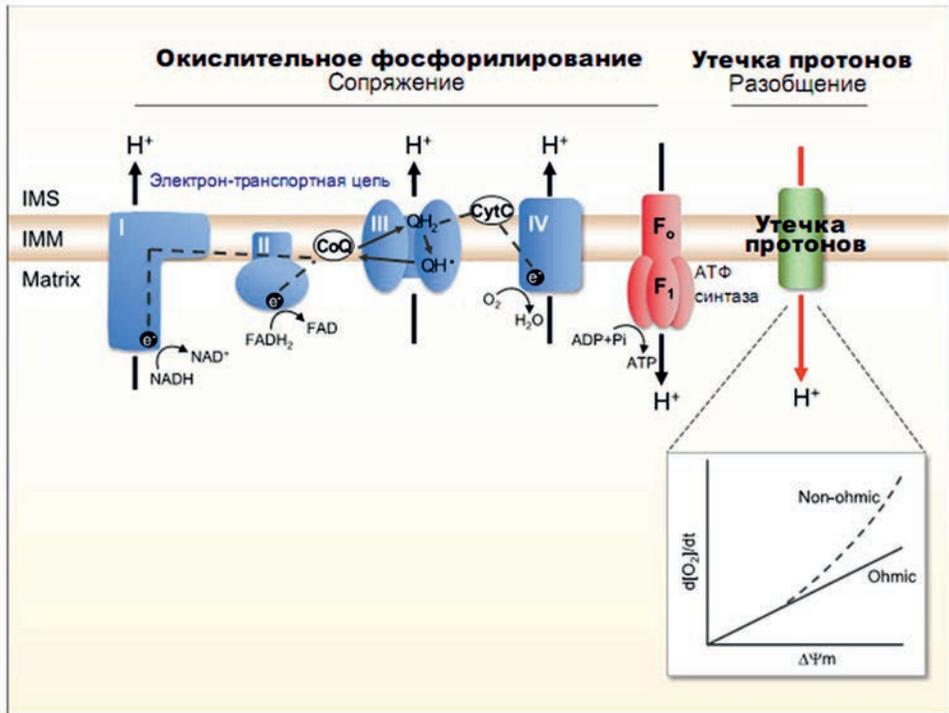


Рис. 19. Перенос протонов через внутреннюю мембрану митохондрий. Примечание. При окислении субстратов комплексы I, III и IV транслоцируют протоны в межмембранное пространство, генерирующее электрохимический протонный градиент. Энергия протонного градиента управляет синтезом АТФ с помощью АТФ-синтазы. Утечка протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану разобщает окислительное фосфорилирование и рассеивает энергию протонного градиента в виде тепла. Кинетика утечки протонов показана во вставке. Частота дыхания увеличивается непропорционально мембранному потенциалу (неомическая проводимость протонов). Цифры I–IV соответствуют комплексам электрон транспортной цепи. Направление потока электронов показано пунктирной линией. IMM, внутренняя митохондриальная мембрана; IMS, межмембранное пространство. *Адаптировано из Cadenas S., 2018 [491]*

В этой связи эффективность сопряжения определяется как доля митохондриальной частоты дыхания, используемая для управления синтезом АТФ. Изолированные митохондрии снабжены окисляемыми субстратами и АДФ, что позволяет производить АТФ и потреблять кислород с высокой скоро-

491. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. // Bioenergetics. 2018. V.1859. P. 940–950.

стью (состояние дыхания 3), тогда как в отсутствие АДФ (состояние дыхания 4) или в присутствии ингибитора АТФ синтазы – олигомицина они потребляют кислород с низкой скоростью [492]. Дыхание в отсутствие синтеза АТФ происходит за счет утечки протонов через внутреннюю мембрану, что было продемонстрировано как в митохондриях, так и в интактных клетках [453, 493]. Кинетика утечки протонов была измерена наиболее достоверно количественно при одновременном титровании дыхания и $\Delta\psi_m$ с ингибиторами дыхания при отсутствии синтеза АТФ, хотя состояние 4 дыхания часто используется для измерения скорости утечки протонов [494]. Существует два типа проводимости протонов: базальная протонная проводимость и индуцибельная протонная проводимость, катализируемая белками.

3.6.2. Разобщение митохондрий, утечка протонов и генерация АФК

Продукция митохондриальных АФК сильно зависит от Δp . Показано, что скорость образования H_2O_2 в митохондриях сердца крысы ингибировалась химическими разобщителями и что ингибирование образования H_2O_2 было пропорционально уменьшению $\Delta\psi_m$ этими соединениями [458]. Авторы нашли пороговое значение $\Delta\psi_m$, выше которого наблюдалось очень сильное увеличение производства H_2O_2 . Эти выводы были впоследствии подтверждены в митохондриях, окисляющих НАДН-зависимые субстраты [495]. Было обнаружено, что продукция АФК в митохондриях клеток мозга крыс, дышащих сукцинатом, была чувствительна к $\Delta\psi_m$, но не чувствительна к $\Delta\psi_m$ в случае субстратов комплекса I (глутамата и малата) [496]. Преобразование ΔpH в $\Delta\psi_m$ добавлением нитро-глицерина снижало продукцию АФК в изолированных митохондриях печени, предполагая, что ΔpH также может быть важным при определении производства супероксида [457]. Позднее эти результаты были подтверждены и показано, что образование супероксида комплексом I в митохондриях скелетных мышц крыс было чувствительно к Δp и что оно было более зависимо от градиента pH, чем от мембранного потенциала [497]. Интересно, что митохондрии, дышащие сукцинатом в отсутствие ротенона

-
492. Chance B., Williams G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. III. The steady state. // J. Biol. Chem. 1955. V. 217. P. 409–427.
493. Nicholls D.G. The influence of respiration and ATP hydrolysis on the proton-electrochemical gradient across the inner membrane of rat-liver mitochondria as determined by ion distribution. // Eur. J. Biochem. 1974. V. 50. P. 305–315.
494. Divakaruni A.S., Brand M.D. The regulation and physiology of mitochondrial proton leak. // Physiology. 2011. V. 26. P. 192–205.
495. Starkov A.A., Fiskum G. Regulation of brain mitochondrial H_2O_2 production by membrane potential and NAD(P)H redox state. // J. Neurochem. 2003. V. 86. P. 1101–1107.
496. Votyakova T.V., Reynolds I.J. DeltaPsi(m)-dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. // J. Neurochem. 2001. V. 79. P. 266–277.
457. Liu S.S. Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. // Biosci. Rep. 1997. V.17. № 3. P. 259–272.
497. Lambert A.J., Brand M.D. Superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. // Biochem. J. 2004. V. 382. P. 511–517.

(ингибитор комплекса I), генерируют супероксид с более высокой скоростью, чем при дыхании на сложных I-связанных субстратах, и большая часть образования супероксида при окислении сукцината наблюдается при обратном транспорте электронов (RET) в комплексе I [496, 498-503]. Несколько работ указывают на то, что утечка протонов выгодна тем, что она уменьшает генерацию АФК. Хорошо известно, что химические разобщители, такие как 2,4-динитрофенол (DNP) и FCCP (карбонилцианид-п-три-фтор-рометоксифенилгидразон) снижают митохондриальное образование H_2O_2 в скелетных мышцах, сердце и в головном мозге [502, 504, 505]. Более того, в дрожжах, в которых отсутствует супероксид дисмутаза марганца, разобщитель CCCP (карбонилцианид м-хлорфенилгидразон) защищал от повышенного окислительного стресса [506]. Продукция АФК из комплекса I также очень чувствительна к мягкому разобщению в митохондриях дрозофилы [507]. Установлено также, что добавление низких концентраций FCCP индуцировало АФК-зависимую кардиозащиту в изолированном сердце крысы [508].

3.6.3. Разобщающие белки и образование АФК

Мягкое разобщение окислительного фосфорилирования было предложено для защиты от окислительного разрушения за счет ограничения образования АФК в результате снижения $\Delta\psi_m$ и уменьшения доступности кислорода [461]. Этот процесс может предотвратить поступление электронов в дыхательную цепь и, следовательно, свести к минимуму вероятность утечек электронов и последующего образования супероксида.

-
496. Votyakova T.V., Reynolds I.J. DeltaPsi(m)-dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. // J. Neurochem. 2001. V. 79. P. 266–277.
 498. Turrens J.F., Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. // Biochem. J. 1980. V. 191. P. 421–427.
 499. Liu Y., Fiskum G., Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. // J. Neurochem. 2002. V. 80. P. 780–787.
 500. Kushnareva Y., Murphy A.N., Andreyev A. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. // Biochem. J. 2002. V. 368. P. 545–553.
 501. Hansford R.G., Hogue B.A., Mildaziene V. Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. // J. Bioenerg. Biomembr. 1997. V. 29. P. 89–95.
 502. Tahara E.B., Navarete F.D., Kowaltowski A.J. Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. // Free Radic. Biol. Med. 2009. V. 46. P. 1283–1297.
 503. Han D., Canali R., Rettori D., Kaplowitz N. Effect of glutathione depletion on sites and topology of superoxide and hydrogen peroxide production in mitochondria. // Mol. Pharmacol. 2003. V. 64. P. 1136–1144.
 504. Toime L.J., Brand M.D. Uncoupling protein-3 lowers reactive oxygen species production in isolated mitochondria. // Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 49. P. 606–611.
 505. MacLellan J.D., Gerrits M.F., Gowing A., Smith P.J., Wheeler M.B., Harper M.E. Physiological increases in uncoupling protein 3 augment fatty acid oxidation and decrease reactive oxygen species production without uncoupling respiration in muscle cells. // Diabetes. 2005. V. 54. P. 2343–2350.
 506. Longo V.D., Liou L.L., Valentine J.S., Gralla E.B. Mitochondrial superoxide decreases yeast survival in stationary phase. // Arch. Biochem. Biophys. 1999. V. 365. P. 131–142.
 507. Miwa S., Brand M.D. Mitochondrial matrix reactive oxygen species production is very sensitive to mild uncoupling. // Biochem. Soc. Trans. 2003. V. 31. P. 1300–1301.
 508. Tretter L., Adam-Vizi V. Uncoupling is without an effect on the production of reactive oxygen species by in situ synaptic mitochondria. // J. Neurochem. 2007. V. 103. P. 1864–1871.
 461. Papa S., Skulachev V.P. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. // Mol. Cell. Biochem. 1997. V. 174. P. 305–319.

Индуктируемая утечка протонов через UCP может быть важным фактором механизма управления генерацией митохондриальных АФК посредством корректировок в $\Delta\psi_m$ [488, 489, 509]. Было высказано предположение о роли UCP в снижении продукции митохондриальных АФК [510]. Было обнаружено, что ингибирование UCP2 с помощью GDP приводило к резкому росту $\Delta\psi_m$ и повышению уровней H_2O_2 в митохондриях печени, селезенке или тимусе. Последующие исследования подтвердили это мнение, поскольку сверхэкспрессия UCP2 снижала продукцию АФК [511, 512]. Кроме того, мышцы с нокаутом UCP2 были подвержены хроническому окислительному стрессу, что было связано с низкой долей восстановленного глутатиона и повышенной экспрессией других антиоксидантов [513]. Кроме того, мышцы с нокаутом UCP2 показали увеличенную продукцию АФК в макрофагах и высокие уровни элемен-маркеров окислительного стресса в печени по сравнению с мышцами дикого типа [514]. Имеются также обширные доказательства о роли UCP3 в контроле митохондриальной продукции АФК. Митохондрии скелетных мышц из мышечной ткани с нокаутом UCP3 повышали продукцию АФК и маркеров окислительного стресса относительно эквивалентных маркеров в митохондриях дикого типа [515, 516]. В соответствии с этим было показано, что UCP3 снижает скорость продукции АФК в изолированных митохондриях скелетных мышц через мембранный потенциал-зависимый и независимый механизмы [504]. Установлено, что UCP3 защищает сердце от ИР травмы, состояние, которое, как известно, увеличивает выработку АФК [517].

-
488. Mailloux R.J., Harper M.E. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 51. P. 1106–1115.
 489. Azzu V., Jastroch M., Divakaruni A.S., Brand M.D. The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P. 785–791.
 509. Brennan J.P., Southworth R., Medina R.A., Davidson S.M., Duchon M.R., Shattuck M.J. Mitochondrial uncoupling, with low concentration FCCP, induces ROS-dependent cardioprotection independent of KATP channel activation. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 313–321.
 510. Mailloux R.J., Harper M.E. Mitochondrial proactivity and ROS signaling: lessons from the uncoupling proteins. // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 451–458.
 511. Negre-Salvayre A., Hirtz C., Carrera G., Cazenave R., Trolly M., Salvayre R., Penicaud L., Casteilla L. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. // *FASEB J.* 1997. V. 11. P. 809–815.
 512. Teshima Y., Akao M., Jones S.P., Marban E. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. // *Circ. Res.* 2003. V. 93. P. 192–200.
 513. Lee K.U., Lee I.K., Han J., Song D.K., Kim Y.M., Song H.S., Kim H.S., Lee W.J., Koh E.H., Song K.H., Han S.M., Kim M.S., Park I.S., Park J.Y. Effects of recombinant adenovirus-mediated uncoupling protein 2 overexpression on endothelial function and apoptosis. // *Circ. Res.* 2005. V. 96. P. 1200–1207.
 514. Pi J., Bai Y., Daniel K.W., Liu D., Lyght O., Edelstein D., Brownlee M., Corkey B.E., Collins S. Persistent oxidative stress due to absence of uncoupling protein 2 associated with impaired pancreatic beta-cell function. // *Endocrinology.* 2009. V. 150. P. 3040–3048.
 515. Arsenijevic D., Onuma H., Pecqueur C., Raimbault S., Manning B.S., Miroux B., Couplan E., Alves-Guerra M.C., Goubern M., Surwit R., Bouillaud F., Richard D., Collins S., Ricquier D. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. // *Nat. Genet.* 2000. V. 26. P. 435–439.
 516. Vidal-Puig A.J., Onuma H., Grujic D., Zhang C.Y., Hagen T., Boss O., Ido Y., Szczepanik A., Wade J., Mootha V., Cortright R., Muoio D.M., Lowell B.B. Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 16258–16266.
 504. Toime L.J., Brand M.D. Uncoupling protein-3 lowers reactive oxygen species production in isolated mitochondria. // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 49. P. 606–611.
 517. Brand M.D., Pamplona R., Portero-Otin M., Requena J.R., Roebuck S.J., Buckingham J.A., Clapham J.C., Cadenas S. Oxidative damage and phospholipid fatty acyl composition in skeletal muscle mitochondria from mice underexpressing or overexpressing uncoupling protein 3. // *Biochem. J.* 2002. V. 368. P. 597–603.

Важный вопрос для подтверждения влияния мембранной деполяризации на продукцию АФК зависит от того, участвует ли разобщитель UCP1 в контроле образования АФК в митохондриях бурого жира. Первоначальные сообщения показали, что митохондрии БЖТ при инкубации с GDP (ингибитором UCP1) увеличивали $\Delta\psi_m$ и H_2O_2 продукцию, в то время как разобщающий агент обращал этот эффект [510]. В соответствии с этими данными удаление или ингибирование UCP1 увеличивает скорость образования АФК митохондриями БЖТ и уменьшает вероятность образования супероксида RET [518, 519]. В дополнение к вышеупомянутым доказательствам, подтверждающим роль UCP2 и UCP3 в контроле окислительно-восстановительного статуса клеток, обратимое S-глутатионилирование контролирует индуцированную АФК утечку протонов через UCP2 и UCP3, но не через UCP1 [490]. Белок S-глутатионилирование включает образование смешанных дисульфидов между глутатионом и цистеинтиолами белка не только в ответ на умеренный окислительный или нитрозативный стресс, но и при основных физиологических условиях [520]. Обратимое S-глутатионилирование митохондриальных ферментов регулирует метаболизм в реакции на изменение окислительно-восстановительного клеточного окружения [521]. Установлено, что глутатионилирование поддерживает UCP2 и UCP3 в неактивном состоянии, тогда как повышение уровня АФК приводит к их деглутатионилированию и активации [490]. Кроме того, было идентифицировано редокс-модулирующее взаимодействие между UCP3 и тиоредоксином 2, регулирующее UCP3 митохондриальное образование АФК [522].

3.6.4. Митохондриальное разобщение и его роль в кардиопротекции

Мягкое разобщение митохондриального окислительного фосфорилирования было предложено в качестве цитопротекторной стратегии в условиях окислительного стресса при таких заболеваниях как диабет, ИР-трав-

-
510. Mailloux R.J., Harper M.E. Mitochondrial proticity and ROS signaling: lessons from the uncoupling proteins. // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 451–458.
 518. Ozcan C., Palmeri M., Horvath T.L., Russell K.S., Russell R.R. 3rd Role of uncoupling protein 3 in ischemia-reperfusion injury, arrhythmias, and pre-conditioning. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. V. 304. P. H1192–H1200.
 519. Dlaskova A., Clarke K.J., Porter R.K. The role of UCP 1 in production of reactive oxygen species by mitochondria isolated from brown adipose tissue. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P. 1470–1476.
 520. Oelkrug R., Kutschke M., Meyer C.W., Heldmaier G., Jastroch M. Uncoupling protein 1 decreases superoxide production in brown adipose tissue mitochondria. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 21961–21968.
 521. Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Colombo R., Milzani A. S-glutathionylation in protein redox regulation. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 43. P. 883–898.
 522. Hurd T.R., Costa N.J., Dahm C.C., Beer S.M., Brown S.E., Filipovska A., Murphy M.P. Glutathionylation of mitochondrial proteins. // *Antioxid. Redox Signal.* 2005. V. 7. P. 999–1010.

ма или старение [462, 511, 523-528]. Установлено, что кардиопротекторный эффект мягкого разобщения окислительного фосфорилирования достигается либо химическими разобщителями, либо UCP (рисунок 20).

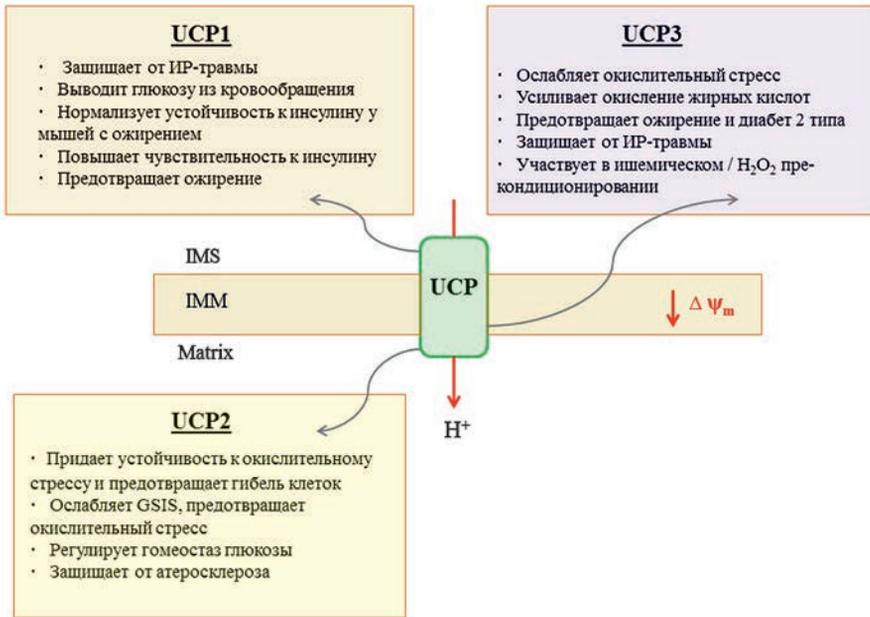


Рис. 20. Митохондриальные разобщающие белки (UCP) и кардиопротекция. Примечание. Эффекты UCP в защите сердца и сердечно-сосудистых факторов риска, таких как ожирение, диабет и атеросклероз. GSIS – стимулированная глюкозой секреция инсулина; IMM – внутренняя митохондриальная мембрана; IMS – межмембранное пространство; UCP – разобщающий белок. *Адаптировано из Cadenas S., 2018 [491]*

462. Brand M.D. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. // *Exp. Gerontol.* 2000. V. 35. P. 811–820.
511. Negre-Salvayre A., Hirtz C., Carrera G., Cazenave R., Trolly M., Salvayre R., Penicaud L., Casteilla L. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. // *FASEB J.* 1997. V.11. P. 809–815.
523. Hirasaka K., Lago C.U., Kenaston M.A., Fathe K., Nowinski S.M., Nikawa T., Mills E.M. Identification of a redox-modulatory interaction between uncoupling protein 3 and thioredoxin 2 in the mitochondrial intermembrane space. // *Antioxid. Redox Signal.* 2011. V. 15. P. 2645–2661.
524. Green K., Brand M.D., Murphy M.P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. // *Diabetes.* 2004. V. 53 (Suppl 1). P. S110–S118.
525. Nishikawa T., Edelstein D., Du X.L., Yamagishi S., Matsumura T., Kaneda Y., Yorek M.A., Beebe D., Oates P.J., Hammes H.P., Giardino L., Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. // *Nature.* 2000. V. 404. P. 787–790.
526. Ganote C.E., Armstrong S.C. Effects of CCCP-induced mitochondrial uncoupling and cyclosporin A on cell volume, cell injury and preconditioning protection of isolated rabbit cardiomyocytes. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 749–759.
527. Bienengraeber M., Ozcan C., Terzic A. Stable transfection of UCP1 confers resistance to hypoxia/reoxygenation in a heart-derived cell line. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 861–865.
528. Hoerter J., Gonzalez-Barroso M.D., Couplan E., Mateo P., Gelly C., Cassard-Doulcier A.M., Diolez P., Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling protein 1 expressed in the heart of transgenic mice protects against ischemic-reperfusion damage. // *Circulation.* 2004. V. 110. P. 528–533.
491. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. // *Bioenergetics.* 2018. V.1859. P. 940–950.

3.6.5. Роль химических разобщителей в кардиопротекции

Известно, что химические разобщители, такие как DNP (2,4-динитрофенол) и FCCP (карбонил-цианид п-трифтор-метокси-фенил-гидразон), могут катализировать электрический поток протонов и увеличение протонной проводимости. Несколько исследований показали, что химические разобщители способны индуцировать кардиозащиту. Обнаружено, что в изолированном сердце крысы (перфузия по Лангендорфу) частичное митохондриальное разобщение при низкой дозе FCCP (100 нМ) значительно улучшало пост-ишемическое функциональное восстановление за счет АФК-зависимого пути [508]. Вовлечение АФК наблюдалось в желудочковых миоцитах, где FCCP вызывал антиоксидант-чувствительное увеличение продукции АФК. Эта кардиопротекция не была опосредована через истощение клеточного АТФ или активацию митохондриального канала КАТФ [518]. Последующее исследование, проведенное теми же авторами, показало, что в желудочках крыс миоцитов, такая же доза FCCP вызывала митохондриальное окисление, но без изменения $\Delta\psi_m$ или тока КАТФ-канала, тогда как более высокие дозы вызывали митохондриальную деполяризацию и усугубляли повреждение [529].

Разобщающий DNP также запускает прекодиционную кардиозащиту в изолированном сердце крысы (с перфузией по Лангендорфу), подвергнутом локальной ишемии [530]. В целом, эти результаты свидетельствуют о том, что мягкое митохондриальное разобщение активирует защитный механизм от ИК-повреждения. На основании этого было высказано также предположение, что низкие концентрации пищевых полифенолов, некоторые из которых обладают разобщающими и антиоксидантными свойствами, могут оказывать такое же кардиозащитное действие, как DNP и FCCP [531]. В отличие от результатов, полученных на сердце, защитный эффект мягкого разобщения с помощью FCCP за счет снижения окислительного стресса не был подтвержден в гранулярных нейронах мозжечка крысы [532].

-
518. Ozcan C., Palmeri M., Horvath T.L., Russell K.S., Russell R.R. 3rd Role of uncoupling protein 3 in ischemia-reperfusion injury, arrhythmias, and pre-conditioning. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. V. 304. P. H1192–H1200.
529. Speakman J.R., Talbot D.A., Selman C., Snart S., McLaren J.S., Redman P., Krol E., Jackson D.M., Johnson M.S., Brand M.D. Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. // *Aging Cell.* 2004. V. 3. P. 87–95.
530. Brennan J.P., Berry R.G., Baghai M., Duchon M.R., Shattock M.J. FCCP is cardioprotective at concentrations that cause mitochondrial oxidation without detectable depolarization. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 322–330.
531. Minners J., van den Bos E.J., Yellon D.M., Schwalb H., Opie L.H., Sack M.N. Dinitrophenol, cyclosporin A, and trimetazidinemodulate preconditioning in the isolated rat heart: support for a mitochondrial role in cardioprotection. // *Cardiovasc. Res.* 2000. V. 47. P. 68–73.
532. Modriansky M., Gabrielova E. Uncouple my heart: the benefits of inefficiency. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2009. V. 41. P. 133–136.

3.6.6. Разобщающие белки и их роль в кардиопротекции

3.6.6.1. Белок – разобщитель UCP1

Хотя было показано, что супероксид и HNE активируют не только UCP2 и UCP3, а также UCP1, было обнаружено, что HNE не влияет на UCP1 и этот белок не участвует в защите от окислительного стресса в митохондриях бурого жира [533-535]. Однако в другом исследовании было установлено, что клетки сердца крысы H9c2, трансфицированные UCP1, приобретали повышенную устойчивость к гипоксии/реокс-генерации и при этом наблюдалось ограниченное образование АФК [526]. Было установлено, что изолированные перфузированные сердца трансгенных мышей, экспрессирующие большое количество UCP1 в митохондриях сердца, уменьшали повреждение, вызванное реперфузией, и показали улучшение восстановления функции сердца и снижение окислительного стресса [527]. Несколько недавних исследований показали, что БЖТ и родственные ткани способны модулировать несколько эндокринных и сердечно-сосудистых факторов риска. Разобщенные митохондрии бурого жира окисляют большее количество субстратов для производства тепла и функционируют как поглотители, которые могут выводить глюкозу из обращения [536-539]. Кроме того, было показано, что активация БЖТ нормализует как толерантность к глюкозе, так и резистентность к инсулину у пациентов с ожирением и у старых мышей,

-
533. Johnson-Cadwell L.I., Jekabsons M.B., Wang A., Polster B.M., Nicholls D.G. ‘Mild uncoupling’ does not decrease mitochondrial superoxide levels in cultured cerebellar granule neurons but decreases spare respiratory capacity and increases toxicity to glutamate and oxidative stress. // *J. Neurochem.* 2007. V. 101. P. 1619–1631.
534. Echtay K.S., Roussel D., St-Pierre J., Jekabsons M.B., Cadenas S., Stuart J.A., Harper J.A., Roeback S.J., Morrison A., Pickering S., Clapham J.C., Brand M.D. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. // *Nature.* 2002. V. 415. P. 96–99.
535. Echtay K.S., Esteves T.C., Pakay J.L., Jekabsons M.B., Lambert A.J., Portero-Otin M., Pamplona R., Vidal-Puig A.J., Wang S., Roeback S.J., Brand M.D. A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. // *EMBO J.* 2003. V. 22. P. 4103–4110.
526. Ganote C.E., Armstrong S.C. Effects of CCCP-induced mitochondrial uncoupling and cyclosporin A on cell volume, cell injury and preconditioning protection of isolated rabbit cardiomyocytes. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 749–759.
527. Bienengraeber M., Ozcan C., Terzic A. Stable transfection of UCP1 confers resistance to hypoxia/reoxygenation in a heart-derived cell line. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 861–865.
536. Shabalina I.G., Petrovic N., Kramarova T.V., Hoeks J., Cannon B., Nedergaard J. UCP1 and defense against oxidative stress. 4-Hydroxy-2-nonenal effects on brown fat mitochondria are uncoupling protein 1-independent. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 13882–13893.
537. Orava J., Nuutila P., Lidell M.E., Oikonen V., Noponen T., Viljanen T., Scheinin M., Taittonen M., Niemi T., Enerback S., Virtanen K.A. Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. // *Cell Metab.* 2011. V. 14. P. 272–279.
538. Bartelt A., Bruns O.T., Reimer R., Hohenberg H., Itrich H., Peldschus K., Kaul M.G., Tromsdorf U.I., Weller H., Waurisch C., Eychmuller A., Gordts P.L., Rinninger F., Bruegelmann K., Freund B., Nielsen P., Merkel M., Heeren J. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. // *Nat. Med.* 2011. V. 17. P. 200–205.
539. Ouellet V., Labbe S.M., Blondin D.P., Phoenix S., Guerin B., Haman F., Turcotte E.E., Richard D., Carpentier A.C. Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. // *J. Clin. Invest.* 2012. V. 122. P. 545–552.

а также повышает чувствительность к инсулину у здоровых добровольцев [537, 540, 541]. Кроме того, периваскулярные и эпикардиальные тканевые отложения, которые имеют общие характеристики с БЖТ, участвуют в модуляции атеросклероза и артериального давления [542, 543].

На модели поражения сердца хроническими катехоламинами (изо-проterenол) у мышей дикого типа и мышей с нокаутом UCP1 было обнаружено, что функциональная БЖТ ограничивает повреждение кардиомиоцитов и неблагоприятное ремоделирование [544, 545]. Авторы предположили, что кардиозащитные эффекты могут быть связаны с секретируемыми веществами (известными как батокины) или могут происходить через системное улучшение метаболизма.

Эти результаты позволяют предположить, что активация или трансплантация БЖТ может иметь терапевтический потенциал. Связь ожирения с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и диабетом хорошо известна. Генетическая делеция белка UCP1 у трансгенных мышей приводила к ожирению, устанавливая связь между повышенным термогенезом БЖТ и ожирением [546, 547]. В 2009 году несколько групп сообщили о наличии определенных областей функционально активных БЖТ у взрослых людей [548, 549]. Важно отметить, что количество БЖТ обратно коррелирует с индексом массы тела, что указывает на потенциальную роль БЖТ в метаболизме взрослого человека [548]. Наконец, общий A-to-G полимор-

-
537. Orava J., Nuutila P., Lidell M.E., Oikonen V., Noponen T., Viljanen T., Scheinin M., Taittonen M., Niemi T., Enerback S., Virtanen K.A. Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. // *Cell Metab.* 2011. V. 14. P. 272–279.
 540. Inokuma K., Ogura-Okamatsu Y., Toda C., Kimura K., Yamashita H., Saito M. Uncoupling protein 1 is necessary for norepinephrine-induced glucose utilization in brown adipose tissue. // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 1385–1391.
 541. Stanford K.L., Middelbeek R.J., Townsend K.L., An D., Nygaard E.B., Hitchcox K.M., Markan K.R., Nakano K., Hirshman M.F., Tseng Y.H., Goodyear L.J. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. // *J. Clin. Invest.* 2013. V. 123. P. 215–223.
 542. Chondronikola M., Volpi E., Borsheim E., Porter C., Annamalai P., Enerback S., Lidell M.E., Saraf M.K., Labbe S.M., Hurren N.M., Yfanti C., Chao T., Andersen C.R., Cesani F., Hawkins H., Sidossis L.S. Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans. // *Diabetes.* 2014. V. 63. P. 4089–4099.
 543. Fitzgibbons T.P., Czech M.P. Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinical associations. // *J. Am. Heart Assoc.* 2014. V. 3. P. e000582.
 544. Chang L., Milton H., Eitzman D.T., Chen Y.E. Paradoxical roles of perivascular adipose tissue in atherosclerosis and hypertension. // *Circ. J.* 2013. V. 77. P. 11–18.
 545. Soonpaa M.H., Field L.J. Assessment of cardiomyocyte DNA synthesis during hypertrophy in adult mice. // *Am. J. Phys.* 1994. V. 266. P. H1439–H1445.
 546. Thoenen R., Ernande L., Cheng J., Nagasaka Y., Yao V., Miranda-Bezerra A., Chen C., Chao W., Panagia M., Sosnovik D.E., Puppala D., Armoundas A.A., Hindle A., Bloch K.D., Buys E.S., Scherrer-Crosbie M. Functional brown adipose tissue limits cardiomyocyte injury and adverse remodeling in catecholamine-induced cardiomyopathy. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 84. P. 202–211.
 547. Lowell B.B., S-Susulic V., Hamann A., Lawitts J.A., Himms-Hagen J., Boyer B.B., Kozak L.P., Flier J.S. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. // *Nature.* 1993. V. 366. P. 740–742.
 548. Feldmann H.M., Golozoubova V., Cannon B., Nedergaard J. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. // *Cell Metab.* 2009. V. 9. P. 203–209.
 549. Cypess A.M., Lehman S., Williams G., Tal I., Rodman D., Goldfine A.B., Kuo F.C., Palmer E.L., Tseng Y.H., Doria A., Kolodny G.M., Kahn C.R. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 360. P. 1509–1517.

физм, близкий к гену UCP1, влияет на степень транскрипции гена UCP1 и специфические аспекты ожирения, а также на связанные с ним метаболические заболевания, которые обусловлены изменчивостью человеческой популяции [550, 551].

3.6.6.2. Белок – разобщитель UCP2

Гомологичные UCP1, UCP2 и UCP3 также связаны с сердечно-сосудистой функцией и кардиопротекцией. Известно, что UCP2 был предложен в качестве регулятора митохондриальной генерации H_2O_2 [510]. Было показано, что этот белок UCP2 создает устойчивость к окислительному стрессу, уменьшает перегрузку митохондрий кальцием и уменьшает генерацию АФК, тем самым подавляя пути митохондриальной гибели клеток [511]. Кроме того, обнаружено, что UCP2 активируется и играет важную защитную роль против митохондриальной дисфункции H_9c_2 клеток в миокарде [552]. Была также установлена связь между UCP2 и сахарным диабетом, основным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний. GSIS, измененный β -клетками поджелудочной железы, связан с диабетом 2 типа, а UCP2 уменьшает уровень GSIS [478, 553-556]. Также было обнаружено, что нокдаун UCP2 повышает уровень GSIS в β -клетках поджелудочной железы INS-1E крыс, и UCP2 понижает образование митохондриальных АФК

-
550. Virtanen K.A., Lidell M.E., Orava J., Heglind M., Westergren R., Niemi T., Taittonen M., Laine J., Savisto N.J., Enerback S., Nuutila P. Functional brownadipose tissue in healthy adults. // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 360. P. 1518–1525.
551. Villarroya F., Peyrou M., Giral M. Transcriptional regulation of the uncoupling protein-1 gene. // *Biochimie.* 2017. V. 134. P. 86–92.
510. Mailloux R.J., Harper M.E. Mitochondrial proactivity and ROS signaling: lessons from the uncoupling proteins. // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 451–458.
511. Negre-Salvayre A., Hirtz C., Carrera G., Cazenave R., Trolly M., Salvayre R., Penicaud L., Casteilla L. A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. // *FASEB J.* 1997. V.11. P. 809–815.
552. Jia J.J., Tian Y.B., Cao Z.H., Tao L.L., Zhang X., Gao S.Z., Ge C.R., Lin Q.Y., Jois M. The polymorphisms of UCP1 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. // *Mol. Biol. Rep.* 2010. V. 37. P. 1513–1522.
478. Zhang C.Y., Baffy G., Perret P., Krauss S., Peroni O., Grujic D., Hagen T., Vidal Puig A.J., Boss O., Kim Y.B., Zheng X.X., Wheeler M.B., Shulman G.I., Chan C.B., Lowell B.B. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. // *Cell.* 2001. V.105. P. 745–755.
553. Zheng G., Lyu J., Liu S., Huang J., Liu C., Xiang D., Xie M., Zeng Q. Silencing of uncoupling protein 2 by small interfering RNA aggravates mitochondrial dys-function in cardiomyocytes under septic conditions. // *Int. J. Mol. Med.* 2015. V. 35. P. 1525–1536.
554. Krauss S., Zhang C.Y., Scorrano L., Dalgaard L.T., St-Pierre J., Grey S.T., Lowell B.B. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. // *J. Clin. Invest.* 2003. V.112. P. 1831–1842.
555. Chan C.B., De Leo D., Joseph J.W., McQuaid T.S., Ha X.F., Xu F., Tsushima R.G., Pennefather P.S., Salapatek A.M., Wheeler M.B. Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. // *Diabetes.* 2001. V. 50. P. 1302–1310.
556. Joseph J.W., Koshkin V., Zhang C.Y., Wang J., Lowell B.B., Chan C.B., Wheeler M.B. Uncoupling protein 2 knockout mice have enhanced insulin secretory capacity after a high-fat diet. // *Diabetes.* 2002. V. 51. P. 3211–3219.

при высоких уровнях глюкозы в тех же клетках [557, 558]. Эти результаты показывают, что UCP2 ингибирует GSIS и влияет на функцию β -клеток, предотвращая окислительный стресс.

Были предложены два механизма, которые могут объяснить ослабление секреции инсулина под действием UCP2. Во-первых, UCP2 снижает эффективность сопряжения окислительного фосфорилирования и, следовательно, соотношение АТФ/АДФ, что приводит к инактивации КАТФ-каналов и снижению секреции инсулина [478, 554]. Во-вторых, UCP2 может также снижать генерацию АФК, что является важным сигналом для GSIS [555, 559]. UCP2 поддерживает низкий уровень секреции инсулина во время голодания [560]. Кроме того, как UCP2, так и UCP3 могут защищать от диабетической невропатии пациентов с сахарным диабетом типа 1 [561].

UCP2 также связан с метаболическими заболеваниями и атеросклерозом [562]. Показано, что дефицит UCP2 в клетках крови ускорял развитие атеросклеротических бляшек, предполагая защитную роль UCP2 в клетках крови при атеросклерозе [563]. Более того, у мышей, у которых отсутствовал UCP2, наблюдалась значительная эндотелиальная дисфункция и повышенная продукция АФК, а также нарушение способности повышать общую антиоксидантную способность при атеросклерозе [564]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что UCP2 функционирует как адаптивная антиоксидантная защита в сердечно-сосудистой системе для защиты от развития ате-

-
557. Joseph J.W., Koshkin V., Saleh M.C., Sivitz W.I., Zhang C.Y., Lowell B.B., Chan C.B., Wheeler M.B. Free fatty acid-induced beta-cell defects are dependent on uncoupling protein 2 expression. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 51049–51056.
558. Affourtit C., Brand M.D. Uncoupling protein-2 contributes significantly to high mitochondrial proton leak in INS-1E insulinoma cells and attenuates glucose-stimulated insulin secretion. // *Biochem. J.* 2008. V. 409. P. 199–204.
478. Zhang C.Y., Baffy G., Perret P., Krauss S., Peroni O., Grujic D., Hagen T., Vidal Puig A.J., Boss O., Kim Y.B., Zheng X.X., Wheeler M.B., Shulman G.I., Chan C.B., Lowell B.B. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. // *Cell.* 2001. V.105. P. 745–755.
554. Krauss S., Zhang C.Y., Scorrano L., Dalgaard L.T., St-Pierre J., Grey S.T., Lowell B.B. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. // *J. Clin. Invest.* 2003. V.112. P. 1831–1842.
555. Chan C.B., De Leo D., Joseph J.W., McQuaid T.S., Ha X.F., Xu F., Tsushima R.G., Pennefather P.S., Salapatek A.M., Wheeler M.B. Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. // *Diabetes.* 2001. V. 50. P. 1302–1310.
559. Affourtit C., Jastroch M., Brand M.D. Uncoupling protein-2 attenuates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E insulinomacells by lowering mitochondrial reactive oxygen species. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 50. P. 609–616.
560. Leloup C., Tourrel-Cuzin C., Magnan C., Karaca M., Castel J., Carneiro L., Colombani A.L., Ktorza A., Casteilla L., Penicaud L. Mitochondrial reactive oxygen species are obligatory signals for glucose-induced insulin secretion. // *Diabetes.* 2009. V. 58. P. 673–681.
561. Bordone L., Motta M.C., Picard F., Robinson A., Jhala U.S., Apfeld J., McDonagh T., Lemieux M., McBurney M., Szilvasi A., Easlon E.J., Lin S.J., Guarente L. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. // *PLoS Biol.* 2006. V. 4. P. e31.
562. Rudofsky G. Jr., Schroedter A., Schlotterer A., Voron'ko O.E., Schlimme M., Tafel J., Isermann B.H., Humpert P.M., Morcos M., Bierhaus A., Nawroth P.P., Hamann A. Functional polymorphisms of UCP2 and UCP3 are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes. // *Diabetes Care.* 2006. V. 29. P. 89–94.
563. Fisler J.S., Warden C.H. Uncoupling proteins, dietary fat and the metabolic syndrome. // *Nutr. Metab. (Lond.)*. 2006. V. 3. P. 38.
564. Blanc J., Alves-Guerra M.C., Esposito B., Rousset S., Gourdy P., Ricquier D., Tedgui A., Miroux B., Mallat Z. Protective role of uncoupling protein 2 in atherosclerosis. // *Circulation.* 2003. V.107. P. 388–390.

росклероза в ответ на употребление продуктов, богатых жирами и холестерином. Кроме того, была установлена роль UCP2-опосредованной митохондриальной функции в очистке от апоптотических клеток фагоцитами [565]. Более того, обнаружено, что UCP2 может сохранять эндотелиальную функцию за счет увеличения биодоступности оксида азота, по отношению к ингибированию продукции АФК в эндотелии диабетических мышей с ожирением [566]. Роль UCP2 в повреждении ИР еще предстоит исследовать.

Тем не менее установлено, что UCP2 активируется в головном мозге после сублетальной ишемии и является нейропротектором в нескольких моделях нейродегенеративных заболеваний, включая церебральный инсульт [567, 568]. Точно так же UCP2 и UCP3 активируются в ответ на ИР миокарда у крыс, возможно, для уменьшения повреждения кардиомиоцитов [569].

3.6.6.3. Белок – разобщитель UCP3

Показано, что повышенные концентрации жирных кислот связаны с повышенной экспрессией UCP3 в скелетных и сердечных мышцах [570, 571]. В сердце транскрипция UCP3 активируется циркулирующими свободными жирными кислотами через пероксисом пролифератор – активируемый рецептор, α (PPAR α), за счет транскрипционной активации [572, 573]. Установлено, что UCP3 участвует в окислении жирных кислот и, вероятно, влияет косвенно на метаболизм глюкозы [574]. Действительно, несколько исследований показали, что полиморфизмы в генах, кодирующих UCP, связаны с ожирением и сахарным диабетом 2 типа [575, 576]. Установлено, что уровни UCP3 снижаются

-
565. Moukdar F, Robidoux J, Lyght O, Pi J, Daniel K.W., Collins S. Reduced anti-oxidant capacity and diet-induced atherosclerosis in uncoupling protein-2-deficient mice. // *J. Lipid Res.* 2009. V. 50. P. 59–70.
566. Park D., Han C.Z., Elliott M.R., Kinchen J.M., Trampont P.C., Das S., Collins S., Lysiak J.J., Hoehn K.L., Ravichandran K.S. Continued clearance of apoptotic cells critically depends on the phagocyte Ucp2 protein. // *Nature.* 2011. V. 477. P. 220–224.
567. Tian X.Y., Wong W.T., Xu A., Lu Y., Zhang Y., Wang L., Cheang W.S., Wang Y., Yao X., Huang Y. Uncoupling protein-2 protects endothelial function in diet-induced obese mice. // *Circ. Res.* 2012. V. 110. P. 1211–1216.
568. Deierborg T., Wieloch T., Diano S., Warden C.H., Horvath T.L., Mattiasson G. Overexpression of UCP2 protects thalamic neurons following global ischemia in the mouse. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2008. V. 28. P. 1186–1195.
569. Mehta S.L., Li P.A. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009. V. 29. P. 1069–1078.
570. Safari F., Anvari Z., Moshtaghioun S., Javan M., Bayat G., Forosh S.S., Hekmatimoghaddam S. Differential expression of cardiac uncoupling proteins 2 and 3 in response to myocardial ischemia-reperfusion in rats. // *Life Sci.* 2014. V. 98. P. 68–74.
571. Schrauwen P. Skeletal muscle uncoupling protein 3 (UCP3): mitochondrial uncoupling protein in search of a function. // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2002. V. 5. P. 265–270.
572. Stavinoha M.A., RaySpellicy J.W., Essop M.F., Graveleau C., Abel E.D., Hart-Sailors M.L., Mersmann H.J., Bray M.S., Young M.E. Evidence for mitochondrial thioesterase 1 as a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-regulated gene in cardiac and skeletal muscle. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004. V. 287. P. E888–E895.
573. Young M.E., Patil S., Ying J., Depre C., Ahuja H.S., Shipley G.L., Stepkowski S.M., Davies P.J., Taegtmeier H. Uncoupling protein 3 transcription is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor (alpha) in the adult rodent heart. // *FASEB J.* 2001. V. 15. P. 833–845.
574. Murray A.J., Panagia M., Hauton D., Gibbons G.F., Clarke K. Plasma free fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the control of myocardial uncoupling protein levels. // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 3496–3502.
575. Giralt M., Villarroya F. Mitochondrial uncoupling and the regulation of glucose homeostasis. // *Curr. Diabetes Rev.* 2017. V.13. P. 386–394.
576. Jia J.J., Zhang X., Ge C.R., Jois M. The polymorphisms of UCP2 and UCP3 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. // *Obes. Rev.* 2009. V. 10. P. 519–526.

в мышцах у больных сахарным диабетом 2 типа даже на преддиабетической стадии непереносимости глюкозы, что согласуется с идеей о том, что уровни UCP3 могут защищать от развития резистентности к инсулину [577-579]. Этот эффект, вероятно, связан со способностью UCP3 усиливать окисление жирных кислот без ингибирования окисления глюкозы в мышечных клетках [580]. На изолированных перфузированных сердцах мышцей с ожирением было показано, что окислительная способность миокарда снижается при ожирении и инсулино-резистентности за счет индуцированного жирными кислотами митохондриального разобщения, способствуя сердечной дисфункции, хотя эти эффекты не зависят от уровня экспрессии UCP3 [581]. Эти выводы согласуются с данными, полученными у пациентов с ожирением или сахарным диабетом 2 типа [582, 583]. Обнаружено также, что UCP3 активируется в ответ на окислительный стресс в кардиомиоцитах мышцы. В частности, H₂O₂ и HNE (4-гидрокси-2-ноненаль) активируют экспрессию UCP3. Этот эффект опосредован транскрипционным фактором Nrf2 (ядерный фактор, связанный с эритроидом 2) [584, 585]. UCP3 также активируется в клетках скелетных мышц мышцей в ответ на гипоксию через активный фактор транскрипции-1 (ATF-1) и киназу p38 MAP [586]. Точно так же уровни UCP3 увеличиваются в ответ на ишемию миокарда с последующей реперфузией в сердце крыс и мышцей [569, 584]. ИР-травма, возникающая при блокировании кровоснабжения тканей сердца, затем восстанавливается, и это опосредуется несколькими факторами, в том числе повышенным образованием АФК, которое инициируется во время ишемии и уси-

-
577. Musa C.V., Mancini A., Alfieri A., Labruna G., Valerio G., Franzese A., Pasanisi F., Licenziati M.R., Sacchetti L., Buono P. Four novel UCP 3 gene variants associated with childhood obesity: effect on fatty acid oxidation and on prevention of tri-glyceride storage. // *Int. J. Obes.* 2012. V. 36. P. 207–217.
578. Krook A., Digby J., O’Rahilly S., Zierath J.R., Wallberg-Henriksson H. Uncoupling protein 3 is reduced in skeletal muscle of NIDDM patients. // *Diabetes.* 1998. V. 47. P. 1528–1531.
579. Schrauwen P., Hesselink M.K., Blaak E.E., Borghouts L.B., Schaart G., Saris W.H., Keizer H.A. Uncoupling protein 3 content is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. // *Diabetes.* 2001. V. 50. P. 2870–2873.
580. Schrauwen P., Mensink M., Schaart G., Moonen-Kornips E., Sels J.P., Blaak E.E., Russell A.P., Hesselink M.K. Reduced skeletal muscle uncoupling protein-3 content in prediabetic subjects and type 2 diabetic patients: restoration by rosiglitazone treatment. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006. V. 91. P. 1520–1525.
581. Garcia-Martinez C., Sibille B., Solanes G., Darimont C., Mace K., Villarroya F., Gomez-Foix A.M. Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid vs. glucose oxidation. // *FASEB J.* 2001. V.15. P. 2033–2035.
582. Boudina S., Sena S., O’Neill B.T., Tathireddy P., Young M.E., Abel E.D. Reduced mitochondrial oxidative capacity and increased mitochondrial uncoupling impair myocardial energetics in obesity. // *Circulation.* 2005. V.112. P. 2686–2695.
583. Peterson L.R., Herrero P., Schechtman K.B., Racette S.B., Waggoner A.D., Kisrieva-Ware Z., Dence C., Klein S., Marsala J., Meyer T., Gropler R.J. Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate metabolism and efficiency in young women. // *Circulation.* 2004. V.109. P. 2191–2196.
584. Scheuermann-Freestone M., Madsen P.L., Manners D., Blamire A.M., Buckingham R.E., Styles P., Radda G.K., Neubauer S., Clarke K. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. // *Circulation.* 2003. V. 107. P. 3040–3046.
585. Anedda A., Lopez-Bernardo E., Acosta-Iborra B., Saadeh Suleiman M., Landazuri M.O., Cadenas S. The transcription factor Nrf2 promotes survival by enhancing the expression of uncoupling protein 3 under conditions of oxidative stress. // *Free Radic. Biol. Med.* 2013. V. 61. P. 395–407.
586. Lopez-Bernardo E., Anedda A., Sanchez-Perez P., Acosta-Iborra B., Cadenas S. 4-Hydroxynonenal induces Nrf2-mediated UCP3 upregulation in mouse cardio-myocytes. // *Free Radic. Biol. Med.* 2015. V. 88. P. 427–438.
569. Mehta S.L., Li P.A. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009. V. 29. P. 1069–1078.

ливается при реперфузии [587-590]. Основной механизм включает накопление сукцината во время ишемии и производство супероксида в комплексе I с помощью RET, обусловленное окислением сукцината [591, 592]. Было показано, что UCP3 защищает сердце от ИР-повреждения. Кроме того, было обнаружено, что перфузированные по Лангендорфу сердца мышшей, у которых отсутствует UCP3, имели больший размер инфаркта после ИР, чем мышши дикого типа. Более того, увеличенный размер инфаркта был также получен у мышшей с нокаутом UCP3 после *in vivo* ИР (перевязка левой коронарной артерии). Интересно, что сердца нокаут-UCP3 мышшей генерировали больше АФК, чем сердца дикого типа, и предварительная обработка с FCCP улучшала постишемическое функциональное восстановление [517]. В общем, эти результаты предполагают, что повышенное разобщение через UCP3 может быть механизмом снижения продукции АФК после ИР. Эмбриональные фибробласты и взрослые кардиомиоциты из мышшей с нокаутом UCP3 проявляли митохондриальную дисфункцию, повышенный уровень продукции АФК и апоптотическую гибель клеток по сравнению с эквивалентными клетками дикого типа при гипоксии *in vitro* [593].

Кроме того, после инфаркта миокарда размер инфаркта был больше у мышшей с нокаутом UCP3, что сопровождалось значительным снижением сердечной функции и увеличением апоптотической гибели клеток через восемь недель после инфаркта. Таким образом, UCP3 регулирует уровни АФК и выживаемость клеток при гипоксии, модулируя размер инфаркта в ишемическом сердце. В отличие от защитной роли UCP1 и UCP3 при сердечной ИР травме, у мышшей с нокаутом UCP2 уменьшались (а не увеличились) размеры инфаркта после церебральной ИР-травмы [594].

Ишемическое прекондиционирование (ИПК) – очень эффективный способ защиты сердца от ИР-повреждения [595, 596]. ИПК включает в себя короткие

-
587. Safari F., Anvari Z., Moshtaghion S., Javan M., Bayat G., Forosh S.S., Hekmatimoghaddam S. Differential expression of cardiac uncoupling proteins 2 and 3 in response to myocardial ischemia-reperfusion in rats. // *Life Sci.* 2014. V. 98. P. 68–74.
588. Eltzschig H.K., Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. // *Nat. Med.* 2011. V. 17. P. 1391–1401.
589. Hausenloy D.J., Yellon D.M. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. // *J. Clin. Invest.* 2013. V. 123. P. 92–100.
590. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. V. 117. P. 76–89.
591. Zweier J.L., Flaherty J.T., Weisfeldt M.L. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1987. V. 84. P. 1404–1407.
592. Chouchani E.T., Pell V.R., Gaude E., Aksentijevic D., Sundier S.Y., Robb E.L., Logan A., Nadtochiy S.M., Ord E.N.J., Smith A.C., Eyassu F., Shirley R., Hu C.H., Dare A.J., James A.M., Rogatti S., Hartley R.C., Eaton S., Costa A.S.H., Brookes P.S., Davidson S.M., Duchon M.R., Saeb-Parsy K., Shattock M.J., Robinson A.J., Work L.M., Frezza C., Krieg T., Murphy M.P. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. // *Nature.* 2014. V. 515. P. 431–435.
593. Chouchani E.T., Pell V.R., James A.M., Work L.M., Saeb-Parsy K., Frezza C., Krieg T., Murphy M.P. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury. // *Cell Metab.* 2016. V. 23. P. 254–263.
594. Perrino C., Schiattarella G.G., Sannino A., Pironti G., Petretta M.P., Cannavo A., Gargiulo G., Icardi F., Magliulo F., Franzone A., Carotenuto G., Serino F., Altobelli G.G., Cimini V., Cuocolo A., Lombardi A., Goglia F., Indolfi C., Trimarco B., Esposito G. Genetic deletion of uncoupling protein 3 exaggerates apoptotic cell death in the ischemic heart leading to heart failure. // *J. Am. Heart Assoc.* 2013. V. 2. P. e000086.
595. De Bilbao F., Arsenijevic D., Vallet P., Hjelle O.P., Ottersen O.P., Bouras C., Raffin Y., Abou K., Langhans W., Collins S., Plamondon J., Alves-Guerra M.C., Haguenaer A., Garcia I., Richard D., Ricquier D., Giannakopoulos P. Resistance to cerebral ischemic injury in UCP2 knockout mice: evidence for a role of UCP2 as a regulator of mitochondrial glutathione levels. // *J. Neurochem.* 2004. V. 89. P. 1283–1292.
596. Hausenloy D.J., Yellon D.M. Ischaemic conditioning and reperfusion injury. // *Nat. Rev. Cardiol.* 2016. V. 13. P. 193–209.

периоды нелетальной ишемии, вызывающей защитный ответ на последующую продолжительную ишемию. Было продемонстрировано, что UCP2 и UCP3 участвуют в толерантности сердца к ишемии, и оба белка регулируются preconditionированием [597-599].

Таким образом, митохондриальное разобщение окислительного фосфорилирования – это физиологический процесс, имеющий важные последствия для клеточной биоэнергетики и образования АФК. UCP1 опосредует индуцируемую протонную проводимость, которая отвечает за термогенез при БЖТ, критический ответ на продолжительное воздействие холодом. Мягкое разобщение окислительного фосфорилирования, опосредованное UCP2 и UCP3, может защищать от окислительного повреждения, снижая митохондриальное образование супероксидов. В сердце эти белки продемонстрировали кардиозащитные эффекты, они ослабляли окислительное повреждение и гибель клеток кардиомиоцитов, уменьшали размер инфаркта после ИР в изолированном перфузируемом сердце в естественных условиях. Низкие дозы химических разобщителей, таких как DNP и FCCP, проявляли сходные кардиозащитные действия. Кроме того, UCP2 и UCP3 были связаны с несколькими сердечно-сосудистыми факторами риска. Активность UCP2 влияла на гомеостаз глюкозы, модулируя клеточный энергетический статус, и негативно регулировала секрецию инсулина, так как повышенная экспрессия UCP2 в β -клетках поджелудочной железы приводила к снижению регуляции GSIS, к дисфункции клеток и развитию сахарного диабета 2 типа. Однако UCP2 могла защищать от диабетической невропатии и атеросклероза. UCP3, по-видимому, участвует в регуляции метаболизма жирных кислот, адаптивных ответов на острые физические нагрузки и голодание и предотвращает образование АФК. Кроме того, UCP3 защищает сердце от ИР-травмы, хотя механизм требует уточнения. Следовательно, UCP3 представляет новый важный показатель размера инфаркта, постишемического ремоделирования сердца и выживаемости. Кроме того, несколько генов полиморфизма UCP1, UCP2 и UCP3 связаны с ожирением и диабетом. Экспериментальные данные, полученные к настоящему времени, предполагают, что белки-разобщители UCP являются потенциальными терапевтическими мишенями для лечения ИР-травмы сердца, а также сердечно-сосудистых факторов риска, таких как ожирение, сахарный диабет 2 типа и атеросклероз.

-
597. Clarke S.J., Khaliulin I., Das M., Parker J.E., Heesom K.J., Halestrap A.P. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening by ischemic preconditioning is probably mediated by reduction of oxidative stress rather than mitochondrial protein phosphorylation. // *Circ. Res.* 2008. V.102. P. 1082–1090.
598. Sack M.N. Mitochondrial depolarization and the role of uncoupling proteins in ischemia tolerance. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 210–219.
599. McLeod C.J., Aziz A., Hoyt R.F. Jr., McCoy J.P. Jr., Sack M.N. Uncoupling proteins 2 and 3 function in concert to augment tolerance to cardiac ischemia. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 33470–33476.

Глава IV

Наночастицы для таргетной доставки лекарственных препаратов

Биотехнология, и в частности нанотехнология, были определены в качестве ключевых направлений инновационного развития российской экономики. Биотехнология, и в частности наномедицина, в России развивается бурными темпами. Практически все сегменты демонстрируют высокие темпы роста в течение последних нескольких лет, следуя в русле мировых тенденций. Наиболее перспективными областями применения наномедицины является лечение онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Устоявшееся понятие наномедицины включает в себя слежение, исправление, генетическую коррекцию и контроль биологических систем организма человека на молекулярном уровне, используя наноустройства, наноструктуры и информационные технологии. Внедрение нанотехнологий в медицину позволяет избавиться от дорогостоящих и травматичных оперативных методов лечения. Одним из наиболее активно развивающихся направлений наномедицины является создание технологий адресной доставки лекарственных средств и диагностических субстанций в нанокапсулах/наночастицах или векторах для генной терапии. Это обеспечивает более эффективное действие лекарства, не нанося вреда здоровым клеткам и снизив дозы его применения. Актуальность разработки наночастиц для таргетной доставки ССЗ препаратов определяется высокой частотой ССЗ заболеваний во всем мире, низкой выживаемостью больных и дорогостоящим лечением ССЗ заболеваний. Кроме того, многие лекарственные препараты обладают токсичностью, проявляют побочные эффекты, отличаются плохой растворимостью, проникаемостью в клетку и плохой биосовместимостью.

В мире ведутся работы по разработке многослойных наночастиц, состоящих из биополимерного носителя хитозана и вектора доставки гиалуроновой кислоты (ГК) и инкапсулированных противоопухолевых препаратов (рисунок 21).



Рис. 21. Предполагаемая структура многослойных наночастиц, состоящих из биополимерного ядра-хитозана, вектора доставки (гиалуроновой кислоты-ГК) и инкапсулированных лекарственных препаратов, для таргетной доставки

Специфичность действия наночастиц (хитозан-гиалуроновая кислота) осуществляется тремя типами таргетинга: тканевого, клеточного и молекулярного. В этой главе мы рассмотрим, каким образом подобные наночастицы осуществляют эти виды таргетинга.

4.1. Тканевый таргетинг

В качестве носителя в наночастицах часто используется хитозан (CS). Хитозан-аминосахар – производное линейного полисахарида, макромолекулы которого состоят из случайно связанных β -D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамина. Одним из источников хитозана являются панцири ракообразных. Хитозан обладает многими свойствами, которые делают возможным использовать его в различных областях, особенно в биомедицине. Хитозан является высококатионным, нетоксичным, биосовместимым и биodeградируемым соединением. Из-за своей катионной природы хитозан способен образовывать нерастворимые комплексы с анионным полисахаридом – гиалуроновой кислотой. Эта способность позволяет использовать его в качестве носителя в наночастицах. Данные наночастицы на основе хитозана способны длительно выполнять необходимую функцию в организме человека и затем разлагаться и выводиться из организма, не причиняя вреда человеку.

4.2. Клеточный таргетинг

Наночастицы, покрытые полисахаридами, являются новой тенденцией в системах лекарственной доставки. Активная таргетная доставка лекарственных препаратов, ассоциированных с гиалуроновой кислотой (НА), является перспективным подходом в биомедицине, поскольку НА является биологически совместимым, нетоксичным и легко биodeградируемым веществом. Следуя этому, в наночастицах используется отрицательно заряженный полимер-НА в качестве вектора доставки. НА – это несulfированный гликозаминогликан, входящий в состав соединительной, эпителиальной и нервной тканей. НА является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса, содержится во многих биологических жидкостях (слюне, синовиальной жидкости и др.). НА может обеспечить защиту доставляемого лекарственного препарата и улучшить растворимость гидрофобных лекарств. Кроме того, поскольку НА является полианионным полисахаридом, она имеет множественные заряды для взаимодействия с поликатионами. НА является физиологическим лигандом CD44 и RHAMM (рецептор гиалуронан опосредованной подвижности) рецепторов, поэтому НА специфично взаимодействует с CD₄₄ и RHAMM рецептором на поверхности мембраны клеток, обеспечивая селективность доставки препарата в клетку.

Эта стратегия клеточного таргетинга позволяет доставлять лекарственные препараты прямо в клетки, а не концентрироваться в почках, печени и затем выводиться из организма ретикуло-эндотелиальной системой. НА имеет отрицательный заряд, который обеспечивает быстрое прохождение наночастиц через клеточную мембрану, которая имеет отрицательный за-

ряд. Кроме того, клеточные ферменты (гиалуронидазы) способны расщеплять ГК внутри клетки, тем самым высвобождая лекарственный препарат непосредственно в раковую клетку. Такая стратегия позволяет осуществлять специфичную, клеточную таргетную доставку лекарственных препаратов.

4.3. Молекулярный таргетинг

Сущность молекулярного таргетинга состоит в том, чтобы инкапсулировать в наночастицы высокоэффективные лекарственные препараты, действующие целенаправленно на молекулярную мишень внутри клетки. В качестве таких лекарственных препаратов можно использовать ингибиторы/активаторы ферментов, являющихся биомаркерами ССЗ заболеваний (матриксная металлопротеиназа, гистондеацетилаза, миелопероксидаза, ренин, тирозинкиназа, полиаденин-рибозополимераза и др.). Такие частицы могут также нести и доставлять в клетку различные лекарственные препараты, например динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ, доноры оксида азота и др.).

4.5. Наночастицы для доставки оксида азота

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти во всем мире. В настоящее время в кардиологии для лечения ишемической болезни сердца широко используются лекарственные препараты, являющиеся донорами оксида азота (NO) [600-602]. Наиболее распространенными лекарственными препаратами являются нитроглицерин, нитросорбид, нитропруссид и нитрит, которые высвобождают NO в клетки и ткани организма. Однако эти лекарственные препараты зачастую являются нестабильными, неспецифичными, токсичными и имеют ряд побочных эффектов [603]. Поэтому в настоящее время актуальной является разработка наночастиц для стабилизации и таргетной доставки кардиологических препаратов. Новые динитрозильные комплексы железа с серосодержащими лигандами ряда тиомочевин были синтезированы ранее [604]. Однако полученные ДНКЖ были не совсем стабильными, легко разрушались при растворении в водных растворах и не могли длительно генерировать NO. Поэтому разработка наночастиц и инкапсулирование в наночастицы ДНКЖ для повышения стабильности и эффективности их действия является весьма актуальной.

-
600. Boulanger C.M. Secondary endothelial dysfunction: hypertension and heart failure. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. V. 31. P. 39–49.
601. Kojda G., Harrison D.G. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiologic importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes, and heart failure. // *Cardiovasc. Res.* 1999. V. 43. P. 562–571.
602. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. // *Pharmacol. Rev.* 1991. V.43. P.109–142.
603. Kapelko V.I., Lakomkin V.L., Abramov A.A., Lukoshkova E.V., Undrovinas N.A., Khapchaev A.Y., Shirinsky V.P. Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2017. V.2017. P.1–10.
604. Шматко Н.Ю., Корчагин Д.В., Шилов Г.В., Санина Н.А., Алдошин С.М. Молекулярная и кристаллическая структура катионного динитрозильного комплекса железа с 1,3-диметилтиомочевинной. // *Журнал структурной химии.* 2017. Т. 58. № 2. С. 398–400.

Большинство NO доноров обладают плохой стабильностью в биологических средах, что приводит к быстрому высвобождению NO, что серьезно ограничивает их потенциальную пользу. Использование наночастиц является одной из альтернатив для повышения стабильности и адресной доставки NO. Инкапсуляция терапевтических соединений в наночастицы увеличивает их растворимость и локальную концентрацию [605, 606].

В настоящее время существуют различные подходы для разработки наночастиц (НЧ) по доставке лекарственных препаратов. Существует много публикаций по созданию наночастиц неорганического и органического типа. В качестве примера неорганических наночастиц можно привести золотые наночастицы, магнитные железо-оксидные, гидроксипатитные, цинк-оксидные, квантовые доты, углеродные нанотрубки [607-611]. Наночастицы на основе органических материалов включают полимерные наночастицы, наногели, липосомы, дендримеры, наночастицы-пептиды [612-615].

Коллоидные наночастицы из кремния впервые были разработаны для доставки NO [616]. Эти наночастицы применяли для уменьшения количества тромбов и снижения степени активации тромбоцитов в экстракорпоральной системе кровообращения кроликов [616]. Кроме этого, были также разработаны наночастицы из золота, для доставки NO. Наночастицы из золота были получены путем модификации поверхности золота с помощью 11-бром-1-ундекантиола, который выделял NO [617]. Эти наночастицы золота имели

-
605. Whitesides G.M. The “right” size in nanobiotechnology. // *Nature biotechnology*. – 2003. – V. 21. – № 10. – P. 1161–1165.
 606. Nguyen T.K., Selvanayagam R., Ho K.K.K. et al. Co-delivery of nitric oxide and antibiotic using polymeric nanoparticles. // *Chemical Science*. – 2016. – V. 7. – № 2. – P. 1016–1027.
 607. Schreer A., Tinson C., Sherry J.P., Schirmer K. Application of Alamar blue/5-carboxyfluorescein diacetate acetoxyethyl ester as a noninvasive cell viability assay in primary hepatocytes from rainbow trout. // *Analytical biochemistry*. – 2005. – V. 344. – № 1. – P. 76–85.
 608. Johnson D.C., LaCourse W.R. Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection at gold and platinum electrodes. // *Analytical Chemistry*. – 1990. – V. 62. – № 10. – P. 589A–597A.
 609. Moloudi K., Samadian H., Jaymand M., Khodamoradi E., Hoseini-Ghahfarokhi M., Fathi F. Iron oxide/gold nanoparticles-decorated reduced graphene oxide nanohybrid as the thermo-radiotherapy agent. // *IET Nanobiotechnol.* – 2020. - V. 14. № 5. – P.428–432. doi: 10.1049/iet-nbt.2020.0106.
 610. Oleshkevich E., Teixidor F., Rosell A., Viñas C. Merging Icosahedral Boron Clusters and Magnetic Nanoparticles: Aiming toward Multifunctional Nanohybrid Materials. // *Inorganic chemistry*. – 2018. – V. 57. – № 1. – P. 462–470.
 611. Zhang X., Broderick M. Electrochemical NO sensors and their applications in biomedical research. // *Biomedical Significance of Nitric Oxide*. – 2003.
 612. Srinivasan M., Rajabi M., Mousa S. A. Multifunctional Nanomaterials and Their Applications in Drug Delivery and Cancer Therapy. // *Nanomaterials*. – 2015. – V. 5. – № 4. – P. 1690–1703.
 613. Mondal S., Manivasagan P., Bharathiraja S. et al. Magnetic hydroxyapatite: a promising multifunctional platform for nanomedicine application. // *International journal of nanomedicine*. – 2017. – V. 12. – P. 8389–8410.
 614. Hess K.L., Oh E., Tostanoski L.H. et al. Engineering Immunological Tolerance Using Quantum Dots to Tune the Density of Self-Antigen Display. // *Advanced functional materials*. – 2017. – V. 27. – № 22.
 615. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A. et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. // *Nano-micro letters*. – 2015. – V. 7. – № 3. – P. 219–242.
 616. Zhang H., Annich G.M., Miskulin J. et al. Nitric Oxide-Releasing Fumed Silica Particles: Synthesis, Characterization, and Biomedical Application. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2003. – V. 125. – № 17. – P. 5015–5024.
 617. Rothrock A.R., Donkers R.L., Schoenfisch M.H. Synthesis of Nitric Oxide-Releasing Gold Nanoparticles. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – V. 127. – № 26. – P. 9362–9363.

небольшой размер (2 нм). Позднее для доставки NO использовали дендримеры [618]. Однако эти наночастицы выделяли NO только при низком pH (около 3). Помимо этого, были созданы NO-высвобождающие мицеллы, размер которых составлял 40 нанометров [619].

Особо следует отметить полисахариды, гидрофильные полимеры природного происхождения, которые часто используются в нанотехнологии. Это связано с их биоразлагаемостью, биосовместимостью и низкой токсичностью. Показано, что наночастицы на основе полисахаридов обладают многими преимуществами, такими как высокая эффективность загрузки, высокая скорость высвобождения лекарственных препаратов, адресная доставка, высокая стабильность и низкая токсичность в физиологической среде [620-622]. Кроме этого, полисахариды привлекательны из-за их доступности и легкости обработки [623]. Используя различные подходы, были разработаны различные способы синтеза наночастицы на основе полисахаридов с контролируемым размером, морфологией и структурой [624].

В настоящее время разработаны различные подходы для синтеза наночастиц на основе полисахаридов, такие как ионное или ковалентное сшивание, самосборка модифицированных полисахаридов, комплексообразование полиэлектролитов и образование конъюгатов полисахарид-лекарственное средство [621, 624].

Применения NO-высвобождающих наночастиц для лечения ССЗ основано на их роли в расширении сосудов. Впервые NO-высвобождающие наночастицы были использованы для лечения сердечно-сосудистой системы хомячков. Согласно полученным данным, у хомячков, получавших NO-высвобождающие наночастицы, наблюдались значительные изменения газового состава крови, увеличение метгемоглобина, нитратов и нитритов в плазме. При этом наблюдалось снижение артериального давления, расширение сосудов микроциркуляторного русла и увеличение кровотока [625]. Таким образом, эти результаты показали, что наночастицы, высвобождающие NO, могут быть эффективны для индукции вазодилатации, а также для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

-
618. Stasko N.A., Schoenfish M.H. Dendrimers as a Scaffold for Nitric Oxide Release. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2006. – V. 128. – № 25. – P. 8265–8271.
 619. Duong H.T.T., Kamarudin Z.M., Erlich R.B. et al. Intracellular nitric oxide delivery from stable NO-polymeric nanoparticle carriers. // *Chem. Commun.* – 2013. – V. 49. – № 39. – P. 4190–4192.
 620. Seyedbrahimi R., Razavi S., Varshosaz J. Controlled Delivery of Brain Derived Neurotrophic Factor and Gold-Nanoparticles from Chitosan/TPP Nanoparticles for Tissue Engineering Applications. // *Journal of Cluster Science*. – 2020. – V. 31. – № 1. – P. 99–108.
 621. Mizrahy S., Peer D. Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. // *Chemical Society reviews*. – 2012. – V. 41. – № 7. – P. 2623–2640.
 622. Heo R., You D.G., Um W. et al. Dextran sulfate nanoparticles as a theranostic nanomedicine for rheumatoid arthritis. // *Biomaterials*. – 2017. – V. 131. – P. 15–26.
 623. Yang J., Han S., Zheng H. et al. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. // *Carbohydrate polymers*. – 2015. – V. 123. – P. 53–66.
 624. Gericke M., Schulze P., Heinze T. Nanoparticles Based on Hydrophobic Polysaccharide Derivatives—Formation Principles, Characterization Techniques, and Biomedical Applications. // *Macromolecular Bioscience*. – 2020. – V. 20. – № 4. – P. 1900415.
 625. Cabrales P., Han G., Nacharaju P. et al. Reversal of hemoglobin-induced vasoconstriction with sustained release of nitric oxide. // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. – 2011. – V. 300. – № 1. – P. H49–56.

4.6. Наночастицы хитозан-гиалуроновая кислота для стабилизации и доставки ДНКЖ

В литературе известно много различных носителей для таргетной доставки лекарственных препаратов. Например, полиионные наноконплексы (PIC), состоящие из полианионов и поликатионов, являются перспективными для применения в медицине. PIC характеризуются хорошей биосовместимостью, контролируемым высвобождением лекарственных средств и низкой токсичностью [626, 627]. Кроме того, процесс приготовления PIC позволяет избежать использования органических растворителей [628].

Среди различных PIC наиболее широко исследовались наночастицы хитозан-гиалуроновая кислота для доставки лекарственных препаратов [628].

Хитозан-аминосахар, производное линейного полисахарида, макромолекулы которого состоят из случайно связанных β -D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамина (рисунок 22) [628].

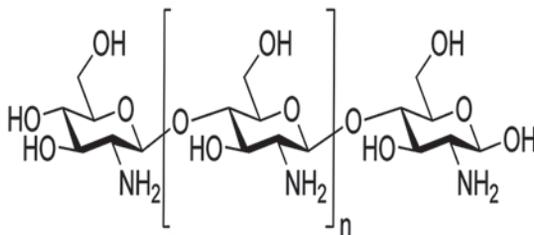


Рис. 22. Химическая структура хитозана. Адаптировано из Zhang et al., 2015 [628]

Хитозан получают путем деацетилирования хитина. Аминогруппы в глюкозидном остатке делают хитозан положительно заряженным материалом с активными участками для конъюгации. Хитозан является высококатионным, нетоксичным, биосовместимым и биodeградируемым соединением. Хитозан может самособираться в наноструктуры посредством электростатических, гидрофобных взаимодействий, водородных связей и сил Ван-дер-Ваальса [629]. Физико-химические свойства хитозана, такие как растворимость и вязкость, зависят от степени деацетилирования и его молекулярной массы [630, 631]. Более

626. Zhang Y., Liu J., Fu Y. et al. Self-assembly of polyion complex nanocarriers from ammonium glycyrrhizinate and monomethoxy poly (ethylene glycol)-b-poly (γ -amino- ϵ -caprolactone). // Journal of Materials Chemistry B. – 2013. – V. 1. – № 11. – P. 1614–1621.
627. Suma T., Miyata K., Ishii T. et al. Enhanced stability and gene silencing ability of siRNA-loaded polyion complexes formulated from polyaspartamide derivatives with a repetitive array of amino groups in the side chain. // Biomaterials. – 2012. – V. 33. – № 9. – P. 2770–2779.
628. Zhang L., Liu T., Xiao Y. et al. Hyaluronic Acid-Chitosan Nanoparticles to Deliver Gd-DTPA for MR Cancer Imaging. // Nanomaterials (Basel, Switzerland). – 2015. – V. 5. – № 3. – P. 1379–1396.
629. Yang Y., Wang S., Wang Y. et al. Advances in self-assembled chitosan nanomaterials for drug delivery. // Biotechnology advances. – 2014. – V. 32. – № 7. – P. 1301–1316.
630. Kofuji K., Qian C.-J., Nishimura M. et al. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. // European Polymer Journal. – 2005. – V. 41. – № 11. – P. 2784–2791.
631. Sorlier P., Denuzière A., Viton C., Domard A. Relation between the Degree of Acetylation and the Electrostatic Properties of Chitin and Chitosan. // Biomacromolecules. – 2001. – V. 2. – № 3. – P. 765–772.

низкая степень деацетилирования может увеличить растворимость и вязкость, а более высокая молекулярная масса может снизить растворимость и увеличить вязкость хитозана.

Хитозан обладает многими свойствами, которые делают возможным использовать его в различных областях, особенно в биомедицине и фармацевтической промышленности. Хитозан обладает уникальными адгезивными свойствами и широко используется как носитель для доставки лекарств, увеличивая транспорт лекарств через кишечный эпителий [632, 633].

Хитозан обладает уникальной способностью прилипать к поверхностям слизистой оболочки и проникать в плотные соединения между эндотелиальными клетками. Хитозан был одобрен FDA для применения в медицине для использования в перевязочных материалах, в тканевой инженерии и доставке лекарственных препаратов [634].

Системы доставки лекарств на основе хитозана вызывают большой интерес с начала 1990-х годов. Известно, что хитозан взаимодействует электростатически с отрицательно заряженными макромолекулами, такими как плазмидная ДНК и анионные белковые препараты (например, инсулин), образуя полиэлектролитные комплексы [635, 636]. Кроме того, из-за своей катионной природы хитозан способен образовывать нерастворимые комплексы с анионным полисахаридом – гиалуроновой кислотой. Эта способность позволяет использовать его в качестве носителя в наночастицах [637, 638]. Наночастицы на основе хитозана способны длительно выполнять необходимую функцию в организме человека и затем разлагаться и выводиться из организма, не причиняя человеку вреда.

В настоящее время известно, что поверхностные свойства наночастиц являются ключевым фактором в модулировании их параметров биораспределения [639]. Наночастицы с более гидрофобными поверхностями более предпочтительно связываются в печени, в селезенке и в легких [640].

-
632. Thanou M., Verhoef J.C., Junginger H.E. Oral drug absorption enhancement by chitosan and its derivatives. // *Advanced drug delivery reviews*. – 2001. – V. 52. – № 2. – P. 117–126.
 633. Prego C., Torres D., Fernandez-Megia E. et al. Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery. Effect of chitosan pegylation degree. // *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. – 2006. – V. 111. – № 3. – P. 299–308.
 634. Wedmore I., McManus J.G., Pusateri A.E., Holcomb J.B. A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. // *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. – 2006. – V. 60. – № 3. – P. 655–658.
 635. Lin Y.-H., Mi F.-L., Chen C.-T. et al. Preparation and Characterization of Nanoparticles Shelled with Chitosan for Oral Insulin Delivery. // *Biomacromolecules*. – 2007. – V. 8. – № 1. – P. 146–152.
 636. Lim S.T., Martin G.P., Berry D.J., Brown M.B. Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan. // *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. – 2000. – V. 66. – № 2-3. – P. 281–292.
 637. Lim S.T., Forbes B., Berry D.J. et al. In vivo evaluation of novel hyaluronan/chitosan microparticulate delivery systems for the nasal delivery of gentamicin in rabbits. // *International journal of pharmaceutics*. – 2002. – V. 231. – № 1. – P. 73–82.
 638. Lourenco C., Teixeira M., Simões S., Gaspar R. Steric stabilization of nanoparticles: Size and surface properties. // *International Journal of Pharmaceutics*. – 1996. – V. 138. – № 1. – P. 1–12.
 639. Brigger I., Dubernet C., Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. // *Advanced drug delivery reviews*. – 2012. – V. 64. – P. 24–36.
 640. Choi K.Y., Min K.H., Na J.H. et al. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential drug carrier for cancer therapy: synthesis, characterization, and in vivo biodistribution. // *J. Mater. Chem.* – 2009. – V. 19. – № 24. – P. 4102–4107.

Белки плазмы играют главную роль в узнавании частиц макрофагами фагоцитарной системы и их быстрого удаления из кровяного русла. По сравнению с этим, гидрофильные полимеры могут создавать облако из цепочек на поверхности частиц, которое отталкивает белки плазмы. Таким образом, поверхности наночастиц с гидрофильной модификацией обладают уменьшенной опсонизацией. Поэтому наночастицы, покрытые полисахаридами, являются новой тенденцией в системах лекарственной доставки. Таким полисахаридом является отрицательно заряженный полимер – гиалуроновая кислота, который часто используют в качестве вектора доставки. Этот полисахарид способен увеличивать время циркуляции в плазме липосом, полимерных наночастиц, наночастиц –подобных кластеров и твердых липидных наночастиц [641–644]. Гиалуро́новая кислота́ (гиалуронáт, гиалуронáн) – несulfированный гликозаминогликан, входящий в состав соединительной, эпителиальной и нервной тканей, содержится во многих биологических жидкостях (слюне, синовиальной жидкости и др.) [645, 646]. Гиалуроновая кислота представляет собой несulfированный поли-(2-ацети́до-2-дезокси-D-глюко)-D-глюкуроногликан, состоящий из повторяющихся остатков D-глюкуроновой кислоты и D-N-ацетилглюкозамина (брутто-формула C₂₈H₄₄N₂O₂₃) (рисунок 23)[647].

Повторяющийся дисахарид [(1→3)-β-d-GlcNAc-(1→4)-β-d-GlcA-].

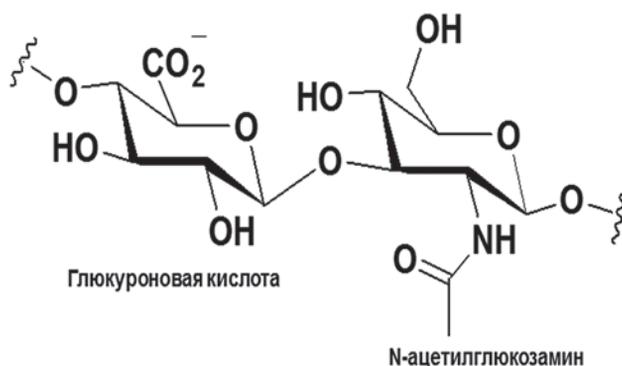


Рис. 23. Структура гиалуроновой кислоты. Адаптировано из: Stern R., 2004 [645]

641. Yang X.-Y., Li Y.-X., Li M. et al. Hyaluronic acid-coated nanostructured lipid carriers for targeting paclitaxel to cancer. // *Cancer letters*. – 2013. – V. 334. – № 2. – P. 338–345.
642. Peer D., Karp J. M., Hong S. et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. // *Nano-Enabled Medical Applications*. – 2020. – P. 61–91.
643. Peer D., Margalit R. Loading mitomycin C inside long circulating hyaluronan targeted nano-liposomes increases its antitumor activity in three mice tumor models. // *International journal of cancer*. – 2004. – V. 108. – № 5. – P. 780–789.
644. Stern R. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. // *Eur. J. Cell Biol.* 2004. V. 83. № 7. P. 317–325.
645. Holmes M. W. A., Bayliss M.T., Muir H. Hyaluronic acid in human articular cartilage. Age-related changes in content and size. // *Biochem. J.* 1988. V. 250. P. 435–441.
646. Xu X., Jha A. K., Harrington D. A. et al. Hyaluronic acid-based hydrogels: from a natural polysaccharide to complex networks. // *Soft matter*. – 2012. – V. 8. – № 12. – P. 3280–3294.
647. Almond A. Hyaluronan. // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2007. – V. 64. – № 13. – P. 1591–1596.

НА является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса, входит в состав соединительной, эпителиальной и нервной тканей, содержится во многих биологических жидкостях (слюне, синовиальной жидкости и др.) [648, 649]. Гиалуроновая кислота выполняет различные биологические функции в живых организмах, участвует в росте и миграции клеток, в эмбриональном развитии, в заживлении поврежденных тканей и регуляции воспаления. Гиалуроновая кислота используется широко в медицинских и косметических целях в качестве покрытия матриц и гидрогелей [650].

Активная таргетная доставка лекарственных препаратов, ассоциированных с НА, является перспективным подходом в биомедицине, поскольку НА является биологически совместимой, нетоксичной и легко биodeградируемой молекулой [651]. НА может обеспечить защиту доставляемого лекарственного препарата и улучшить растворимость гидрофобных лекарств. НА может использоваться как в качестве носителя, так и вектора доставки в составе наночастиц, поскольку молекулы НА способны к ионной самосборке в наногели [652]. НА может физически взаимодействовать с наночастицами за счет нековалентных сил притяжения, а именно гидрофобных, водородных связей или ионных взаимодействий [652]. Кроме того, поскольку НА является полианионным полисахаридом, она имеет множественные заряды для взаимодействия с поликатионами [652]. НА является физиологическим лигандом CD44- и RHAMM (рецептор гиалуронан опосредованной подвижности) рецепторов, поэтому она специфически взаимодействует с CD44- и RHAMM рецепторами на мембране клеток, обеспечивая эффективность доставки препарата в клетку [653, 654]. Наночастицы на основе НА способны специфично доставлять связанные с частицами лекарственные препараты посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза [655]. Эта стратегия клеточного таргетинга позволяет доставлять лекарственные препараты прямо в клетки, а не концентрироваться в почках, печени и затем выводиться из организма ретикуло-эндотелиальной системой [656]. Кроме того, клеточные ферменты (гиалуронидазы) расщепляют НА внутри клетки, тем самым высвобождая лекарственный препарат непосредственно в клетку [657]. Такая стратегия позволяет осуществлять специфичную и селективную доставку лекарственных препаратов.

-
648. Entwistle J., Hall C. L., Turley E. A. HA receptors: regulators of signalling to the cytoskeleton. // *Journal of cellular biochemistry*. – 1996. – V. 61. – № 4. – P. 569–577.
649. Yang L., Gao S., Asghar S. et al. Hyaluronic acid/chitosan nanoparticles for delivery of curcuminoid and its in vitro evaluation in glioma cells. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2015. – V. 72. – P. 1391–1401.
650. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by achemi-osmotic type of mechanism. // *Nature*. 1961. V. 191. P. 144–148.
651. Stuart J.A., Cadenas S., Jekabsons M.B., Roussel D., Brand M.D. Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2001. V. 1504. № 1. P. 144–158.
652. Rolfe D.F., Newman J.M., Buckingham J.A., Clark M.G., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. // *Am. J. Phys.* 1999. V. 276. P. C692–C699.
653. Nobes C.D., Brown G.C., Olive P.N., Brand M.D. Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 12903–12909.
654. Rolfe D.F., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. // *Am. J. Phys.* 1996. V. 271. P. C1380–C1389.
655. Hamanaka R.B., Chandel N.S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. // *Trends Biochem. Sci.* 2010. V. 35. P. 505–513.
656. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochem. J.* 2009. V. 417. P. 1–13.
657. Liu S.S. Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. // *Biosci. Rep.* 1997. V. 17. № 3. P. 259–272.

Глава V

Динитрозильные комплексы: синтез, структура, NO-донорная активность

По данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смерти во всем мире. В 2015 г. от ССЗ умерло 17,5 млн человек, что составило 31% от всех случаев смерти. Из этого числа 7,4 млн человек умерли от ишемической болезни сердца и 6,7 – в результате инсульта. Сердечно-сосудистые заболевания составляют 49% причин всех смертей населения Европы. Для России патология сердечно-сосудистой системы является крайне актуальной проблемой, поскольку определяет более половины случаев инвалидности и смертности взрослого населения [1-3]. Поэтому синтез новых потенциальных кардиологических препаратов и изучение их механизма действия является важной задачей.

5.1. Синтез катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее алифатическими производными

Синтетические динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) – нейтральные $[\text{Fe}(\text{NO})_2(\text{L}')_2]_0$, анионные $[\text{Fe}(\text{NO})_2(\text{L}'')_2]^-$ и катионные $[\text{Fe}(\text{NO})_2(\text{L}''')_2]^+$ – являются семействами соединений, обладающих разнообразной биологической (противопухоловой, антибактериальной, кардиопротекторной и др.) активностью и высоким потенциалом для биомедицинского применения [31, 658-666].

1. Сердечно-сосудистые заболевания. // Информационный бюллетень ВОЗ. 2015. № 317. P. 1–10
2. Collins D.R., Tompson A.C., Onakpoya I.J., Roberts N., Ward A.M., Heneghan C.J. Global cardiovascular risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease in adults: systematic review of systematic reviews. // *BMJ Open*. 2017. V. 7. № 3. e013650 doi: 10.1136/bmjopen-2016-013650
3. Global action plan for the prevention and control of NCDs. // WHO. 2013. 55.1-40.
31. Sanina N. A., Shmatko N. Yu, Korchagin D. V., Shilov G. V., Terent'ev A. A., Stupina T. S. et al. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *J. Coord. Chem*. 2016. V. 69. P. 812–825.
658. Lu T.-T., Wang Y.-M., Hung Ch.-H., Chiou Sh.-J., Liaw W.-F. Bioinorganic chemistry of the natural $[\text{Fe}(\text{NO})_2]$ motif: evolution of a functional model for NO-related biomedical application and revolutionary development of a translational model. // *Inorg. Chem*. 2018. V. 57(20). P. 12425–12443. doi: 10.1021/acs.inorgchem.8b01818.
659. Hsiao H.Y., Santos J.H., Chung C.W., Villaflores O.B., Lu T.T. Fe in biosynthesis, translocation, and signal transduction of NO: toward bioinorganic engineering of dinitrosyl iron complexes into NO-delivery scaffolds for tissue engineering. // *Dalton Trans*. 2019. V. 48. P. 9431–9453.
660. Lehnert N., Kim E., Dong H.T., Harland J.B., Hunt A.P., Manickas E.C., Oakley K.M., Pham J., Reed G.C., Alfaro V.S. The biologically relevant coordination chemistry of iron and nitric oxide: electronic structure and reactivity. // *Chem. Rev*. 2021. V. 121. № 24. P. 14682–14905. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00253.
661. Vanin A.F. Physico-chemistry of dinitrosyl iron complexes as a determinant of their biological activity. // *Int. J. Mol. Sci*. 2021. V. 22. № 19. P. 10356. doi: 10.3390/ijms221910356.
662. Truzzi D.R., Medeiros N.M., Augusto O., Ford P.C. Dinitrosyl iron complexes (DNICs). From spontaneous assembly to biological roles. // *Inorganic chemistry*. 2021. V. 60. № 21. P. 15835–15845. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.1c00823.
663. Sanina N.A., Kozub G.I., Zhukova O.S., Korchagin D.V., Kondrat'eva T.A., Morgunov R.B., Talantsev A.D., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V., Aldoshin S.M. New agent for nitric oxide (NO) chemotherapy: synthesis and properties of DNIC with hydrazinium cation in solid phase and solutions. // *J. Mol. Structure*. 2019. – V. 1181. – № 5. P. 321–328. doi: 10.1016/j.molstruc.2018.11.092.

Атом тетраэдрического железа в этих молекулах координирован двумя функциональными органическими (S-, N- или O-содержащими) лигандами и двумя NO группами, являющимися, ключевой сигнальной молекулой *in vivo*. Они являются синтетическими аналогами природных ДНКЖ – самых распространенных аддуктов монооксида азота [667] в клетках, обнаруженных еще в 1960-х годах у дрожжей и животных [668, 669], и менее токсичны, чем их ди- и тетрамеры. Электронная структура $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$ фрагмента с девятью электронами на d орбитали металла и π^* орбитали NO может быть описана как $\{\text{Fe}^{3+}(\text{NO}^-)_2\}^9$, $\{\text{Fe}^+(\text{NO}^\cdot)_2\}^9$ или $\{\text{Fe}^-(\text{NO}^+)_2\}^9$, согласно классификации Энемарка-Фелтема [670] (схема 1.).

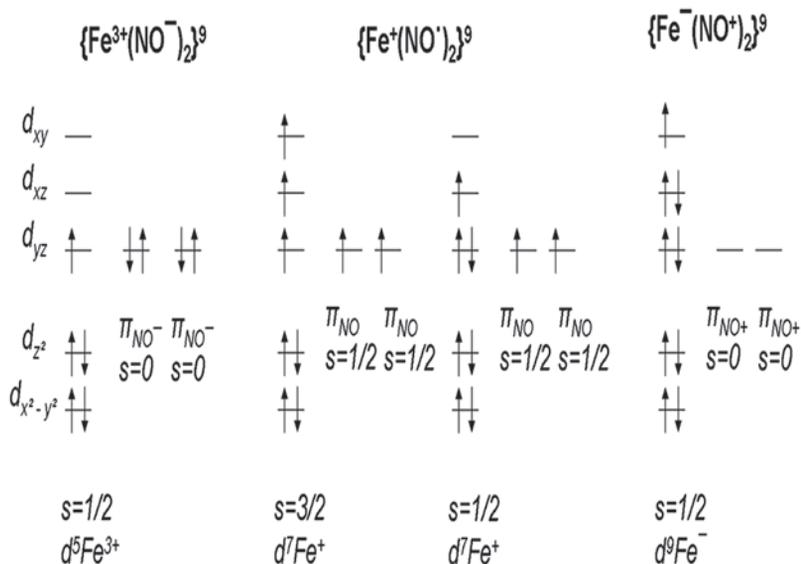


Схема 1. Структуры парамагнитного $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$ фрагмента ДНКЖ с серосодержащими лигандами

664. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes Bound with Hemoglobin on Oxidative Modification by Peroxynitrite. // Int J Mol Sci.-2021. – V. 22. № 24. – P. 13649. doi: 10.3390/ijms222413649.
665. Sanina N., Shmatko N., Stupina T., Balakina A., Terent'ev A. NO-donor iron nitrosyl complex with N-ethylthiourea ligand exhibits selective toxicity to glioma A172 Cells. // Molecules. 2017. V. 22. P. 1426. doi: 10.3390/molecules22091426.
666. Akentieva N.P., Sanina N.A., Prichodchenko T.R., Gizatullin A.R., Shkondina N.I., Shushanov S.S., Stupina T.S., Aldoshin S.M. Anticancer activity of dinitrosyl iron complex (NO donor) on the multiple myeloma cells. // Dokl. Biochem. Biophys. 2019. V. 486. № 1. P. 238–242. doi: 10.1134/S1607672919030190.
667. Hickok J.R., Sahni S., Shen H., Arvind A., Antoniou C., Fung L.W., Thomas D.D. Dinitrosyliron complexes are the most abundant nitric oxide-derived cellular adduct: biological parameters of assembly and disappearance. // Free Radical Biol. Med. 2011. V. 51. № 8. P. 1558–1566. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.030.
668. Mallard J.R., Kent M. Electron spin resonance in surviving rat tissues. // Nature. 1966. V. 210. № 5036. P. 588–591. doi: 10.1038/210588a0.
669. Vanin A.F., Nalbandyan R.M. Free radicals of a new type in yeast cells. // Biophysics (Oxf). 1965. V. 10. P. 167–168.
670. Enemark J.H., Feltham R.D. Principles of structure, bonding, and reactivity for metal nitrosyl complexes. // Coord. Chem. Rev.1974. V. 13. P. 339–406.

По данным РСА [671], окружение атома железа в нитрозильных комплексах железа имеет тетраэдрическую геометрию, что приводит к расщеплению d-орбиталей Fe на $(d_{xy}, d_{xz}, d_{yz}) > (d_{z^2}, d_{x^2-y^2})$. В случае первой структуры реализуется электронная конфигурация железа d^5 с $s=0$ на NO^- . Для $\{Fe^+(NO^-)_2\}^9$ суммарный спин, равный $1/2$, является результатом антиферромагнитного связывания спинов $3/2$ (высокоспиновое состояние) или $1/2$ (низкоспиновое состояние) на атоме Fe и спинов $1/2$ на NO лигандах. Отсутствие электронов на π^* орбитали NO^+ в структуре $\{Fe^-(NO^+)_2\}^9$ указывает на то, что все девять электронов локализованы на d-орбитали железа с $s=1/2$.

Синтетические нейтральные ДНКЖ [672-676] с конфигурацией $\{Fe(NO)_2\}^9$ были синтезированы либо с анионными бидентатными хелатами, либо с комбинацией анионных и нейтральных лигандов (рисунок 24).

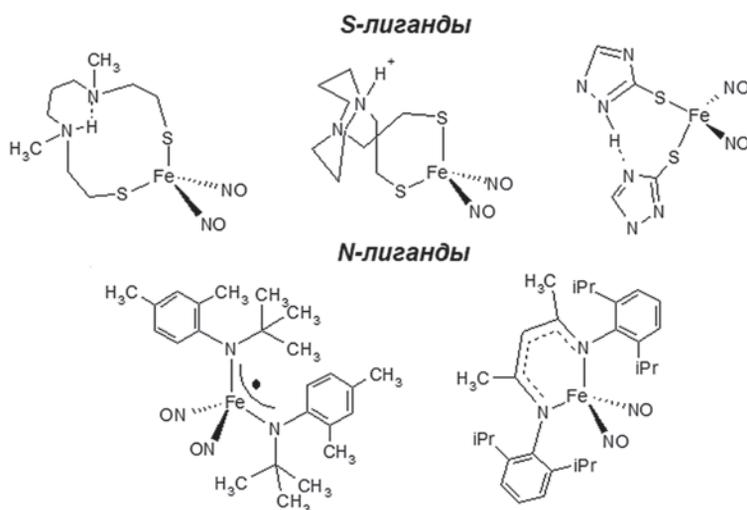


Рис. 24. Нейтральные $\{Fe(NO)_2\}^9$ ДНКЖ с S- и N-донорными лигандами

671. Санина Н.А., Алдошин С.М. Строение и свойства нитрозильных комплексов железа с функциональными серосодержащими лигандами. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2011. № 7. P. 1199–1227.
672. Chiang C.Y., Miller M.L., Reibenspies J.H., Darensbourg M.Y. Bismercaptoethanediazacyclooctane as a N2S2 Chelating Agent and Cys-X-Cys Mimic for Fe(NO) and Fe(NO)2. // Journal of the American Chemical Society. 2004. V. 126. № 35. P. 10867–10874.
673. Baltusis L.M., Karlin K.D., Rabinowitz H.N., Dewan J.C., Lippard S.J. Synthesis and structure of Fe(L'H)(NO)2, a tetracoordinate complex having a twelve-membered chelate ring, and its conversion to tetracoordinate FeL'(NO) through formal loss of "HNO" (L' = $SCH_2CH_2NMeCH_2CH_2CH_2NMeCH_2CH_2S$). // Inorganic Chemistry. 1980. V. 19. № 9. P. 2627–2632.
674. Sanina N.A., Rakova O.A., Aldoshin S.M., Shilov G.V., Shulga Y.M., Kulikov A.V., Ovanesyan N.S. Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione $[Fe(SC_2H_3N_3)(NO)_2] \cdot 0.5H_2O$. // Mendeleev Communications. 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.
675. Tsou C.-C., Tsai F.-T., Chen H.-Y., Hsu I.-J., Liaw W.-F. Insight into One-Electron Oxidation of the $\{Fe(NO)_2\}^9$ Dinitrosyl Iron Complex (DNIC): Aminyl Radical Stabilized by $[Fe(NO)_2]$ Motif. // Inorganic Chemistry. 2013. V. 52. № 3. P. 1631–1639.
676. Tonzetich Z.J., Do L.H., Lippard S.J. Dinitrosyl iron complexes relevant to Rieske cluster nitrosylation. // Journal of the American Chemical Society. 2009. V. 131. № 23. P. 7964–7965.

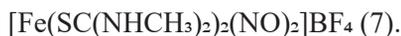
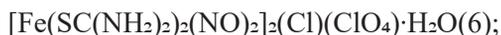
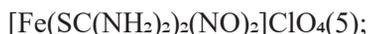
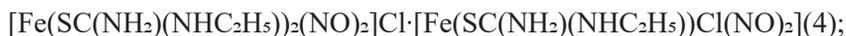
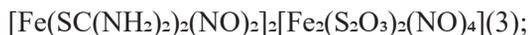
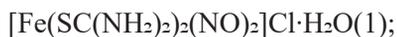
Лигандное замещение является общим способом получения нейтральных $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ ДНКЖ, при этом в качестве $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ прекурсора используется анион $[\text{X}_2\text{Fe}(\text{NO})_2]^-$ ($\text{X}=\text{галогены}$) [677], добавление к которому нейтрального лиганда или моноанионного хелата приводит к желаемому продукту. «Красные эфиры Руссена» также могут быть использованы для получения нейтральных $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ ДНКЖ [678, 679].

Нейтральные $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ ДНКЖ также могут быть получены также окислением анионных ДНКЖ с использованием FeCr^{2+} [680] или $[\text{NO}]\text{BF}_4$ [681] в качестве окислителей.

Первые анионные синтетические ДНКЖ состава $[\text{Fe}(\text{NO})_2(\text{L}')_2]^-$ были получены из водных растворов пропусканием газообразного NO через смесь сульфата железа (II) и соответствующего тиола в мольном соотношении 1:2 [682–685] или лиофилизированных композиций этих растворов с водорастворимыми полимерами [686]. Недостатком этих методов является отсутствие возможности контроля конечного состава продуктов реакции, что ограничивает практическое их применение. Позже были разработаны различные методы синтеза анионных ДНКЖ, содержащих три разных типа координированных лигандов: с S-, N- и O-донорными группами. Оригинальные методики синтеза, а также структура и свойства всех известных анионных ДНКЖ представлены в работе [687]. Анионные ДНКЖ малоста-

-
677. Connelly N.G., Gardner C. Simple halogenonitrosyl anions of iron. // *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 1976. № 16. P. 1525–1527.
678. Tsai M.-L., Liaw W.-F. Neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ dinitrosyliron complex (DNIC) $[(\text{SC}_6\text{H}_4\text{-o-HCOPh})(\text{Im})\text{Fe}(\text{NO})_2]^-$ (Im = imidazole): interconversion among the anionic/neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ DNICs and Roussin's red ester. // *Inorganic Chemistry*. 2006. V. 45. № 17. P. 6583–6585.
679. Hung M.-C., Tsai M.-C., Lee G.-H., Liaw W.-F. Transformation and structural discrimination between the neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ dinitrosyliron complexes (DNICs) and the anionic/cationic $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^{\pm}$ DNICs. // *Inorganic Chemistry*. 2006. V. 45. № 15. P. 6041–6047.
680. Tsou C.-C., Tsai F.-T., Chen H.-Y., Hsu I.-J., Liaw W.-F. Insight into One-Electron Oxidation of the $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ Dinitrosyl Iron Complex (DNIC): Aminyl Radical Stabilized by $[\text{Fe}(\text{NO})_2]^-$ Motif. // *Inorganic Chemistry*. 2013. V. 52. № 3. P. 1631–1639.
681. Hess J. L., Hsieh C. H., Reibenspies J. H., Darensbourg M. Y. N-Heterocyclic Carbene Ligands as Mimics of Imidazoles / Histidine for the Stabilization of Di- and Trinitrosyl Iron Complexes. // *Inorganic Chemistry*. 2011. V. 50. № 17. P. 8541–8552.
682. Mulsch A., Mordvincev P., Vanin A.F., Busse R. The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron (II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiols. // *FEBS Lett*. 1991. V. 294. № 3. P. 252–256.
683. Vanin A.F., Stukan R.A., Manukhina E.B. Dimeric and monomeric forms of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands: physico-chemical properties and vasodilator activity. // *Biofizika*. 1997. V. 42(1). P. 10–21.
684. Vanin A.F., Serezhnikov V.A., Mikoyan V.D., Genkin M.V. The 2.03 signal as an indicator of dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands. // *Nitric Oxide*. 1998. V. 2. № 4. P. 224–234.
685. Kleschyov A.L., Strand S., Schmitt S., Gottfried D., Skatchkov M., Sjakste N., Daiber A., Umansky V., Munzel T. Dinitrosyl-iron triggers apoptosis in Jurkat cells despite overexpression of Bcl-2. // *Free Radical Biol. Med*. 2006. V. 40. P. 1340–1348.
686. Vanin A.F., Lozinskii V.I., Kapel'ko V.I. Polymer composition for obtaining a stabilized form of the dinitrosyl iron complex and a method for producing the specified form of the complex. // *Patent RU No*. 2005. 2291880.
687. Sanina N.A., Kozub G. I., Kondrat'eva T.A., Korchagin D.V., Shilov G.V., Morgunov R.B., Ovanesyana N.S., Kulikov A.V., Stupina T.S., Terent'ev A.A., Aldoshin S.M. Anionic dinitrosyl iron complexes – new nitric oxide donors with selective toxicity to human glioblastoma cells. // *Journal of Molecular Structure*. 2022. V. 1266. P. 133506.

бильны, особенно в растворах, что создает проблемы, связанные с их кристаллизацией и изучением их структуры и свойств, включая фармакологические эффекты. Катионные ДНКЖ известны с O- [688] и N-донорными лигандами [689-691]. Комплексы $[\text{Fe}(\text{NO})_2(\text{L}''')_2]^+$ с S-лигандами, в частности с тиомочевинами, как представители семейства катионных ДНКЖ были впервые синтезированы в ФИЦ ПХФ и МХ РАН:



Эти соединения отличаются от нейтральных, анионных и катионных ДНКЖ с O- и N-лигандами хорошей растворимостью в воде, а следовательно, и более высокой биодоступностью.

Структура молекулы тиомочевины (ТМ) может быть представлена резонансными формами: тиамидной формой и цвиттер-ионной тиаимидной формой, несущей отрицательный заряд на атоме серы и положительный на атомах азота амидинового фрагмента (схема 2.). Выполненный по программе NBO 6.0 [692] анализ NRT показал, что вклады этих резонансных структур практически сравнимы за небольшим перевесом основной тионной формы 1 (40.2%). Суммарный вклад равновероятных структур 2a (26.5%) и 2b (26.5%) превышает вклад основной тионной формы 1, что говорит о существовании молекулы тиомочевины в газовой фазе преимущественно в цвиттер-ионной форме. Аналогичная ситуация наблюдается и для производных тиомочевины, N,N/-диметилтиомочевины и N-этилтиомочевины, для которых предпочтительна цвиттер-ионная форма с делокализованным положительным зарядом.

-
688. Atkinson F.L., Blackwell H.E., Brown N.C., Connelly N.G., Crossley J.G., Orpen A.G., Rieger A.L., Rieger P.H. Synthesis of the 17-electron cations $[\text{FeL}(\text{L}')(\text{NO})_2]^+$ (L, L' = PPh₃, OPh₃): structure and bonding in four-co-ordinate metal dinitrosyls, and implications for the identity of paramagnetic iron dinitrosyl complex catalysts. // *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 1996. № 17. P. 3491–3502.
689. Shih W.-C., Lu T.-T., Yang L.-B., Tsai F.-T., Chiang M.-H., Lee J.-F., Chiang Y.-W., Liaw W.-F. New members of a class of dinitrosyliron complexes (DNICs): the characteristic EPR signal of the six-coordinate and five-coordinate $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$ DNICs. // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2012. V. 113. P. 83–93.
690. Jo D.-H., Chiou Y.-M., Que L. Models for Extradial Cleaving Catechol Dioxygenases: Syntheses, Structures, and Reactivities of Iron (II)–Monoanionic Catecholate Complexes. // *Inorganic Chemistry*. 2001. V. 40. № 13. P. 3181–3190.
691. Reginato N., McCrory C. T. C., Pervitsky D., Li L. Synthesis, X-ray Crystal Structure, and Solution Behavior of $\text{Fe}(\text{NO})_2(1\text{-MeIm})_2$: Implications for Nitrosyl Non-Heme-Iron Complexes with $g = 2.03$. // *Journal of the American Chemical Society*. 1999. V. 121. № 43. P. 10217–10218.
692. NBO 6.0. Glendening E.D., Badenhoop J.K., Reed A.E., Carpenter J.E., Bohmann J.A., Morales C.M., Landis C.R., and Weinhold F. // *Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin. Madison. WI*. 2013. <http://nbo6.chem.wisc.edu/>

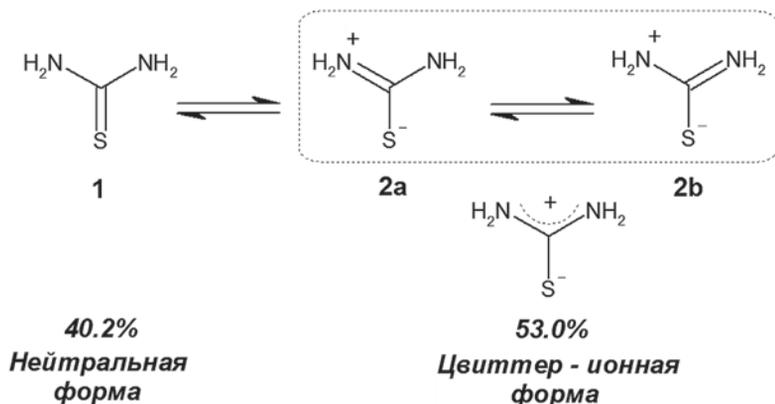


Схема 2. Тиоамидная 1 и тиоимидные 2a, 2b формы тиомочевины

В кислых растворах (НА) лигандов атом серы, являясь сильным нуклеофильным центром, протонируется с образованием соли тиомочевины (схема 3.), которая и принимает участие в образовании катионных ДНКЖ.

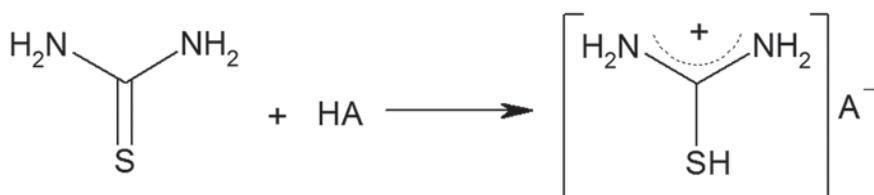


Схема 3. Образование солевой формы тиомочевины

Реакция нитрозилирования раствора соли железа (II) и сильной кислоты с одинаковыми кислотными остатками приводит к образованию ДНКЖ с соответствующим противоионом (схема 4.). Согласно данной схеме, были получены комплексы $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1) – из водной смеси хлорида железа и соляной кислоты и $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{ClO}_4$ (5) – из перхлората железа и хлорной кислоты.

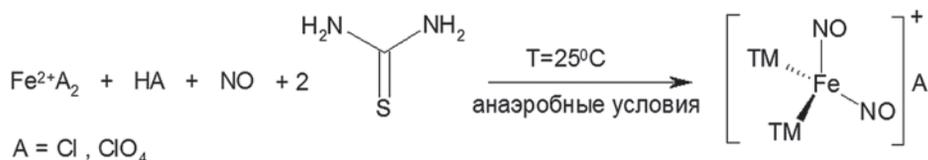


Схема 4. Схема синтеза ДНКЖ 1 и 5

Нитрозилирование раствора соли железа (II) и лиганда с анионами сильных кислот и близкими значениями констант диссоциации, как например в случае перхлората железа и соляной кислоты с $p_{\text{KHClO}_4} = -10$ и $p_{\text{KHCl}} = -8$, приводит к формированию ДНКЖ $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]_2(\text{Cl})(\text{ClO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ (6) с одновременно двумя различными противоионами в структуре. В случае нитрозилирования смеси реагентов сульфата железа и соляной кислоты, несмотря на то что $p_{\text{KHCl}} < p_{\text{KH}_2\text{SO}_4}$ ($p_{\text{KH}_2\text{SO}_4} = -3$), удалось получить комплекс $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2) путем использования в реакции стехиометрического недостатка HCl.

В ходе получения катионных ДНКЖ прямым нитрозилированием двухвалентное железо восстанавливается до Fe^{+1} . Такое превращение может происходить, если предположить, что связывание двух NO лигандов с ионом железа приводит к их диспропорционированию, то есть взаимному одноэлектронному окислению и восстановлению друг друга, соответственно с переходом одной молекулы NO в ион нитрозония NO^+ , а другой – в ион нитроксила NO^- . Согласно представлениям [693], в ходе реакции происходит цепочка превращений и сложный перенос электронов с NO групп. Предполагаемый механизм реакции представлен на схеме 5. В процессе восстановления NO^+ лигандов до NO может участвовать молекула тиомочевины, которая, как известно, обладает слабыми восстановительными свойствами.

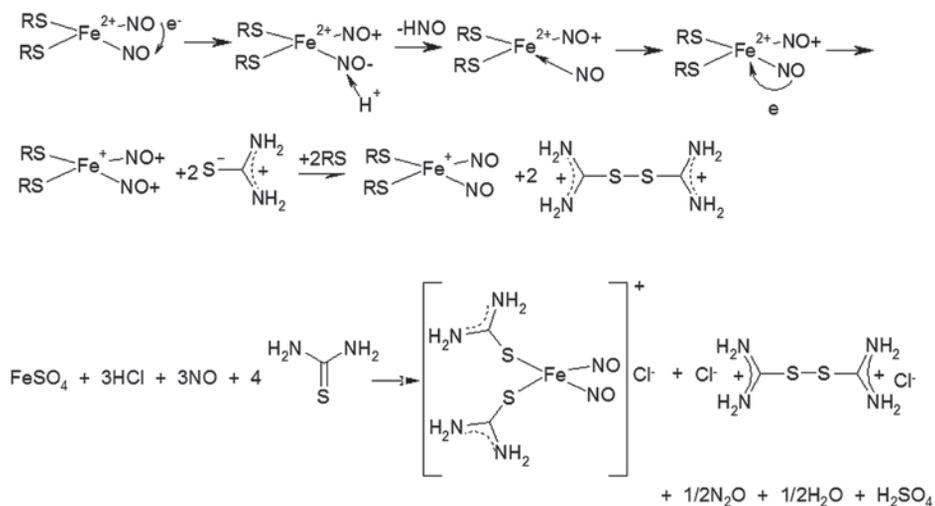


Схема 5. Предполагаемый механизм образования катионных ДНКЖ. Адаптировано из Шматко Н.Ю., 2017 [694]

693. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. // Монография. Издательство М.– Ижевск: Институт компьютерных исследований. 2019. С. 220. ISBN:978-5-4344-0761-8

694. Шматко Н.Ю. Катионные динитрозильные комплексы железа с тиомочевинной и ее производными – новые доноры оксида азота, кандидатская диссертация по химии. 2017. С. 158.

Альтернативным прямому нитрозилированию способом синтеза катионных ДНКЖ является получение комплексов восстановлением тетранитрозильного комплекса железа (ТНКЖ) с тиосульфатными лигандами состава $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в водном растворе до динитрозильного трианиона [695, 696] и последующим замещением тиосульфатных лигандов на тиомочевинные.

В случае сильного избытка соляной кислоты в реакционной смеси формируются кристаллы комплекса 1. При умеренном подкислении только часть ТНКЖ переходит в моноядерный катион, а другая часть компенсирует положительный заряд, выступая в качестве противоиона, в конечном итоге приводит к образованию ДНКЖ смешанного типа, который представляет собой соль $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2][\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$ (3) – соединение, содержащее в своем составе восемь нитрозильных групп (схема 6).

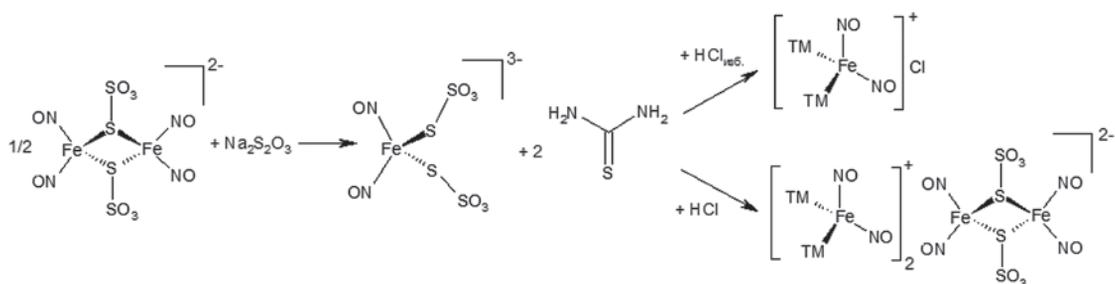


Схема 6. Схема синтеза ДНКЖ 3

Введение алкильных заместителей в молекулу тиомочевины уменьшает ее полярность, тем самым ухудшая ее растворимость в воде. Так как оригинальная методика получения катионных ДНКЖ заключается в нитрозилировании водной смеси кислого раствора лиганда, то для полного перевода N,N' -диметилтиомочевины в солевую форму и выделения комплекса $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NHCH}_3)_2)_2(\text{NO})_2]\text{BF}_4$ (7) требуется значительный избыток кислоты. В реакции нитрозилирования смеси соли железа и кислого раствора N -этилтиомочевины (ЭТМ) образуется сокристалл двух динитрозильных комплексов, первый из которых представляет собой катионный ДНКЖ с хлорид-анионом,

695. Rakova O.A., Sanina N.A., Shilov G.V., Strelets V.V., Borzova I.B., Kulikov A.V., Aldoshin S.M. $[\text{Bu}_4\text{N}]_2[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$: Synthesis, Structure, Redox Properties, and EPR Study. // Russ. J. Coord. Chem. 2001. V. 27. P. 657–663.

696. Vasil'eva S.V., Sanina N.A., Moshkovskaya E.Y., Rudneva T.N., Kulikov A.V., Aldoshin S.M. Formation of Dinitrosyl Iron Complex Is a Necessary Step in the Realization of the $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Genetic Activity. // Dokl. Biol. Sci. 2005. V. 402. P. 230–232.

а второй – нейтральный комплекс с функциональным и хлор-лигандом одновременно (схема 7).

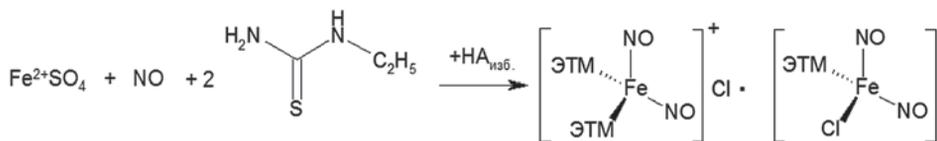


Схема 7. Схема синтеза ДНКЖ 4

Как уже было сказано выше, предлагаемые методики получения катионных ДНКЖ – либо прямым нитрозированием, либо лигандным замещением тиосульфатных лигандов в ТНКЖ – позволяют получать комплексы в виде монокристаллов, пригодных для рентгеноструктурного анализа.

Кристаллы комплексов стабильны при хранении в инертной атмосфере при $T = -8^\circ\text{C}$ в течение длительного времени, о чем свидетельствуют ИК-спектры многократно тестированных образцов. Комплексы 1-7 хорошо растворимы в воде и других полярных растворителях.

5.2. Молекулярное и кристаллическое строение катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными

Молекулярное и кристаллическое строение катионных ДНКЖ 1-7 с тиомочевинной и ее производными детально исследованы в работах [604, 697- 701].

Основные кристаллографические данные катионных ДНКЖ представлены в таблице 7.

-
604. Шматко Н.Ю., Корчагин Д.В., Шилов Г.В., Санина Н.А., Алдошин С.М. Молекулярная и кристаллическая структура катионного динитрозильного комплекса железа с 1,3-диметилтиомочевинной. // Журнал структурной химии. 2017. Т. 58. № 2. С. 398–400.
697. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V. Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // Inorganic Chemistry Communications. 2014. V. 49. P. 44–47.
698. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Knyazkina E.V., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V. Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$. // New Journal of Chemistry. 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
699. Sanina N. A., Shmatko N. Y., Korchagin D. V., Shilov G. V., Terent'ev A. A., Stupina T. S., Balakina A. A., Komleva N. V., Ovanesyan N. S., Kulikov A. V., Aldoshin S. M. A new member of the cationic dinitrosyl iron complexes family incorporating N-ethylthiourea is effective against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // Journal of Coordination Chemistry. 2016. V. 69. № 5. P. 812–825.
700. Tung C.Y., Tseng Y.T., Lu T.T., Liaw W.F. Insight into the Electronic Structure of Biomimetic Dinitrosyliron Complexes (DNICs): Toward the Syntheses of Amido-Bridging Dinuclear DNICs. // Inorg Chem. – 2021. – V. 60. – №21. – P.15846–15873. doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c00566.
701. Davidovich P.B., Gurzhii V.V., Sanina N.A., Shchukarev A.V., Garabadzhiu A.V., Belyaev A.N. Synthesis and structure of dinitrosyl iron complexes with secondary thiolate bridging ligands $[\text{Fe}_2(\mu\text{-SCHR}_2)_2(\text{NO})_4]$, R = Me, Ph // Polyhedron. 2015. V. 90. P.197–201.

Таблица 7
Основные кристаллографические данные катионных ДНКЖ 1-7

| Параметры | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| сингония | триклинная | орторомбическая | триклинная | орторомбическая | триклинная | триклинная | орторомбическая |
| Пространственная группа | P-1 | Pbca | P-1 | Pca21 | P-1 | P-1 | Pbca |
| a, Å | 6.1592(3) | 12.6104(2) | 6.2712(3) | 8.7740(2) | 7.6314(5) | 6.1466(2) | 8.0487(6) |
| b, Å | 7.7762(3) | 10.3501(2) | 10.4132(5) | 22.4840(6) | 8.7834(6) | 12.5670(3) | 24.1945(16) |
| c, Å | 13.7972(6) | 37.1231(8) | 12.1912(5) | 26.963(1) | 10.3275(7) | 16.0142(4) | 34.542(5) |
| α , ° | 103.857(4) | 90.0 | 86.462(4) | 90.0 | 99.717(6) | 90.170(2) | 90.00 |
| β , ° | 92.350(4) | 90.0 | 88.363(4) | 90.0 | 106.112(6) | 97.180(2) | 90.00 |
| γ , ° | 108.216(4) | 90.0 | 87.613(4) | 90.0 | 103.347(6) | 94.446(2) | 90.00 |
| V, Å ³ | 604.61(5) | 4845.3(2) | 793.65(6) | 5319.1(3) | 626.70(7) | 1223.50(6) | 6726.5(11) |
| Z | 2 | 8 | 1 | 8 | 2 | 2 | 8 |
| ρ выч., г/см ³ | 1.766 | 1.752 | 2.076 | 1.536 | 1.948 | 1.871 | 1.624 |
| μ /мм-1 | 1.812 | 1.685 | 2.399 | 1.561 | 1.779 | 1.806 | 1.196 |
| диапазон θ , ° | 2.86-33.30 | 3.03-34.00 | 3.25-36.09 | 2.91-29.07 | 2.91-29.07 | 3.02-39.04 | 2.90 – 26.32 |
| количество отражений | 8180 | 77356 | 13522 | 51841 | 5541 | 30864 | 17576 |
| R1 (wR2) [I>2 σ (I)] | 0.0235, 0.0462 | 0.0583, 0.0908 | 0.0415, 0.0787 | 0.0587, 0.1407 | 0.0273, 0.0634 | 0.0338, 0.0671 | 0.0536, 0.0791 |
| R1 (wR2) | 0.0307, 0.0482 | 0.0725, 0.0945 | 0.0622, 0.0787 | 0.0704, 0.1484 | 0.0321, 0.0668 | 0.0495, 0.0731 | 0.1062, 0.0949 |

Таблица 8
Значения основных длин связей и углов катионных ДНКЖ 1-7

| Длины связей (d/Å) и значения углов (ω /°) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--|----------------------|--|----------------------|--|----------------------|--|--|
| Fe-N | 1.688(1) 1.684(1) | 1.684(2) 1.695(2) 1.688(2) 1.689(2) | 1.688(2) 1.689(2) | 1.695(5) 1.686(5) 1.686(5) 1.686(5) | 1.686(2) 1.685(2) | 1.688(2) 1.685(1) 1.686(1) 1.685(2) | 1.678(4) 1.686(4) 1.684(4) 1.682(4) |

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

| Длины связей (d/Å) и значения углов (ω/°) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|--|--|--|--|--|--|--|
| N-O | 1.168(1) 1.165(1) | 1.165(3) 1.169(3) 1.162(3) 1.168(3) | 1.163(2) 1.175(2) | 1.157(7) 1.165(8) 1.163(7) 1.152(6) | 1.170(2) 1.167(2) | 1.167(2) 1.164(1) 1.159(1) 1.166(2) | 1.176(4) 1.161(4) 1.169(4) 1.166(4) |
| Fe-S | 2.3337(3) 2.3225(3) | 2.2907(7) 2.3250(7) 2.2997(7) 2.3228(7) | 2.3130(5) 2.3353(6) | 2.321(1) 2.307(2) 2.311(1) | 2.316(1) 2.317(1) | 2.3276(9) 2.3194(7) 2.2976(7) 2.3317(9) | 2.3338(14) 2.2991(12) 2.3236(13) 2.3041(13) |
| S-C | 1.748(1) 1.742(1) | 1.739(2) 1.737(2) 1.736(2) 1.732(2) | 1.755(2) 1.729(2) | 1.736(3) 1.748(3) 1.729(3) | 1.748(2) 1.725(2) | 1.723(1) 1.752(1) 1.738(1) 1.733(1) | 1.729(4) 1.730(4) 1.724(4) 1.753(4) |
| N-C | 1.321(2) 1.320(2) 1.320(1) 1.317(1) | 1.304(3) 1.299(3) 1.320(3) 1.321(3) 1.321(3) 1.317(3) 1.309(3) 1.312(3) | 1.321(2) 1.311(2) 1.323(2) 1.324(2) | 1.322(3) 1.315(3) 1.303(3) 1.329(3) 1.318(3) 1.330(3) | 1.312(2) 1.316(2) 1.317(2) 1.312(2) | 1.321(2) 1.324(2) 1.315(2) 1.315(2) 1.319(2) 1.322(2) 1.317(2) 1.328(2) | 1.325(5) 1.311(5) 1.320(5) 1.329(4) 1.324(5) 1.330(5) 1.310(5) 1.322(4) |
| Fe-N-O | 164.92(9) 170.22(9) | 168.9(2) 164.9(2) 172.7(3) 170.3(2) | 170.1(2) 162.5(2) | 165.3(5) 161.9(8) 169.4(5) 168.3(6) | 164.5(1) 171.3(1) | 161.3(1) 168.1(1) 167.0(1) 167.7(1) | 165.8(4) 167.1(4) 165.3(3) 168.4(3) |
| N-Fe-N | 115.13(5) | 117.7(1) 120.3(1) | 114.18(9) | 116.0(2) 109.9(3) | 114.90(8) | 113.07(6) 115.36(7) | 113.89(18) 115.50(16) |
| S-Fe-S | 110.22(1) | 108.83(3) 111.17(3) | 109.42(2) | 109.6(6) | 106.20(3) | 111.65(1) 114.21(2) | 102.30(5) 112.65(4) |

По данным рентгеноструктурного анализа (РСА), независимая часть структуры комплекса 1 представлена одним динитрозильным катионом с тиомочевинной в качестве функционального серосодержащего лиганда, хлорид-анионом и сольватной молекулой воды (рисунок 25А). В комплексе 1 атом железа, координированный двумя молекулами тиомочевины и двумя NO группами, имеет искаженно-тетраэдрическую геометрию. Лиганды SC(NH₂)₂ имеют плоское строение и находятся в *син*-ориентации относительно друг друга под углами 82.1° и 84.7° к плоскости S(1)FeS(2). При этом плоскости лигандов непараллельные, а угол между ними составляет 34.5°. Длины связей нитрозильных групп ДНКЖ 1 отличаются незначительно и составляют Fe(1)-N(1) 1.688(1) и Fe(1)-N(2) 1.684(1), N(1)-O(1) 1.168(1) и N(2)-O(2) 1.165(1) Å, в то время как величины углов при атомах азота нитрозильных групп имеют более существенные различия (164.92(9) и 170.22(9)°) (таблица 8). Строение лигандов также незначительно отличается, что, по всей видимости, как и в случае нитрозильных групп, является следствием различного участия лигандов тиомочевины в межмолекулярных вза-

имодействиях. Основным типом межмолекулярных взаимодействий, наблюдаемых в кристаллической структуре 1, являются межмолекулярные водородные связи между имидными группами тиомочевины катионного ДНКЖ и атомами кислорода сольватной молекулы воды, а также межмолекулярные водородные связи между атомами кислорода сольватной молекулы воды и хлорид-анионами (рисунок 25Б).

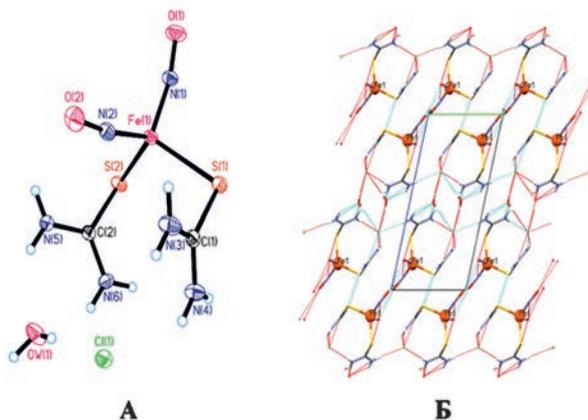


Рис. 25. Молекулярная структура комплекса 1 (А) и проекция фрагмента кристаллической упаковки 1 на кристаллическую плоскость *bc*; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

Комплекс 2 содержит в своем составе два катиона (2-1 и 2-2) (обозначены в соответствии с нумерацией атомов Fe на рисунке 26А) с тиомочевинными лигандами, однако в качестве противоиона в комплексе 2 выступает двухзарядный сульфат-анион. В структуру комплекса также входит молекула воды ($O(w1)$) с заселенностью позиции ~ 0.43 . Атомы железа в катионах 2-1 и 2-2 координированы двумя лигандами $SC(NH_2)_2$ и двумя NO группами. Лиганды тиомочевины имеют плоское строение и находятся в транс-ориентации относительно друг друга под углами 75.1° , 57.0° и 65.7° , 54.9° к плоскостям $S(1)Fe(1)S(2)$ и $S(3)Fe(2)S(4)$, соответственно. Длины связей S-C лежат в интервале $1.732(2)$ - $1.739(2)\text{\AA}$ (таблица 8), что соответствует длине одинарной C-S связи, которая превосходит длину двойной $S=C$ связи (1.684\AA). Кроме того, среднее значение длин связей C-N в лигандах катионов 2-1 и 2-2 составляет $1.313(3)\text{\AA}$ (по сравнению с длиной одинарной C-N связи 1.43 (ароматич.)- 1.48\AA (алкил.), что явно указывает на преимущественный цвиттер-ионный характер в целом нейтрального лиганда тиомочевины, как это было установлено с помощью NRT анализа. Длины связей нитрозильных групп в ДНКЖ 2-1 и 2-2 отличаются незначительно, и средние значения длин связей Fe-N и N-O составляют $1.689(2)$ и $1.166(3)\text{\AA}$, соответственно. В то же время валентные углы при атомах азота нитрозильных групп различаются гораздо существеннее (на 4.0° в катионе 2-1 и на 2.4° в катионе 2-2, что находится за пределами ошибок определения). Кристаллическая структура комплекса 2 имеет большое количество межмолекулярных водородных связей, образующих

непрерывную сеть, с участием аминогрупп тиомочевинных лигандов катионного ДНКЖ и атомов кислорода сульфат-анионов. Также структура характеризуется укороченными S··S контактами, которые образуют цепь из молекул катионных комплексов ДНКЖ (рисунок 26Б).

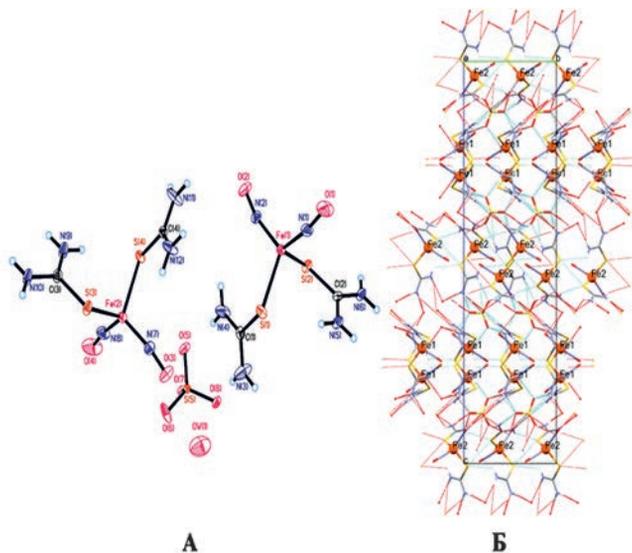


Рисунок 26. Молекулярная структура комплекса 2 (А) и фрагмент кристаллической структуры 2; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

Комплекс 3 является первым соединением, молекула которого содержит одновременно два различных структурных типа сера-нитрозильных комплексов железа (рисунок 27А): катионы моноядерного динитрозила железа с тиомочевинными лигандами и анион биядерного тетранитрозильного комплекса железа с тиосульфатными лигандами « μ -S» типа. В элементарной ячейке на один centrosymmetric анион $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$ приходится два катиона $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$, симметрично связанных друг с другом через центр инверсии. Строение анионного комплекса аналогично ранее изученным в комплексах $\text{Q}2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$, $\text{Q}=\text{Na}^+$, Me_4N^+ , $n\text{-Bu}_4\text{N}^+$, $(\text{PPh})_4\text{N}^+$, поэтому основное внимание в описании результатов РСА будет уделено анализу молекулярной структуры катиона с тиомочевинной и кристаллической структуры соединения 3 в целом. Длины связей в нитрозильных группах, координированных к атому Fe(2), практически одинаковы и равны тем же связям в структуре 2, в то время как значения углов при атомах азота существенно различаются. Величина угла O(4)-N(4)-Fe(2) близка к среднему значению аналогичных углов в комплексе 2 (170.1(2)), в то время как другой угол, O(3)-N(3)-Fe(2), существенно отклоняется от линейного, 162.5(2)°, и разница в значениях углов составляет 7.6(2)° (таблица 8). Эта разница согласуется с увеличением длины связи N(3)-O(3) до 1.175(2) Å. Эта особенность геометрической структуры N(3)O(3) нитрозильной группы может быть связана со слабыми внутримолекулярными водородными связями N7-H7B···N3: $d(\text{N7}\cdots\text{N3})=3.17$ Å, $d(\text{H7B}\cdots\text{N3})=2.39$

Å, угол N7-H7B...N3 равен 151.0°. Лиганды SC(NH₂)₂ являются плоскими и антиориентированными под углами 84.3° и 86.8° относительно S(3)Fe(2) S(4) схожим образом, как и в комплексе 2. При этом плоскости лигандов непараллельны, а угол между ними составляет 9.7°. Практически на такую же величину отличаются углы C(1)-S(3)-Fe(2) 99.0° и C(2)-S(4)-Fe(2) 108.1°. Строение самих лигандов в пределах ошибки одинаково. Кроме того, было показано, что кристаллическая структура влияет не только на молекулярную конформацию обоих катионов [Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂]⁺, но также и на структуру тиомочевинных лигандов. Структура одного лиганда в 3 схожа с такими же лигандами в соединении 2, тогда как в структуре другого наблюдается изменение длин связей S(3)-C(1) и N(6)-C(1). По-видимому, это связано с сильными межмолекулярными водородными связями с участием N(6)...O(5) 2.86 Å, N(6)...O(6) 2.88 Å. Это согласуется с удлинением всех S-O расстояний в тиосульфатных лигандах анионного комплекса (1.446(1)-1.466(2) Å) по сравнению со средним значением длины связи S-O для комплексов такого типа (1.43(1)Å). Другие атомы азота в молекуле тиомочевины не участвуют в таких сокращенных межмолекулярных контактах. Межмолекулярные водородные связи в кристаллической структуре комплекса 3 образуют непрерывную сеть с участием аминогрупп тиомочевинных лигандов катионного ДНКЖ и атомов кислорода тиосульфатных лигандов в биядерном тетранитрозильном анионе (рисунок 27Б). Также как в комплексе 2 кристаллическая структура 3 характеризуется укороченными S...S контактами между молекулами катионов, которые образуют димер.

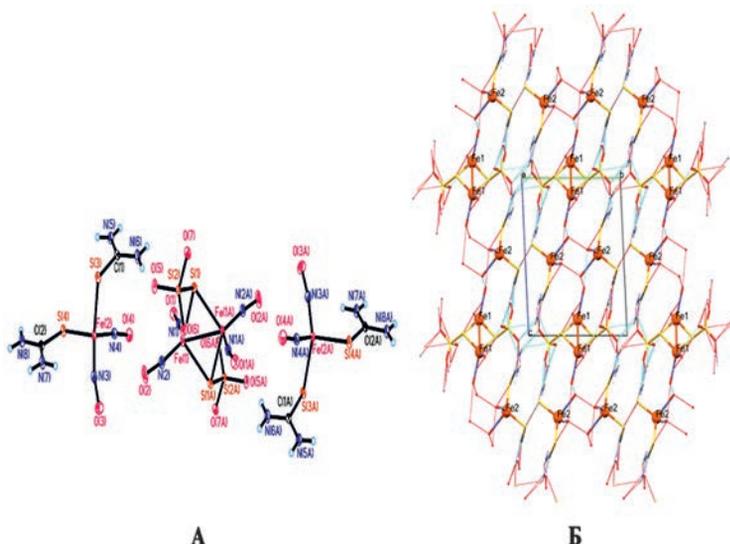


Рис. 27. Молекулярная структура комплекса 3 (А) и фрагмент кристаллической структуры 3; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

По данным РСА, независимая часть структуры комплекса 4 представляет собой два динитрозильных катиона, два хлорид-противоиона, а также два нейтральных хлорсодержащих ДНКЖ (рисунок 28А). Таким образом, комплекс 4 является сокристаллом катионного и нейтрального ДНКЖ. Структура $\text{Fe}(\text{NO})_2$ фрагментов хорошо согласуется с имеющимися данными о нейтральных и катионных ДНКЖ. Длины связей Fe-N и N-O в $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}$ фрагменте комплекса 4 лежат в диапазоне 1.684(5)-1.699(5) и 1.140(6)-1.168(6) Å, соответственно, с сопоставимыми значениями длин связей в нейтральных и катионных комплексах. Тем не менее значения углов Fe-N-O в нейтральном хлорсодержащем ДНКЖ находятся в диапазоне 160.7(7)-165.3(5)°, в то время как в катионных ДНКЖ они лежат в интервале 168.3(6)-169.4(5)°. Различия в углах Fe-N-O в пределах нейтрального комплекса намного сильнее, чем в катионном. Очевидно, что все эти структурные особенности обусловлены действием хлорид-лиганда, входящего в координационную сферу нейтрального ДНКЖ. По данным квантово-химических расчетов, различия в значениях углов Fe-N-O также наблюдаются в структуре изолированно катионного и нейтрального хлорсодержащего ДНКЖ. Следует отметить, что длины связей, полученные с помощью квантово-химических расчетов, хорошо согласуются с данными рентгеноструктурного анализа.

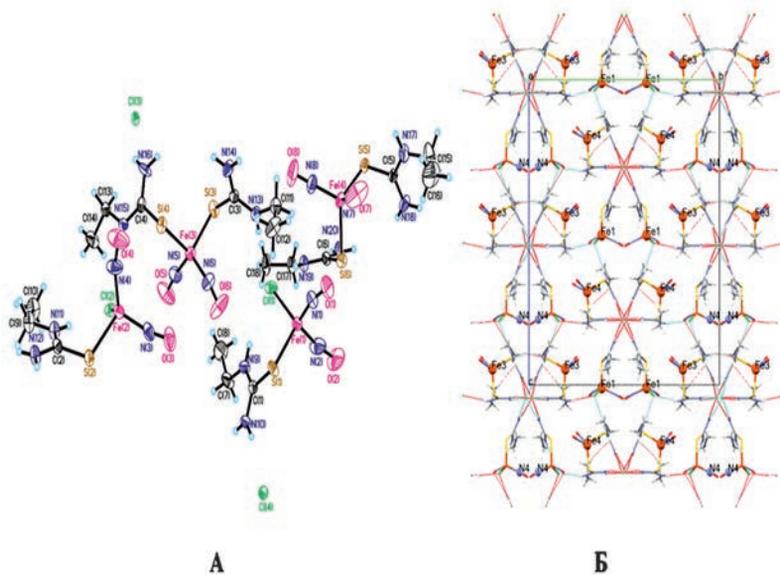


Рисунок 28. Молекулярная структура комплекса 4 (А) и фрагмент кристаллической структуры 4; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

Комплекс 5 содержит в своем составе такой же динитрозильный катион с лигандами тиомочевины, как и комплекс 1, однако в ДНКЖ 5 хлорид-ион заменен на перхлорат-анион (рисунок 29А). Атом железа в катионном комплексе 5 координирован двумя молекулами тиомочевины и двумя NO группами. Тиомочевинные лиганды имеют плоское строение и, в отличие

от комплекса 1, антиориентированы по отношению друг к другу с углами, равными 78.3° и 84.0° относительно плоскости $S(1)Fe(1)S(2)$. Угол между плоскостями лигандов составляет 20.1° . Длины связей в двух нитрозильных группах катиона ДНКЖ 5 различаются незначительно, а средние значения длин связей Fe-N и N-O составляют $1.686(2)$ и $1.168(3)$ Å, соответственно. Значения углов Fe-N-O в 5 различаются на 6.8° , что также, как и в случае комплекса 1, можно объяснить образованием межмолекулярных водородных связей, формирующих непрерывные 3D сетки (рисунок 29Б), с участием аминогрупп тиомочевинных лигандов катионных ДНКЖ и перхлорат-анионов.

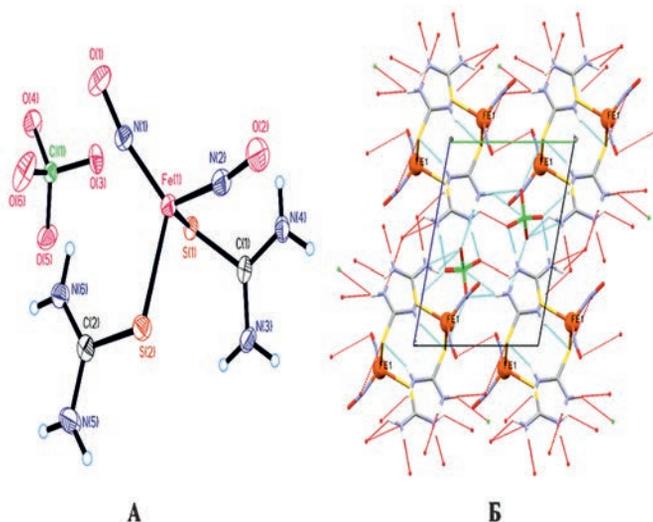


Рис.29. Молекулярная структура 5 (А) и проекция фрагмента кристаллической упаковки 5 на кристаллографическую плоскость bc ; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

Независимая часть структуры 6 представлена двумя динитрозильными катионами 6-1 и 6-2 (обозначены в соответствии с нумерацией атомов Fe на рисунке 30А) с тиомочевинными лиганда, перхлорат и хлорид-анионами одновременно и молекулой воды ($ow1$). Атомы железа в каждом из катионов 6-1 и 6-2 координированы двумя молекулами лиганда и двумя NO группами. Также как в комплексах 1 и 5 атом железа в 6 находится в искаженно-тетраэдрическом окружении. В 6-1 и 6-2 тиомочевинные лиганды являются плоскими и одинаково антиориентированы друг относительно друга с углами 85.9° , 79.6° , 84.6° , 89.7° к плоскостям $S(1)Fe(1)S(2)$ и $S(3)Fe(2)S(4)$, соответственно. Средние значения длин связей Fe-N и N-O в 6 такое же, как в комплексе 5. Следует отметить, что углы Fe-N-O существенно различаются в катионе 6-1 ($\sim 6,8^\circ$), чем в 6-2 ($\sim 0.7^\circ$). Кристаллическая структура комплекса 6 представлена межмолекулярными водородными связями между аминогруппами тиомочевинных лигандов

катионных ДНКЖ, перхлорат и хлорид-анионами и молекулами растворителя (рисунок 30Б).

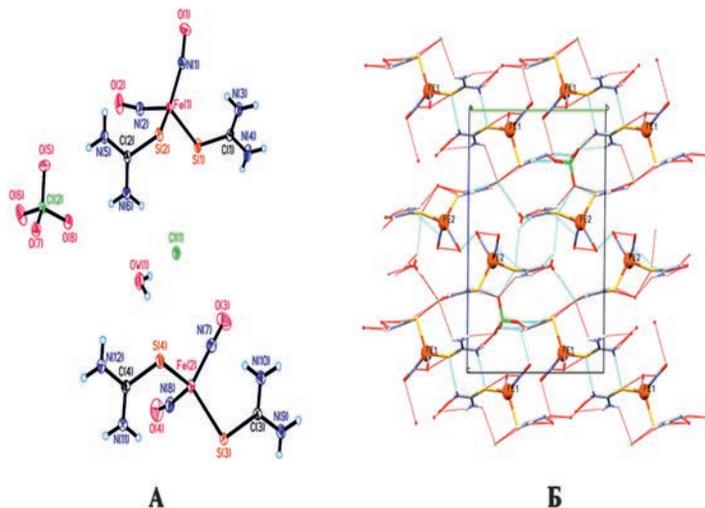


Рис. 30. Молекулярная структура 6 (А) и проекция фрагмента кристаллической упаковки 6 на кристаллографическую плоскость bc ; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

По данным рентгеноструктурного анализа, независимая часть структуры комплекса 7 представлена двумя химически эквивалентными динитрозильными катионами с N,N -диметилтиомочевинными лигандами и двумя тетрафторборатными противоионами (рисунок 31А). В каждом катионе 7-1 и 7-2 комплекса (катионы обозначены в соответствии с нумерацией атома Fe на рисунке 32А) атом железа, координированный двумя молекулами N,N -диметилтиомочевины и двумя NO группами, имеет искаженно-тетраэдрическую геометрию. Разница между 7-1 и 7-2 заключается в ориентации тиомочевинных лигандов: для одного катиона плоскости лигандов практически параллельны относительно друг друга (угол между ними составляет 13.8°), а для другого катиона – перпендикулярны с углом между плоскостями 85.0° . Лиганды $SC(NHCH_3)_2$ находятся в антиориентации относительно друг друга под углами 50.3° и 62.9° к плоскости $S(1)Fe(1)S(2)$ в 7-1, 56.4° и 81.9° к плоскости $S(3)Fe(2)S(4)$ в 7-2. Согласно PCA в структуре комплекса 7, лиганды N,N -диметилтиомочевины находятся в транс-цис конформации.

Длины связей нитрозильных групп различаются незначительно и составляют $N(1)-O(1)$ 1.172, $N(2)-O(2)$ 1.164, $N(3)-O(3)$ 1.171 и $N(4)-O(4)$ 1.163 Å, аналогично величины углов $Fe-N-O$ различаются несущественно, $\Delta(Fe-N-O) \sim 3.05^\circ$ (таблица 8). Динитрозильные катионы вносят различный вклад в формирование кристаллической структуры комплекса 7, так для 7-1 характерно наличие ван-дер-ваальсовых контактов между атомами $S(1) \cdots S(1)$ 3.336 Å в соседних катионах, а для 7-2 – $O(4) \cdots H(12A)$ 3.027 Å, в которых участвует лишь одна NO группа из четырех. Кроме этого, кристаллическая структу-

ра комплекса 7 стабилизирована межмолекулярными водородными связями между имидными, алкильными группами лиганда и тетрафторборатными анионами (рисунок 31Б).

Для всех синтезированных катионных сера-нитрозильных комплексов

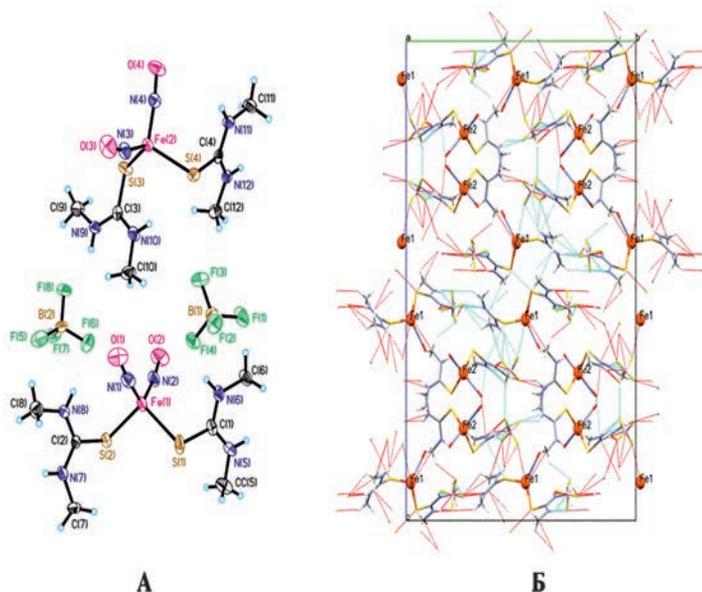


Рис. 31. Молекулярная структура 7 (А) и фрагмент кристаллической структуры 7; пунктиром показаны межмолекулярные водородные связи (Б)

железа с тиомочевинной и ее производными характерны определенные структурные особенности. Так, например, длины связей S-C в 1-7 находятся в диапазоне 1.723(1)-1.755(2) Å, что соответствует длине одинарной C-S связи, которая превосходит длину двойной S=C связи (1.684 Å) [702].

Данный факт в сочетании с укороченными длинами связей C-N_{ср.}=1.318(2) Å (по сравнению с длиной одинарной C-N связи 1.43-1.48 Å) в лигандах хорошо согласуется с результатами NRT анализа, показавшего преимущественный цвиттер-ионный характер молекулы тиомочевины или ее алифатических производных. Анализ длин связей в катионных комплексах показал, что длины связей Fe-N, также как и N-O, незначительно различаются в пределах одного комплекса, в соединениях 1-7 длины связей Fe-N лежат в интервале 1.682(2)-1.695(2) Å, в N-O – 1.152(6)-1.176(4) Å (таблица 8). В то же время значения углов Fe-N-O в катионных ДНКЖ различаются гораздо существенно: в среднем разница между значениями углов Fe-N-O в катионах 1-7 составляет ~ 5.0°, что находится за пределами ошибок определения. По всей

702. Allen F.H., Kennard O., Watson D.G., Brammer L., Orpen A.G., Taylor R. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. // Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2. 1987. № 12. P. S1-S19.

видимости, это может быть следствием различного участия NO лигандов в межмолекулярных взаимодействиях. В катионных комплексах не было обнаружено закономерностей в ориентации и положении функциональных лигандов, например, комплекс 1 син-ориентирован, тогда как все остальные ДНКЖ демонстрируют анти-ориентацию лигандов, также отличается и угол между плоскостями лигандов во всех катионных ДНКЖ. Приняв во внимание относительную ориентацию лигандов в этом типе железо-серных нитрозильных комплексов, можно отметить существенную свободу вращения тиомочевины и ее производных вокруг S-C-связи. Анализ молекулярных и кристаллических структур катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными показал, что замена противоиона и лиганда не приводит к существенным изменениям в структуре комплексов 1-7.

Данные РСА, полученные для этого нового подсемейства ДНКЖ, позволяют изучить электронную структуру динитрозильного фрагмента $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$, которая в последнее время активно обсуждается с целью понимания спинового состояния железа [703-706] и исследования поведения этих комплексов в магнитном поле при рассмотрении их не только как NO доноров в терапии социально значимых заболеваний, но и как новых объектов для разработки многоспиновых систем для магнитотерапии, молекулярной электроники и квантовых расчетов [707]. Например, в работе [708] впервые сделано предположение о возможности образования надмолекулярного синтона за счет межмолекулярных взаимодействий NO...NO и образования потенциального канала переноса заряда в комплексах, содержащих $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$ -динитрозильный фрагмент. Природа NO...NO может быть объяснена с помощью различных моделей [709]. Например, взаимодействия O...O могут быть взаимодействиями σ -дырок, где взаимодействие происходит вдоль связи N–O по направлению к стороне O другой связи N–O [710]. В работе [711] проведено

-
703. Shestakov A.F., Shul'ga Y.M., Emel'yanova N.S., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Molecular and electronic structure and IR spectra of mononuclear dinitrosyl iron complex $\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2$: a theoretical study. // *Russ. Chem. Bull.* 2007. V. 56. P. 1289–1297. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0197-7>.
 704. Brothers S.M., Darensbourg M.Y., Hall M.B. Modeling structures and vibrational frequencies for dinitrosyl iron complexes (DNICs) with density functional theory. // *Inorg. Chem.* 2011. V. 50. P. 8532–8540. <https://doi.org/10.1021/ic201137t>.
 705. Lu T.T., Lai S.H., Li Y.W., Hsu I.J., Jang L.Y., Lee J.F., Chen I.C., Liaw W.F. Discrimination of mononuclear and dinuclear dinitrosyl iron complexes (DNICs) by S K-edge X-ray absorption spectroscopy: insight into the electronic structure and reactivity of DNICs. // *Inorg. Chem.* 2011. V. 50. P. 5396–5406. <https://doi.org/10.1021/ic102108b>.
 706. Sandala G.M., Hopmann K.H., Ghosh A., Noodleman L. Calibration of DFT functionals for the prediction of Fe Mössbauer spectral parameters in iron-nitrosyl and iron-sulfur complexes: accurate geometries prove essential. // *J. Chem. Theory Comput.* 2011. V. 7. P. 3232–3247. <https://doi.org/10.1021/ct200187d>.
 707. Aldoshin S.M., Fel'dman E.B., Yurishchev M.A. Quantum entanglement and quantum discord in magnetoactive materials. // *Low Temp. Phys.* 2014. V. 40. P. 5–21. <https://doi.org/10.1063/1.4862469>.
 708. Lyssenko K.A., Ananyev I.V., Aldoshin S.M., Sanina N.A. Features of chemical bonding within the $\text{Fe}(\text{NO})_2$ fragment for crystalline bis (thiosulfate) tetranitrosyl diiron tetramethylammonium salt as an example according to high-resolution X-ray diffraction data. // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. P. 2351–2360. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-1163-4>.
 709. Clark T., Murray J.S., Politzer P. A perspective on quantum mechanics and chemical concepts in describing noncovalent interactions. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. V. 20. P. 30076–30082. <https://doi.org/10.1039/c8cp06786d>.
 710. Politzer P., Murray J.S., Clark T., Resnati G. The σ -hole revisited. // *Phys Chem. Chem. Phys.* 2017. V. 19. P. 32166–32178. <https://doi.org/10.1039/C7CP06793C>.

теоретическое моделирование ДНКЖ 1-6 с использованием квантово-химических методов QТАИМ и NBO, целью которого было изучение возможности образования надмолекулярного синтона NO...NO в их кристаллических структурах для объяснения необычных магнитных свойств, полученных для этих соединений [712]. Показано, что такие взаимодействия являются либо стэкинговыми, либо Т-подобными взаимодействиями в зависимости от взаимного положения нитрозильных лигандов и энергетически соответствуют связям Ван-дер-Ваальса. В их формировании участвуют в основном LP(O), π (NO) и π^* (NO)-орбитали в различных сочетаниях, а π (FeN), π (FeO) и LP(N)-орбитали практически не участвуют. Участие орбиталей связи NO приводит к тушению орбитального момента NO-групп. Если NO-группы изолировать от межмолекулярных взаимодействий, они могут сохранить непогашенным орбитальный момент.

5.3. ИК-спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными

Для нейтральных и анионных [1Fe-2S] ДНКЖ, согласно литературным данным, наблюдается существенное различие в положении полос поглощения валентных колебаний NO групп: для анионных ДНКЖ с S-донорными лигандами ν_{NO} находится в интервале значений 1766-1680 см^{-1} , а для нейтральных ДНКЖ – 1807-1695 см^{-1} . При этом для комплексов обоих структурных типов, содержащих в своем составе ароматические тиолы, характерен сдвиг полос поглощения колебаний NO лигандов в область больших значений частот. Как известно, на ИК-спектрах положение ν_{NO} коррелирует с длинами связей N-O. Например, для анионных комплексов средняя длина связи N-O составляет 1.189 Å, для нейтральных комплексов – 1.176 Å (таблица 9).

Таблица 9

Спектроскопические параметры и средние значения основных длин связей ДНКЖ с серосодержащими лигандами

| ДНКЖ | ν_{NO} , см^{-1} | N-Оср., Å | Fe-Nср., Å | Fe-Sср., Å | δFe , мм/с | ΔEQ , мм/с | g-фактор |
|------|-------------------------------|-----------|----------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------|----------|
| 1 | 1807 1744 | 1.166(1) | 1.686(1) 2.328(3) | 0.194(1) 1.167(1) | 2.038 | 2.012 | |
| 2 | 1808 1748 1734 | 1.166(3) | 1.689(2) | 2.310(7) | 0.184(1) | 1.165(1) | 2.035 |

711. Aldoshin S.M., Bozhenko K.V., Utenyshev A.N., Sanina N.A., Emel'yanova N.S. Formation of supramolecular synthons in the crystalline structure of the dinitrosyl iron complexes with aliphatic thiourea ligands. // Journal of molecular modeling. 2020. V. 26. № 11. P. 330.

712. Aldoshin S.M., Morgunov R.B., Paliĭ A.V., Shmatko N.Y., Sanina N.A. Study of magnetic behavior of salts of cationic dinitrosyl iron complexes with thiocarbamide and its derivatives. // Appl. Magn. Reson. 2015. V. 46. P. 1383–1393. <https://doi.org/10.1007/s00723-015-0689-9>.

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

| ДНКЖ | ν_{NO} , см ⁻¹ | N-Оср., Å | Fe-Нср., Å | Fe-Scр., Å | δFe , мм/с | ΔEQ , мм/с | g-фактор |
|------|-------------------------------|-----------|------------|------------|----------------------|----------------------|----------------|
| 3 | 1822 1798 1756 1732 | 1.169(2) | 1.688(2) | 2.324(6) | 0.219(1) | 1.08(2) | 2.039 2.016 |
| 4* | 1796 1737 1724 | 1.159(7) | 1.688(5) | 2.313(1) | 0.308(1) 0.326(1) | 1.031(3) 1.230(3) | 2.026 |
| 5 | 1811 1747 | 1.168(2) | 1.686(2) | 2.316(1) | 0.191(1) | 1.118(1) | 2.037 2.000 |
| 6 | 1806 1745 | 1.164(2) | 1.686(2) | 2.319(7) | 0.193(2) | 1.134(3) | 2.022 2.000 |
| 7 | 1798 1727 | 1.168(4) | 1.682(4) | 2.315(15) | 0.203(1) | 1.037(2) | 2.036 |

Примечание. Параметры Мессбауэровского спектра приведены при T=85K

Структура NO группы близка к нейтральной форме NO[•] радикала. Заряд на NO группах практически равен нулю (-0.2-0.3e) (тип B, схема 8), атом железа имеет высокоспинную d⁷ Fe⁺¹ конфигурацию с сильным внутри-молекулярным обменным взаимодействием с NO радикалами, что приводит к спариванию двух из трех Fe⁺¹ неспаренных электронов. В зависимости от электронной структуры {Fe-NO} фрагмента и природы функционального серосодержащего лиганда часто смещение полос поглощения NO групп в ИК-спектрах экспериментально наблюдается при больших значениях ν_{NO} (тип A) или меньших (тип C). Данный факт согласуется с изменением длин связей в NO группах.

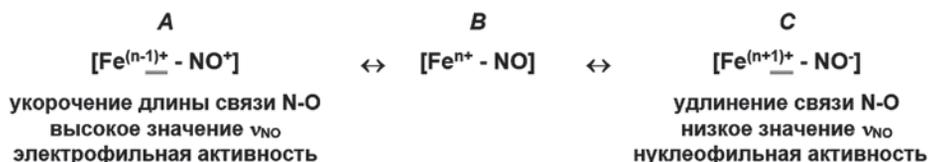


Схема 8. Влияние распределения электронной плотности в {Fe-NO} фрагменте на физико-химические свойства нитрозильных комплексов

Так, как синтезированные комплексы 1, 2, 5 и 6 содержат в составе одинаковый динитрозильный фрагмент $[Fe(SC(NH_2)_2)_2(NO)_2]x^+$, то на ИК-спектрах этих соединений присутствуют схожие полосы поглощения в близком диапазоне длин волн. Так, для ИК-спектров комплексов 1, 2, 5 и 6 характерны валентные колебания связей N-H (3500-3100 см⁻¹), N-O (1810-1730 см⁻¹), C-N (1450-1350 см⁻¹) и деформационные колебания связей N-H (1700-1600 см⁻¹) (рисунок 33.). На ИК-спектрах комплексов 5 и 6 в интервале длине волн 1100-1050 см⁻¹ присутствует широкая полоса поглощения колебаний связей в перхлорат-анионе. К тому же в спектре комплекса 5 эта полоса гораздо интенсивнее, чем в спектре 6, который, кроме ClO₄⁻, содержит противоион Cl⁻. На ИК-спектре ДНКЖ 2 интенсивная полоса поглощения в диапазоне

1150-1050 cm^{-1} отвечает за колебания связей в сульфат-анионе (рисунок 33). Экспериментальные ИК-спектры катионных ДНКЖ 1, 2, 5 и 6 хорошо соотносятся с расчетными спектрами, полученными после оптимизации геометрии катиона $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ с помощью гибридного функционала V3LYP и базисного набора 6-31G* (рисунок 32). Однако стоит заметить, что в более коротковолновой области ИК диапазона расчетный спектр сильнее сдвинут относительно экспериментального в область больших значений, и разница положений полос поглощения валентных колебаний N-H в этих спектрах составляет $(\nu_{\text{N-H}}(\text{эксп}) - \nu_{\text{N-H}}(\text{расч})) \sim 280 \text{ cm}^{-1}$. Данный сдвиг может быть обусловлен образованием водородных связей с участием аминогрупп тиомочевинных лигандов катиона ДНКЖ, что согласуется с результатами рентгеноструктурного анализа. Для комплексов 1, 2, 5 и 6 близки между собой оказались экспериментальные значения ν_{NO} , так в ИК-спектрах идентифицированы синфазные колебания NO группы ($\nu_{\text{NO-сим}}$) на $\sim 1808 \text{ cm}^{-1}$, а антифазные ($\nu_{\text{NO-асим}}$) на $\sim 1746 \text{ cm}^{-1}$, при этом разница $\nu_{\text{NO-сим}}$ и $\nu_{\text{NO-асим}}$ составляет $\sim 60 \text{ cm}^{-1}$. Данный параметр, $\Delta\nu_{\text{NO}}$, как ранее было замечено авторами [713], является эффективным инструментом для определения типа

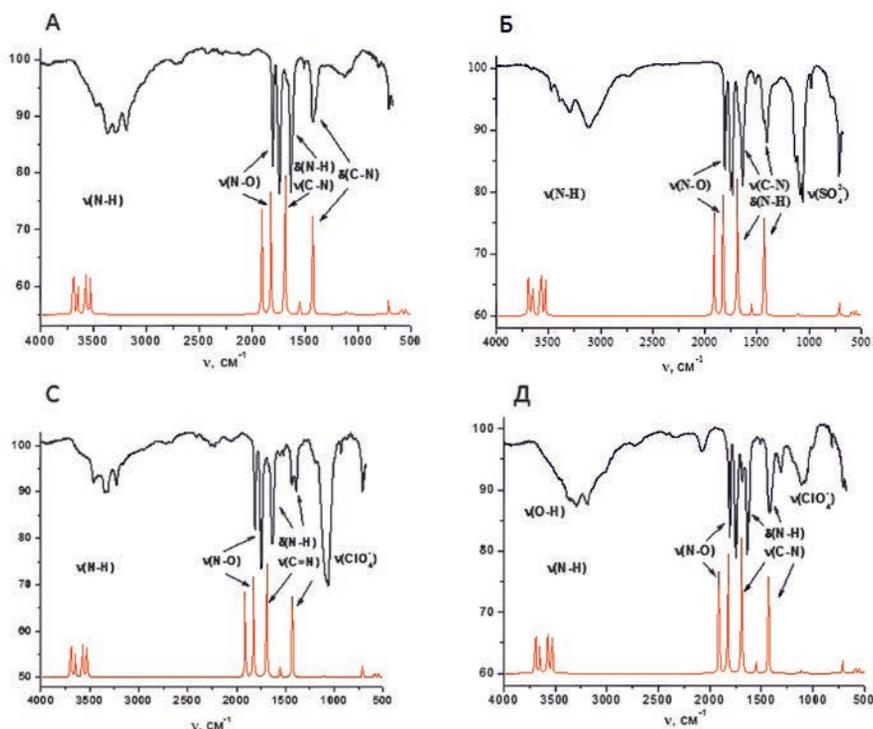


Рис. 32. Экспериментальная (черная кривая) и расчетная (красная кривая) ИК-спектров катионных ДНКЖ с тиомочевинной 1 (А), 2 (Б), 5 (С) и 6 (Д)

713. Hung M.-C., Tsai M.-C., Lee G.-H., Liaw W.-F. Transformation and structural discrimination between the neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}_{10}$ dinitrosyliron complexes (DNICs) and the anionic/cationic $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}_9$ DNICs. // Inorganic Chemistry. 2006. V. 45. № 15. P. 6041–6047.

ДНКЖ. Так, например, для ЭПР-активных катионных $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^9$ комплексов $\Delta\nu_{\text{NO}}$ составляет $\sim 65 \text{ см}^{-1}$, что находится в хорошем соответствии со спектральными данными для 1, 2, 5 и 6.

Для ИК-спектра комплекса 3 характерны не только валентные колебания связей N-H ($3500\text{-}3100 \text{ см}^{-1}$), N-O ($1820\text{-}1730 \text{ см}^{-1}$), C-N ($1450\text{-}1350 \text{ см}^{-1}$) и деформационные колебания связей N-H ($1670\text{-}1630 \text{ см}^{-1}$) катиона, как в случае 1, 2, 5 и 6, но и валентные колебания нитрозильных групп ($1770\text{-}1730 \text{ см}^{-1}$) и тиосульфатных лигандов ($1220\text{-}1000 \text{ см}^{-1}$) биядерного аниона $[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^-$ (рисунок 33). На расчетных ИК-спектрах хорошо видно перекрывание полос поглощения NO групп катионного и анионного фрагментов, что в экспериментальном ИК-спектре дает четыре интенсивные хорошо разрешенные полосы NO.

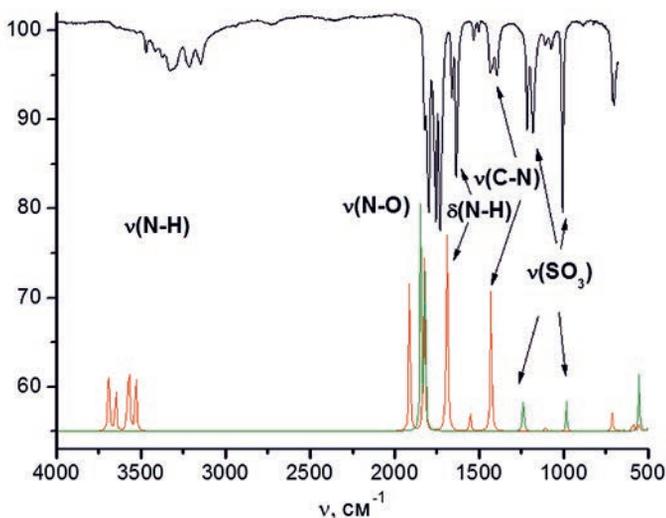


Рис. 33. Экспериментальная (черная кривая) и расчетная (красная кривая – катионная, зеленая кривая – анионная часть комплекса) ИК-спектры ДНКЖ с тиомочевинной 3

Для катионных ДНКЖ с алифатическими производными тиомочевинны характерен небольшой сдвиг ($\sim 15 \text{ см}^{-1}$) в область меньших значений частот колебаний NO групп ИК-спектра по сравнению с динитрозильными комплексами с незамещенной тиомочевинной. В ИК-спектре комплекса 4 присутствуют валентные колебания связей N-H ($3300\text{-}3100 \text{ см}^{-1}$), N-O ($1800\text{-}1710 \text{ см}^{-1}$), C-N ($1450\text{-}1280 \text{ см}^{-1}$) и деформационные колебания связей N-H ($1640\text{-}1500 \text{ см}^{-1}$). В экспериментальном ИК-спектре сложно отделить колебания ν_{NO} комплекса 4, хотя в расчетном спектре хорошо видны четыре отдельные полосы, ответственные за $\nu_{\text{NO}}\text{-сим}$ и $\nu_{\text{NO}}\text{-асим}$ колебания катионного ДНКЖ и нейтрального фрагмента (рисунок 34). Как уже было сказано выше, небольшой сдвиг ν_{NO} на $\sim 15 \text{ см}^{-1}$ обусловлен эффектом электронодонорных заместителей в тиомочевинных лигандах катионного ДНКЖ. Согласно классификации Круза и Шеппарда, влияние единичного положительного заряда на атоме металла приводит к увеличению ν_{NO} на $\sim 100 \text{ см}^{-1}$, поэтому можно предположить, что поло-

сы ν_{NO} нейтрального фрагмента ДНКЖ 4 находятся в интервале 1700-1650 см^{-1} . Электроноакцепторное влияние галогенов как терминальных лигандов приводит к увеличению ν_{NO} в среднем на 30 см^{-1} [714], что в конечном итоге на ИК-спектре дает полосы валентных колебаний нитрозильных групп нейтрального фрагмента комплекса 4 на 1736, 1723 см^{-1} .

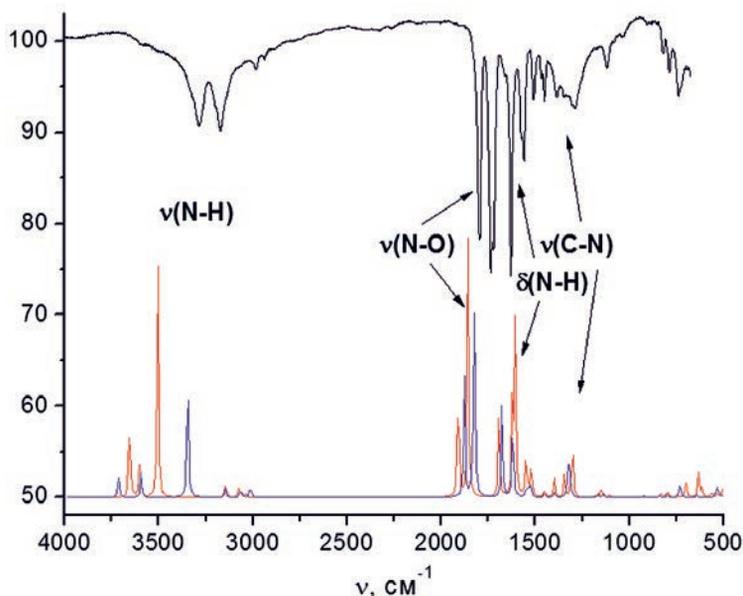


Рис. 34. Экспериментальный (черная кривая) и расчетные (красная кривая – катионная часть, синяя кривая – нейтральный фрагмент комплекса) ИК-спектры катионного ДНКЖ с N-этилтиоимочевиной 4

Для ДНКЖ предельным углом N-Fe-N является 180° в *транс* и 90° в *цис*-ориентации. ИК-активными в *транс*-положении являются только колебания в противофазе (ν_{NO} -асим), приводящие к увеличению дипольного момента молекулы, тогда как ν_{NO} -сим колебания являются только КР-активными. В *цис*-положении оба колебания ИК и КР-активны, поэтому ожидается уменьшение интенсивности ν_{NO} -сим полосы поглощения по мере увеличения угла между двумя NO группами от 90° до 180° . Таким образом, ν_{NO} -сим колебания наблюдаются при большей длине волны, чем ν_{NO} -асим колебания. Проведенный Крузом и Шеппардом анализ колебательных спектров большого количества динитрозильных комплексов металлов переходного ряда [714] показал, что разница между парными колебаниями для комплексов с N-M-N углами, равными 80° - 100° (*цис*-ориентация), составляет ~ 140 - 80 см^{-1} ,

714. De La Cruz C., Sheppard N. A structure-based analysis of the vibrational spectra of nitrosyl ligands in transition-metal coordination complexes and clusters. // Spectrochim. Acta A Mol. and Biomol. Spectrosc. 2011. V. 78. № 1. P. 7–28.

а для комплексов с N-M-N углами, находящимися в интервале 100° - 130° (*транс*-ориентация), – ~ 70 - 20 см^{-1} . В катионных ДНКЖ 1-7 углы N-Fe-N, среднее значение которых равно 115.5° , находятся в транс-ориентации, а $\Delta\nu_{\text{NO}}$ составляет $\sim 64 \text{ см}^{-1}$, что хорошо согласуется с вышеизложенным представлением. По данным ИК-спектроскопии, положение полос валентных колебаний NO групп катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее алифатическими производными смещены в область больших значений частот, так для них ν_{NO} находится в интервале 1822 - 1724 см^{-1} . Сдвиг в область больших значений частот колебаний NO групп указывает на увеличение положительного заряда на NO, то есть более высокую электрофильную активность и нитрозирующую способность по сравнению с нейтральными и анионными ДНКЖ. С увеличением электронного заряда {Fe-NO} мотива вклад π связывания увеличивается, наряду с усилением Fe-N и ослаблением N-O связи. Когда заряд уменьшается, порядок связи Fe-N уменьшается, а порядок связи N-O увеличивается до 3 в предельном случае. Следовательно, положение ν_{NO} на ИК-спектрах коррелирует с длинами NO связи: средняя длина N-O связи в катионных ДНКЖ 1-7 составляет 1.165 \AA . Для сравнения, в анионных ДНКЖ средняя длина N-O связи – 1.189 \AA , в то время как в нейтральных ДНКЖ – 1.176 \AA .

5.4. Мессбауэровская спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными

Мессбауэровская (ЯГР) спектроскопия является важным экспериментальным методом исследования в бионеорганической химии, так как обладает чрезвычайно высокой разрешающей способностью и может детектировать едва уловимые изменения в ядерном окружении изучаемого атома. Основные параметры Мессбауэровского спектра – изомерный (химический) сдвиг и квадрупольное расщепление – дают информацию о спиновом и окислительном состоянии исследуемого атома, основываясь на химическом анализе влияния окружения на взаимодействие ядер. Изомерный сдвиг (δ) отражает ковалентность связи металл-лиганд, а также окислительное и спиновое состояние Мессбауэр-активного атома. Величина δ зависит от эффектов электронного экранирования и изменения длин связей, так изомерный сдвиг пропорционален s -электронной плотности на ядре, которая, в свою очередь, зависит от экранирования d -электронами. Квадрупольное расщепление, ΔE_Q , дает информацию о взаимодействии между уровнями энергии ядер и градиента окружающего электрического поля. Ядра с несферическим распределением заряда, то есть с орбитальным квантовым числом (I) больше $1/2$, дают асимметрическое электрическое поле, которое приводит к расщеплению энергетических уровней ядер. Параметр ΔE_Q очень чувствителен к изменениям заселенности и геометрии молекулярных орбиталей Мессбауэр-активного атома [715].

715. Lewandowska H. Spectroscopic Characterization of Nitrosyl Complexes. // Ed. by D.M.P. Mingos. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 2014. P. 115–165.

Параметры ^{57}Fe Мессбауэровского спектра поликристаллов комплексов 1-7 при комнатной температуре представлены в таблице 9. Мессбауэровский спектр комплексов 6 и 2, содержащих по два динитрозильных катиона в структуре, представляет собой одиночный дублет, что указывает на структурную эквивалентность двух атомов железа в каждом ДНКЖ (рисунок 35). Спектр ЯГР комплекса 3 представляет собой двойной симметричный квадрупольный дублет с параметрами $\delta_{\text{Fe}} = 0.219(1)$, $\Delta E_{\text{Q}} = 1.08(2)$, $\Gamma = 0.250(1)$ мм/с для катионной части комплекса 3 и $\delta_{\text{Fe}} = 0.115(1)$, $\Delta E_{\text{Q}} = 1.33(1)$, $\Gamma = 0.230(1)$ мм/с для анионной части $[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^-$ (рисунок 35). Эти параметры близки к таковым для серии ранее изученных биядерных тиосульфатных комплексов [716].

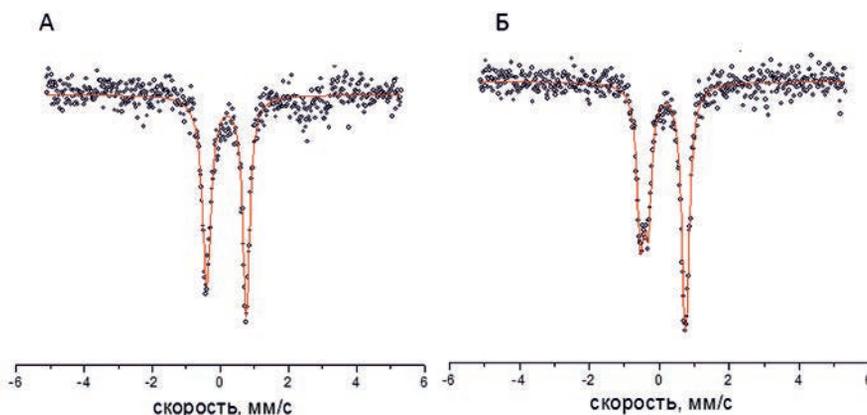


Рис. 35. ^{57}Fe Мессбауэровские спектры комплексов 2 (А) и 3 (Б) при 293 К (экспериментальные данные – черные точки, обработанный спектр – красная линия)

Отношение интенсивностей спектральных компонентов составляет 1:1, что находится в соответствии с данными РСА. Близкие значения изомерных сдвигов для ДНКЖ с тиомочевинной 1, 3, 5 и 6 указывают на практически одинаковые длины связей Fe-S и Fe-N, которые фактически не зависят от типа противоиона. Для катионного фрагмента $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ с помощью гибридного функционала TPSSh были рассчитаны параметры Мессбауэровского спектра, $\delta_{\text{Fe}} = 0.217$ и $\Delta E_{\text{Q}} = 1.029$, которые находятся в хорошем соответствии с экспериментальными значениями. Параметры мессбауэровских спектров при $T = 85\text{K}$ для катионных ДНКЖ с алифатическими производными тиомочевины 7 и 4 оказались близки между собой. Так, для комплекса 7 – $\delta_{\text{Fe}} = 0.280(2)$ мм/с, $\Delta E_{\text{Q}} = 1.069(3)$ мм/с; для 4 – $\delta_{\text{Fe}}(1) = 0.308(1)$ мм/с, $\Delta E_{\text{Q}}(1) = 1.031(3)$ мм/с в нейтральном динитрозильном фрагменте и $\delta_{\text{Fe}}(2) = 0.326(1)$ мм/с, $\Delta E_{\text{Q}}(1) = 1.230(3)$ в катионе. Спектр ЯГР поликристаллов

716. Санина Н.А., Ракова О.А., Алдошин С.М., Чуев И.И., Атовмян Е.Г., Ованесян Н.С. Синтез, рентгеноструктурное и спектральное исследование соединений $[\text{Q4N}]2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$ (Q=Me, Et, n-Pr, n-Bu). // Координационная химия. 2001. Т. 27. № 3. С. 198–202.

комплекса 4 с N-этилтиомочевинной представляет собой одиночный несимметричный квадрупольный дублет. Так как, по данным РСА 4, содержит в своем составе два железо-динитрозильных фрагмента, экспериментальный спектр аппроксимирован двумя симметричными дублетами с фиксированным соотношением интенсивностей 1:1. Замещение атома серы в координационной сфере комплекса 4 на более электроотрицательный атом хлора приводит к небольшому уменьшению изомерного сдвига, что согласуется с уменьшением расстояния Fe-Cl по сравнению с Fe-S на 0.03 Å. Параметры ^{57}Fe Мессбауэровского спектра 4 близки к таковым для катионных ДНКЖ с незамещенной тиомочевинной, с учетом того, что в таблице 9 для 1-3, 5-7 экспериментальные данные приведены при комнатной температуре.

Значения изомерного сдвига δ_{Fe} и квадрупольного расщепления ΔE_Q для катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными близки к таковым для нейтрального ДНКЖ с 1,2,4-триазол-3-тиолилом [717] и существенно отличаются от параметров ЯГР спектра анионного ДНКЖ состава $[\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4][\text{Fe}(\text{SPh})_2(\text{NO})_2]$ [718]. Значения изомерного сдвига для катионных ДНКЖ почти вдвое выше, чем для анионных, что свидетельствует об уменьшении зарядовой плотности на атоме железа и согласуется с увеличением длины связи Fe-S (2.328 Å). Для сравнения, в нейтральных моноядерных комплексах (таблица 9) средняя длина связи Fe-S составляет величину 2.308 Å, а в анионном $[\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_4][\text{Fe}(\text{SC}_6\text{H}_5)_2(\text{NO})_2]$ – 2.280 Å.

5.5. ЭПР-спектроскопия катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производных

Спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) широко используется для исследования ДНКЖ и их парамагнитных димеров. Свободная молекула оксида азота (II) в замороженных растворах дает ЭПР сигнал с $g \sim 1.95$, детектируемый при очень низких температурах (< 20 К) и высоких концентрациях NO. Для парамагнитных ДНКЖ, впервые найденных в дрожжах, а затем в тканях животных и человека, характерен ЭПР спектр с изотропным g-фактором ~ 2.03 [719]. При комнатной температуре для высокомолекулярных (протеин-связанных) ДНКЖ наблюдается аксиальная симметрия тензора g-фактора со значениями $g_{\perp}=2.04$ и $g_{\parallel}=2.014$, в случае ДНКЖ с низкомолекулярными лигандами – ромбический сигнал ЭПР из-за высокой подвижности малых молекул. Значения g-факторов ДНКЖ слабо зависят от природы лиганда, а формы спектров ЭПР для каждого из комплексов практически не отличается друг от друга, таким образом, ЭПР-сиг-

717. Sanina N.A., Rakova O. A., Aldoshin S. M., Shilov G. V., Shulga Y. M., Kulikov A. V., Ovanesyan N. S. Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione $[\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. // Mendeleev Communications. 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.

718. Strasdeit H., Krebs B., Henkel G. Synthese und struktur von $\text{Fe}(\text{SPh})_2(\text{NO})_2$, dem "monomeren" des Roussinschen phenylesters. // Zeitschrift für Naturforschung. 1986. V. 41b. P. 1357–1362.

719. Ванин А.Ф., Налбандян Р.М. Свободные радикалы нового типа в дрожжевых клетках. // Биофизика. 1965. Т. 10. С. 167–168.

нал с $g \sim 2.03$ можно рассматривать как «отпечатки пальцев» для соединений этого класса.

В поликристаллическом порошке комплекса 1 было обнаружено 0.88 спинов на комплекс, что свидетельствует о парамагнитном состоянии комплекса с одним неспаренным электроном, а в растворе диметилсульфоксида (ДМСО) – 0.18 спинов/комплекс через 10 мин после начала растворения, что указывает на начало быстрого разложения комплекса. В ДМСО амплитуда спектра уменьшилась на порядок через сутки.

В спектре ЭПР раствора комплекса 1 сверхтонкая структура (СТС) не разрешается, видны лишь слабые перегибы. Квантово-химические расчеты показывают, что самые большие константы СТС от двух ядер азота, ближайших к атому Fe – 5.77 и 3.12 Гс, все другие константы от протонов и ядер азота меньше 1 Гс. На рисунке 36, кривая 2 красной линией проведен спектр ЭПР, вычисленный со всеми константами СТС и лоренцевой шириной отдельных линий 4.4 Гс с помощью программы Simfonia (Bruker). Ширина симулированной линии ЭПР близка к экспериментальной. Спектр порошков 1 похож на спектры ЭПР замороженных растворов анионного ДНКЖ с алифатическим лигандом состава $[\text{PPN}][(\text{NO})_2\text{Fe}(\text{SCH}_2\text{CONH}(\text{CH}_3)_2)]$ (PPN-бис(трифенилфосфин)имин)[720] и показывает, что в случае комплекса 1 межмолекулярные расстояния $\text{Fe}\cdots\text{Fe}$ также велики, а обменные взаимодействия слабы.

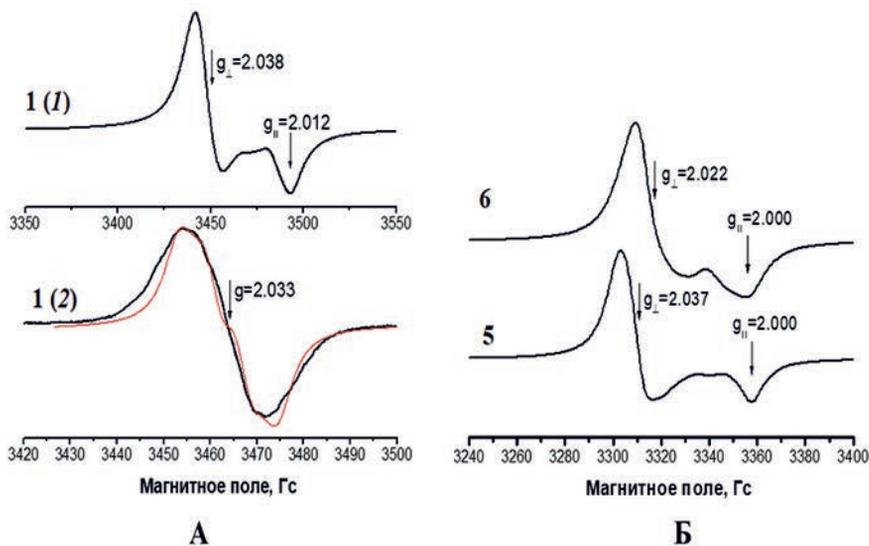


Рис. 36. ЭПР-спектры порошка (А, кривая 1) и раствора ДМСО (А, кривая 2) комплекса 1, а также поликристаллов комплексов 5 и 6 (Б) при комнатной температуре. Красная линия – симуляция спектра с константами СТС, полученными с помощью квантово-химических расчетов

720. Chiou S.-J., Wang C.-C., Chang C.-M. Synthesis of dinitrosyl iron complexes (DNICs) with intramolecular hydrogen bonding. // Journal of Organometallic Chemistry. 2008. V. 693. № 24. P. 3582–3586.

Число парамагнитных центров на один атом Fe в образцах комплексов 5 и 6 составляет 0.89 и 0.66, соответственно. Эти параметры были определены в предположении, что спин равен 1/2. В комплексе 6 число парамагнитных центров заметно меньше по сравнению с 5, тем не менее полученные значения количества спинов в образцах довольно близки к единице.

Спектры ЭПР порошков 1, 5 и 6 типичны для аксиальной симметрии g-тензора (рисунок 36). Значения g-факторов для катионных ДНКЖ 1-7 приведены в таблице 9 g-факторы комплексов 1, 5 и 6 близки к ЭПР-сигналу для нейтрального ДНКЖ с ароматическим лигандом 1,2,4-триазол-3-тионом состава $[(NO)_2Fe(SC_2H_3N_3)(SC_2H_2N_3)] \cdot 0.5H_2O$, $g_{\perp}=2.04$ и $g_{\parallel}=2.02$.

По данным ЭПР-спектроскопии, в комплексе 2 число парамагнитных центров составляет 2.3 в поликристаллах и 0.44, 0.30 и 0.08 в растворе сразу же после растворения и через 1.5 и 20 часов, соответственно. Форма линии ЭПР для порошка близка к лоренцевой (рисунок 37), и в данном случае не наблюдается анизотропия g-фактора, что можно объяснить значительным обменным взаимодействием между атомами железа в поликристаллическом образце. В растворе ДМСО наблюдается суперпозиция ЭПР-спектров, по меньшей мере, трех парамагнитных центров с g-факторами 2.0385, 2.032 и ~ 2.015 .

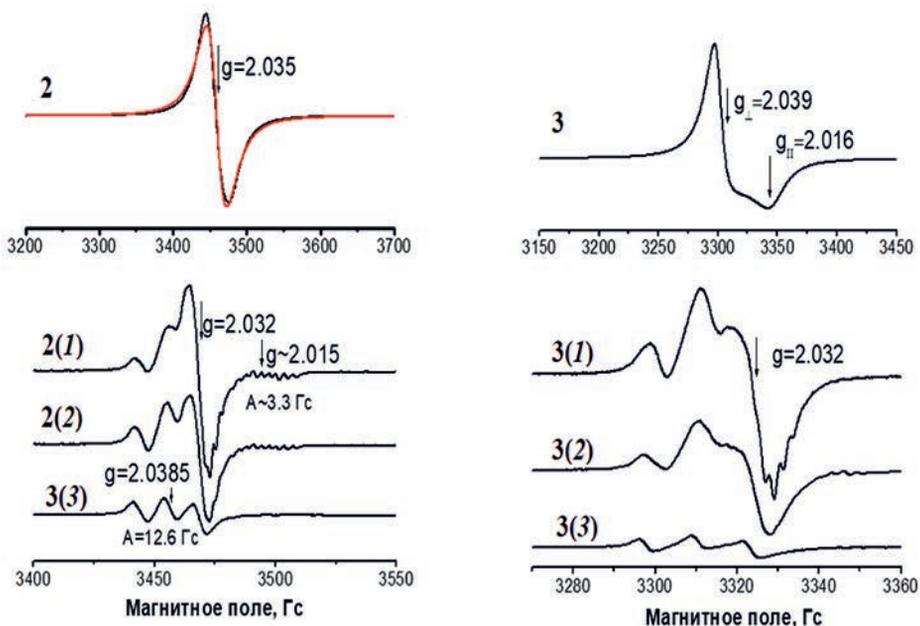


Рис. 37. ЭПР-спектры поликристаллических образцов и растворов ДМСО комплексов 2 (А) и 3 (Б) при комнатной температуре. Красная линия – симуляция экспериментального спектра лоренцевой линией. ЭПР сигналы в растворе регистрировали для комплекса 2 сразу после растворения в ДМСО (1), через 1.5 часа (2) и через 20 часов (3), для комплекса 3 – после растворения (1), через 20 часов (2) и через 44 часа (3)

Для 3 было обнаружено 1.7 спинов на комплекс в поликристаллическом порошке и 0.75, 0.45 и 0.15 в растворе сразу после растворения в ДМСО и через 20 и 44 часов, соответственно. В спектре ЭПР порошка 3, в отличие от комплекса 2 в твердой фазе, наблюдается анизотропия g-фактора, что указывает на более слабые обменные взаимодействия между парамагнитными центрами по сравнению с 4 (рисунок 37В). Этот результат хорошо согласуется с данными рентгеноструктурного анализа: в комплексе 2 кратчайшее расстояние между атомами Fe(2)·Fe(2) составляет 5.1 Å, в то время как в структуре 3 минимальное расстояние между Fe(2)·Fe(2) – 5.9 Å. Расстояния Fe···Fe в 3 близки к таковым в катионных ДНКЖ 1, 5 и 6, в которых также наблюдалась анизотропия g-фактора. Спектры ЭПР комплексов 2 и 3 аналогичны, однако 3 разлагается медленнее.

Значения g-факторов для поликристаллов ДНКЖ с незамещенной тиомочевинной находятся в хорошем соответствии с рассчитанными параметрам спектров ЭПР для катиона $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ ($g_x=2.01$, $g_y=2.03$, $g_z=2.04$, $g_{\text{iso}}=2.03$).

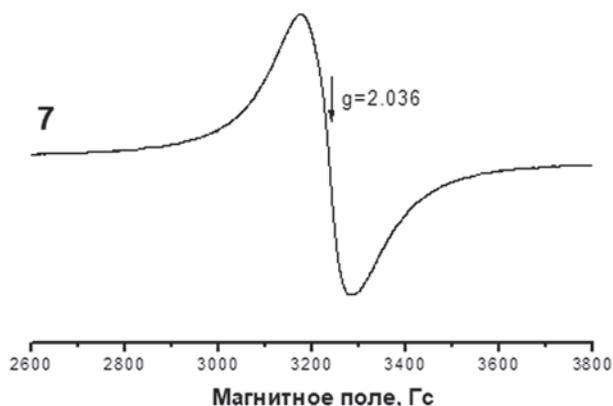


Рис. 38. ЭПР спектр поликристаллического образца комплекса 7 при комнатной температуре

Спектры ЭПР поликристаллического образца комплекса 7 представляют собой синглетную линию (рисунок 38), что свидетельствует об обменном взаимодействии между атомами железа в комплексе, которое в свою очередь усредняет анизотропию g-фактора и СТС. Аналогичная картина наблюдается в спектре ЭПР порошка ДНКЖ 4 (рисунок 39). Обменное взаимодействие усредняет анизотропию g-фактора и приводит, согласно теории, к лоренцевой линии. Отсутствие анизотропии g-фактора в случае ДНКЖ с алифатическими производными тиомочевинны обусловлено обменными взаимодействиями между атомами железа, находящимися на коротком расстоянии относительно друг друга: для комплекса 7 $\text{Fe}\cdots\text{Fe} - 5.5 \text{ \AA}$, для 4 $\text{Fe}\cdots\text{Fe} - 4.7 \text{ \AA}$. Причиной близкого нахождения молекул динитрозильных катионов в структуре комплексов 7 и 4 является образование хорошо развитой сетки межмолекулярных водородных связей, в которой принимают участие алкильные заместители у атома азота тиомочевинных лигандов.

Для комплекса 7 число спинов составляет 0.89, а для 4 – 0.76 на атом Fe. Воспроизводимость определения спинового числа составляет 20%, но данная процедура включает в себя двойное интегрирование ЭПР-спектра, которое чувствительно к крыльям спектральной линии, так что погрешность может превышать 20%. Таким образом, принимая во внимание данный факт, показатель 0.76 достаточно близок к 1. Количество спинов (S), или, точнее, доля парамагнитных атомов в комплексе, определяли исходя из предположения, что $S = \frac{1}{2}$. Процедуру определения количества спинов в образце осуществляли с помощью программного обеспечения Херг.

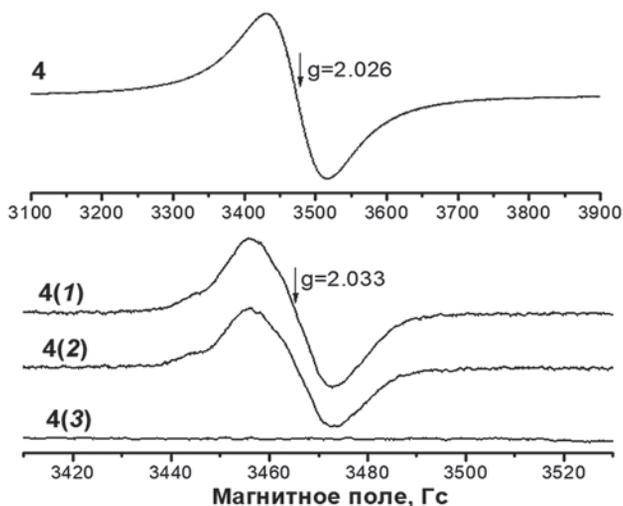


Рис. 39. ЭПР-спектры поликристаллического образца комплекса 4 и его раствора при комнатной температуре. Красная линия – симуляция экспериментального спектра лоренцевой линией. ЭПР сигналы в растворе регистрировали сразу после растворения в ДМСО (1), через 1.5 часа (2) и через 20 часов (3)

Спектры ЭПР растворов комплекса 4 в ДМСО имеют сложную форму линии из-за неразрешенного сверхтонкого расщепления на ядрах H и N. Ширина линий составляет 17.3 G, число спинов на атом Fe равно 0.34, 0.24 и 0, соответственно через 3 мин, 1.5 ч и 20 ч после растворения образца ДНКЖ (рисунок 39). В водном растворе ЭПР сигнал не был обнаружен через несколько минут после начала растворения, что согласуется с опытами по NO-донорной активности комплекса 4, согласно которым выделение NO замедляется через ~100 секунд (раздел 3.4).

Значение g-фактора для поликристаллического образца комплекса 4 равно 2.026, что заметно меньше средней величины g-фактора 2.033 для порошков других катионных ДНКЖ 1, 2, 3, 5 и 6. В то же время можно сказать, что g-фактор и форма ЭПР-спектра раствора комплекса 4 близки к этим параметрам для 1, 2, 3, 5 и 6. Небольшое отличие g-фактора поликристаллов комплекса 4, вероятно, обусловлено наличием как заряженной парамагнитной составляющей, в которой атом железа связан с двумя атомами серы, так и нейтрального пара-

магнитного фрагмента, где атом железа координирован одной серой и одним атомом хлора. С учетом того, что в растворе величина g -фактора соответствует значениям, характерным для других моноядерных катионных ДНКЖ, справедливо предположение, что существенное снижение g -фактора в поликристаллах комплекса 4 обусловлено взаимодействием между этими двумя составляющими, которое изменяется после растворения образца ДНКЖ в ДМСО.

Трудности в определении степени окисления железа в нитрозильных комплексах связаны с малой разницей в энергиях между $d\pi$ -орбиталями металла и π^* орбиталями NO. По этой причине можно принять во внимание общее распределение заряда одного из двух эквивалентных фрагментов $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}_x^+$, где x – сумма d -электронов в металле и π^* электронов NO. Электронная конфигурация $\text{Fe}(\text{NO})_2$ мотива с одним неспаренным электроном образуется путем связывания железа со спином $3/2$ с противоположно ориентированными спинами $1/2$ от двух NO групп и соответствует Fe^{+1} (d^7 конфигурация). Значения параметров, полученных с помощью ЭПР и Мессбауэровской спектроскопии, для комплекса 4 аналогичны таковым для нейтрального динитрозильного комплекса с триазол-2-илом.

Как следует из квантово-химических расчетов параметров Мессбауэровской и ЭПР спектроскопии с использованием методов, описанных в работах [721, 722], катионная и нейтральная составляющие комплекса 4 имеют близкие значения величин изомерного сдвига, 0.361 и 0.407 мм/с, и квадрупольного расщепления, 1.029 и 1.022 мм/с. Эти характеристики согласуются с экспериментальными значениями и близки к параметрам, определенным и вычисленным ранее для ДНКЖ с незамещенной тиомочевинной в качестве лиганда. Рассчитанные изотропные значения g -фактора составляют 2.033 для катионной и 2.036 для нейтральной составляющей комплекса 4. Эти цифры очень близки к экспериментальным данным и типичным значениям ДНКЖ с g -фактором ~ 2.03 . Подобная близость характеристик катионного и нейтрального фрагментов комплекса 4 не позволяет разделить их спектроскопическими методами.

Подытоживая описание исследования физико-химических характеристик катионных ДНКЖ в твердой фазе, следует отметить, что для комплексов 1-3, 5 и 6 с незамещенной тиомочевинной характерны близкие значения параметров ИК- и Мессбауэровской спектроскопии, которые указывают на практически одинаковые длины связей N-O, Fe-N и Fe-S. На основании данного факта можно сделать вывод, что структура и свойства динитрозильных комплексов с незамещенной тиомочевинной не зависят от типа противоиона. Для катионных ДНКЖ с $\text{N,N}'$ -диметилтиомочевинной и N -этилтиомочевинной 4 и 7 наблюдается уменьшение частот валентных колебаний NO групп на $\sim 15 \text{ см}^{-1}$ и небольшое увеличение изомерного сдвига. Кроме этого, в динитрозильных комплексах с производными

721. Ye S., Neese F. The Unusual Electronic Structure of Dinitrosyl Iron Complexes. // Journal of the American Chemical Society. 2010. V. 132. № 11. P. 3646–3647.

722. Römel M., Ye S., Neese F. Calibration of Modern Density Functional Theory Methods for the Prediction of ^{57}Fe Mössbauer Isomer Shifts: Meta-GGA and Double-Hybrid Functionals. // Inorganic Chemistry. 2009. V. 48. № 3. P. 784–785. ifts: Meta-GGA and Double-Hybrid Functionals. // Inorganic Chemistry. 2009. V. 48. № 3. P. 784–785.

тиомочевины алкильные заместители у атома азота принимают участие в образовании хорошо развитой сетки межмолекулярных водородных связей, что является причиной коротких контактов $\text{Fe}\cdots\text{Fe}$. Обменные взаимодействия между атомами железа приводят к усреднению анизотропии g-фактора, которая характерна для парамагнитных железо-серных нитрозильных комплексов различных структурных типов. Таким образом, введение электронодонорных заместителей в молекулу лиганда приводит к небольшому сдвигу NO в ИК-спектрах, незначительному увеличению δ_{Fe} и усреднению анизотропии g-фактора. По сравнению с другими типами ДНКЖ для катионных ДНКЖ с производными тиомочевины характерно увеличение положительного заряда на NO группе и укорочение связи N-O, что дает все основания утверждать, что катионные ДНКЖ могут являться семейством новых высокоэффективных доноров NO. Для подтверждения данного факта была изучена их NO генерирующая способность.

5.6. Исследование NO-донорной активности катионных ДНКЖ

По данным амперометрического анализа (с применением NO-чувствительных сенсоров), комплексы 1-7 генерируют NO в водных растворах без дополнительной фото-, термо- или ферментативной активации и обладают наибольшей NO-генерирующей способностью в водных анаэробных растворах (рисунок 40). Для сравнения: анионные комплексы [723] в растворах имеют существенно меньшую NO донорную активность в аналогичных условиях, более того, в этих системах NO генерируется в условиях термо- или фотоактивации.

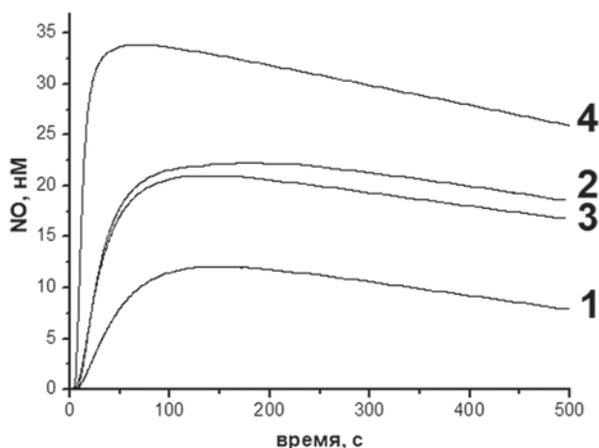


Рис. 40. Зависимость концентрации NO, генерируемого комплексами 1-4 ($0.4 \cdot 10^{-5}$ М) в воде при pH 7.0 $T=25^\circ\text{C}$ в анаэробных условиях, от времени

723. Санина Н.А., Козуб Г.И., Кондратьева Т.А., Алдошин С.М. Моноядерные динитрозильные комплексы железа, способ получения моноядерных динитрозильных комплексов железа, донор монооксида азота, применение моноядерного динитрозильного комплекса железа в качестве противоопухолевого лекарственного средства. // Патент № 2494104 РФ. Бюл. 2013. № 27 от 27.09.2013.

При pH 7.0 для всех комплексов наблюдается высокая начальная скорость генерирования NO с максимумом в области ~ 100-150 секунд. В сравнении с диэтилентриамином, представителем широко используемых в клинике органических NO-аддуктов [724], катионные ДНКЖ с производными тиомочевины являются более эффективными донорами NO. Так, в аналогичных экспериментальных условиях диэтилентриамин генерирует всего 4 нМ NO.

Рассмотрим влияние различных факторов на процесс генерации NO в этих системах на примере ДНКЖ 1.

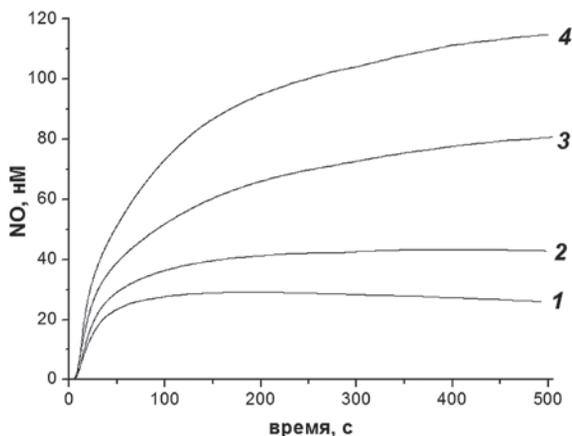


Рис. 41. Зависимости количеств NO, генерируемых комплексом 1 в воде при $T=25^{\circ}\text{C}$ в анаэробных условиях, от времени. Концентрации водных растворов комплекса 1: $1-0.6 \cdot 10^{-5}$, $2-1.2 \cdot 10^{-5}$, $3-2.4 \cdot 10^{-5}$, $4-4.4 \cdot 10^{-5}$ М.

Для комплекса 1 была изучена NO генерирующая способность при различных концентрациях комплекса в анаэробных условиях, разном содержании кислорода в системе и изменении pH среды. Комплекс 1 разлагается с образованием NO в первые секунды после растворения в анаэробном водном растворе (рисунок 41). На кинетических кривых присутствует небольшой индукционный период (~ 6 с), который, вероятно, указывает на то, что NO высвобождает не исходный комплекс 1, а реакционноспособные интермедиаты, образующиеся в водном растворе ДНКЖ. Обращает на себя внимание низкий выход NO в расчете на комплекс (<1%), который зависит от начальной концентрации ДНКЖ 1 в реакционной смеси. Анализ кинетических кривых показал, что для раствора с концентрацией комплекса 6 мкМ максимальное содержание NO в системе достигается спустя 150 секунд после начала эксперимента. Увеличение концентрации ДНКЖ в два раза при-

724. Basudhar D., Bharadwaj G., Cheng R. Y., Jain S., Shi S., Heinecke J. L., Holland R. J., Ridnour L. A., Caceres V. M., Spadari-Brattfisch R. C., Paolucci N., Velázquez-Martínez C. A., Wink D. A., Miranda K. M. Synthesis and Chemical and Biological Comparison of Nitroxyl- and Nitric Oxide-Releasing Diazeniumdiolate-Based Aspirin Derivatives. // Journal of Medicinal Chemistry. 2013. V. 56. № 20. P. 7804–7820.

водит к смещению наблюдаемого максимума выделения NO, тогда как при более высоких концентрациях комплекса его присутствие не обнаруживается в течение 500 секунд (рисунок 42).

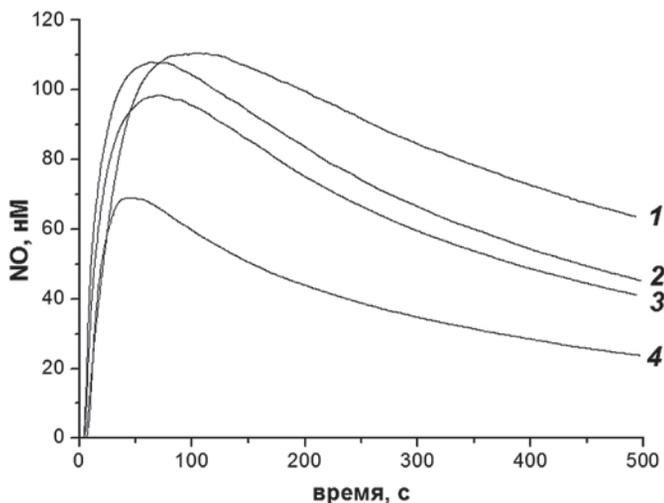


Рис. 42. Зависимости количества NO, генерируемого комплексом 1 в воде при $T=25^{\circ}\text{C}$ в аэробных условиях, от времени. Концентрация кислорода в системе: 1- $16 \cdot 10^{-5}$, 2- $23 \cdot 10^{-5}$, 3- $29 \cdot 10^{-5}$, 4- $38 \cdot 10^{-5}$ М

Максимумы на кинетических кривых могут быть следствием участия выделившегося NO в реакциях, приводящих к сокращению его количества в системе. В ряде наших ранних исследований димеров ДНКЖ в качестве возможных реакций исчезновения NO мы рассматривали его восстановление до NO^- под действием промежуточного нитрозильного аквакомплекса железа, а взаимодействие NO и NO^- приводит к образованию гипонитритного аниона ONNO, который в дальнейших превращениях дает N_2O [725, 726]. С увеличением исходной концентрации комплекса 1 уменьшается выход NO в системе и степень диссоциации ДНКЖ, следовательно, можно предположить, что в этом случае необходимо накопление достаточного количества восстановленной формы NO^- , поэтому при больших концентрациях максимум на кинетических кривых выделения NO не наблюдается.

В присутствии кислорода в водном растворе кинетическая кривая выделения NO комплексом 1 имеет качественно иной вид (рисунок 42). На

725. Санина Н.А., Шилов Г.В., Алдошин С.М., Шестаков А.Ф., Сырцова Л.А., Ованесян Н.С., Чудинова Е.С., Шкондина Н.И., Емельянова Н.С., Котельников А.И. Строение биядерного тетранитрозильного комплекса железа с пириимидин-2-илом « μ_2 -S типа» и влияние pH на его NO-донирующую способность в водных растворах. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2009. № 3. С. 560–571.

726. Сырцова Л.А., Санина Н.А., Шестаков А.Ф., Шкондина Н.И., Руднева Т.Н., Емельянова Н.С., Котельников А.И., Алдошин С.М. Влияние гемоглобина на NO донорную активность μ_2 -S-бис(пириимидин-2-тиолато) тетранитрозил железа. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2010. № 12. С. 2150–2159.

начальном этапе наблюдается высокая начальная скорость генерирования NO, а максимальное количество оксида азота в системе достигается через 50-100 секунд в зависимости от концентрации O₂ в растворе. По-видимому, кислород участвует в процессе окисления Fe⁺, что, в свою очередь, ускоряет разложение ДНКЖ и приводит к высвобождению NO. Резкий спад кинетической кривой в аэробных условиях сопровождается практически двукратным сокращением концентрации NO в течение 500 секунд эксперимента. В данном случае, расхождение выделившегося NO в системе можно объяснить его окислением до NO₂.

Взаимодействие катиона ДНКЖ 1 с молекулярным кислородом изучено с помощью теории функционала плотности [727].

На основании анализа геометрического и электронного строения комплекса было рассмотрено три варианта координации O₂: 1) присоединение молекулярного кислорода к железному центру; 2) внедрение кислорода между атомом Fe и NO группой; 3) связывание двух нитрозильных лигандов. Установлено, что для образования всех координационных комплексов требуется примерно одинаковое количество энергии. Во всех рассчитанных обогащенных кислородом нитрозильных комплексах дублетное состояние было энергетически ниже квартетного. Были также рассмотрены пути их дальнейшего разложения. Результатом этого разложения является либо выделение NO, либо выделение диоксида азота. Для всех процессов были найдены переходные и промежуточные состояния, а также конечные продукты, построены поверхности потенциальной энергии наиболее важных реакций, получены экспериментальные и расчетные УФ-спектры всех возможных продуктов окисления комплекса 1 молекулярным кислородом. Наши совокупные экспериментальные данные и расчеты механизмов диссоциации ДНКЖ 1 перекрестно подтверждают, что присутствие молекулярного кислорода сильно влияет на возможные пути, ведущие к диссоциации комплексов. В случае комплекса 1 это было связано с тем, что он способен образовывать множество возможных конфигураций с молекулярным кислородом, что затем приводит к дальнейшему окислению координирующих лигандов. Анализ рассчитанных механистических путей позволил сделать следующее заключение. Во-первых, комплекс 1 в аэробных условиях все еще способен действовать как донор NO, если молекулярный кислород координируется на центре железа. Этот процесс приводит к тому, что один из нитрозильных лигандов становится диссоциативным. После этого может диссоциировать O-O, и из комплекса может выйти второй NO. Это объясняет повышенную скорость передачи NO в аэробных условиях. Во-вторых, если молекулярный кислород координируется по связи Fe-N, то могут происходить нежелательные процессы, которые будут подавлять способность комплексов выступать в качестве донора NO. В этих случаях кислород, связанный с NO, образует NO₂, и этот лиганд затем может довольно легко уйти. Аналогичный процесс

727. Emel'yanova N.S., Gutsev L.G., Pokidova O.V., Shestakov A.F., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Investigation of the interaction of the cationic nitrosyl iron complex [Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂]⁺ with molecular oxygen. // *Inorganica Chimica Acta* (Q2). 2021. V. 522. P. 120361. DOI10.1016/j.ica.2021.120361.

происходит, когда кислород координируется между двумя нитрозильными лигандами. Таким образом, квантово-химическое моделирование реакций взаимодействия комплекса 1 с кислородом показал, что присутствие O_2 в водном растворе ДНКЖ 1 может привести как к увеличению NO-донорной активности комплекса, так и к образованию нежелательного NO_2 . Полученные данные свидетельствуют о том, что кислород координируется по различным положениям в структуре 1, что в дальнейшем приводит к окислению лигандов. Этот процесс сопровождается поглощением кислорода в реакционной смеси и появлением в спектре поглощения широкого плеча в области 250 – 400 нм. Константы скорости, найденные методом кинетического моделирования [728], удовлетворительно описывают полученные экспериментальные данные. Обнаруженные особенности распада ДНКЖ 1 в аэробных условиях необходимо учитывать при дальнейшем моделировании и исследовании механизмов реакций его взаимодействия с мишенями *in vitro* и *in vivo*.

В рамках теории функционала плотности были также изучены механизмы реакций с молекулярным кислородом катионов ДНКЖ с алкилзамещенными тиомочевинными лигандами: катиона с диметилтиомочевинной (ДНКЖ 7) и катиона с N¹-этилтиомочевинной (ДНКЖ 4)[729]. Получена оптимизированная геометрия начальных, конечных, промежуточных и переходных состояний, построены энергетические профили реакций. Установлено, что комплекс с этильным заместителем в тиомочевинном лиганде должен быть самым устойчивым, так как образование его комплексов с кислородом требует больше энергии, чем для незамещенного тиомочевинного комплекса или комплекса с метильными заместителями в тиомочевине. Более того, требуется достаточно большой энергетический барьер, чтобы запустить процесс превращения NO-лигандов комплекса железа в NO_2 -лиганды, способные повышать токсичность комплекса. Легче всего, согласно расчетам, молекула кислорода атакует в этом комплексе Fe-S-связь, что вызвано индукционным эффектом донорной этильной группы и перераспределением электронной плотности в лиганде. Таким образом, ДНКЖ 4 будет проявлять лучшие свойства по сравнению с ДНКЖ 1. Напротив, ДНКЖ 7 будет легче взаимодействовать с кислородом, причем процессы внутримолекулярного окисления NO до NO_2 протекают для него достаточно легко, хотя внедрение по Fe-S-связи также выгодно и приводит к образованию стабильного продукта. В то же время для него, как и для двух других рассматриваемых комплексов, характерна реакция вытеснения NO молекулой кислорода, т. е. в начальный момент времени он должен донировать NO в аэробных усло-

728. Покидова О.В., Психа Б.Л., Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Новикова В.О., Загайнова Е.А., Санина Н.А. Особенности распада нитрозильного комплекса железа с тиомочевинными лигандами в аэробных условиях: эксперимент, кинетическое и квантово-химическое моделирование. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2022. № 8. С. 1604–1613.

729. Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Загайнова Е.А., Санина Н.А., Алдошин С.М. Влияние алкильных заместителей в катионах моноядерных динитрозильных комплексов железа с тиомочевинными лигандами на механизм их реакции с молекулярным кислородом: квантово-химическое моделирование. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2022. № 9. С. 1870–1877.

виях лучше, чем в анаэробных, причем скорость этого донирования должна быть выше, чем у ДНКЖ 4.

Таким образом, наличие заместителя в тиомочевинном лиганде в катионах ДНКЖ оказывает влияние на механизм реакции с кислородом, что открывает перспективы дизайна новых ДНКЖ (варьированием заместителей в тиомочевине) с высокой устойчивостью к кислороду. Судя по полученным результатам, следует полагать перспективным направление синтеза ДНКЖ с несимметричными тиомочевинными лигандами, содержащими длинные алкильные заместители.

В работе [730] было обнаружено влияние кислорода на разложение ДНКЖ 3 и представлены структуры возможных продуктов реакции. Установлено, что в аэробных условиях NO из этого комплекса выделяется в 60 раз быстрее ($k = 9,4 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$ на воздухе, $k = (1,5 \pm 0,3) \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ в бескислородных условиях), а количество выделяемого NO ниже. Последнее может быть связано с тем, что в аэробных условиях из ДНКЖ 3 выделяется не только NO, но и другие продукты (нитраты, нитриты и др.).

Аналогичная картина – заметное влияние кислорода на NO-донорную активность – наблюдалась и в случае ДНКЖ 4 [731].

Таким образом, сравнительный анализ распада катионных ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными показал, что кислород может активно участвовать в их трансформации, и этот факт нужно учитывать при изучении механизмов их реакций с молекулярными мишенями *in vivo*.

Еще одним важным фактором, влияющим на генерацию NO катионными комплексами с тиомочевинной и ее производными, является pH среды. При исследовании NO-донорной активности комплекса 1 при различных значениях pH среды было обнаружено, что максимальные концентрации NO при pH 7.0 и 8.0 близки и составляют ~ 36 нМ. Кривые зависимости концентрации NO от времени имеют слабо выраженный максимум: спустя ~ 1.5 минуты после начала разложения 1 наблюдается небольшое уменьшение выделившегося NO и спустя ~ 8 минут его концентрация уменьшается до ~ 25 нМ (рисунок 43). При pH 9.0 кривая зависимости выделения NO имеет практически линейный характер, к 8 минуте разложения комплекса 1 концентрация оксида азота, выделившегося в этих условиях, приближается к таковой при pH 7.0 и 8.0, но не выходит на «плато», как в случае менее щелочных растворов, свидетельствуя о том, что с увеличением концентрации OH^- ионов в растворе меняется механизм разложения 1. Кроме того, комплекс 1 в щелочных средах обладает пролонгированной NO-донорной активностью. Очевидно, что в зависимости от кислотности раствора реак-

730. Pokidova O., Emel'yanova N., Kormukhina A., Novikova V., Kulikov A., Kotelnikov A., Sanina N. Albumin as prospective carrier of nitrosyl iron complex with thiourea and thiosulfate ligands under aerobic conditions. // Dalton Transactions. 2022. V. 51. P. 6473. DOI: 10.1039/d2dt00291d.

731. Pokidova O.V., Kormukhina A.Yu., Kotelnikov A. I., Rudneva T.N., Lyssenko K.A., Sanina N.A. Features of the decomposition of cationic nitrosyl iron complexes with N-ethylthiourea and penicillamine ligands in the presence of albumin. // Inorganica Chimica Acta. 2021. 524. Article Number: 120453. DOI 10.1016/j.ica.2021.120453.10.1016/j.ica.2021.120453.

ция генерации NO катионными ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными описывается разными механизмами, которые еще предстоит изучить.

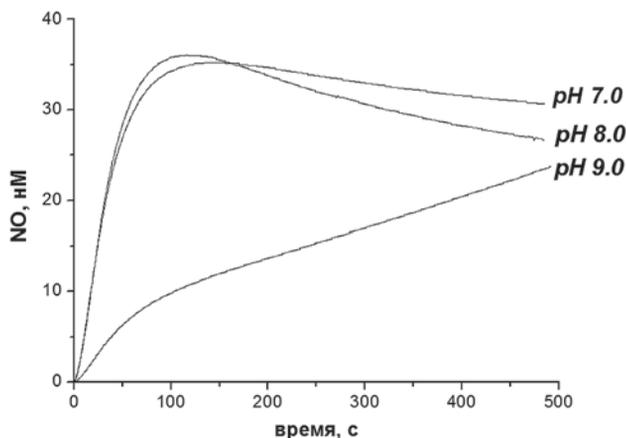


Рис. 43. Зависимости количества NO, генерируемого комплексом 1 ($1.4 \times 10^{-5} \text{M}$) в воде при pH 7.0, 8.0, 9.0 и $T=25^\circ\text{C}$ в анаэробных условиях, от времени

С помощью квантово-химического моделирования были изучены реакции ДНКЖ 1 в водном растворе. Электронную структуру возможных интермедиатов исследовали методами NBO и AIM [732]. Установлено, что замещение тиомочевинной в ДНКЖ 1 на молекулу воды и образование димерных промежуточных комплексов облегчает процесс донирования NO. Согласно результатам квантово-химического моделирования в нейтральной и в щелочной среде реакция диссоциации Fe-NO-связи в ДНКЖ 1 протекает по разным механизмам: в нейтральной среде образуются аквакомплексы, ответственные за NO-донирование, тогда как в щелочной среде происходит замещение NO-лиганда на гидроксил-ион [694]. Различный характер NO-донирования ДНКЖ с тиомочевинной и ее производными в зависимости от pH среды открывает перспективы контролируемой генерации NO соединениями этого семейства.

Количество генерированного ДНКЖ 1-7 NO зависит также и от природы растворителя: например, согласно данным амперометрического анализа, комплекс 4 в воде в первые секунды после растворения выделяет $\sim 33 \text{ нМ}$ NO (рисунок 44). При растворении ДНКЖ 4 в 1% растворе ДМСО ход кинетической кривой изменяется (рисунок 44), и максимально генерированное количество NO оказывается значительно меньше, чем таковое для водного раствора.

732. Emel'yanova N.S., Shmatko N.Y., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Quantum chemical modeling of possible reactions of mononuclear iron nitrosyl complex $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)(\text{NO})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in an aqueous solution. // Russ Chem Bull. 2017. V. 66. P. 1842–1846. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1955-9>.

694. Шматко Н.Ю. Катионные динитрозильные комплексы железа с тиомочевинной и ее производными – новые доноры оксида азота, кандидатская диссертация по химии. 2017. С. 158.

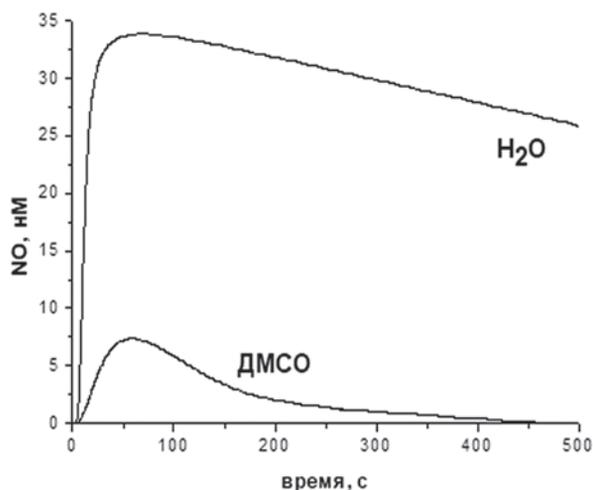


Рис. 44. Зависимость концентрации NO, генерируемого комплексом 4 (0.4×10^{-5} М) в воде и 1% растворе ДМСО при pH 7.0 и $T=25^\circ\text{C}$ в анаэробных условиях, от времени

На рисунке 45 представлены экспериментально полученные данные количества NO, выделившихся при разложении комплексов 1-4 и 7 в 1% водном растворе ДМСО [733].

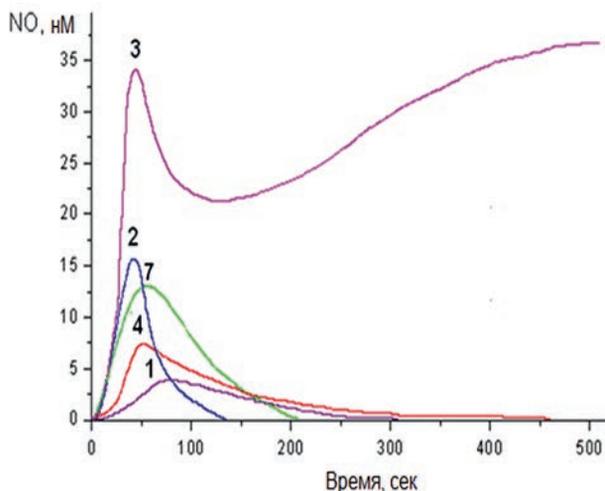


Рис. 45. Зависимости количества NO, генерируемого ДНКЖ 1-4 и 7 (1.4×10^{-5} М) в 1%-ном водном растворе ДМСО в аэробных условиях при pH 7,0, $T = 25^\circ\text{C}$ от времени

733. Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N.S., Konyukhova A. S., Stupina T.S., Balakina A.A., Terentiev A.A., Aldoshin S.M. Cationic dinitrosyl iron complexes with thiourea exhibit selective toxicity to brain tumor cells in vitro. // Dalton Trans. 2022. V. 51. P. 8893–8905. <https://doi.org/10.1039/D2DT01011A>.

Кривые имеют колоколообразную форму: в течение ~70 с эти ДНКЖ генерировали максимальное количество NO ~4,0, 16,0, 7,5 и 13,0 нМ соответственно, а к 500-й с эксперимента генерация NO не наблюдалась. Для ДНКЖ 3 обнаружены две стадии генерации NO. В течение первых 50 секунд наблюдается колоколообразная зависимость генерации NO с максимумом ~36,0 нМ, затем к 130 секунде количество NO снижается до ~22,0 нМ, а к 500-й с количество NO снова возрастает до ~36,0 нМ и выходит на плато.

Наблюдаемое разложение исследованных ДНКЖ в растворах происходит с высокой скоростью и образованием высокореакционных интермедиатов. Структуры продуктов разложения ДНКЖ 1-4, 7, отличных от NO, были установлены с применением метода масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (ESI-MS) [733].

В спектре ДНКЖ 1 (рисунок 46 в режиме положительных ионов) присутствуют мономерные частицы железа с тиомочевинными лигандами $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2\text{Cl}]^+$ с относительной интенсивностью 1,00 и частицы железа с депротонированной тиомочевинной, а также зафиксированы частицы $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2-\text{H}]^+$, образующиеся после удаления NO-групп с относительной интенсивностью 0,46.

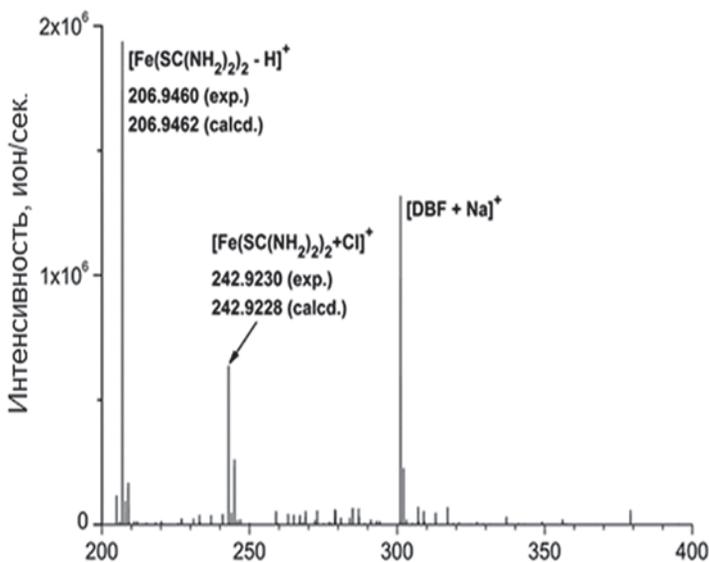


Рис. 46. Масс-спектр раствора ДНКЖ 1 в MeOH (100 мкМ). Появление ионов $[\text{DBF} + \text{Na}]^+$ в масс-спектре связано с конструктивной особенностью нашего электрораспылительного источника ионов домашней сборки

733. Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N.S., Konyukhova A. S., Stupina T.S., Balakina A.A., Terentiev A.A., Aldoshin S.M. Cationic dinitrosyl iron complexes with thiourea exhibit selective toxicity to brain tumor cells in vitro. // Dalton Trans. 2022. V. 51. P. 8893–8905. <https://doi.org/10.1039/D2DT01011A>.

В спектре ДНКЖ 2 (рисунок 47) интенсивный сигнал при $m/z = 148,9471$ был отнесен к иону $[\text{FeSC}(\text{NH}_2)_2+\text{OH}]^+$. Интенсивности ионов $[\text{FeSC}(\text{NH}_2)_2-\text{H}]^+$, $[\text{FeSC}(\text{NH}_2)_2+\text{OH}]^+$ и $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2-\text{H}]^+$ в спектре 2 были стабильны в течение периода регистрации (0–11 мин), а интенсивность ионов $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2\text{Cl}]^+$ и $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_3\text{Cl}]^+$ уменьшалась в три раза за время регистрации.

Раствор ДНКЖ 3 (в режиме положительных ионов) содержит несколько высокореакционноспособных нитрозильных интермедиатов, способных к длительному образованию NO: обнаружено присутствие ионов $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2-\text{H}]^+$, $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})]^+$ и $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ примерно через 3 мин после его приготовления. Спектр комплекса 3 в отрицательной моде содержит ионы $[\text{FeS}_2\text{O}_3(\text{NO})_2]^-$, $[\text{FeS}_2\text{O}_3(\text{NO})]^-$, $[\text{FeS}_2\text{O}_3]^-$ и $[\text{FeO}_3]^-$ (рисунок 48), т. е. наблюдается распад биядерного тетранитрозильного дианиона $[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]^{2-}$, как и в $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$, с выделением NO и образованием долгоживущих мооядерных S_2O_3 -содержащих нитрозильных интермедиатов.

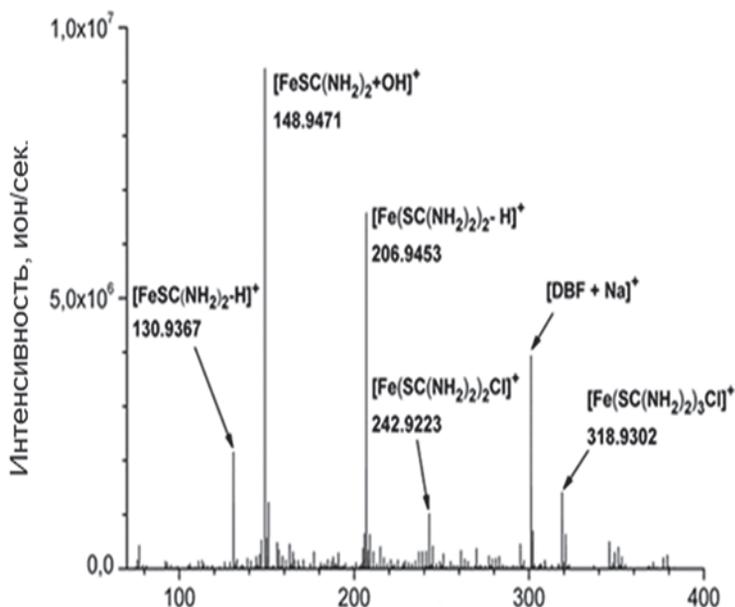


Рис. 47. Масс-спектр раствора ДНКЖ 2 в MeOH. Внешний вид ионов $[\text{DBF}^+ \text{Na}]^+$ является результатом конструктивной особенности нашего самодельного источника ионов с электрораспылением

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

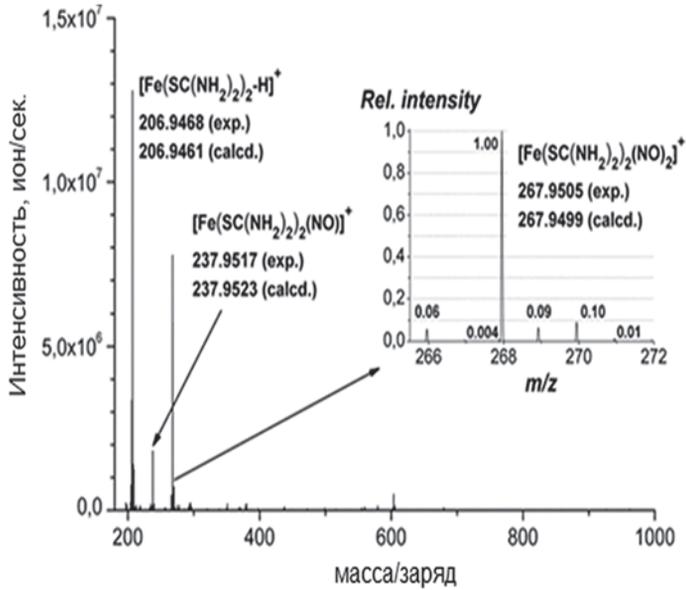


Рис. 48. Масс-спектр раствора ДНКЖ 3 в МеОН в режиме положительных ионов. Спектр усредняется за первую минуту регистрации, т. е. за третью минуту после приготовления раствора. Точность определения значений $m/z < 5$ ppm. На вставке показано подробное экспериментальное изотопное распределение одного из ионов и расчетное изотопное распределение для этого иона (числовые значения)

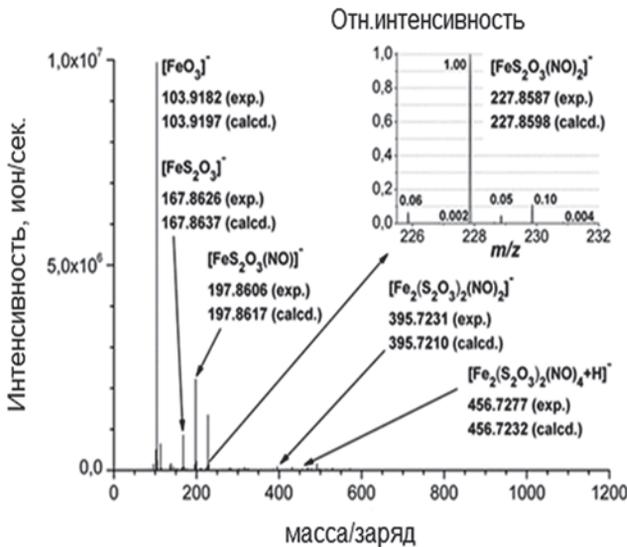


Рис. 49. масс-спектр днкж 3 в меОН в режиме отрицательных ионов. Спектр усредняется за первую минуту регистрации, т. е. за третью минуту после приготовления раствора. Точность определения значений $m/z < 5$ ppm. На вставке показано подробное экспериментальное изотопное распределение одного из ионов и расчетное изотопное распределение для этого иона (числовые значения)

Масс-спектр ДНКЖ 4 (в режиме положительных ионов), где L = SC₃N₂H₈, N'-этилтиомочевина, показан на рисунке 50, а интенсивности основных ионов – в таблице 10.

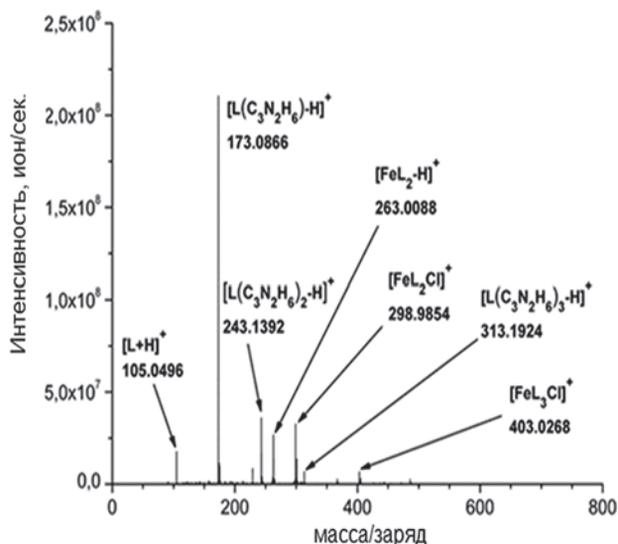


Рис. 50. Масс-спектр ДНКЖ 4 в MeOH (L = SC₃N₂H₈, N'-этилтиомочевина) в режиме положительных ионов. Спектр усредняется за первую минуту регистрации, т. е. на третью минуту после приготовления раствора (точность определения значений m/z < 5 ppm)

Таблица 10
Значения масса/заряд (экспериментальные и расчетные) и относительные интенсивности пиков основных ионов в масс-спектре ДНКЖ 4 (L=SC₃N₂H₈, N'-этилтиомочевина) в MeOH в режиме положительной моды

| Ион | масса/заряд (эсп.) | масса/заряд (расч.) | отн. интенсивность во время время регистрации |
|--|--------------------|---------------------|---|
| [L+H] ⁺ | 105.0496 | 105.0486 | 0.04 |
| [L(C ₃ N ₂ H ₈)- H] ⁺ | 173.0866 | 173.0856 | 1.00 |
| [L(C ₃ N ₂ H ₈) ₂ - H] ⁺ | 243.1392 | 243.1382 | 0.08 |
| [FeL ₂ -H] ⁺ | 263.0088 | 263.0088 | 0.06 |
| [FeL ₂ Cl] ⁺ | 298.9854 | 298.9854 | 0.07 |
| [L(C ₃ N ₂ H ₈) ₃ - H] ⁺ | 313.1924 | 313.1908 | 0.01 |
| [FeL ₃ Cl] ⁺ | 403.0268 | 403.0263 | 0.02 |

Спектр ДНКЖ 4 в режиме отрицательных ионов (рисунок 51) содержит стабильные высокомолекулярные кластерные ионы с NO-группами, а именно $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]^-$ (анион «черной соли» Руссена), $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_5]^-$, $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{NO})_4]^-$, $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_4]^-$, $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_6]^-$ и ионы дегидратированного лиганда $[\text{L} - \text{H}]^-$.

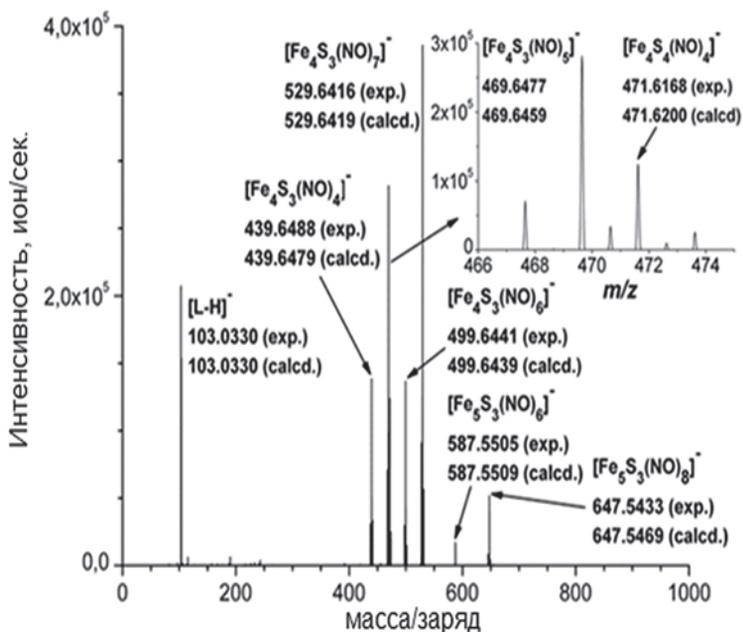


Рис. 51. Масс-спектр ДНКЖ 4 в MeOH ($\text{L} = \text{SC}_3\text{N}_2\text{H}_8$ – N¹-этилтиомочевина) в режиме отрицательных ионов. Спектр усредняется за первую минуту регистрации, т. е. на третью минуту после приготовления раствора (точность определения значений $m/z < 5$ ppm). На вставке показано подробное экспериментальное изотопное распределение одного из ионов и расчетное изотопное распределение для этого иона (числовые значения)

Из спектра ДНКЖ 7 видно, что моноядерные частицы $[\text{FeL}_2(\text{NO})_2]^+$, где L представляет собой лиганд 1,3-диметилтиомочевины, более стабильны, чем ДНКЖ 1 и 2. Моноядерные частицы образуются с относительной интенсивностью 1,00, а производные диметилтиокарбамидных лигандов (L + H) и (L₂SH) образуются с относительной интенсивностью 0,28 и 0,36, соответственно (рисунок 52).

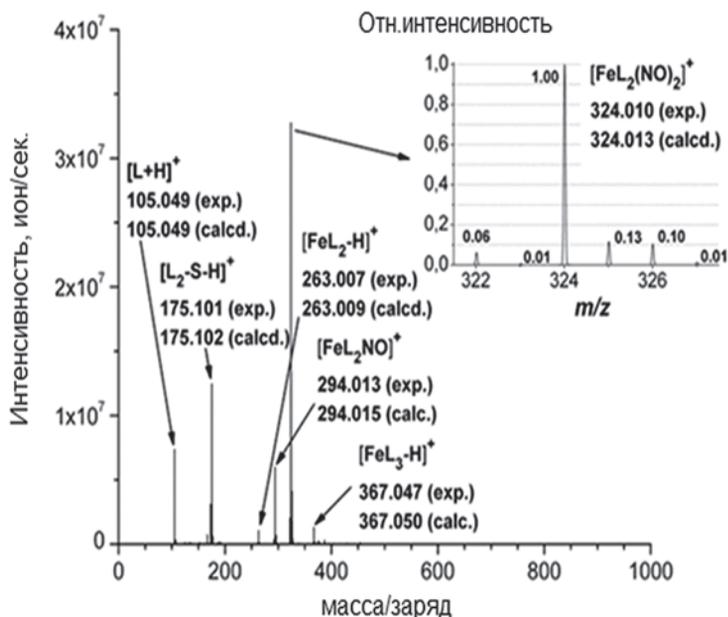


Рис. 52. Масс-спектр ДНКЖ 7 в MeOH ($L = C_3H_8N_2S$ – диметилтиомочевина) в режиме положительных ионов. Спектр усредняется за первую минуту регистрации, т. е. на третью минуту после приготовления раствора (точность определения значений $m/z < 5$ ppm). На вставке показано подробное экспериментальное изотопное распределение одного из ионов и расчетное изотопное распределение для этого иона (числовые значения)

В заключение этой главы следует отметить, что, несмотря на три десятилетия обширных исследований NO, важные количественные особенности бионеорганической и биомедицинской химии оксида азота еще предстоит выяснить. Эти особенности, требующие уточнения, касаются прежде всего образования и химической активности метаболитов NO, а также вклада этих соединений в запуск физиологических или патологических процессов. В этом аспекте динитрозильные комплексы железа остаются среди них наименее изученными [735], но наиболее интригующими.

735. McCleverty J.A. Chemistry of nitric oxide relevant to biology. // Chem Rev. 2004. V. 104. № 2. P. 403–418. doi: 10.1021/cr020623q.

Глава VI

Влияние динитрозильных комплексов железа на ферментативные мишени сердечно-сосудистых заболеваний

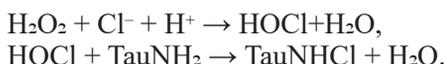
6.1. Эффект динитрозильных комплексов железа на активность миелопероксидазы

Оксид азота (NO) обладает разными видами биологической активности и участвует во многих физиологических и патофизиологических процессах в организмах млекопитающих [735]. Исследования последних лет в области молекулярной кардиологии установили центральную роль NO в регуляции сосудистого тонуса и метаболизма миокарда [736, 737]. Синтетические аналоги моноядерных динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с серосодержащими лигандами ряда тиомочевины являются новым перспективным семейством доноров NO [738]. Для понимания механизма действия этого семейства ДНКЖ как перспективных соединений для терапии ССЗ необходима идентификация их молекулярной мишени. В настоящее время известно, что многие ферменты являются биомаркерами и медиаторами развития сердечно-сосудистых заболеваний. Несколько исследований показали, что миелопероксидаза, гемсодержащий белок с пероксидазной активностью, является исключительным индикатором развития сердечно-сосудистых заболеваний. Повышенный уровень миелопероксидазы в организме указывает на риск развития ССЗ, в частности атеросклероза, эндотелиальной дисфункции, и указывает на прогрессирование этих заболеваний [739-742].

Повышенные уровни МРО в организме значительно увеличивают риск возникновения ССЗ и коррелируют с повышенной смертностью.

-
735. McCleverty J.A. Chemistry of nitric oxide relevant to biology. // *Chem Rev.* 2004. V. 104. № 2. P. 403–418. doi: 10.1021/cr020623q.
736. Grievink H., Zeltcer G., Drenger B., Berenshtein E., Chevion M. Protection by Nitric Oxide Donors of Isolated Rat Hearts Is Associated with Activation of Redox Metabolism and Ferritin Accumulation. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 7. P. e0159951. doi: 10.1371/journal.pone.0159951.
737. Afzal M.Z., Reiter M., Gastonguay C., McGivern J.V., Guan X., Ge Z.D., Mack D.L., Childers M.K., Ebert A.D., Strande J.L. Nicorandil, a Nitric Oxide Donor and ATP-Sensitive Potassium Channel Opener, Protects Against Dystrophin-Deficient Cardiomyopathy. // *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016. V. 21. № 6. P. 549–562. doi: 10.1177/1074248416636477.
738. Санина Н.А., Шматко Н.Ю., Алдошин С.М. // Патент РФ № 2014115252. 2015.
739. Lau D., Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2006. V. 111. №1. P. 16-26. doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.06.023.
740. Karakas M., Koenig W. Myeloperoxidase production by macrophage and risk of atherosclerosis. // *Curr Atheroscler Rep.* 2012. V. 14. P. 277–283. doi.org/10.1007/s11883-012-0242-3.
741. Zeng L., Mathew A.V., Byun J., Atkins K.B., Brosius F.C. 3rd, Pennathur S. Myeloperoxidase-derived oxidants damage artery wall proteins in an animal model of chronic kidney disease-accelerated atherosclerosis. // *J Biol Chem.* 2018. V. 293. P. 7238–7249. doi.org/10.1074/jbc.RA117.000559.
742. Maiocchi S.L., Ku J., Thai T., Chan E., Rees M.D., Thomas S.R. Myeloperoxidase: A versatile mediator of endothelial dysfunction and therapeutic target during cardiovascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2021. V. 221. P. 107711. doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107711.

Целью нашего исследования было изучение влияния ряда соединений семейства катионных ДНКЖ (доноров NO) на активность миелопероксидазы и оценка эффективности их действия. В работе использовали адгезивные крысиные кардиомиоциты линии H9c2. Для анализа действия соединений ряда катионных ДНКЖ на активность МРО использовали флуоресцентный метод определения миелопероксидазной активности (Amplite Fluorometric myeloperoxidase assay kit, “ААТ Bioquest, Inc.”, США). Миелопероксидаза – гемсодержащий белок с пероксидазной активностью. Она катализирует реакцию между хлоридом и перекисью, образуя гипохлорную кислоту, которая связывается с аминокислотой таурином, образуя стабильный тауринохлорамин:



Способность МРО катализировать реакцию между хлоридом и перекисью, образуя гипохлорную кислоту, является уникальной среди ферментов живых организмов и главной функцией МРО *in vivo*. Остальные пероксидазы не образуют гипохлорную кислоту. Единственным исключением является пероксидаза эозинофилов, которая образует гипохлорную кислоту при pH ниже 5. Активность МРО имеет оптимум вблизи нейтрального значения pH. Мы использовали в реакционной смеси буфер с pH 7,4 и измеряли активность МРО в клеточных лизатах, полученных из крысиных кардиомиоцитов, а не из эозинофилов, что и обеспечило специфичность действия МРО в нашем исследовании.

Для выявления молекулярных мишеней действия ДНКЖ мы исследовали влияние этих соединений на активность МРО флуоресцентным методом.

Результаты влияния ДНКЖ на активность миелопероксидазы представлены на рисунке 53.

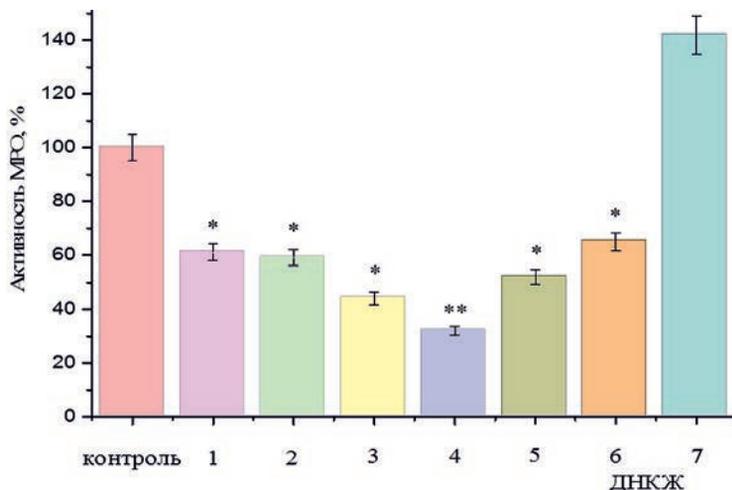


Рис. 53. Влияние ДНКЖ №1–7 (концентрация $2 \times 10^{-4} \text{M}$) на активность МРО. $M \pm m$, $n = 3$, * $p < 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

В результате исследования было обнаружено, что шесть из семи тестируемых соединений ДНКЖ ингибировали активность МРО, а ДНКЖ7 активировало фермент. Повышение активности МРО под действием соединения 7 свидетельствовало о его терапевтическом потенциале для лечения иммунодефицитных состояний.

Количественный анализ влияния ДНКЖ на активность МРО показал, что соединения 1, 2, 5 и 6 ингибировали активность фермента более чем на 30%, а соединение 7 активировало МРО на 40%. Соединения 3, 4 и 5 показали наиболее сильный ингибирующий эффект МРО – 56, 68 и 48%, соответственно (таблица 11).

Таблица 11

Количественный анализ влияния катионных ДНКЖ на активность МРО

| Тестируемое соединение | Относительная флуоресценция, ед. | Активность МРО, % | Ингибирование МРО активности, % |
|---|----------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| МРО активность клеточного лизата | 3.4984 | 100 | 0.00 |
| 1. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 2.7868 | 61 | 39 |
| 2. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 2.7575 | 59 | 41 |
| 3. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2][\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_8)_2\text{NO}_4]$ | 2.4866 | 44 | 56 |
| 4. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)(\text{NHC}_2\text{H}_5)_2(\text{NO})_2)\text{Cl}][\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)(\text{NHC}_2\text{H}_5)_2)\text{Cl}(\text{NO})_2]$ | 2.2759 | 32 | 68 |
| 5. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{ClO}_4$ | 2.6232 | 52 | 48 |
| 6. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{ClO}_4 \cdot \text{Cl}$ | 2.8704 | 65 | 35 |
| 7. $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NHCH}_3)_2)_2(\text{NO})_2]\text{BF}_4$ | 4.2512 | 142 | -42 |

Для сравнения эффективности двух катионных ДНКЖ – № 3 и № 4, наиболее сильно ингибирующих МРО, мы определили величины их IC_{50} с помощью кривых концентрация – эффект.

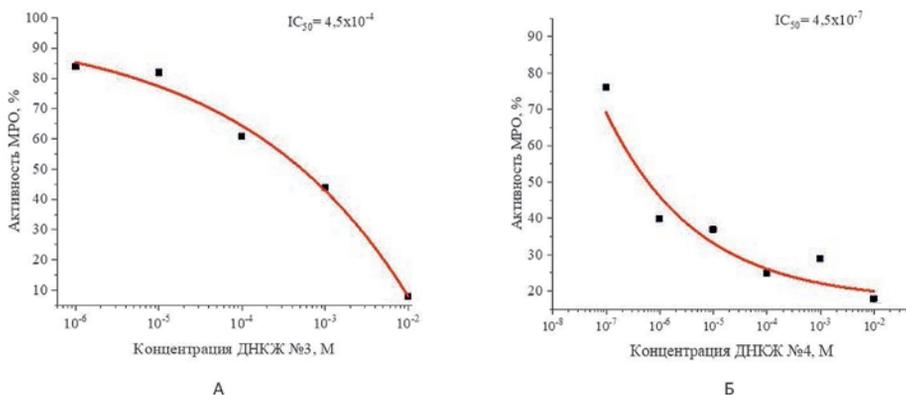


Рис. 54. Влияние ДНКЖ на активность МРО: А) 10⁻⁶–10⁻² М ДНКЖ № 3; Б) 10⁻⁷–10⁻² М ДНКЖ № 4

Результаты показали, что IC_{50} для ДНКЖ № 3 была равна $4,5 \times 10^{-4}$ (рисунки 54А), а для ДНКЖ № 4 была $4,5 \times 10^{-7}$ М (рисунки 54Б). Сравнительная оценка действия двух соединений показала, что ДНКЖ № 4 является более эффективным ингибитором активности фермента, чем соединение ДНКЖ № 3. Поскольку IC_{50} является показателем концентрации лекарственного вещества, необходимого для 50 % ингибирования реакции *in vitro*, эти данные свидетельствуют о том, что соединение 4 обладает более сильным фармакологическим потенциалом для применения в качестве кардиологического средства. Известно, что NO связывается обратимо со многими гемсодержащими белками и может действовать как ингибитор и активатор ферментативной каталитической активности [743]. Поскольку мы показали, что ДНКЖ 1–6 при растворении выделяют NO, мы предполагаем, что NO связывается с Fe(III) в активном центре МРО и образует комплекс МРО–Fe(II)–NO. Этот железо-нитрозильный комплекс блокирует доступ перекиси к каталитическому центру фермента и индуцирует ингибирование МРО.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что миелопероксидаза является молекулярной мишенью катионных ДНКЖ. Соединения 3 и 4 семейства катионных ДНКЖ достаточно эффективно ингибировали активность МРО. Сравнительная оценка действия двух соединений показала, что соединение 4 – более эффективный ингибитор активности фермента, чем соединение 3. Оценивая полученные данные с практической точки зрения, можно сделать вывод о том, что ДНКЖ могут применяться в качестве потенциальных ингибиторов миелопероксидазы при лечении ССЗ атеросклероз, ишемия).

6.2. Влияние динитрозильных комплексов железа на активность матриксной металлопротеиназы

ММП представляют собой семейство цинкозависимых эндопротеаз, выполняющих множественные роли в ремоделировании тканей и деградации различных белков во внеклеточном матриксе. ММП способствуют пролиферации, миграции и дифференцировке клеток и могут играть роль в ангиогенезе, апоптозе клеток и восстановлении тканей. ММП также могут воздействовать на биоактивные молекулы на клеточной поверхности, тем самым модулировать различные клеточные ответы и сигнальные пути. Изменения в экспрессии / активности ММП также могут быть связаны с сердечно-сосудистыми заболеваниями, такими как гипертония, атеросклероз, аневризма и хронические венозные заболевания. ММП могут служить биомаркерами и потенциальными терапевтическими мишенями для некоторых сосудистых заболеваний [744]. Для

743. Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase. // J Biol Chem. 2000. V. 275. № 8. P. 5425–5430. doi: 10.1074/jbc.275.8.5425.

744. Wang X., Khalil R.A. Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. // Advances in Pharmacology. 1-е изд. Elsevier Inc. 2018. V. 81. P. 241–330.

изучения влияния ДНКЖ (№ 1-7) на активность ММР нами были приготовлены лизаты клеток *HLEF-104*. В растворах клеточных лизатов содержится ргоММР в неактивной форме. Для активации фермента к клеточным лизатам добавляли 4-аминофенил ртути. Далее к лизатам, содержащим активированные ММР, добавляли ДНКЖ (№ 1-7). В результате исследования ДНКЖ на активность матричных металлопротеиназ было обнаружено, что все семь соединений ингибировали активность ММР в лизате фибробластов человека в диапазоне от 38 до 98% (рисунок 55). Наиболее эффективными ингибиторами ММР оказались ДНКЖ № 3, 4 и 6 (ингибирование ММР на 96, 98 и 76%, соответственно).

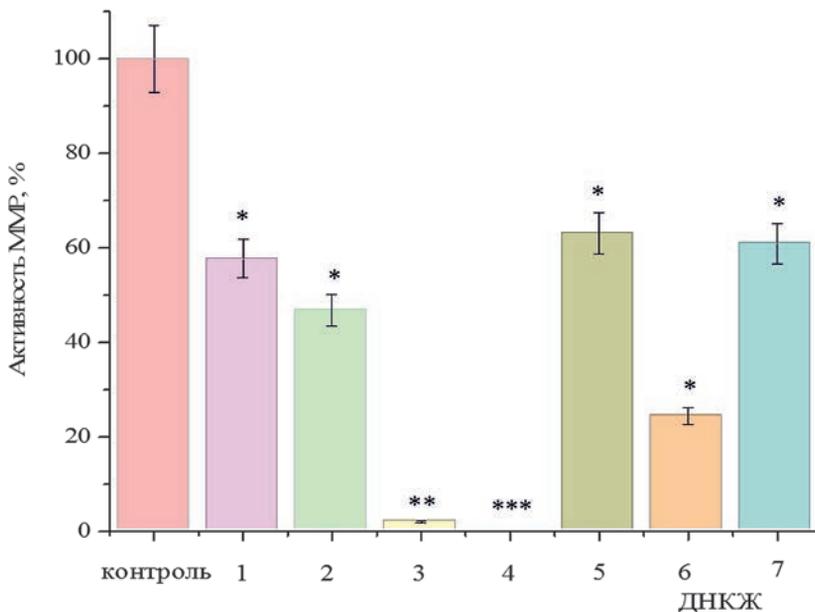


Рис. 55. Влияние ДНКЖ № 1–7 (концентрация 2×10^{-4} М) на активность ММР. $M \pm m$, $n = 3$, * $p < 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$

Для наиболее эффективных ДНКЖ № 3, 4 и 6 были определены концентрации полумаксимального ингибирования активности ММР (значения IC_{50}) методом построения дозозависимых кривых (рисунок 56А, Б, В).

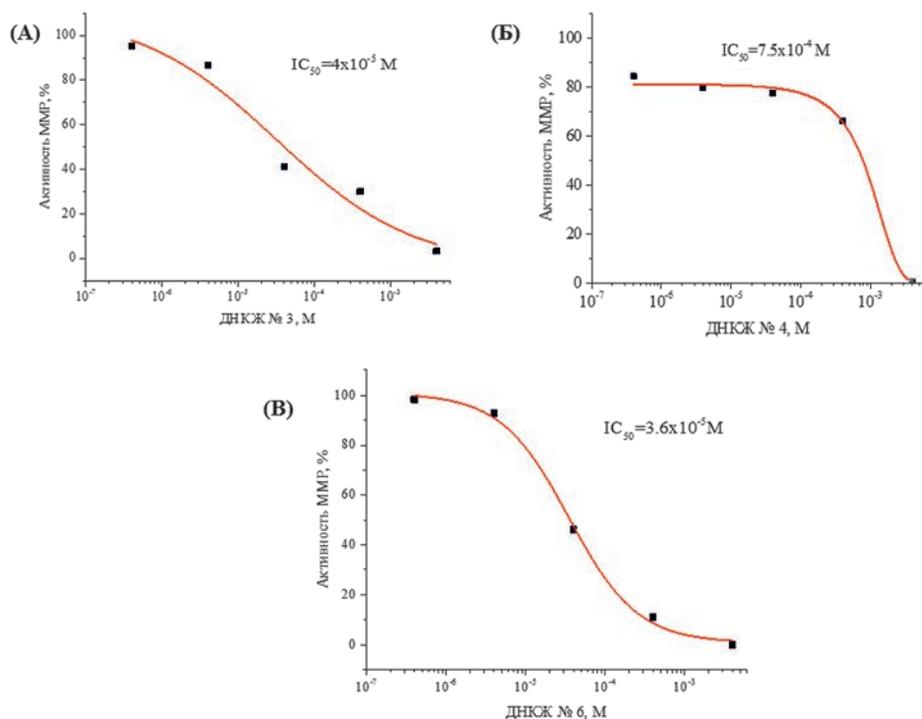


Рис. 56. Влияние различных концентраций ДНКЖ (10^{-7} – 10^{-2}) на активность ММР: А-ДНКЖ№3, Б-ДНКЖ№4, В-ДНКЖ№6

Было показано, что ингибирующее действие ДНКЖ на ММР явно зависит от дозы. Заметное подавление активности ММР происходит даже при концентрации ДНКЖ около 10 мкМ. Расчет значений IC_{50} проводили с использованием аппроксимации экспериментальных значений уравнением логистической кривой методом нелинейной регрессии. Показано, что ДНКЖ № 3 имеет $IC_{50} = 4 \times 10^{-5} \text{ M}$, ДНКЖ № 4 имеет $IC_{50} = 7,5 \times 10^{-4} \text{ M}$, ДНКЖ № 6 имеет $IC_{50} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ M}$. Установлено, что наиболее эффективными ингибиторами ММР являются ДНКЖ № 3 и № 6. Таким образом, показано, что ДНКЖ способны эффективно подавлять активность ММР в фармакологически приемлемых дозах, при этом эффективность ингибирующего действия во многом определяется структурой ДНКЖ.

Таким образом, в этом исследовании мы показали, что ДНКЖ № 3, 4 и 6 эффективно ингибируют ММР и обладают потенциалом для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (например, атеросклероза).

6.3. Ингибирование активности поли (АДФ-рибоза)-полимеразы под действием динитрозильных комплексов железа

Реакции поли-АДФ-рибозилирования, которые осуществляются поли (АДФ-рибоза)-полимеразой представляют собой обратимые пост-трансляционные модификации, влияющие на многочисленные клеточные процессы, например репарацию ДНК, транскрипцию или метаболизм. PARP-1 играет роль в репарации ДНК, гибели клеток и транскрипции про-воспалительных генов. Недавние исследования на экспериментальных моделях животных и людях установили, что PARP-1 участвует в формировании и дестабилизации атеросклеротических бляшек. Снижение активности PARP-1 с помощью фармакологического или молекулярного подхода повышает стабильность и снижает развитие, а также способствует регрессии предварительно сформировавшихся атеросклеротических бляшек. Ингибирование PARP-1 значительно снижает дифференцировку моноцитов, активацию макрофагов, инактивацию ситруин 1 (SIRT1), эндотелиальную дисфункцию, образование рубцовой ткани, гибель пенистых клеток и воспалительные реакции в бляшках, которые являются центральными в патогенезе

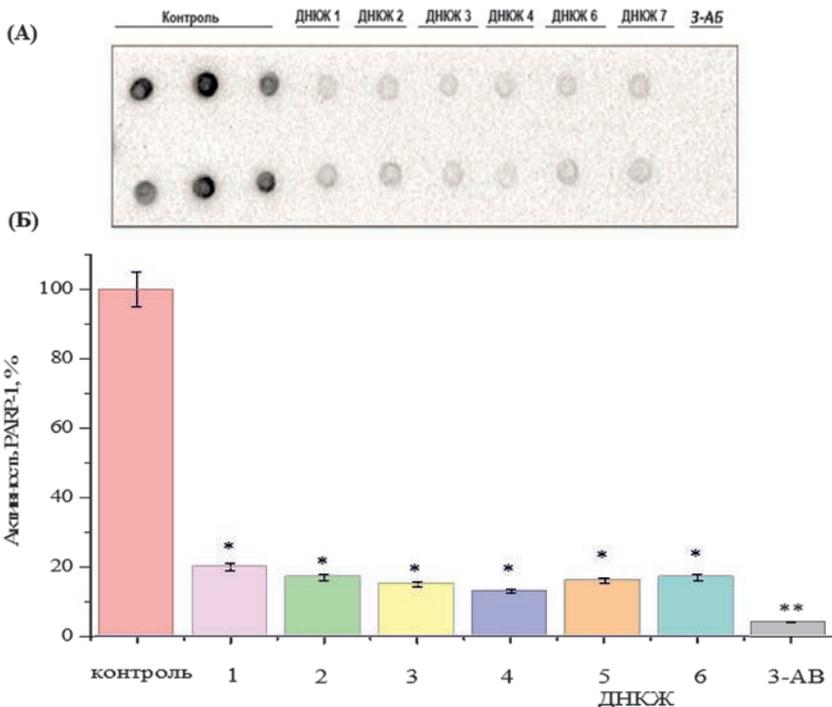


Рис. 57. Влияние ДНКЖ на скорость авто-поли (АДФ-рибозилирования) рекомбинантного PARP-1 человека: (А) – хемилюминесцентная визуализация PAR после дот-блоттинга; (Б) – результаты количественного анализа полученного изображения (хемилюминесцентное изображение): 1 – ДНКЖ № 1, 2 – ДНКЖ № 2, 3 – ДНКЖ № 3, 4 – ДНКЖ № 4, 5 – ДНКЖ № 6, 6 – ДНКЖ № 7, 3-AB (3-аминобензамид). $M \pm m$, $n = 3$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

атеросклероза [745]. Ингибирование PARP-1 может быть привлекательной мишенью для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [746].

С целью выявления молекулярных мишеней действия ДНКЖ было изучено влияние ДНКЖ (№ 1, 2, 3, 4, 6, 7) на активность рекомбинантной поли (АДФ-рибоза)-полимеразы-1 человека (hgPARP-1). Результаты количественного анализа влияния ДНКЖ при концентрации 10^{-4} М на активность PARP-1 представлены на рисунке 57.

Анализ влияния ДНКЖ на активность hgPARP-1 проводили с помощью иммунохимического анализа. Дот-блот анализ PAR показал, что все проанализированные ДНКЖ (в концентрации 100 мкМ) оказывали значительное ингибирующее действие 80-85 % на активность рекомбинантного hgPARP-1 (рисунок 57А). Остаточная активность hgPARP-1 варьировала, в зависимости от тестируемых ДНКЖ, в небольшом диапазоне – от 15 до 20%, в то время как классический ингибитор PARP-1, 3-АБ, подавлял активность PARP-1 на 98 %. Были также определены концентрации полумаксимального ингибирования активности PARP-1 (таблица 12). Показано, что IC_{50} для ДНКЖ № 3 и 4 равны 8×10^{-6} М, а для ДНКЖ № 6 – 9×10^{-6} М.

Это свидетельствует о том, что ДНКЖ являются более эффективными ингибиторами PARP-1 по сравнению с 3-аминобензамидом ($IC_{50} = 3 \times 10^{-5}$ М).

Таблица 12
Концентрации полумаксимального ингибирования активности PARP-1

| Соединение | IC_{50} , М |
|-----------------|--------------------|
| ДНКЖ № 3 | 8×10^{-6} |
| ДНКЖ № 4 | 8×10^{-6} |
| ДНКЖ № 6 | 9×10^{-6} |
| 3-Аминобензамид | 3×10^{-5} |

Полученные результаты указывают на то, что все выбранные для исследования ДНКЖ способны эффективно подавлять реакцию поли-АДФ-рибозилирования PARP-1 и могут применяться для терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, полученные результаты показали, что ДНКЖ эффективно ингибируют активность рекомбинантного PARP-1 человека.

745. Waldman M., Nudelman V., Shainberg A., Abraham N.G., Kornwoski R., Aravot D., Arad M., Hochhauser E. PARP-1 inhibition protects the diabetic heart through activation of SIRT1-PGC-1 α axis. // *Exp Cell Res*. 2018. V. 373. № 1-2. P.112–118. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.10.003.

746. Damiani R.M., Moura D.J., Viau C.M., Brito V., Morás A.M., Henriques J.A.P., Saffi J. Influence of PARP-1 inhibition in the cardiotoxicity of the topoisomerase 2 inhibitors doxorubicin and mitoxantrone. // *Toxicol In Vitro*. 2018. V. 52. P. 203–213. doi: 10.1016/j.tiv.2018.06.013.

6.4. Эффект динитрозильных комплексов железа на активность ренина

Ренин является биомаркером развития артериальной гипертензии [746–749].

Ренин представляет собой ангиотензиногеназу – компонент ренин-ангиотензиновой системы, регулирующий кровяное давление [751, 752].

Ренин является биомаркером развития артериальной гипертензии и регулирует артериальное давление и артериальную вазоконстрикцию [753]. Ингибиторы ренина важны для создания новых препаратов для лечения артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [754–756]. Известно, что оксид азота регулирует тонус мелких и средних сосудов, а вазодилатация подавляет продукцию вазоконстрикторов [757–759].

-
746. Damiani R.M., Moura D.J., Viau C.M., Brito V., Morás A.M., Henriques J.A.P., Saffi J. Influence of PARP-1 inhibition in the cardiotoxicity of the topoisomerase 2 inhibitors doxorubicin and mitoxantrone. // *Toxicol In Vitro*. 2018. V. 52. P. 203–213. doi: 10.1016/j.tiv.2018.06.013.
 747. Macchiavello S., Fardella C., Baudrand R. Update in the clinical management of low renin hypertension. // *Rev Med Chil* 2019. V. 147. P. 490–498. doi.org/10.4067/S0034-98872019000400490.
 748. Baudrand R., Vaidya A. The Low-Renin Hypertension Phenotype: Genetics and the Role of the Mineralocorticoid Receptor. // *Int J Mol Sci*. 2018. V. 19. P. 546. doi.org/10.3390/ijms19020546.
 749. Lu Y.T., Fan P., Zhang D., Zhang Y., Meng X., Zhang Q.Y., Zhao L., Yang K.Q., Zhou X.L. Overview of Monogenic Forms of Hypertension Combined With Hypokalemia. // *Front Pediatr*. 2021. V. 8. P. 543309. doi.org/10.3389/fped.2020.543309.
 750. Tapia-Castillo A., Carvajal C.A., López-Cortés X., Vecchiola A., Fardella C.E. Novel metabolomic profile of subjects with non-classic apparent mineralocorticoid excess. // *Sci Rep* 2021. V. 11. P. 17156. doi.org/10.1038/s41598-021-96628-6.
 751. Akhadov S.V., Ruzbanova G.R., Molchanova G.S., Talalaeva T.G., Khoreva S.N. The role and target level of individual components of the renin-angiotensin-aldosterone system in the development of cardiovascular complications in patients with arterial hypertension. // *Russian Journal of Cardiology*. 2009. V. 14. P. 26–32.
 752. Chappell M.C. Biochemical evaluation of the renin-angiotensin system: the good, bad, and absolute? // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016. V. 310. P. H137-152. doi.org/10.1152/ajpheart.00618.2015.
 753. Yang S., Wang Z., Guo M., Du M., Wen X., Geng L., Yu F., Liu L., Li Y., Feng L., Zhou T. UPLC-MS-Based Serum Metabolomics Reveals Potential Biomarkers of Ang II-Induced Hypertension in Mice. // *Front Cardiovasc Med*. 2021. V. 8. P. 683859. doi.org/10.3389/fcvm.2021.683859.
 754. Sutanto H., Dobrev D., Heijman J. Angiotensin Receptor-Nephrilysin Inhibitor (ARNI) and Cardiac Arrhythmias. // *Int J Mol Sci*. 2021. V. 22. P. 8994. doi.org/10.3390/ijms22168994.
 755. Hartman R.E., Rao P.S.S., Churchwell M.D., Lewis S.J. Novel therapeutic agents for the treatment of diabetic kidney disease. // *Expert Opin Investig Drugs*. 2020. V. 29. P. 1277–1293. doi.org/10.1080/13543784.2020.1811231.
 756. Corti R., Burnett J.C.J., Rouleau J.L., Ruschitzka F., Lüscher T.F. Vasopeptidase inhibitors: a new therapeutic concept in cardiovascular disease? // *Circulation*. 2001. V. 104. P. 1856–1862. doi.org/10.1161/hc4001.097191.
 757. Marques A.A.M., da Silva C.H.F., de Souza P., de Almeida C.L.B., Cechinel-Filho V., Lourenço E.L.B., Gasparotto Junior A. Nitric oxide and Ca²⁺-activated high-conductance K⁺ channels mediate nothofagin-induced endothelium-dependent vasodilation in the perfused rat kidney. // *Chem Biol Interact*. 2020. V. 327. P. 109182. doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109182.
 758. Liu T., Zhang M., Mukosera G.T., Borchardt D., Li Q., Tipple T.E., Ishtiaq Ahmed A.S., Power G.G., Blood A.B. L-NAME releases nitric oxide and potentiates subsequent nitroglycerin-mediated vasodilation. // *Redox Biol*. 2019. V. 26. P. 101238. doi.org/10.1016/j.redox.2019.101238.
 759. Jin L., Conklin D.J. A novel evaluation of endothelial dysfunction ex vivo: "Teaching an Old Drug a New Trick". // *Physiol Rep*. 2021. V. 9. P. e15120. doi.org/10.14814/phy2.15120.

Поэтому мы исследовали влияние ДНКЖ, доноров оксида азота, на активность ренина человека. Мы показали, что ДНКЖ (№ 3, 4 и 6) (в концентрации 2×10^{-4} М) ингибирует активность ренина (рисунок 58). Количественный анализ показал, что ДНКЖ ингибируют активность ренина на 46% (ДНКЖ № 3), 43% (ДНКЖ № 4) и на 50% (ДНКЖ № 6).

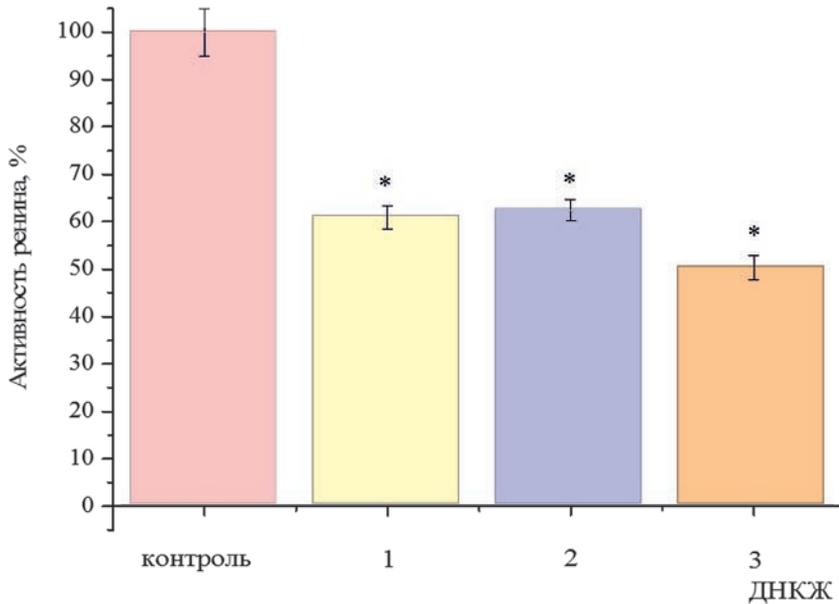


Рис. 58. Влияние ДНКЖ на активность ренина: 1 – ДНКЖ № 3; 2 – ДНКЖ № 4; 3 – ДНКЖ № 6. Здесь $M \pm m$, $n = 3$, * - $p \leq 0,05$

Определяли полумаксимальные концентрации ингибирования ренина (IC_{50}). Результаты показали, что IC_{50} для ДНКЖ № 3 составила $9,6 \times 10^{-5}$ М (рисунок 59А), для ДНКЖ № 4 – $1,25 \times 10^{-4}$ М (рисунок 59Б), а для ДНКЖ № 6 – 1×10^{-4} М (рисунок 59В).

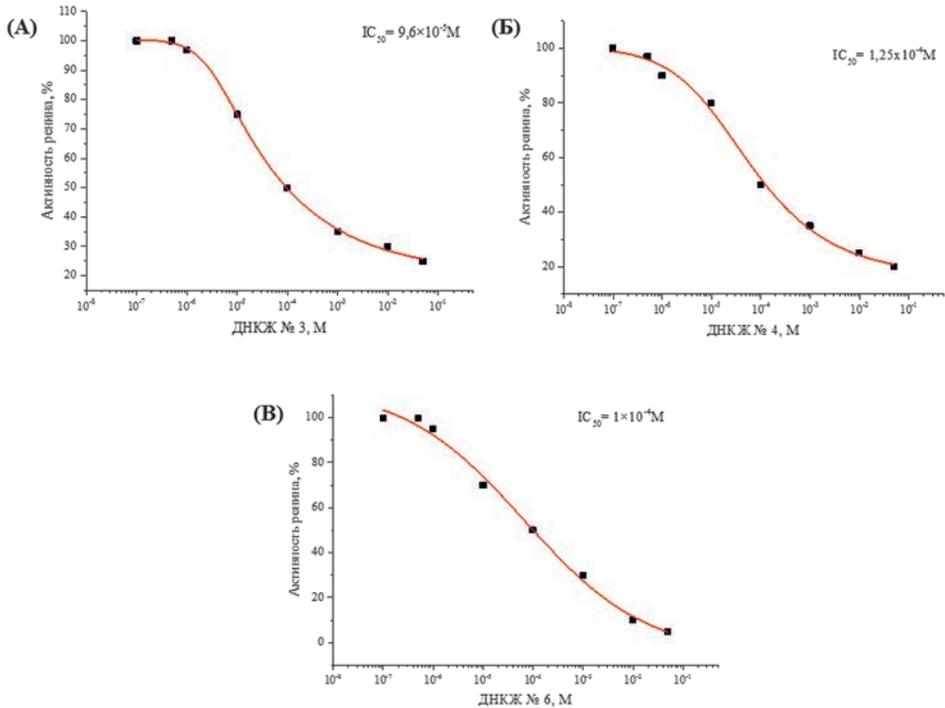


Рис. 59. Влияние различных концентраций ДНКЖ на активность ренина: А – ДНКЖ № 3, Б – ДНКЖ № 4, В – ДНКЖ № 6

Полученные данные свидетельствуют о том, что ДНКЖ № 3, 4 и 6 являются эффективными ингибиторами ренина и потенциальными препаратами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертония.

6.5. Влияние ДНКЖ на активность гистондеацетилазы

HDAC регулируют транскрипцию генов, катализируя удаление ацетильных групп из ключевых остатков лизина в нуклеосомных гистонах и рекрутируя другие эпигенетические регуляторы в промоторную область ДНК [760]. Известно, что HDAC участвуют в развитии сердечно-сосудистых заболе-

760. Gallinari P., Di Marco S., Jones P., Pallaoro M., Steinkühler C. HDACs, histone deacetylation and gene transcription: from molecular biology to cancer therapeutics. // Cell Res. 2007. V.17. P. 195–211. doi.org/10.1038/sj.cr.7310149

ваний, включая гипертрофию и ремоделирование сердца и фиброз [761]. Низкомолекулярные ингибиторы HDAC могут оказаться мощными терапевтическими агентами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, миокардита, рака и диабета [762-764].

Мы исследовали влияние ДНКЖ (№ 3, 4 и 6) на активность фермента HDAC в лизате эпителиальных клеток обезьяны. Для анализа влияния ДНКЖ на активность HDAC использовали флуоресцентный метод определения активности HDAC в лизатах фибробластов (клеточная линия *Vero*). Было показано, что эти соединения ДНКЖ № 3, 4 и 6 (в концентрации 2×10^{-4} М) не влияли на активность фермента HDAC (рисунок 60). Наблюдаемые различия в активности не были статистически значимыми.

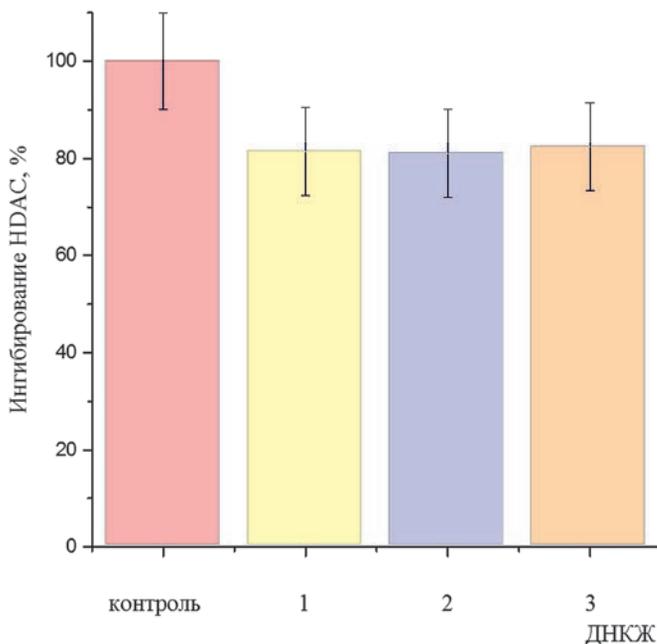


Рис. 60. Влияние ДНКЖ на активность гистондеацетилазы: 1 – ДНКЖ № 3; 2 – ДНКЖ № 4; 3 – ДНКЖ № 6. $M \pm m$, $n = 3$, * - $p < 0,05$

761. Luque-Martin R., Van den Bossche J., Furze R.C., Neele A.E., van der Velden S., Gijbels M.J.J., van Roomen C.P.P.A., Bernard S.G., de Jonge W.J., Rioja I., Prinjha R.K., Lewis H.D., Mander P.K., de Winther M.P.J. Targeting histone deacetylases in myeloid cells inhibits their maturation and inflammatory function with limited effects on atherosclerosis. // *Front. Pharmacol.* 2019. V. 10. P. 1242. doi.org/10.3389/fphar.2019.01242.
762. Bagchi R.A., Weeks K.L. Histone deacetylases in cardiovascular and metabolic diseases. // *J Mol Cell Cardiol.* 2019. V.130. P. 151–159. doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.04.003.
763. Shanmugam G., Rakshit S., Sarkar K. HDAC inhibitors: Targets for tumor therapy, immune modulation and lung diseases. // *Transl Oncol.* 2022. V. 16. P. 101312. doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101312.
764. Hamminger P., Rica R., Ellmeier W. Histone deacetylases as targets in autoimmune and autoinflammatory diseases. // *Adv Immunol.* 2020. V.147. P. 1–59. doi.org/10.1016/bs.ai.2020.06.001.

Глава VII

Цитопротекторные свойства динитрозильных комплексов железа

Поскольку NO может участвовать в регуляции метаболизма клеток, было изучено влияние ДНКЖ на метаболическую активность фибробластов и кардиомиоцитов.

7.1. Влияние динитрозильных комплексов железа на жизнеспособность клеток

В последние годы наблюдается экспоненциальный рост интереса к изучению нитрозильных комплексов переходных металлов, в частности комплексов железа, обладающих цитопротекторными свойствами [765]. Исследования показали, что различные типы доноров NO спонтанно генерируют NO в физиологических условиях и проявляют защитный эффект от ишемии или реперфузионного повреждения в кардиомиоцитах (линия клеток H9c2) и изолированных сердцах крыс [766, 767].

Однако зачастую подобные соединения характеризуются плохой водорастворимостью, являются короткоживущими и токсичными соединениями для организма [768]. С этой целью были синтезированы водорастворимые катионные динитрозильные комплексы железа и изучены их цитопротекторные свойства *in vitro*, в частности влияние на жизнеспособность и метаболические процессы фибробластов легких человека и кардиомиоцитов, оценка эффективности их действия. Мы изучили краткосрочное и долгосрочное влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток. Эффект ДНКЖ на жизнеспособность клеток исследовали на двух клеточных линиях: HLEF (фибробласты легких человека) и H9c2 (кардиомиоциты крысы). На основании предыдущих результатов для этого были выбраны наиболее эффективные ДНКЖ №3, 4 и 6. Влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) на жизнеспособность клеток оценивали с использованием флуоресцентного анализа (AlamarBlue® Cell Viability Assay).

Как видно из рисунка 61А, ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) повышали жизнеспособность фибробластов, так как через 15 минут наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции. Жизнеспособность кардиомиоцитов

765. Fitzpatrick J., Kim E. Synthetic modeling chemistry of iron-sulfur clusters in nitric oxide signaling. // Acc Chem Res. – 2015.- V.48. -№8. P. 2453–61. doi: 10.1021/acs.accounts.5b00246.

766. Hou J., He H., Huang S., Qian M., Wang J., Tan X. et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // Chem. Commun. (Camb). 2019. V. 55. № 9. P.1205–1208. doi: 10.1039/c8cc07304j.

767. Webb A., Bond R., McLean P., Uppal R., Benjamin N., Ahluwalia A. Reduction of nitrite to nitric oxide during ischemia protects against myocardial ischemia–reperfusion damage. // PNAS. 2004. V.101. № 37. P. 13683–13688. doi.org/10.1073/pnas.0402927101.

768. Rochette L., Malka G., Cottin Y. Hypoxia and heart regeneration: A new paradoxical approach for cardioprotection. // Arch Cardiovasc Dis. 2017. V. 110. № 10. P. 503–507. doi: 10.1016/j.acvd.2017.06.001.

крысы также увеличилась через 15 мин после обработки ДНКЖ по сравнению с контрольными клетками, не обработанными этими соединениями (рисунок 61Б).

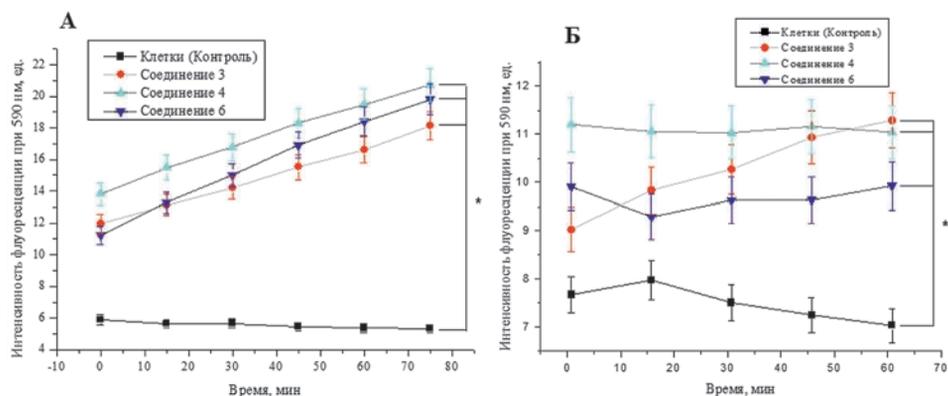


Рис. 61. Влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток эмбриональных фибробластов легких человека (клеточная линия *HLEF-104*) (А) и кардиомиоцитов крысы (клеточная линия *H9c2*) (Б) в течение 60 мин. Примечание. ДНКЖ (2×10^{-4} М) добавляли к клеткам, затем жизнеспособность клеток тестировали в фибробластах и кардиомиоцитах крыс с помощью анализа жизнеспособности клеток AlamarBlue®. *P ≤ 0,05 по сравнению с контрольной группой. Представленные значения являются средними трех независимых экспериментов, n = 3

Мы также исследовали влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток с течением времени (до 35 часов). Результаты показали, что жизнеспособность фибробластов под действием ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) постепенно повышалась и достигала максимального значения через 10 ч (рисунок 62А).

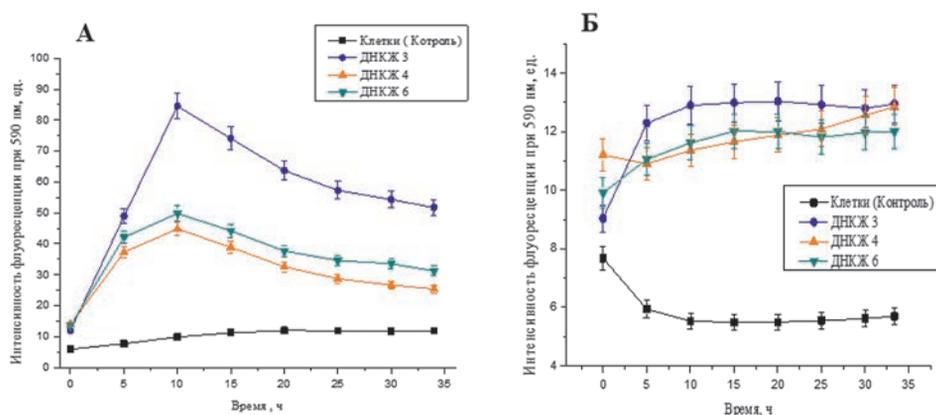


Рис. 62. Влияние ДНКЖ (№ 3, 4 и 6) на жизнеспособность клеток HLEF-104 (А) и H9c2 (Б) в течение 35 часов. $M \pm m$, n = 4, *p < 0,05

Результаты исследований показали, что все три соединения ДНКЖ (№ 3, 4 и 6) стимулировали жизнеспособность фибробластов (рисунок 62А). ДНКЖ № 3 увеличивало жизнеспособность клеток приблизительно в 8 раз, а ДНКЖ № 4 и № 6 в 5 раз по сравнению с контрольными клетками, не обработанными ДНКЖ.

Было обнаружено, что ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) также повышали жизнеспособность кардиомиоцитов крысы (рисунок 62Б). Как видно из рисунка 62Б, жизнеспособность кардиомиоцитов крыс после обработки ДНКЖ увеличилась в 2 раза по сравнению с контрольными клетками без обработки этими соединениями. Через 10 ч жизнеспособность кардиомиоцитов крыс, обработанных ДНКЖ, достигала максимального значения (12 отн. ед.). Таким образом, длительная инкубация кардиомиоцитов крысы с ДНКЖ приводила к значительному повышению их жизнеспособности и даже через 35 ч оставалась на высоком уровне по сравнению с контрольными клетками (рисунок 62Б).

Как видно из рисунка 62, максимальное повышение жизнеспособности клеток после обработки ДНКЖ наблюдалось через 600 мин (10 час), затем жизнеспособность клеток уменьшалась, однако даже через 30 час она была в 3-5 раз выше в клетках, обработанных ДНКЖ, по сравнению с контрольными, необработанными клетками. Точные значения интенсивности флуоресценции после кратковременной и длительной обработки клеток ДНКЖ представлены в таблице 13.

Таблица 13
Влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток с течением времени (15 мин, 60 мин и 10 ч)

Примечание. Данные представлены как среднее трех независимых экспериментов.

| Название соединения | Фибробласты | | | Фибробласты, обработанные доксорубицином | | | Кардиомиоциты | | |
|------------------------|-------------|--------|--------|--|--------|--------|---------------|--------|--------|
| | 15 мин | 60 мин | 10 час | 15мин | 60 мин | 10 h | 15 мин | 60 мин | 10 час |
| Клетки (контроль) | 5,639 | 5,355 | 9,869 | 8,592 | 7,642 | 7,311 | 7,979 | 7,035 | 5,527 |
| DNIC№3 | 13,135 | 16,622 | 84,602 | 7,004 | 8,122 | 23,033 | 9,837 | 11,290 | 12,90 |
| DNIC№4 | 15,498 | 19,497 | 44,838 | 9,927 | 11,795 | 21,148 | 11,053 | 11,043 | 11,361 |
| DNIC№6 | 13,290 | 18,401 | 45,315 | 8,357 | 10,187 | 11,982 | 9,290 | 9,930 | 11,618 |
| Отрицательный контроль | 1, 209 | 1,213 | 1,230 | 1,215 | 1,250 | 1,244 | 1,210 | 1,225 | 1,216 |

Эти результаты показали, что ДНКЖ значительно повышали жизнеспособность клеток фибробластов и кардиомиоцитов крысы, что свидетельствует о наличии у ДНКЖ цитотропных и цитопротекторных свойств. Поскольку анализ жизнеспособности клеток AlamarBlue® основан на определении активности митохондриальных дегидрогеназ, мы показали, что ДНКЖ по-

вышают активность митохондриальных НАДН-дегидрогеназ, играющих центральную роль в производстве клеточной энергии [769]. Следовательно, эти результаты указывают на то, что ДНКЖ являются цитотропными цитопротекторными соединениями.

7.2. Влияние ДНКЖ на доксорубин-индуцированную токсичность в фибробластах

Исследования показали, что доксорубин играет важную роль в кардиомиопатии, вызванной терапией рака [770, 771]. Для изучения защитного действия ДНКЖ на доксорубин-индуцированную токсичность использовали доксорубин-индуцированную токсическую модель на фибробластах. Клетки предварительно обрабатывали ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6), а затем добавляли к ним доксорубин, известный цитостатический противораковый препарат, который используется для лечения рака молочной железы [772].

Результаты показали, что кратковременная обработка клеток доксорубином вызывала снижение жизнеспособности клеток (рисунок 63А).

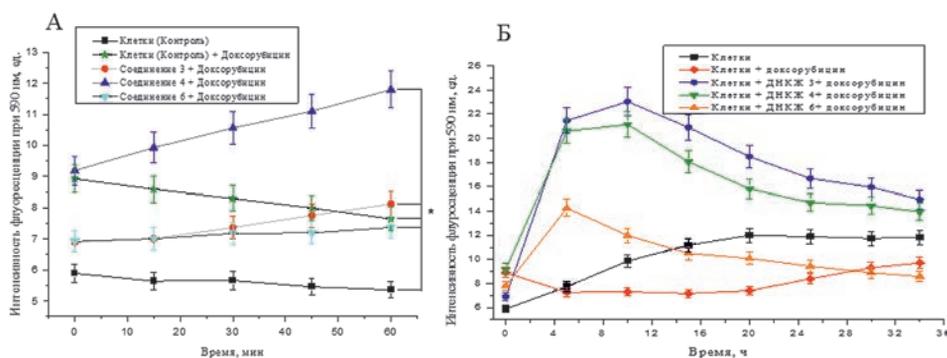


Рис. 63. Влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток фибробластов, обработанных доксорубином в течение 60 мин (А) и 35 час (Б)

Примечание. ДНКЖ (2×10^{-4} М) добавляли к клеткам HLEF-104, затем добавляли доксорубин ($1,4 \times 10^{-4}$ М, через 20 мин после обработки ДНКЖ), жизнеспособность клеток тестировали в фибробластах с помощью AlamarBlue® Cell Viability Assay после доксорубин-индуцированной токсичности. $M \pm m$, $n = 4$, $*P \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

769. Weiss H., Friedrich T., Hofhaus G., Preis D. The respiratory-chain NADH dehydrogenase (complex I) of mitochondria. // *Eur J Biochem.* 1991. V. 197. № 3. P. 563–576. doi: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb15945.x.
770. Truong J., Yan A.T., Cramarossa G., Chan K.K. Chemotherapy-induced cardiotoxicity: detection, prevention, and management. // *Can. J. Cardiol.* 2014. V. 30. № 8. P. 869–878. doi:10.1016/j.cjca.2014.04.029.
771. Adão R., de Keulenaer G., Leite-Moreira A., Brás-Silva C. Cardiotoxicity associated with cancer therapy: pathophysiology and prevention strategies. // *Rev. Port. Cardiol.* 2013. V. 32. № 5. P. 395–409. doi: 10.1016/j.repc.2012.11.002.
772. Agudelo D., Bourassa P., Bérubé G., Tajmir-Riahi H.A. Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity. // *J. Photochem. Photobiol.* 2016. V. 158. P. 274–279. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.02.032.

В то же время инкубация клеток с ДНКЖ + доксорубицин показала увеличение жизнеспособности клеток с течением времени (рисунок 63А; 15, 60 мин). Это свидетельствовало о том, что ДНКЖ снижали токсическое действие доксорубицина на клетки, и этот защитный эффект развивался с течением времени. Следует отметить, что максимальное токсическое действие доксорубицина наблюдалось только через 10 ч (рисунок 63Б).

Длительная обработка клеток ДНКЖ + доксорубицин повышала жизнеспособность клеток и защищала клетки от токсического действия доксорубицина (рисунок 63Б). Из рисунка 63 видно, что доксорубицин вызывал понижение жизнеспособности клеток, в то время как клетки, обработанные соединениями № 3, 4 и 6, сохраняли повышенную жизнеспособность, их выживаемость была в 2-3 раза выше, чем в необработанных клетках, в течение 500 мин. Максимальный эффект ДНКЖ также наблюдался через 10 ч. Через 10 ч жизнеспособность клеток медленно снижалась, однако даже через 35 ч клетки, обработанные ДНКЖ, имели более высокую жизнеспособность по сравнению с контрольными клетками (не обработанными ДНКЖ). Все ДНКЖ проявляли защитный эффект, однако ДНКЖ № 3 и № 4 обладали наиболее выраженным защитным эффектом. Точные значения интенсивности флуоресценции после обработки ДНКЖ + доксорубицин представлены в таблице 13.

Таким образом, результаты показали, что доксорубицин вызывал снижение жизнеспособности клеток, тогда как клетки, обработанные ДНКЖ, сохраняли более высокую жизнеспособность, в частности их выживаемость была в 2-3 раза выше, чем у необработанных клеток. Эти данные свидетельствуют о том, что ДНКЖ обладают цитопротекторными свойствами. Эти результаты также показали, что ДНКЖ № 3, № 4 являются наиболее эффективными протекторами против доксорубицин-индуцированной цитотоксичности в фибробластах. Таким образом, эти данные свидетельствуют о том, что ДНКЖ являются эффективными цитопротекторами длительного действия, защищающими клетки от токсического действия доксорубицина.

7.3. Влияние динитрозильных комплексов железа на митохондриальный мембранный потенциал

Поскольку ДНКЖ повышали жизнеспособность фибробластов, мы исследовали влияние ДНКЖ на митохондриальный мембранный потенциал. Из литературы известно, что монооксид азота способен ингибировать дыхательные пути в митохондриях [773]. Установлено, что некоторые химические соединения избирательно накапливаются в митохондриях, снижают их мембранный потенциал и тем самым проявляют цитопротекторные свойства, и эти соединения могут быть использованы для предотвращения тяжелых неврологических нарушений после ишемического инсульта [773].

773. Joshi D.C., Bakowska J.C. Determination of mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species in live rat cortical neurons. // J. Vis. Exp. 2011. V. 51. P. 2704. doi: 10.3791/2704.

Чтобы определить влияние ДНКЖ на функцию митохондрий, мы исследовали влияние ДНКЖ на митохондриальный мембранный потенциал фибробластов и кардиомиоцитов. Результаты показали, что ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) снижали $\Delta\Psi_m$ в 2-3 раза в фибробластах (рисунок 64).

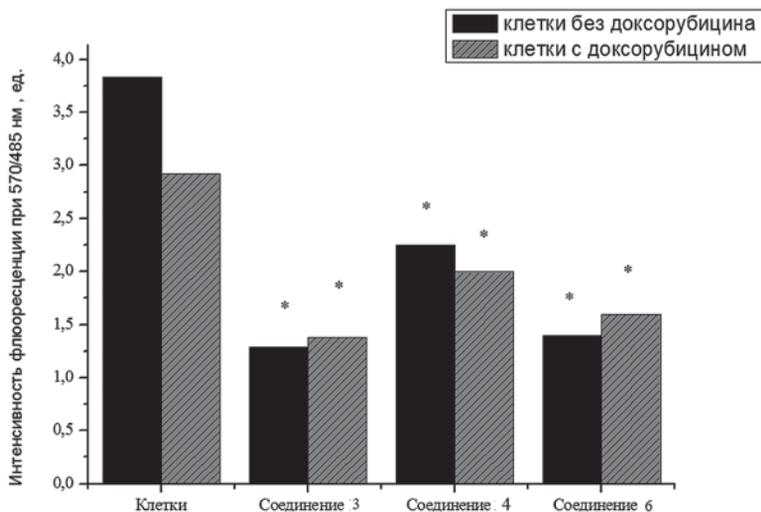


Рис. 64. Влияние ДНКЖ на митохондриальный мембранный потенциал ФЛЭЧ

Результаты также показали, что ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) снижали уровень $\Delta\Psi_m$ в 2-3 раза в кардиомиоцитах (рисунок 65).

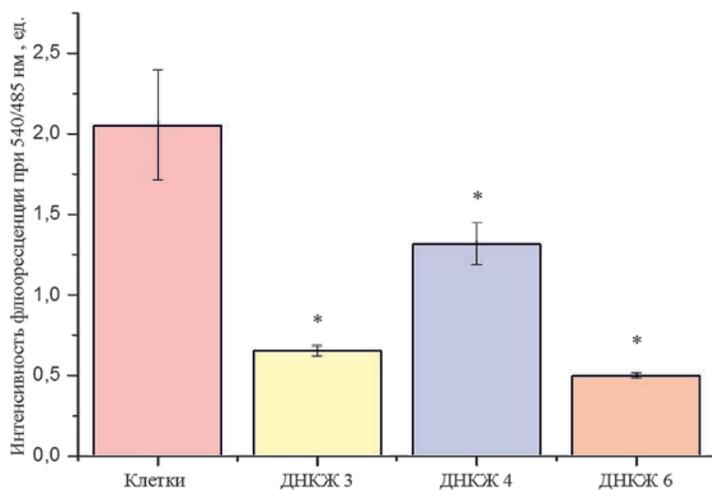


Рис. 65. Влияние ДНКЖ (№ 3, 4 и 6, концентрация 2×10^{-4} М) на митохондриальный мембранный потенциал кардиомиоцитов. $M \pm m$, $n = 4$, $*p < 0,05$

Прежде всего, эти результаты показали, что ДНКЖ влияют на митохондриальную функцию клеток. Мы предполагаем, что ДНКЖ организуют утечку избыточного заряда через митохондриальную мембрану.

7.4. Влияние динитрозильных комплексов железа на митохондриальный мембранный потенциал клеток в присутствии доксорубина

Уменьшение мембранного потенциала также наблюдалось при обработке клеток ДНКЖ в присутствии доксорубина (рисунок 66). Доксорубин является известным противоопухолевым антибиотиком антрациклинового ряда, оказывает антимитотическое и антипролиферативное действие на клетки. Механизм действия доксорубина заключается во взаимодействии с ДНК, образовании свободных радикалов и прямом воздействии на мембраны клеток с подавлением синтеза нуклеиновых кислот. Поэтому при лечении раковых заболеваний доксорубином наблюдается увеличение продукции в «энергетических станциях клеток» митохондриях свободных радикалов, которые оказывают негативное воздействие на различные структуры как опухолевых, так и нормальных клеток в результате окислительного стресса. Это сопровождается многочисленными побочными эффектами доксорубина, оказывающими токсичное действие на весь организм, например со стороны сердечно-сосудистой системы наблюдается кардиомиопатия, сердечная недостаточность, аритмия. Этот процесс напрямую зависит от величины митохондриального мембранного потенциала – чем он выше, тем больше свободных радикалов производит митохондрия. Понизить негативный эффект доксорубина на нормальные клетки, связанный с окислительным стрессом, можно, организовав утечку избыточного заряда через митохондриальную мембрану. Этот защитный механизм называется разобщением окислительного фосфорилирования, он используется клетками различных тканей в естественных условиях, но его можно запустить и при помощи синтетических соединений. Результаты нашего исследования показали, что ДНКЖ понижают митохондриальный мембранный потенциал и, возможно, что они запускают механизм разобщения окислительного фосфорилирования и тем самым повышают жизнеспособность фибробластов.

Для выяснения, является ли снижение мембранного потенциала постоянным или кратковременным, было изучено влияние ДНКЖ на митохондриальный мембранный потенциал через 10 часов. Результаты представлены на рисунке 66.

Результаты показали, что снижение $\Delta\Psi$ под действием ДНКЖ является временным и через 10 часов митохондриальный мембранный потенциал восстанавливается до исходного уровня.

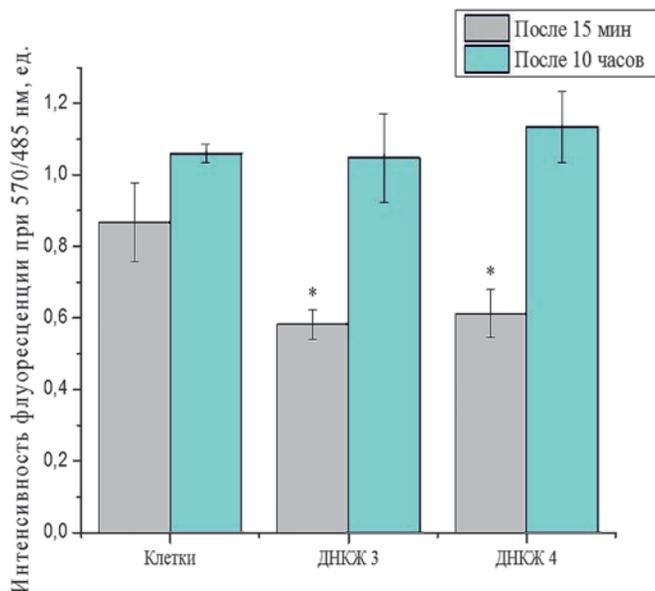


Рис. 66. Влияние ДНКЖ (№ 3 и 4, концентрация 2×10^{-4} М, конечная концентрация) на митохондриальный мембранный потенциал Н9с2 после 15 мин и 10 часов. $M \pm m$, $n = 4$, $*p < 0,05$

7.5. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень внутриклеточного восстановленного глутатиона

Исследования показали, что некоторые сердечно-сосудистые препараты могут также обладать антиоксидантными свойствами, как это было показано для некоторых блокаторов кальциевых каналов и антагонистов β -адренорецепторов [774]. Несколько синтетических соединений, в том числе поглотители свободных радикалов и агенты, разрушающие свободные радикалы, в настоящее время исследуются в различных клинических условиях, включая сахарный диабет и острый ишемический инсульт, при которых продемонстрировано нейропротекторное действие [775]. Чтобы выяснить, обладают ли ДНКЖ антиоксидантными свойствами, мы оценили влияние ДНКЖ на уровень восстановленного глутатиона в фибробластах и кардиомиоцитах. Известно, что глутатион определяет окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды и защищает клетку от токсичных свободных радикалов [776]. В клетке глутатион находится в восстановленном

774. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Magagna A., Pasini A. F., Garbin U. et al. Effect of calcium antagonist or beta blockade treatment on nitric oxide-dependent vasodilation and oxidative stress in essential hypertensive patients. // *J. Hypertens.* 2001. V. 19. P. 1379–1386.

775. Margaill I., Plotkine M., Lerouet D. Antioxidant strategies in the treatment of stroke. // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. V. 39. P. 429–443.

776. Struzyńska L., Chalimoniuk M., Sulkowski G. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. // *Toxicology.* 2005. V. 212. № 2-3. P. 185–194. doi: 10.1016/j.tox.2005.04.013.

Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота) – перспективные препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний

состоянии, однако при взаимодействии с белками он переходит в окисленный глутатион, а затем окисленный глутатион быстро восстанавливается под действием фермента глутатионредуктазы, который постоянно находится в клетке в активном состоянии и индуцируется при окислительном стрессе. Соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона в клетке является одним из важнейших параметров, который показывает на уровень окислительного стресса. Мы исследовали влияние ДНКЖ на уровень восстановленного глутатиона. Результаты показали, что ДНКЖ № 3, № 4 и № 6 не влияли на уровень восстановленного глутатиона ни в фибробластах, ни в кардиомиоцитах (рисунок 67А, Б, соответственно). Таким образом, результаты показали, что ДНКЖ поддерживали внутриклеточный уровень GSH и окислительный стресс в клетках отсутствовал.

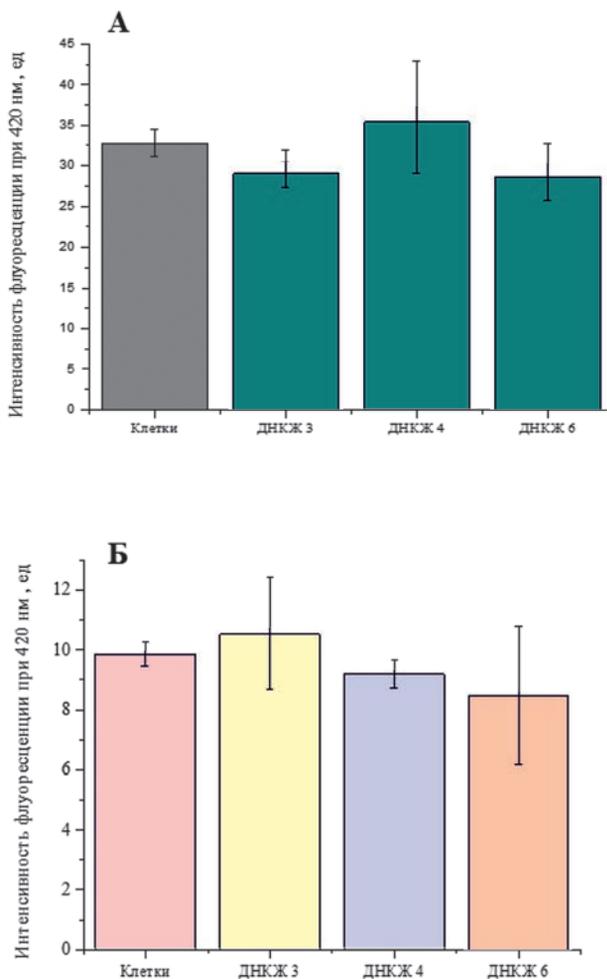


Рис. 67. Влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6, концентрация $2 \times 10^{-4} \text{M}$) на уровень глутатиона в клетках HLEF (А) и H9c2 (Б). $M \pm m, n = 3$

7.6. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень аденозинтрифосфата в клетках

Нами было исследовано влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) на уровень АТФ в фибробластах (рисунок 68).

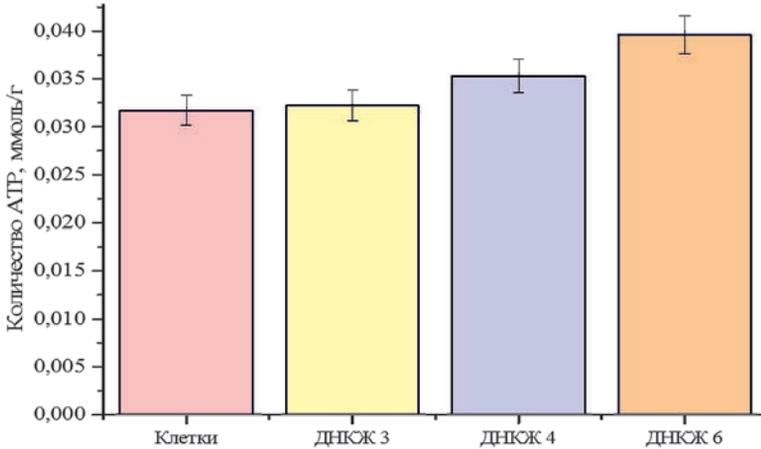


Рис.68. Влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6, концентрация 2×10^{-4} М) на уровень АТФ в HLEF. $M \pm m$, $n = 3$

Результаты продемонстрировали, что ДНКЖ не влияли на уровень АТФ в фибробластах.

7.7. Влияние ДНКЖ на активность АТФ-азы в клеточных лизатах фибробластов

Данные о влиянии NO на активность АТФ-азы противоречивы. Ранее было показано, что доноры NO ингибируют активность Na^+/K^+ -АТФ-азы мозга и почек свиней [777]. В то же время показано, что NO регулирует внутриклеточный уровень Na^+ и Ca^{2+} в сердце за счет повышения активности Na^+/K^+ -АТФ-азы [778, 779]. В частности, NO (спермин-NONO-at) стимулировал Na^+/K^+ -АТФ-азу посредством фосфорилирования и тем

777. De Lourdes Barriviera M., Fontes C. F., Hassón-Voloch A., Louro S. R. Influence of nitric oxide donors on the intrinsic fluorescence of Na^+/K^+ -ATPase and effects on the membrane lipids. // Nitric Oxide. 2005. V. 13. № 1. P. 10–20.

778. Bogdanova A., Petrushanko I.Y., Hernansanz-Agustin P., Martinez-Ruiz A. Oxygen Sensing by Na^+/K^+ -ATPase: These Miraculous Thiols. // Frontiers in Physiology. 2016. V. 7. P. 314. doi.org/10.3389/fphys.2016.00314.

779. Pirkmajer S., Chibalin A. V. NO turns on Na^+/K^+ -ATPase in skeletal muscle. // ActaPhysiol. (Oxf). 2016. V. 216. № 4. P. 386–391. doi: 10.1111/apha.12652.

самым ограничивал уровень Na^+ и Ca^{2+} и уменьшал аритмию [780, 781]. Для дальнейшего изучения роли ДНКЖ мы оценили влияние ДНКЖ на уровень активности АТФ-азы в фибробластах. В результате было выявлено, что ДНКЖ № 3 незначительно повышал уровень АТФ-азной активности, а ДНКЖ № 4 и № 6 незначительно понижали уровень активности этого фермента (рисунок 69).

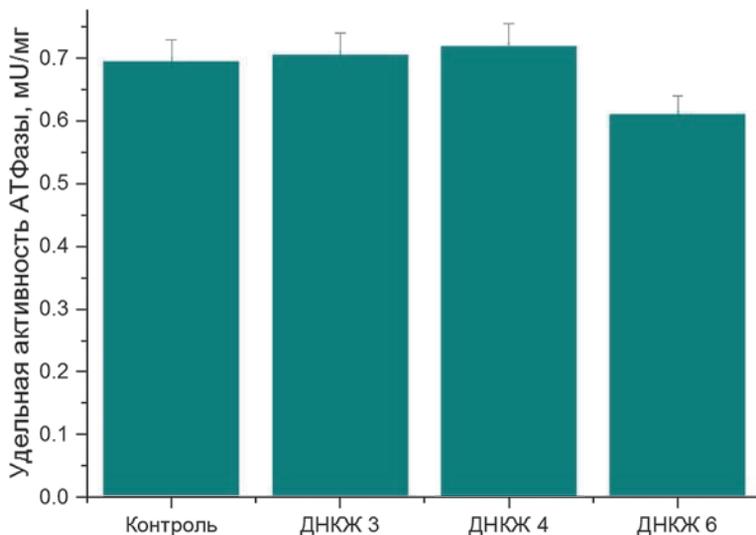


Рис. 69. Влияние ДНКЖ на АТФазную активность в лизатах, приготовленных из фибробластов

Примечание. Лизаты (1,5 мг/мл) предварительно инкубировали 15 мин при 40°C без добавок (1) или в присутствии ДНКЖ № 3, ДНКЖ № 4 или ДНКЖ № 6. Затем измеряли активность АТФ-азы. Данные представлены как средние значения для 3 независимых экспериментов. Различия между контрольными клетками и клетками, обработанными ДНКЖ, считались значимыми при $*p \leq 0,05$ с помощью ANOVA с последующим Tukey's тестом.

Однако эти различия не были статистически значимыми. Следовательно, эти результаты показали, что ДНКЖ не влияют на активность АТФ-азы в фибробластах, ее активность остается постоянной при обработке ДНКЖ.

780. Pavlovic D., Hall A. R., Kennington E. J., Aughton K., Boguslavskyi A., Fuller W. et al. Nitric oxide regulates cardiac intracellular Na^+ and Ca^{2+} by modulating Na/K ATPase via PKC ϵ and phospholemman-dependent mechanism. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2013. V. 61. P. 164–171. doi:10.1016/j.yjmcc.2013.04.013.

781. Lu K., Chang G., Ye L., Zhang P., Li Y., Zhang D. Protective effects of extendin-4 on hypoxia/reoxygenation-induced injury in H9c2 cells. // *Mol. Med. Rep.* 2015. V. 2. P. 3007–3016. doi: 10.3892/mmr.2015.3682.

7.8. Влияние динитрозильных комплексов железа на уровень активных форм кислорода в клетках

Клеточный окислительно-восстановительный гомеостаз поддерживается за счет баланса между образованием АФК и успешным устранением АФК за счет клеточной антиоксидантной способности [782]. Сообщается, что оксид азота, генерируемый высокими концентрациями ДНКЖ, взаимодействует в митохондриях с супероксидом и образует пероксинитрит (ONOO-), который является мощным окислителем [783, 784]. Активные формы кислорода играют важную роль сигнальных молекул, но и их накопление при патологии приводит к окислительному стрессу. Основным источником АФК в клетках является процесс окислительного фосфорилирования. Митохондриальная дисфункция и окислительный стресс замешаны в патофизиологии многих заболеваний, поэтому определение АФК может представлять важную информацию о физиологическом состоянии клетки и функции митохондрий. Чтобы исследовать участие ДНКЖ в окислительном стрессе, мы изучили влияние ДНКЖ на уровень АФК в фибробластах (рисунок 70).

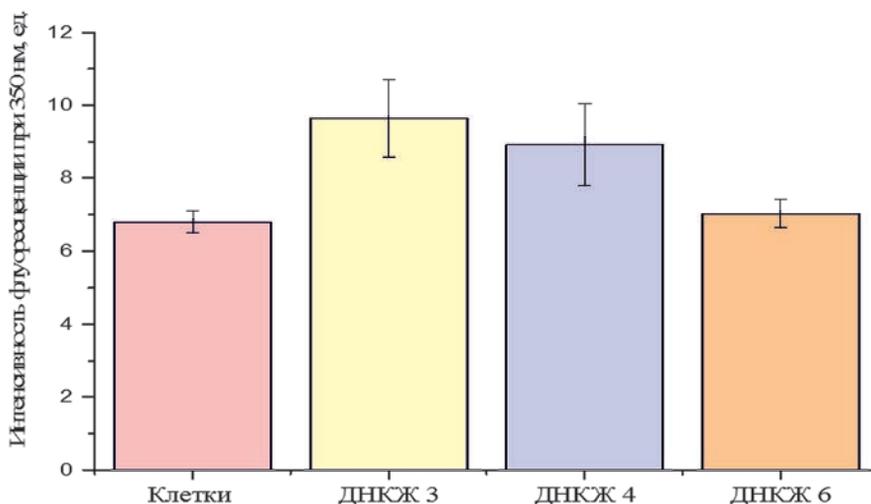


Рис. 70. Влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6, концентрация $2 \times 10^{-4} \text{M}$) на уровень АФК в HLEF. $M \pm m$, $n = 3$, $*p < 0,05$

782. Xiao W., Wang R. S., Handy D. E., Loscalzo J. NAD(H) and NADP(H) redox couples and cellular energy metabolism. // *Antioxid. Redox. Signal.* 2018. V. 28. № 3. P. 251–272. doi: 10.1089/ars.2017.7216.
783. Ferrer-Sueta G., Campolo N., Trujillo M., Bartesaghi S., Carballal S., Romero N. et al. Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. // *Chem. Rev.* 2018. V. 118. № 3. P. 1338–1408. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00568.
784. Scicinski J., Oronsky B., Ning S., Knox S., Peehl D., Kim M. M. et al. NO to cancer: the complex and multifaceted role of nitric oxide and the epigenetic nitric oxide donor, RRx-001. // *Redox Biol.* 2015. V. 6. P. 1–8. doi: 10.1016/j.redox.2015.07.002.

Результаты показали, что при инкубации клеток с ДНКЖ соединения № 3 и № 4 незначительно увеличивали уровень АФК, тогда как соединение № 6 не влияло на уровень АФК в фибробластах. Таким образом, не наблюдалось существенной разницы в уровне АФК между контрольными образцами (без ДНКЖ) и образцами с низкой дозой ДНКЖ (2×10^{-4} М) ($P > 0,05$).

Следовательно, приведенные выше результаты показывают, что ДНКЖ не влияют на уровень АФК при введении этой дозы. Это свидетельствует о том, что ДНКЖ не вызывают физиологических нарушений фибробластов.

Таким образом, результаты исследования показали, что соединения ДНКЖ можно отнести к категории катионных разобщителей, химическая структура которых, вероятно, позволяет им избирательно накапливаться в митохондриях и снижать избыточный митохондриальный потенциал. Эти соединения не нарушают жизненно важных метаболических процессов в клетке, а наоборот, оказывают защитный эффект и повышают жизнеспособность фибробластов. Это указывает на то, что эти соединения имеют потенциал для лечения ССЗ (ишемии, инсульта) и кардиологических заболеваний онкологических больных.

Глава VIII

Цитотоксичная активность динитрозильного комплекса железа на клетках множественной миеломы

Множественная миелома – это заболевание крови, возникающее в костном мозге и тесно связанное с лимфомой и лейкоемией [785]. Эффективного лечения миеломы на сегодня не существует, терапия направлена на замедление прогрессирования заболевания. Поэтому поиск новых препаратов для лечения множественной миеломы является актуальным. Соединения, выделяющие монооксид азота NO, представляют растущий класс перспективных противоопухолевых препаратов. Молекула NO связывается с широким спектром молекулярных мишеней в клетке [786]. При высоких концентрациях (>1 мкМ) оксид азота метаболизируется в клетке с образованием таких соединений, как пероксинитрит или N₂O₃, которые являются цитотоксичными и проявляют противоопухолевый эффект [784]. Установлено, что оксид азота ингибирует деление и стимулирует апоптоз опухолевых клеток [787]. Показано, что соединение JS-K (донор NO) является эффективным ингибитором рака крови на моделях *in vitro* и *in vivo* [788]. Ранее мы показали, что ДНКЖ7 активирует активность фермента миелопероксидазы, что свидетельствует о его цитостатических свойствах [789].

Целью настоящего исследования был синтез водорастворимого динитрозильного комплекса железа (ДНКЖ, донора NO), изучение его действия на жизнеспособность опухолевых клеток множественной миеломы человека (ММ, клеточная линия RPMI 8226), любезно предоставленной С.С. Шущановым (ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва). Происхождение указанной линии клеток: человек, костный мозг, миелома. В опытах исследовали особенности влияния на клетки моноядерного ДНКЖ7 с функциональными серосодержащими лигандами: соединение № 7-[Fe(SC(NHCH₃)₂)₂(NO)₂]BF₄. Этот ДНКЖ7 выделяет NO при растворении в протонных растворителях вследствие диссоциации [790].

-
785. Costa F., Das R., Kini Bailur J., Dhodapkar K., Dhodapkar M.V. Checkpoint Inhibition in Myeloma: Opportunities and Challenges. // Front Immunol. 2018. V. 9. P. 2204. doi:10.3389/fimmu.2018.02204.
786. Rigas B., Sun Y. Induction of oxidative stress as a mechanism of action of chemopreventive agents against cancer. // Br J Cancer. 2008. V. 98. № 7. P.1157–1160. doi: 10.1038/sj.bjc.6604225.
787. Maciag A.E., Holland R. J., Robert Cheng Y.S., Rodriguez L. G., Saavedra J. E., Anderson L. M., Keefer L. K. Nitric oxide-releasing prodrug triggers cancer cell death through deregulation of cellular redox balance. // Redox Biology. 2013. V. 1. P. 115–124.
788. Liu B., Huang X., Li Y., Liao W., Li M., Liu Y., He R., Feng D., Zhu R., Kurihara H. JS-K, a nitric oxide donor, induces autophagy as a complementary mechanism inhibiting ovarian cancer. // BMC Cancer. 2019. V. 19. № 1. P. 645. doi: 10.1186/s12885-019-5619-z.
789. Akentieva N.P., Sanina N.A., Gizatullin A.R., Shmatko N.Y., Goryachev N.S., Shkondina N.I., Prihodchenko T.R., Aldoshin S.M. The inhibitory effect of dinitrosyl iron complexes (NO donors) on myeloperoxidase activity. // Dokl Biochem Biophys. 2017. V. 477. № 1. P. 389–393. doi: 10.1134/S1607672917060126.
790. Венкатараман К. Химия синтетических красителей. Пер. с англ. Под ред. Л.С. Эфроса. Л., «Химия», 1977. . Т. 5. 432 с.

Подсчет живых и мертвых клеток с помощью трипанового синего показал, что изначально все клетки были живыми (960 000 клеток) (таблица 14).

Таблица 14
Определение цитотоксичности ДНКЖ7 на клетках ММ

| Название эксперимента | Общее количество клеток | Количество живых клеток | Количество мертвых клеток/мл | Цитотоксический индекс, % |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------------|
| До добавления ДНКЖ7 к клеткам ММ | 960 000 | 960 000 | 0,0 | 0,0 |
| После добавления ДНКЖ7 к клеткам ММ | 960 000 | 280 000 | 680 000 | 70,8 |

Однако после инкубации клеток с ДНКЖ7 количество живых клеток уменьшилось до 280 000, а количество мертвых клеток выросло до 680 000. Это указывает на то, что соединение ДНКЖ7 проявляет цитотоксические свойства, цитотоксический индекс ДНКЖ7 составляет 70,8%. Чтобы понять, отчего наблюдается гибель клеток, мы исследовали влияние ДНКЖ7 на активность митохондриальных дегидрогеназ, которые отвечают за синтез АТФ в клетке. Результаты исследований показали, что предварительная инкубация клеток ММ с ДНКЖ7 ($3,3 \times 10^{-3} \text{M}$) в течение 24 часов ингибировала активность митохондриальных дегидрогеназ на 55% по сравнению с контрольными клетками, не обработанными ДНКЖ7 (рисунок 71).

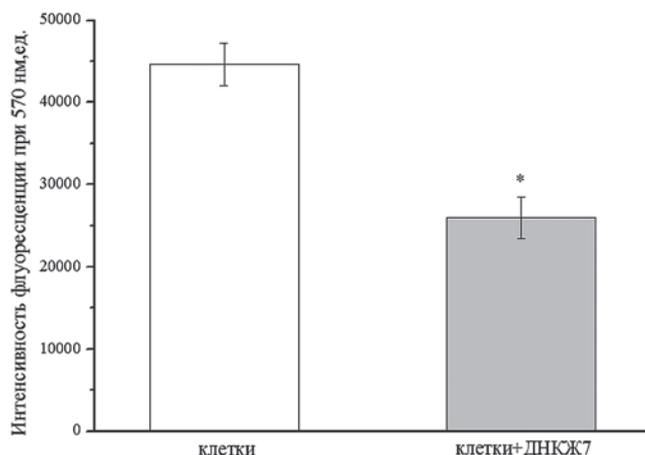


Рис. 71. Влияние ДНКЖ7 на жизнеспособность клеток ММ. Здесь и на рис. 72–74 $M \pm m$, $n = 4$

Эти результаты также показали, что ДНКЖ7 понижает жизнеспособность опухолевых клеток. Для того чтобы понять молекулярный механизм действия ДНКЖ7 на клетки ММ, мы исследовали эффект этого соединения на клеточный цикл ММ. Различные стадии клеточного цикла отличаются по содержанию ДНК в клетке. Мы анализировали влияние ДНКЖ7 на кле-

точный цикл ММ с помощью окрашивания клеток пропидидиум йодидом, который связывает ДНК и интенсивность флуоресценции которого пропорциональна количеству связанного ДНК. С помощью гистограммы интенсивности флуоресценции мы выделяли клетки в SubG1, G1-, S- и G2/M-фазах клеточного цикла (рисунок 72).

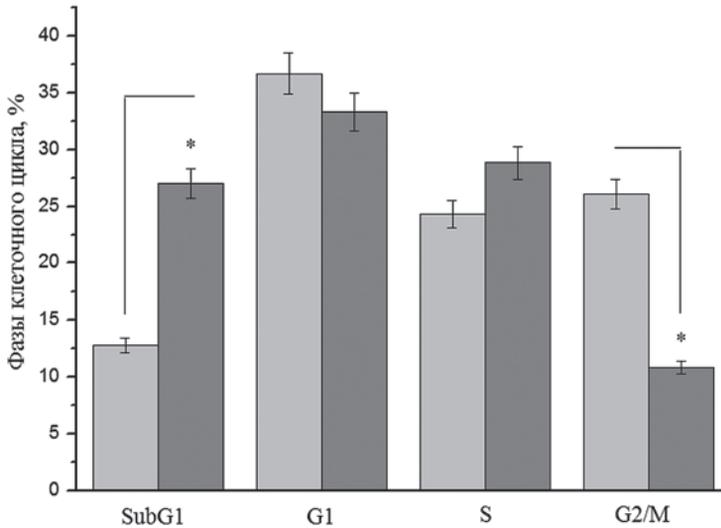


Рис. 72. Влияние ДНКЖ7 на профиль клеточного цикла ММ

Как видно из рисунка 72, фазы G1 и S являются практически одинаковыми для контрольного и экспериментального образца (после инкубации клеток с ДНКЖ7). Фаза S, при которой происходит репликация ДНК клеточного ядра, составляет 24,35 и 28,82%, соответственно, для контрольного и экспериментального образца. Однако фаза клеточного деления (G2/M) для контрольных клеток равна 26,11%, а для экспериментальных клеток после инкубации с ДНКЖ7 эта фаза значительно уменьшается и составляет только 10,86%. Эти данные указывают на то, что ДНКЖ7 влияет на деление клеток и ингибирует пролиферацию клеток ММ в 2,5 раза. Важным условием для жизнеспособности клетки является сохранение оптимального соотношения восстановленного глутатиона (GSH) к окисленному (GSSG) – GSH/GSSG. Глутатион играет ключевую роль в редокс-регуляции основных процессов жизнедеятельности клетки, а именно – в регуляции клеточного цикла, образовании энергии, апоптозе, пролиферации, дифференцировке, фолдинге белков, транскрипции, репарации ДНК, сигналинге, антиоксидантной защите [791]. Недавние исследования показали, что GSH накапли-

791. García-Giménez J.L, Markovic J., Dasí F., Queval G., Schnaubelt D., Foyer C.H., Pallardó F.V. Nuclear glutathione. // Biochim Biophys Acta. 2013. V.1830. № 5. P. 3304–3316. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.10.005.

вадается в ядре в начале G1-фазы, поэтому он может играть важную роль в сохранении редокс-статуса ядра во время клеточного цикла [792]. Снижение уровня GSH ниже показателей нормы служит индикатором нарушения клеточного редокс-статуса и изменения редокс-зависимой регуляции генов. Глутатион присутствует в клетке в основном в восстановленной форме, тогда как количество окисленного глутатиона не превышает 1% от его общего внутриклеточного содержания. Поэтому мы исследовали влияние ДНКЖ7 на уровень восстановленного глутатиона в клетках ММ. Результаты показали, что ДНКЖ7 понижал уровень восстановленного глутатиона в 5 раз, что свидетельствует об индукции окислительного стресса в клетке (рисунок 73).

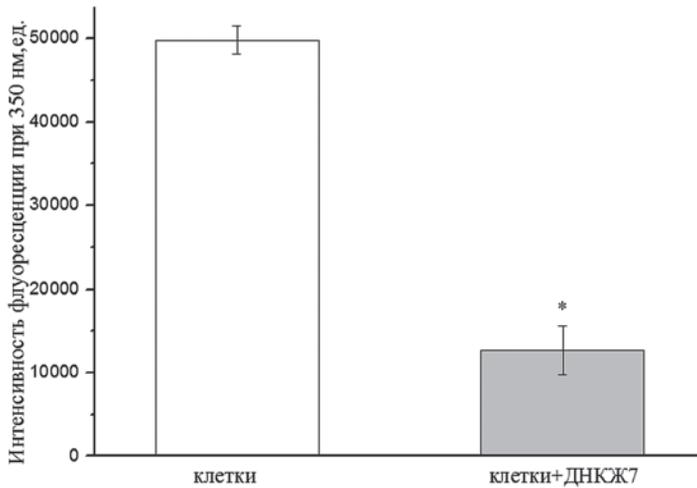


Рис. 73. Влияние ДНКЖ7 на уровень глутатиона в клетках ММ

Возможно, что ингибирование пролиферации клеток во время клеточного цикла под действием ДНКЖ7 связано с понижением уровня глутатиона в клетке. Снижение уровня GSH в цитоплазме в фазе G1 может также способствовать росту активных форм кислорода. Состояние системы тиол/дисульфид определяется клеточным редокс-статусом, характеризующимся соотношением GSH/GSSG. При физиологических условиях GSH/GSSG составляет 100:1, что минимизирует окислительное действие АФК. Нарушение данного соотношения оказывает существенное влияние с точки зрения редокс-регуляции функционирования белков на процессы сигнальной трансдукции, контроля экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференцировки, состояния клеточного метаболизма и жизнедеятельности.

792. Cai Z., Yan L.J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. // J Biochem Pharmacol Res. 2013. V. 1. № 1. P. 15–26.

тельности клетки в целом [793]. Поддержание оптимального соотношения GSH/GSSG в клетке является существенным для нормального ее функционирования и выживания. Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения. Мы исследовали влияние ДНКЖ7 на уровень АФК в клетках ММ (рисунок 74).

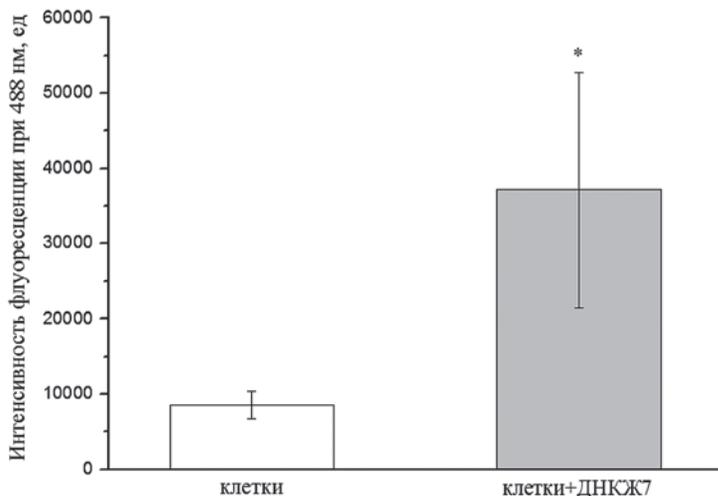


Рис. 74. Влияние ДНКЖ7 на уровень активных форм кислорода в клетках ММ

Результаты показали, что инкубация клеток с ДНКЖ7 увеличивала уровень АФК в раковых клетках в 4 раза. Это свидетельствует о том, что ДНКЖ7 вызывает активное образование АФК, которые губительно влияют на рост опухолевых клеток.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что ДНКЖ7 можно отнести к категории цитотоксичных соединений, способных индуцировать окислительный стресс в клетках и тем самым вызывать гибель опухолевых клеток ММ. Результаты исследования показали, что ДНКЖ7 обладает цитотоксическими свойствами и, следовательно, имеет потенциал для лечения множественной миеломы.

793. Manevich Y., Townsend D.M., Hutchens S., Tew K.D. Diazeniumdiolate mediated nitrosative stress alters nitric oxide homeostasis through intracellular calcium and S-glutathionylation of nitric oxide synthetase. // PLoS One. 2010. V. 5. № 11. P. e14151. doi: 10.1371/journal.pone.0014151.

Глава IX

Таргетная доставка ДНКЖ в составе наночастиц в клетки

9.1. Исследование физико–химических свойств наночастиц хитозан-гиалуроновая кислота: размер и дзета-потенциал

Наночастицы (хитозан-гиалуроновая кислота) были получены с помощью метода физической ассоциации за счет ионной самосборки молекул гиалуроновой кислоты (отрицательно заряженных) и молекул хитозана (положительно заряженных) в наногели. Полученные наночастицы (НА:СS {4:1}) были гидрофильными за счет НА. Показано, что наночастицы (НА:СS {4:1}) имели сферическую морфологию и размер приблизительно равный 100 нм (рисунок 75). Наночастицы были однородными, гомогенными по своему размеру и форме.

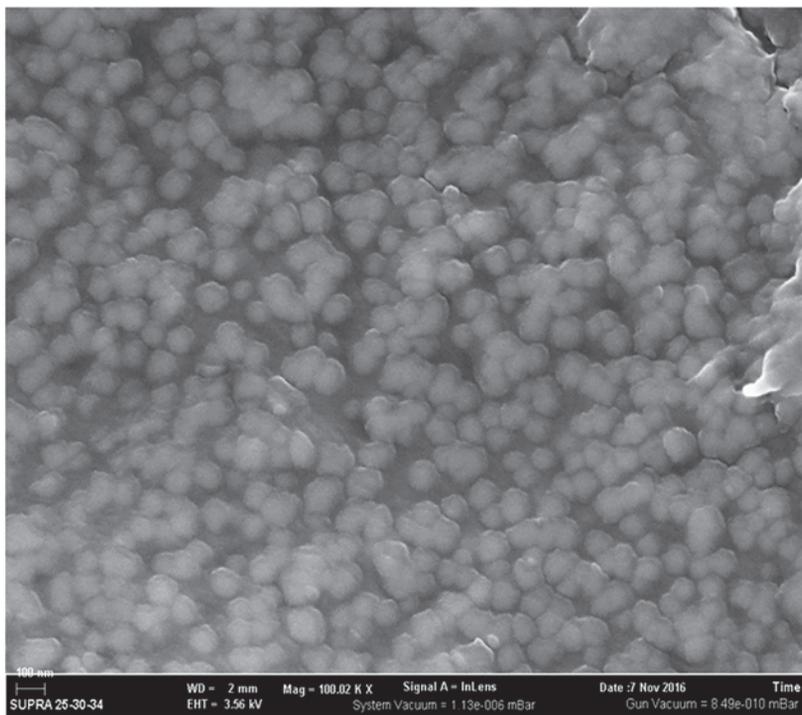


Рис. 75. Изображения наночастиц (НА:СS {4:1}), полученные при помощи электронной микроскопии

Инкапсулирование DOX в наночастицы (НА-DOX:СS {6:1}) проводили методом физической ассоциации. Затем исследовали поверхностный потенциал наночастиц методом динамического светорассеяния (таблица 15).

Таблица 15
Поверхностный zeta-потенциал наночастиц

| № | Типы наночастиц | Поверхностный потенциал, мВ |
|---|-------------------------------|-----------------------------|
| 1 | Наночастицы (НА:СS) {4:1} | -47.22 мВ |
| 2 | Наночастицы (НА-DOX:СS) {6:1} | -45.6 мВ |

Показано, что наночастицы (НА:СS){4:1} имели потенциал -47.22 мВ, а наночастицы (НА-DOX:СS){6:1} имели потенциал -45.6 мВ. Это указывает на то, что наночастицы являются отрицательно заряженными и стабильными.

Гидродинамический радиус наночастиц (НА:СS){4:1} определяли с помощью метода динамического светорассеивания (рисунок 76).

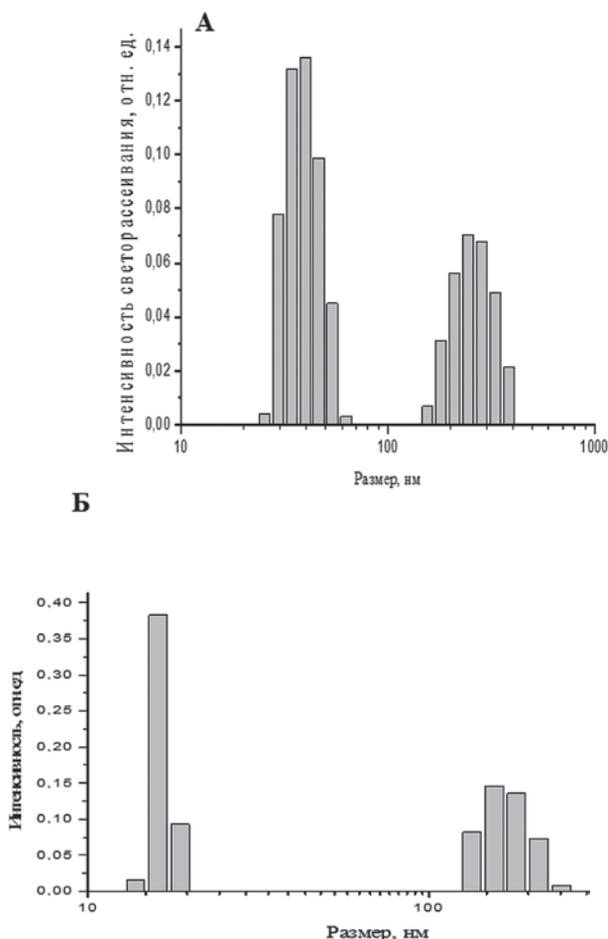


Рис. 76. Определение гидродинамического радиуса наночастиц (А) (НА:СS){4:1} (Б) (НА-DOX:СS){6:1} методом динамического светорассеивания

Результаты измерения методом DLS показали, что размер наночастиц (НА:CS){4:1} находился в интервале от 30-60 и от 100-400 нм (рисунок 45 А). Результаты показали, что наночастицы (НА-DOX:CS){6:1} имели размер 100 ~ 400 нм (рисунок 76Б).

9. 2. Исследование локализации наночастиц с доксорубицином в клетках

Для исследования локализации наночастиц были приготовлены наночастицы с доксорубицином (НА-DOX:CS){6:1}, поскольку он обладает собственной автофлуоресценцией. Проникновение наночастиц (НА-DOX:CS){6:1} в опухолевые клетки *HeLa* было изучено методом конфокальной и FLIM-микроскопии. Известно, что в макрофагах, а также в опухолевых клетках *HeLa* наблюдается сверхэкспрессия рецептора CD44. Гиалуроновая кислота является физиологическим лигандом для данного рецептора, поэтому наночастицы с гиалуроновой кислотой будут таргетно проникать в клетки [794].

Методом конфокальной микроскопии показано, что наночастицы (НА-DOX:CS){6:1} проходят через цитоплазматическую мембрану клеток и локализуются в цитоплазме *HeLa* клеток (рисунок 77).

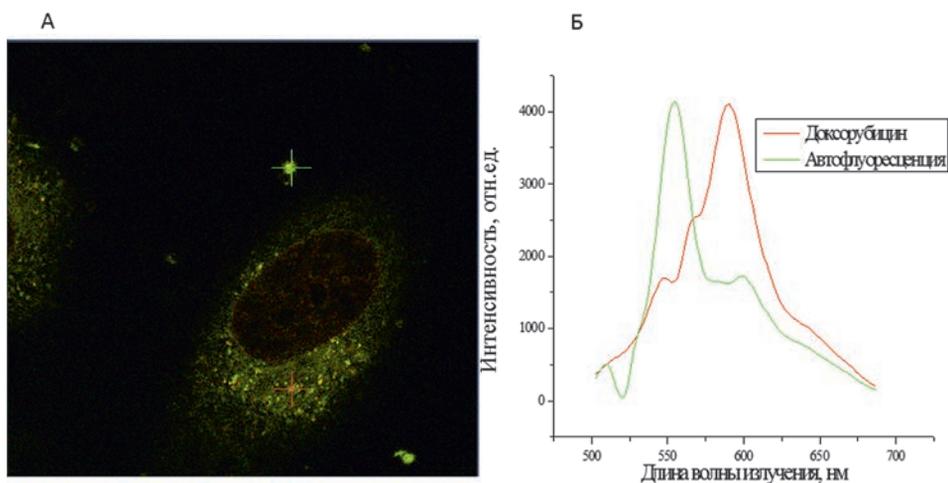


Рис. 77. Конфокальное изображение HeLa клеток после инкубации с наночастицами (НА-DOX:CS){6:1} в течение 24 часов – (А). Эмиссионный сигнал трекеров (зеленый, красный) – (Б)

794. Wang Z., Tian Y., Zhang H. et al. Using hyaluronic acid-functionalized pH stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted delivery to CD44-overexpressing cancer cells. // International journal of nanomedicine. – 2016. – V. 11. – P. 6485–6497.

Данные по FLIM-микроскопии представлены на рисунке 78.

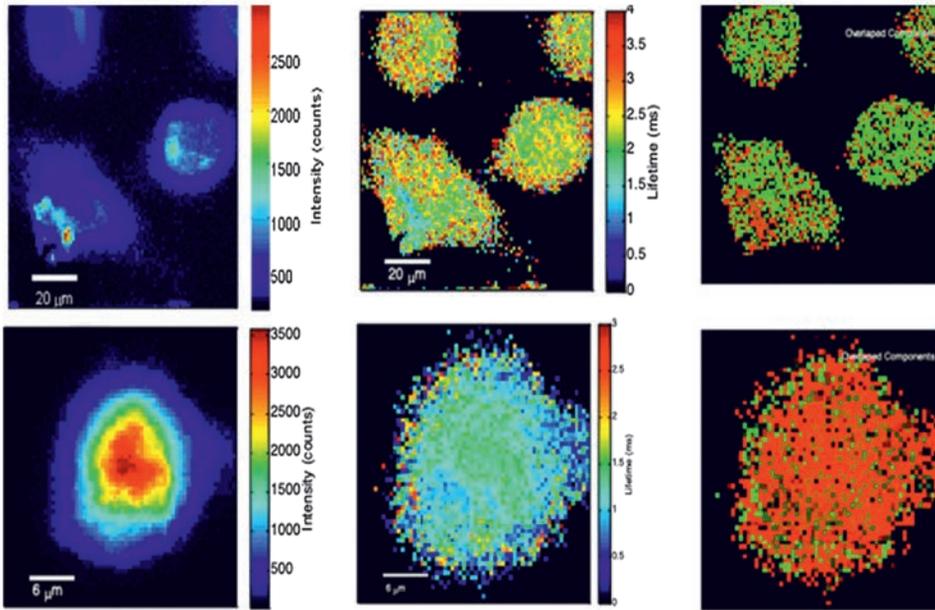


Рис. 78. FLIM-изображения живых клеток *HeLa*, инкубированных с наночастицами (HA-DOX:CS){6:1} (верхняя панель) и со свободным доксорубицином (нижняя панель) в течение 24 часов

Результаты анализа локализации наночастиц в клетках с помощью FLIM-микроскопии показали, что свободный DOX накапливается в ядре клеток *HeLa* после 24 час инкубации (рисунок 78, нижняя панель). Установлено, что наночастицы (HA-DOX:CS){6:1} после инкубации с *HeLa* клетками в течение 24 час были локализованы внутри цитоплазмы (рисунок 78, верхняя панель).

Таким образом, оба метода подтвердили прохождение наночастиц через цитоплазматическую мембрану клеток и показали локализацию наночастиц в цитоплазме после 24 час инкубации.

9.3. Анализ локализации наночастиц (гиалуроновая кислота – хитозан), меченных родамином

Для исследования способности наночастиц проникать в клетку и их локализации был приготовлены наночастицы из гиалуроновой кислоты и хитозана, меченного родамином (HA:CS-Rhod){4:1}.

Результаты показали, что наночастицы (НА:CS-Rhod){4:1} локализовались в цитоплазме клеток почечного эпителия зеленой мартышки (линия *Vero*) (рисунок 79).

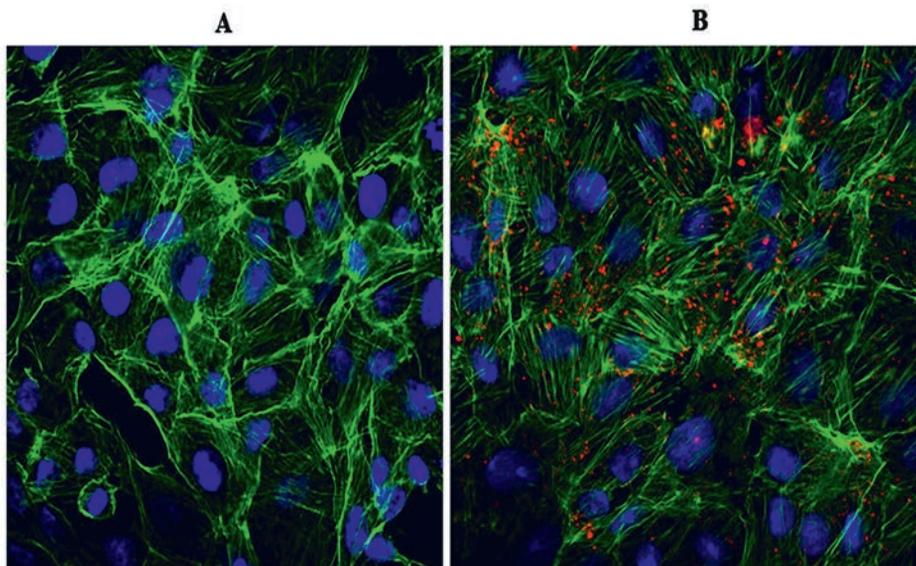


Рис. 79. Конфокальные изображения клеток *Vero* (контроль) (А) и клетки *Vero* + наночастицы (НА:CS-Rhod) (Б): ядро клеток окрашено DAPI (синяя флуоресценция), актин клеток окрашен красителем FITC-фаллоидином (зеленая флуоресценция), хитозан, меченный родамином (красная флуоресценция). Увеличение $\times 40$

9.4. Исследование выделения NO из наночастиц-ДНКЖ с помощью электрохимического метода

Для повышения стабильности ДНКЖ соединения были инкапсулированы в наночастицы (НА-ДНКЖ:CS) с использованием метода ионной желатенизации. Поскольку НА является полианионным полисахаридом, она имеет множественные заряды для взаимодействия с поликатионами. ДНКЖ являются катионными соединениями, поэтому НА физически связывается с ДНКЖ за счет не ковалентных сил притяжения, а именно за счет гидрофобных, водородных связей или ионных взаимодействий. Далее мы исследовали выделение NO из ДНКЖ № 3 и из комплекса (НА-ДНКЖ №3:CS), используя электрохимический метод. Выделение NO из ДНКЖ №3 представлено на рисунке 80 (кривые 1 и 2).

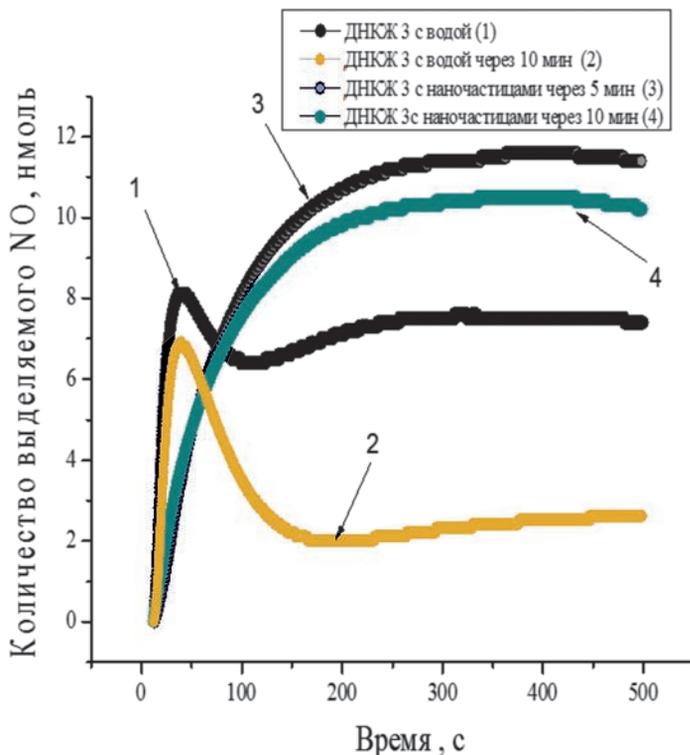


Рис. 80. Выделение NO из ДНКЖ №3 и комплекса (НА-ДНКЖ №3:CS)

При растворении ДНКЖ №3 (рисунок 80; кривая 1) и немедленном измерении выделилось 8 нмоль NO, однако через 100 секунд количество NO снизилось до 7,5 нмоль. После инкубации этого соединения в воде в течение 10 мин (рисунок 80; кривая 2) выделилось 7 нмоль NO, однако через 100 секунд количество NO резко понизилось до 2,5 нмоль. Это указывает на то, что комплекс ДНКЖ быстро разрушается в воде и перестает выделять NO. Далее ДНКЖ №3 добавляли к наночастицам (НА:CS){4:1} и инкубировали в течение 5 и 10 минут. Показано, что в этом случае количество выделяемого NO из комплекса (НА-ДНКЖ №3:CS) увеличивалось до 11 нмоль (рисунок 80; кривые 3 и 4). Также было проанализировано выделение NO из ДНКЖ №6 (рисунок 81).

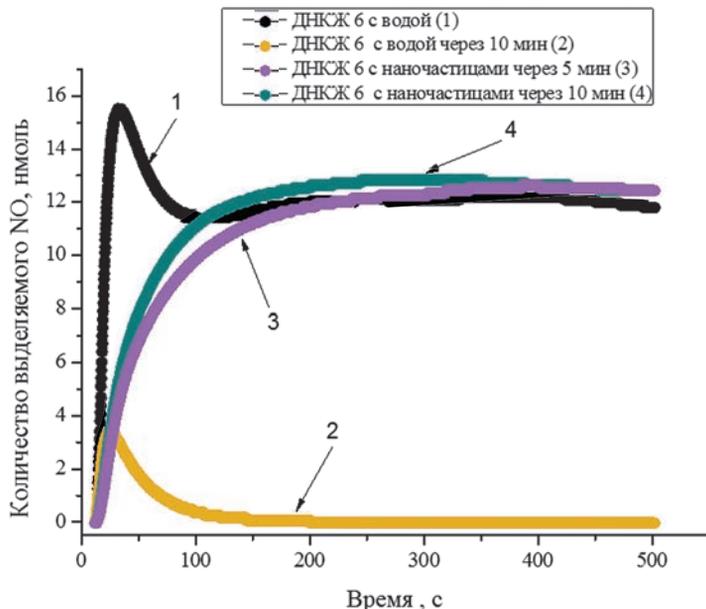


Рис. 81. Выделение NO из ДНКЖ № 6 и комплекса (НА-ДНКЖ № 6:CS)

Нами установлено, что при растворении ДНКЖ № 6 в водном растворе через 25 сек наблюдается выделение 16 нмоль NO (рисунок 81; кривая 1). Однако инкубация ДНКЖ № 6 в течение 10 мин в воде приводит к резкому падению выделения NO в 4 раза (с 16 нмоль до 4 нмоль), и через 100 секунд уровень генерируемого NO падает практически до нуля (рисунок 81; кривая 2).

Далее мы анализировали выделение NO из комплекса (НА-ДНКЖ № 6:CS). Показано, что после добавления ДНКЖ № 6 к наночастицам и инкубации в течение 5-10 минут наблюдалось выделение 13 нмоль NO из комплекса (НА-ДНКЖ № 6:CS), и этот уровень сохранялся в течение длительного времени (>500 сек) (рисунок 81; кривая 3 и 4). Кроме того, даже в течение длительного времени (20-40 мин) из комплексов (НА-ДНКЖ № 3:CS) и (НА-ДНКЖ № 6:CS) наблюдалось значительное выделение NO (10 нмоль и 8 нмоль, соответственно, данные не показаны). Таким образом, результаты показали, что инкапсулирование ДНКЖ в состав наночастиц стабилизирует эти соединения, а также пролонгирует и увеличивает количество генерируемого NO.

9.5. Влияние комплекса наночастицы-ДНКЖ на жизнеспособность клеток

Далее мы исследовали действие комплекса (НА-ДНКЖ № 3:CS) на жизнеспособность клеток почечного эпителия зеленой мартовки (Vero) (рисунок 82). Результаты исследования показали, что наночастицы (НА-ДНКЖ № 3:CS) при концентрации (6.6×10^{-5} М) повышали жизнеспособность клеток в 2 раза, а (НА-ДНКЖ № 3:CS) при концентрации (6.6×10^{-5} М) стимулировало жизнеспособность клеток в 2,5 раза. Следует отметить, что наночастицы (НА:CS {4:1}) сами по себе не влияли на жизнеспособность клеток.

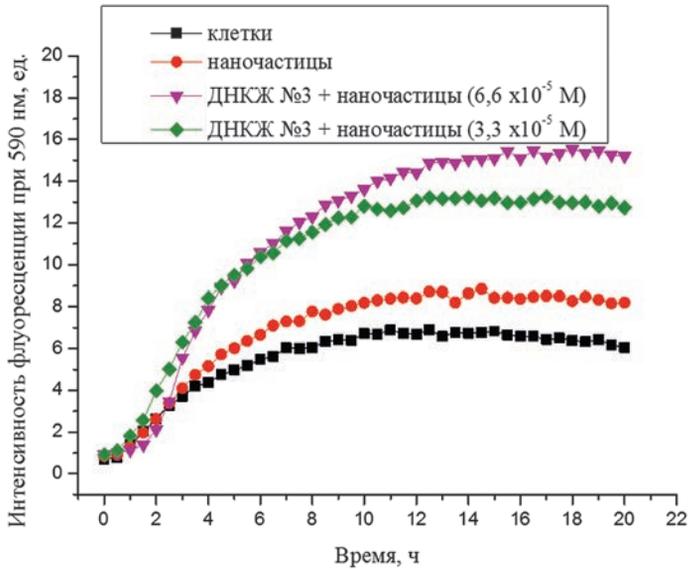


Рис. 82. Влияние комплекса наночастицы-ДНКЖ № 3 на жизнеспособность клеток *Vero*. $M \pm m$, $n = 3$, $*p < 0,05$

Далее мы исследовали влияние комплексов (НА-ДНКЖ № 3:CS) и (НА-ДНКЖ № 4:CS) на жизнеспособность кардиомиоцитов (рисунок 83).

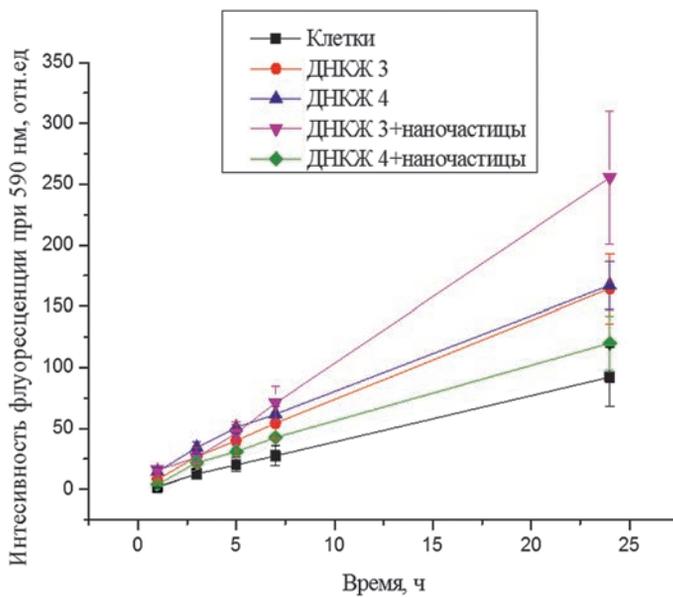


Рис. 83. Влияние комплексов (НА-ДНКЖ № 3:CS) и (НА-ДНКЖ № 4:CS) на жизнеспособность кардиомиоцитов крысы. $M \pm m$, $n = 4$, $*p < 0,05$

Результаты исследования показали, что соединение ДНКЖ № 3 и № 4 увеличивали жизнеспособность кардиомиоцитов в 2 раза через 23 часа (рисунок 83). Показано, что комплекс (НА-ДНКЖ № 3:CS) повышал жизнеспособность клеток в 3,3 раза. В то же время комплекс (НА-ДНКЖ № 4:CS) незначительно повышал жизнеспособность кардиомиоцитов (в 1,3 раза). Следовательно, установлено, что комплексы (НА-ДНКЖ:CS) являются нетоксичными и повышают жизнеспособность кардиомиоцитов крысы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние ДНКЖ на активность ферментов, индикаторов сердечно-сосудистых заболеваний

В настоящее время известно, что оксид азота является биорегулятором, опосредующим широкий диапазон физиологических и патологических процессов в клетке [795]. Оксид азота играет важную роль в защите против возникновения и прогрессии ССЗ: NO регулирует тонус мелких и средних кровеносных сосудов, вазодилатацию, способствует расслаблению гладкой мускулатуры, обладает антикоагулянтными свойствами, ингибирует адгезию моноцитов и тромбоцитов, ингибирует продукцию вазоконстрикторов, окисление липидов низкой плотности и синтез цитокинов, влияет на иммунный ответ и нейротрансмиссию [796, 797]. Сердечно-сосудистые заболевания возникают не только в результате перегрузки или повреждения сердца, но и в результате сложного взаимодействия между генетическими, нейрогормональными, воспалительными и биохимическими изменениями, затрагивающими клетки миокарда, интерстициальные клетки сердца или и то и другое. Важными медиаторами и индикаторами этих процессов являются некоторые внутри- и внеклеточные ферменты, в том числе MMP, MPO, PARP. Обострение патологических нарушений обычно сопровождается повышением активности этих ферментов в тканях. Показано, что применение ингибиторов MMP, MPO, PARP оказывало выраженный терапевтический эффект при ССЗ [798-800].

Динитрозильные комплексы железа, доноры оксида азота, могут рассматриваться как потенциальные фармакологические препараты с цитопротекторным действием. В этом исследовании мы попытались выяснить, способны ли ДНКЖ модулировать каталитическую активность ряда ферментов, которые участвуют в развитии ССЗ. Известно, что NO влияет на активность многих железосодержащих белков [801]. Помимо этого, доноры NO спо-

-
795. Tuteja N., Chandra M., Tuteja R., Misra M. K. Nitric Oxide as a Unique Bioactive Signaling Messenger in Physiology and Pathophysiology. // *Journal of biomedicine & biotechnology*. – 2004. – V. 2004. – № 4. – P. 227–237.
796. N. P. Akentieva, N. A. Sanina, A. R. Gizatullin, N. I. Shkondina, T. R. Prikhodchenko, S.I. Shram, N. Zhelev and S. M. Aldoshin. Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. // *Frontiers in Pharmacology*. 2019. V. 10. Article 1277. PP. 1–21. Doi:10.3389/fphar.2019.01277
797. Tegeder I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. // *Cellular Signalling*. – 2019. – V. 53. – P. 348–356.
798. Henning R. J., Bourgeois M., Harbison R. D. Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) and PARP Inhibitors: Mechanisms of Action and Role in Cardiovascular Disorders. // *Cardiovascular Toxicology*. – 2018. – V. 18. – № 6. – P. 493–506.
799. Ali M., Pulli B., Courties G. et al. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. // *JACC: Basic to Translational Science*. – 2016. – V. 1. – № 7. – P. 633–643.
800. Spinale F. G., Villarreal F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // *Biochemical pharmacology*. – 2014. – V. 90. – № 1. – P. 7–15.
801. Abu-Soud H. M., Hazen S. L. Nitric Oxide Modulates the Catalytic Activity of Myeloperoxidase. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – V. 275. – № 8. – P. 5425–5430.

способны ингибировать белки, содержащие «цинковые пальцы» или мотивы «цинковых пальцев» [802, 803]. К числу таких металлосодержащих ферментов относятся МРО, ММР и PARP.

Далее рассмотрим подробно влияние ДНКЖ на каждый фермент.

Влияние динитрозильных комплексов железа на активность миелопероксидазы

Исследования последних лет указывают, что фермент миелопероксидаза является важным биомаркером развития ССЗ [804]. Повышенные уровни МРО в организме значительно увеличивают риск ССЗ и смертности. Высокий уровень МРО ассоциируется с наличием патологии коронарных сосудов (ишемия, атеросклероз, инфаркт миокарда, острая грудная боль, острый коронарный синдром, внезапная смерть и другие) и является неплохим прогностическим маркером развития ССЗ [805-809]. Миелопероксидаза является гемсодержащим белком, обладающим пероксидазной активностью. Молекула МРО представляет собой димер, в каждой из субъединиц которого находится по одному атому железа, хелатированного протопорфирином IX [810]. Низкое содержание МРО является наследственным заболеванием, которое ведет к развитию иммунодефицитных состояний. Основным субстратом МРО является перекись водорода, которая продуцируется *in vivo* при «дыхательном взрыве». Физиологическим субстратом МРО может служить также NO, который при этом выступает в качестве лиганда для гемовой группы [810].

Результаты нашего исследования показали, что ДНКЖ (№ 1-6) ингибировали активность МРО. Установлено, что наибольший ингибирующий эффект продемонстрировали соединения ДНКЖ № 3 и № 4. Показано, что для ДНКЖ № 3 IC_{50} составляет $4,5 \times 10^{-4}$ М, а для ДНКЖ № 4 $4,5 \times 10^{-7}$ М. В то же время ДНКЖ № 7 повышало активность МРО на 42 %.

-
802. Kröncke K.-D. Zinc Finger Proteins as Molecular Targets for Nitric Oxide-Mediated Gene Regulation. // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2001. – V. 3. – № 4. – P. 565–575.
 803. Zhou X., Cooper K. L., Huestis J. et al. S-nitrosation on zinc finger motif of PARP-1 as a mechanism of DNA repair inhibition by arsenite. // *Oncotarget*. – 2016. – V. 7. – № 49. – P. 80482–80492.
 804. Lau D., Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // *Pharmacology & therapeutics*. – 2006. – V. 111. – № 1. – P. 16–26.
 805. Baldus S., Heeschen C., Meinertz T. et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. // *Circulation*. – 2003. – V. 108. – № 12. – P. 1440–1445.
 806. Vita J. A., Brennan M.-L., Gokce N. et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. // *Circulation*. – 2004. – V. 110. – № 9. – P. 1134–1139.
 807. Zheng L., Nukuna B., Brennan M.-L. et al. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. // *The Journal of clinical investigation*. – 2004. – V. 114. – № 4. – P. 529–541.
 808. Thukkani A. K., McHowat J., Hsu F.-F. et al. Identification of alpha-chloro fatty aldehydes and unsaturated lysophosphatidylcholine molecular species in human atherosclerotic lesions. // *Circulation*. – 2003. – V. 108. – № 25. – P. 3128–3133.
 809. Brennan M.-L., Penn M.S., Van Lente F. et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. // *The New England journal of medicine*. – 2003. – V. 349. – № 17. – P. 1595–1604.
 810. Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // *The Journal of biological chemistry*. – 2000. – V. 275. – № 48. – P. 37524–37532.

Полученные результаты показывают, что миелопероксидаза является молекулярной мишенью катионных ДНКЖ. Сравнительная оценка действия двух соединений показала, что ДНКЖ № 4 является более эффективным ингибитором активности фермента, чем ДНКЖ № 3. Оценивая полученные данные с практической точки зрения, можно сделать вывод, что ДНКЖ № 4 является перспективным кандидатом для дальнейших фармакологических исследований. Активация МРО под действием ДНКЖ № 7 свидетельствует о ее терапевтическом потенциале для лечения иммунодефицитных состояний. Известно, что NO модулирует пероксидазную активность МРО с помощью как минимум двух различных механизмов [810, 811]. При высоких концентрациях NO обратимо связывается с Fe(III) в активном центре МРО и образует нитрозильный комплекс МРО-Fe(II)-NO, что приводит к ингибированию активности фермента. Однако при низких концентрациях NO наблюдается значительное увеличение каталитической активности МРО, поскольку ускоряется стадия, лимитирующая скорость катализа, переход Fe(II) в МРО-Fe(III) [810]. Исходя из вышеизложенного, мы предполагаем, что ДНКЖ № 1-6 действуют по первому механизму. Однако в случае ДНКЖ № 7 мы предполагаем, что ДНКЖ № 7 при растворении образует небольшое количество NO, что вызывает активацию МРО по второму механизму действия. Кроме того, по сравнению с ДНКЖ № 1-6 соединение ДНКЖ № 7 имеет структуру, которая отличается от ДНКЖ № 1-6 тем, что в составе этого соединения присутствует анион BF_4^- . Известно, что МРО катализирует реакции перекиси водорода и с другими галогенидами (Br^- , I^-), а также псевдогалогенидами (S^- , CN^-) [810]. Поскольку BF_4^- (как и Br^-) чрезвычайно реакционноспособен с металлами и сильнейшими окислителями, мы предполагаем, что МРО катализирует реакции перекиси водорода также с BF_4^- , и это приводит к увеличению ферментативной активности МРО.

Другой механизм ингибирования активности МРО основан на образовании нитрита во время распада ДНКЖ. В работе [811] было показано, что нитрит способен ингибировать активность МРО и тем самым предотвращать МРО-зависимую модификацию остатков лизина липопротеинов низкой плотности.

Ингибирование активности МРО является перспективным подходом в качестве терапевтической стратегии для лечения ССЗ. На данный момент существует ряд различных ингибиторов, которые прямо или косвенно ослабляют ферментативную активность МРО и в связи с этим проявляют кардиопротекторные эффекты [812].

В работе было показано, что ингибирование МРО под действием тиоцианата натрия (NaSCN) привело к уменьшению образования бляшек и

810. Abu-Soud H.M., Hazen S.L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // The Journal of biological chemistry. – 2000. – V. 275. – № 48. – P. 37524–37532.

811. Carr A.C., Frei B. The nitric oxide congener nitrite inhibits myeloperoxidase/H₂O₂/Cl⁻-mediated modification of low density lipoprotein. // Journal of Biological Chemistry. – 2001. – V. 276. – № 3. – P. 1822–1828.

812. Galijasevic S. The development of myeloperoxidase inhibitors. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2019. V. 29. P. 1–7

улучшению функции эндотелия [813]. В другой работе [814] было продемонстрировано, что препарат PF-1355, который является пероральным ингибитором МРО, снижал воспаление после ишемического реперфузионного повреждения, а также улучшал сердечную функцию.

Таким образом, можно предположить, что ДНКЖ № 1-6 также являются перспективными кандидатами для терапии ССЗ.

Влияние динитрозильных комплексов железа на активность матриксной металлопротеиназы

Матриксные металлопротеиназы представляют собой семейство кальций (Ca^{2+}) и цинк (Zn^{2+}) зависимых эндопептидаз, участвующих как в физиологических, так и в патологических процессах в организме человека [815].

Показано, что активность ММР увеличивается с появлением и прогрессированием ССЗ. Уровень ММР, а также систем их индукции и активации повышается при патологических явлениях ССЗ, таких как сердечная недостаточность, атеросклероз, инфаркт миокарда. Известно, что в условиях инфаркта миокарда уровень ММР значительно повышается в течение нескольких часов после инфаркта в результате локальной активации цитокинов и инфильтрации воспалительными клетками. ММР играют важную роль в поддержании структуры и функции сосудов, но также участвуют в таких патологических процессах, как ремоделирование тканей сердечно-сосудистой системы, образование и дестабилизация атеросклеротических бляшек [816]. Таким образом, учитывая важную роль ММР в сердечно-сосудистых заболеваниях, поиск новых ингибиторов ММР имеет важное значение для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

В этом исследовании мы показали, что ДНКЖ эффективно ингибируют ММР. Результаты нашего исследования показали, что ДНКЖ № 3, № 4 и № 6 оказались эффективными ингибиторами ММР. Методом стационарной кинетики для ДНКЖ № 3 определяли IC_{50} , которая составила $4,5 \times 10^{-5} \text{M}$.

Как известно, высокие концентрации NO или активные формы азота (RNS, ONOO⁻) могут влиять на активность ММР. В работе [817] было показано, что NO и пероксинитрит в зависимости от концентрации активи-

-
813. Zietzer A., Niepmann S.T., Camara B. et al. Sodium thiocyanate treatment attenuates atherosclerotic plaque formation and improves endothelial regeneration in mice. // PLoS one. – 2019. – V. 14. – № 4. – P. e0214476.
814. Zheng W., Warner R., Ruggeri R., Su C., Cortes C., Skoura A., Ward J., Ahn K., Kalgutkar A., Sun D., Maurer T.S., Bonin P.D., Okerberg C., Bobrowski W., Kawabe T., Zhang Y., Coskran T., Bell S., Kapoor B., Johnson K., Buckbinder L. PF-1355, a mechanism-based myeloperoxidase inhibitor, prevents immune complex vasculitis and anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2015. – V. 353. – № 2. – P. 288–98. doi: 10.1124/jpet.114.221788.
815. Verma R.P., Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q) SARs. // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2007. – V. 15. – № 6. – P. 2223–2268.
816. Liu P., Sun M., Sader S. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. // Canadian Journal of Cardiology. – 2006. – V. 22. – № SUPPL. B. – P. 25B–30B.
817. Ridnour L.A., Windhausen A.N., Isenberg J.S. et al. Nitric oxide regulates matrix metalloproteinase-9 activity by guanylyl-cyclase-dependent and -independent pathways. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2007. – V. 104. – № 43. – P. 16898–16903.

ровали или инактивировали MMP-9. В условиях *in vitro* NO при 500 нМ активировал MMP-9. Однако при концентрации NO > 1 мкМ наблюдалась инактивация фермента. Ранее для ДНКЖ было показано, что эти соединения при концентрации ($0,4 \times 10^{-5}$ М) разлагаются с образованием NO в первую секунду после растворения в анаэробном водном растворе [818, 819]. При этом ДНКЖ № 3 генерирует ~ 16 нМ оксида азота, ДНКЖ № 4 ~ 8 нМ, а ДНКЖ № 6 ~ 2,5 нМ через 50 секунд [819]. Поэтому вероятно, что механизм ингибирования MMP под действием ДНКЖ отличается от вышеописанного, поскольку количество NO, выделяемого комплексами ДНКЖ, < 1 мкМ. Ранее для другого донора оксида азота (NONOate) было продемонстрировано, что ингибирование активности MMP-9 происходило по другому механизму и не было связано с окислительными/нитрозативными процессами, поскольку антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или GSH, не смогли предотвратить ингибирование фермента [820]. На основании этого авторы предположили, что NO может индуцировать высвобождение цинка из MMP путем N-нитрозилирования гистидинов, которые координируют Zn^{2+} , так как ранее показано, что NO способствовал высвобождению цинка из центров Zn-тиолат или кластеров Zn-S путем S-нитрозилирования [821]. Поскольку известно, что ДНКЖ являются донорами оксида азота, вполне вероятно, что образующийся NO индуцирует высвобождение цинка из активных центров MMP путем N-нитрозилирования гистидинов, которые координируют Zn^{2+} . В качестве альтернативного механизма можно предположить, что NO способен ингибировать MMP за счет прямого взаимодействия с активным центром Zn^{2+} и таким образом конкурентно ингибировать гидролиз субстрата.

В нашем исследовании мы использовали клеточные лизаты фибробластов, которые содержали различные изоформы MMP. На основании этого мы предполагаем, что исследуемые ДНКЖ являются неселективными ингибиторами MMP. Из литературных данных известно, что неселективные ингибиторы MMP показали себя как потенциальные кардиозащитные соединения при проведении доклинических исследований. В частности, коронарный кровоток и частота сердечных сокращений улучшались с помощью о-фенантролина (100 мкМ, ингибитор MMP) в изолированных сердцах крыс, подвергшихся ишемическому повреждению [822]. В другой работе

-
818. Sanina N.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T. A. et al. Structure and properties of bis(1-phenyl-1h-tetrazole-5-thiolate)diiron tetranitrosyl. // Journal of Molecular Structure. – 2013. – V. 1041. – P. 183–189.
819. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // Inorganic Chemistry Communications. – 2014. – V. 49. – P. 44–47.
820. McCarthy S.M., Bove P.F., Matthews D.E. et al. Nitric Oxide Regulation of MMP-9 Activation and Its Relationship to Modifications of the Cysteine Switch. // Biochemistry. – 2008. – V. 47. – № 21. – P. 5832–5840.
821. Maret W. Zinc coordination environments in proteins as redox sensors and signal transducers. // Antioxidants & redox signaling. – 2006. – V. 8. – № 9-10. – P. 1419–1441.
822. Gömöri K., Szabados T., Kenyeres É. et al. Cardioprotective Effect of Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitors. // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V. 21. – № 19.

было показано, что введение доксициклина (ингибитор ММР) приводило к улучшению сократительной способности и увеличению толщины стенки сердца [823].

Таким образом, на основании этого можно предположить, что исследуемые нами ДНКЖ также имеют терапевтический потенциал для лечения ССЗ.

Влияние динитрозильных комплексов железа на активность поли (АДФ-рибоза)-полимеразы-1

Поли-(АДФ-рибоза)-полимераза-1 (PARP-1) представляет собой белок с цинковыми пальцами, который играет важную роль в репарации ДНК и апоптозе клеток и тканей млекопитающих [824].

Ранее опубликованное исследование показало, что PARP может ингибироваться NO донорными соединениями [825].

Нами было изучено влияние ДНКЖ (№ 1-6) на каталитическую активность рекомбинантной поли-(АДФ-рибозы)-полимеразы человека (hrPARP-1). Показано, что все ДНКЖ обладали выраженным ингибирующим действием на активность hrPARP-1. Максимальное ингибирующее действие всех ДНКЖ на hrPARP-1 проявлялось при концентрации 100 мкМ. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что все ДНКЖ, рассмотренные в данной работе, содержат универсальный фармакофор, определяющий их ингибирующее действие ДНКЖ на PARP-1.

Предположительно, химический механизм ингибирования PARP с помощью ДНКЖ аналогичен уже ранее описанному механизму ингибирования ММР. Из литературных данных известно, что нитрозилирование тиолатных лигандов под действием NO приводит к высвобождению цинка из доменов цинковых пальцев и инактивации PARP [826, 827].

Мы предполагаем, что обработка ДНКЖ hrPARP-1 приводит к обратимому S-нитрозилированию остатков Cys, участвующих в образовании координационных связей с Zn^{2+} в цинковых пальцах ДНК-связывающего домена фермента. На этом основано ингибирующее действие исследуемых ДНКЖ на PARP-1.

-
823. Spaulding K., Takaba K., Collins A. et al. Short term doxycycline treatment induces sustained improvement in myocardial infarction border zone contractility. // PLOS ONE. – 2018. – V. 13. – № 2. – P. 1–17.
824. Medina S., Zhou X., Lauer F. T. et al. Modulation of PARP activity by Monomethylarsonous (MMA+3) acid and uranium in mouse thymus. // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2021. – V. 411. – P. 115362.
825. Sidorkina O., Espey M.G., Miranda K.M. et al. Inhibition of poly(ADP-RIBOSE) polymerase (PARP) by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. // Free Radical Biology and Medicine. – 2003. – V. 35. – № 11. – P. 1431–1438.
826. Espey M.G., Miranda K.M., Feelisch M., Fukuto J., Grisham M.B., Vitek M.P., Wink D.A. Mechanisms of cell death governed by the balance between nitrosative and oxidative stress. // Ann N Y Acad Sci. 2000. V. 899. P. 209–221. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06188.x.
827. Sidorkina O., Espey M.G., Miranda K.M. et al. Inhibition of poly(ADP-RIBOSE) polymerase (PARP) by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. // Free Radical Biology and Medicine. – 2003. – V. 35. – № 11. – P. 1431–1438.

За последние несколько лет кардиозащитные эффекты ряда ингибиторов PARP (3-AB, 5-AIQ, GPI-6150, PJ-34, INO-1001) были продемонстрированы в культивируемых миоцитах и изолированном перфузируемом сердце [828-831]. В настоящее время ряд авторов предполагают, что ингибиторы PARP могут быть успешно использованы при лечении ряда сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся острым или хроническим воспалением, а также в кардиохирургии и трансплантологии [832-835]. Ранее было показано, что ингибитор PARP (INO-1001) может быть потенциальным кардиопротектором в комплексной терапии ряда сердечно-сосудистых патологий [836]. Фармакокинетика и фармакодинамика этого ингибитора также изучались у пациентов с инфарктом миокарда [837, 838]. Исследования *in vivo* показали, что фармакологическое ингибирование PARP приводит к уменьшению размера инфаркта миокарда [839] и подавлению инфльтрации нейтрофилов, а также к снижению воспалительных цитокинов [840]. Аналогичным образом наблюдалась связь между уменьшением некроза миокарда и уменьшением морфологических изменений в дополнение к улучшению сократимости желудочков сердца [841].

-
828. Bowes J., McDonald M.C., Piper J., Thiemermann C. Inhibitors of poly (ADP-ribose) synthetase protect rat cardiomyocytes against oxidant stress. // Cardiovascular research. – 1999. – V. 41. – № 1. – P. 126–134.
829. Halmosi R., Berente Z., Osz E. et al. Effect of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors on the ischemia-reperfusion-induced oxidative cell damage and mitochondrial metabolism in Langendorff heart perfusion system. // Molecular pharmacology. – 2001. – V. 59. – № 6. – P. 1497–1505.
830. Gilad E., Zingarelli B., Salzman A.L., Szabó C. Protection by Inhibition of Poly (ADP-ribose) Synthetase Against Oxidant Injury in Cardiac Myoblasts In Vitro. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1997. – V. 29. – № 9. – P. 2585–2597.
831. Wooster R., Cleton-Jansen A.M., Collins N. et al. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. // Nature genetics. – 1994. – V. 6. – № 2. – P. 152–156.
832. Shridhar V., Siegfried J., Hunt J. et al. Genetic instability of microsatellite sequences in many non-small cell lung carcinomas. // Cancer research. – 1994. – V. 54. – № 8. – P. 2084–2087.
833. Indraccolo S., Minuzzo S., Nicoletti L. et al. Mutator phenotype in human hematopoietic neoplasms and its association with deletions disabling DNA repair genes and bcl-2 rearrangements. // Blood. – 1999. – V. 94. – № 7. – P. 2424–2432.
834. Ben-Yehuda D., Krichevsky S., Caspi O. et al. Microsatellite instability and p53 mutations in therapy-related leukemia suggest mutator phenotype. // Blood. – 1996. – V. 88. – № 11. – P. 4296–4303.
835. Tentori L., Portarena I., Barbarino M. et al. Inhibition of telomerase increases resistance of melanoma cells to temozolomide, but not to temozolomide combined with poly (adp-ribose) polymerase inhibitor. // Molecular pharmacology. – 2003. – V. 63. – № 1. – P. 192–202.
836. Delaney C.A., Wang L.Z., Kyle S. et al. Potentiation of temozolomide and topotecan growth inhibition and cytotoxicity by novel poly (adenosine diphosphoribose) polymerase inhibitors in a panel of human tumor cell lines. // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. – 2000. – V. 6. – № 7. – P. 2860–2867.
837. Tentori L., Lecal P.M., Benincasa E. et al. Role of wild-type p53 on the antineoplastic activity of temozolomide alone or combined with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. – 1998. – V. 285. – № 2. – P. 884–893.
838. Szabó G., Bährle S., Stumpf N. et al. Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibition reduces reperfusion injury after heart transplantation. // Circulation research. – 2002. – V. 90. – № 1. – P. 100–106.
839. Yang Z., Zingarelli B., Szabó C. Effect of genetic disruption of poly (ADP-ribose) synthetase on delayed production of inflammatory mediators and delayed necrosis during myocardial ischemia-reperfusion injury. // Shock (Augusta, Ga.). – 2000. – V. 13. – № 1. – P. 60–66.
840. Liaudet L., Yang Z., Al-Affar E. B., Szabó C. Myocardial ischemic preconditioning in rodents is dependent on poly (ADP-ribose) synthetase. // Molecular medicine (Cambridge, Mass.). – 2001. – V. 7. – № 6. – P. 406–417.
841. Kaesler N., Babler A., Floege J., Kramann R. Cardiac Remodeling in Chronic Kidney Disease. // Toxins (Basel). 2020. V. 12. P. 161. doi.org/10.3390/toxins12030161.

Таким образом, поскольку ДНКЖ являются ингибиторами PАРP-1, вероятно, что они будут проявлять цитопротекторные свойства.

Влияние динитрозильных комплексов железа на активность ренина

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) представляет собой сложную эндокринную систему, которая играет центральную роль в регуляции уровня электролитов, объема циркулирующей плазмы, сосудистого тонуса и артериального давления у здоровых людей. РААС участвует в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний, особенно атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемии и сердечной недостаточности [842-844]. В организме ренин действует на гликопротеин ангиотензиноген крови, специфически гидролизуя пептидную связь между лейцином и валином. При этом образуется неактивный декапептид (ангиотензин I), который ферментативно (под действием ангиотензинпревращающего фермента) превращается в активный гормон ангиотензин II (гипертензивный, или ангиотонин), сужающий сосуды и стимулирующий секрецию альдостерона за счет надпочечников [845, 846]. Эти два эффекта приводят к повышению артериального давления. В настоящее время РААС идентифицирована как терапевтическая мишень для лечения сердечной недостаточности, и разработаны различные фармакологические средства, действующие на определенные стадии каскада РААС, в том числе ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, блокаторы рецепторов ангиотензина, антагонисты альдостерона, прямые рениновые ингибиторы и ингибиторы альдостеронсинтазы [847, 848]. Поскольку известно, что NO регулирует тонус мелких и средних сосудов, а также вазодилатацию [849-

-
842. Putra B.E., Jonny, Soewandi A.H. Renal Intra-Arterial Heparin Flushing for Blood Pressure Control in Refractory Hypertension: A New Method to Salvage the Unsalvageable Renal Artery Stenosis. // *Indian J Nephrol.* 2019. V. 29. P. 200–203. doi.org/10.4103/ijn.IJN_194_18.
 843. Zhang Z.Y., Qian L.L., Wang R.X. Molecular mechanisms underlying renin-angiotensin-aldosterone system mediated regulation of BK channels. // *Front Physiol.* 2017. V. 8. P. 698. doi.org/10.3389/fphys.2017.00698.
 844. Beusekamp J.C., Tromp J., Cleland J.G.F., Givertz M.M., Metra M., O'Connor C.M., Teerlink J.R., Ponikowski P., Ouwerkerk W., van Veldhuisen D.J., Voors A.A., van der Meer P. Hyperkalemia and Treatment With RAAS Inhibitors During Acute Heart Failure Hospitalizations and Their Association With Mortality. // *JACC Heart Fail.* 2019. V. 7. P. 970–979. doi.org/10.1016/j.jchf.2019.07.010.
 845. Murohara T. Role of RAAS inhibitors for the treatment of heart failure. // *Nihon Rinsho.* 2012. V. 70. P. 1577–1581.
 846. De Lima R.G., Silva B.R., da Silva R.S., Bendhack L.M. Ruthenium complexes as NO donors for vascular relaxation induction. // *Molecules.* 2014. V. 19. P. 9628–9654. doi.org/10.3390/molecules19079628.
 847. Palatini P., Grassi G. Nondipping status and impaired nitroglycerin-mediated vasodilation in resistant hypertension: evidence and mechanisms. // *J Hypertens.* 2015. V. 33. P. 1533–1535. doi.org/10.1097/HJH.0000000000000641.
 848. Münzel T., Steven S., Daiber A. Organic nitrates: update on mechanisms underlying vasodilation, tolerance and endothelial dysfunction. // *Vascul Pharmacol.* 2014. V. 63. P. 105–113. doi.org/10.1016/j.vph.2014.09.002.

851], нам было интересно изучить влияние ДНКЖ на активность ренина. В этой работе мы показали, что ДНКЖ (в концентрации $2 \times 10^{-4} \text{M}$) ингибируют активность ренина на 50%. Эти данные показывают, что у ДНКЖ есть потенциал для разработки новых лекарств для лечения гипертонии и ишемической болезни сердца.

Влияние динитрозильных комплексов железа на метаболизм клеток

Доноры NO являются широко используемыми препаратами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [851]. Известно, что NO обеспечивает нормальное функционирование сердечно-сосудистой системы в физиологических условиях и ее адаптацию в условиях патологии [848, 851]. Разработка систем доставки NO, т. е. синтез новых представителей низкомолекулярных доноров NO (нитраты, нитриты, нитрамини, 1,2-дiazeta-1,2-диоксиды, гуанидины, фуроксаны, оксими, сиднонимины, diazenyldiolates (NONOate), S-нитрозотиолы, нитрозильные комплексы металлов) и разработка макромолекулярных молекул, высвобождающих NO (дендримеров, полимеров/пленок, платформ типа частиц и покрытий для доставки NO), становятся все более важными в биомедицинских применениях NO [852, 853]. Однако следует отметить, что большинство доступных низкомолекулярных доноров NO имеют существенные недостатки, в частности органические и неорганические нитраты вызывают толерантность к нитратам, а сиднонимины образуют супероксид-анионы, превращающиеся в канцерогенные пероксинитриты (ONOO-), вызывающие патогенные эффекты в организме человека. Применение NONO-атов, высокоэффективного класса органических доноров NO, ограничено их высокой стоимостью. Другой класс доноров NO, S-нитрозотиолы, неустойчивы при хранении и цитотоксичны, так как способны образовывать тиоловые радикалы под действием окислительно-восстановительных реагентов. В свою очередь, тиоловые радикалы быстро восстанавливаются и образуют дисрозиды и ионы нитрозония, которые гидролизуются с образованием токсичных нитрит-анионов.

Таким образом, в настоящее время за исключением цианонитрозилметилатов $[M(CN)_xNOy]^n$, способных накапливать цианиды при разложении,

-
849. Ahmad A., Dempsey S.K., Daneva Z. et al. Role of Nitric Oxide in the Cardiovascular and Renal Systems. // International Journal of Molecular Sciences. – 2018. – V. 19. – № 9.
850. Divakaran S., Loscalzo J. The Role of Nitroglycerin and Other Nitrogen Oxides in Cardiovascular Therapeutics. // Journal of the American College of Cardiology. – 2017. – V. 70. – № 19. – P. 2393–2410.
851. Bian K., Doursout M.-F., Murad F. Vascular System: Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Diseases. // The Journal of Clinical Hypertension. – 2008. – V. 10. – № 4. – P. 304–310.
848. Münzel T., Steven S., Daiber A. Organic nitrates: update on mechanisms underlying vasodilation, tolerance and endothelial dysfunction. // Vascul Pharmacol. 2014. V. 63. P. 105–113. doi.org/10.1016/j.vph.2014.09.002.
852. Howard M.D., Hood E.D., Zern B. et al. Nanocarriers for Vascular Delivery of Anti-Inflammatory Agents. // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2014. – V. 54. – № 1. – P. 205–226.
853. Carrillo-Larco R.M., Bernabe-Ortiz A. A divergence between underlying and final causes of death in selected conditions: an analysis of death registries in Peru. // PeerJ. – 2018. – V. 6. – P. e5948.

большинство доступных доноров NO и фармацевтических препаратов, способных контролировать количество выделяемого NO *in vivo*, представляют собой синтетические органические соединения [854-861].

Однако открытие роли внутриклеточных нитрозильных негемовых белков в биохимии NO привело к быстрому развитию нового направления исследований, основанного на использовании синтетических аналогов этих высокорекреационноспособных нитрозильных клеточных интермедиатов в качестве пролекарств, высвобождающих NO [861-865]. Эти комплексы являются моделями активных центров нитрозильных негемовых [Fe-S] белков, существующих во всех живых организмах, от бактерий до млекопитающих [43, 866].

В настоящее время показано, что эти моно- и биядерные нитрозильные комплексы железа с функциональными серосодержащими лигандами имеют ряд преимуществ перед другими низкомолекулярными донорами NO. Во-первых, эти комплексы выделяют NO при физиологических значениях pH (7,4) без фото-, термической или окислительно-восстановительной ак-

-
854. Morphy R., Kay C., Rankovic Z. From magic bullets to designed multiple ligands. // *Drug. Discov. Today*. 2004. V. 9. № 15. P. 641–651. doi:10.1016/S1359-6446(04)03163-0.
 855. Wöhrle J., Nusser T., Hoffmeister A., Kestler H.A., Grebe O.C., Höher M. et al. Effect of molsidomine on rheological parameters and the incidence of cardiovascular events. // *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2003. V. 128. № 24. P. 1333–1337. doi:10.1055/s-2003-39973.
 856. Keefer L.K., Nims R.W., Davies K.M., Wink D.A. "NONOates" (1-substituted diazen-1-ium-1,2-diolates) as nitric oxide donors: convenient nitric oxide dosage forms. // *Methods Enzymol.* 1996. V. 268. P. 281–293. doi:10.1016/s0076-6879(96)68030-6.
 857. Fitzhugh A.L., Keefer L.K. Diazeniumdiolates: pro- and antioxidant applications of the "NONOates". // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. V. 28. № 10. P. 1463–1469. doi:10.1016/s0891-5849(00)00251-3.
 858. Anthony A.R., Rhodes P. Chemistry, analysis, and biological roles of S-nitrosothiols. // *Anal. Biochem.* 1997. V. 249. № 1. P. 1–9. doi:10.1006/abio.1997.2129.
 859. Gaston B. Nitric oxide and thiol groups. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V. 1411. № 2-3. P. 323–333. doi:10.1016/s0005-2728(99)00023-7.
 860. Oszajca J., Stochel G., Wasielewska E., Stasicka Z., Gryglewski R.J., Jakubowski A. et al. Cyanonitrosylmetallates as potential NO-donors. // *J. Inorg. Biochem.* 1998. V. 69. № 1-2. P. 121–127. doi:10.1016/s0162-0134(97)10032-0.
 861. Costanzo S., Ménage S., Purrello R. et al. Re-examination of the formation of dinitrosyl-iron complexes during reaction of S-nitrosothiols with Fe(II). // *Inorganica Chimica Acta.* – 2001. – V. 318. – № 1. – P. 1–7.
 862. Lancaster J. R. The use of diamino fluorescein for nitric oxide detection: Conceptual and methodological distinction between NO and nitrosation. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2010. – V. 49. – № 6. – P. 1145.
 863. Tsai M.-L., Chen C.-C., Hsu I.-J. et al. Photochemistry of the Dinitrosyl Iron Complex [S5Fe(NO)2]-Leading to Reversible Formation of [S5Fe(μ-S)2FeS5]2-: Spectroscopic Characterization of Species Relevant to the Nitric Oxide Modification and Repair of [2Fe–2S] Ferredoxins. // *Inorganic Chemistry.* – 2004. – V. 43. – № 16. – P. 5159–5167.
 864. Turella P., Pedersen J.Z., Caccuri A.M. et al. Glutathione Transferase Superfamily Behaves Like Storage Proteins for Dinitrosyl-Diglutathionyl-Iron Complex in Heterogeneous Systems. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2003. – V. 278. – № 43. – P. 42294–42299.
 865. Yang W., Rogers P.A., Ding H. Repair of Nitric Oxide-modified Ferredoxin [2Fe-2S] Cluster by Cysteine Desulfurase (IscS). // *Journal of Biological Chemistry.* – 2002. – V. 277. – № 15. – P. 12868–12873.
 43. Lewandowska H., Kalinowska M., Brzoska K., Wojciuk K., Wojciuk G., Kruszewski M. Nitrosyl Iron Complexes—synthesis, structure and biology. // *Dalton. Trans.* 2011. V. 40. P. 8273–8289. <http://dx.doi.org/10.1039/c0dt01244k>
 866. Butler A. R., Megson I. L. Non-Heme Iron Nitrosyls in Biology. // *Chemical Reviews.* – 2002. – V. 102. – № 4. – P. 1155–1166.

тивации. Во-вторых, эти комплексы можно выделить в кристаллическом состоянии. В-третьих, при разложении этих комплексов не образуются токсичные продукты. Таким образом, эти моно- и биядерные нитрозильные комплексы железа могут быть использованы для биологических исследований и применения в медицине в качестве лекарств [31].

Недавно был синтезирован и охарактеризован новый класс семейства катионных водорастворимых динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с S-донорными лигандами, такими как тиомочевина и его производные [31, 867]. Эти соединения имеют ряд преимуществ перед ранее синтезированными донорами NO. Во-первых, это водорастворимые соединения. Во-вторых, было показано, что эти ДНКЖ являются более эффективными донорами NO по сравнению с коммерческим донором NO-диэтилентриамином и обладают более чем в два раза большей способностью генерировать NO [31]. Структура и физико-химические свойства ДНКЖ были ранее изучены методами рентгеноструктурного анализа, ИК-, мессбауэровской и ЭПР-спектроскопии [868]. ДНКЖ служат носителями «готовой к употреблению», стабилизированной железом формы NO [869].

Показано, что механизм выделения NO из комплексов железа с серой в водном растворе подобен механизму образования NO в растворах монокаationного комплекса железа с тиомочевинной $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{ClH}_2\text{O}$. Этот механизм включает диссоциацию связи Fe-NO и замену NO на аквалиганд за счет присоединения воды к свободному координационному центру железа [31, 870]. По-видимому, в растворах присутствуют стабильные нитрозильные интермедиаты, образующиеся при разложении ДНКЖ, которые обеспечивают долговременные NO-донорные свойства комплексов [31]. Действие различных ДНКЖ зависит от их химической и электронной структуры, реакционной способности нитрозильных групп, количества образующегося NO и продолжительности его высвобождения.

В зависимости от этого одни ДНКЖ проявляют цитотоксические свойства и являются потенциальными противоопухолевыми препаратами, а другие ДНКЖ обладают цитотропными, цитопротекторными и сосудорасширяющими свойствами и поэтому являются потенциальными препаратами для лечения сердечных заболеваний и сердечных осложнений после химиотерапии.

-
31. Sanina N.A., Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V., Terent'ev A. A., Stupina T. S. et al. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *J. Coord. Chem.* 2016. V. 69. P. 812–825.
 867. Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V. et al. A new member of the cationic dinitrosyl iron complexes family incorporating N-ethylthiourea is effective against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *Journal of Coordination Chemistry.* – 2016. – V. 69. – № 5. – P. 812–825.
 868. Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V. et al. The cationic dinitrosyl iron complexes family with thiocarbamide derivatives: Synthesis, structure and properties in the solid state. // *Polyhedron.* – 2017. – V. 137. – P. 72–80.
 869. Schiewer C.E., Müller C.S., Dechert S. et al. Effect of oxidation and protonation states on $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ cluster nitrosylation giving $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}$ 9 dinitrosyl iron complexes (DNICs). // *Inorganic chemistry.* – 2018. – V. 58. – № 1. – P. 769–784.
 870. Aldoshin S.M., Sanina N.A., Davydov M.I., Chazov E.I. A new class of nitric oxide donors. // *Herald of the Russian Academy of Sciences.* – 2016. – V. 86. – № 3. – P. 158–163.

Как следует из сравнительного анализа молекулярной и кристаллической структуры соединений ДНКЖ, конформация катиона $[\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2]^{2+}$ изменяется в зависимости от природы противоионов в структуре, что обусловлено вращением тиокарбамидных лигандов вокруг связей Fe–S и S–C, а также структурой и реакционной способностью нитрозильных групп [31]. Общая формула катионных одноядерных ДНКЖ: $[\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2]^{n+}\text{X}^-$, где $n=1-4$, X= кислотный остаток, R представляет собой тиомочевину, а также ее производные по реакции водных растворов солей железа [871]. Однако молекулярный механизм действия ДНКЖ и их метаболические эффекты в клетках изучены недостаточно.

В этой работе мы впервые изучили метаболические эффекты ДНКЖ на фибробластах человека и кардиомиоцитах крысы. Мы исходили из того, что ранее для других доноров NO цитопротекторный и кардиопротекторный эффекты проявлялись при их низких концентрациях (<1 мкмоль) [872-876]. Ранее было установлено, что ДНКЖ ($0,4 \times 10^{-5}$ М) разлагаются с образованием NO в первую секунду после растворения в анаэробном водном растворе [31, 671, 877]. В частности, максимальное количество NO, генерируемое ДНКЖ № 3 при pH 7, составляло ~ 16 нМ, ДНКЖ № 4 ~ 8 нМ, ДНКЖ № 6 $\sim 2,5$ нМ через 50 с [724]. Исходя из этого, мы брали навеску ДНКЖ (2×10^{-4} М), а затем проверили выделение NO электрохимическим методом. Согласно этим данным, ДНКЖ генерировало от 8 до 16 нмоль NO. В частности, ДНКЖ № 3 при pH 7 генерировало ~ 16 нМ NO, а ДНКЖ № 4 выделяла 8 нМ NO через 50 с. Таким образом, эти значения согласуются с опубликованными ранее данными по выделению NO. Как указывалось выше, доноры NO проявляли цитотропный и кардиопротекторный эффекты при низких

-
871. Raffetto J.D., Calanni F., Mattana P., Khalil R.A. Sulodexide promotes arterial relaxation via endothelium-dependent nitric oxide-mediated pathway. // *Biochemical Pharmacology*. – 2019. – V. 166. – P. 347–356.
872. Omar S.A., Webb A.J., Lundberg J.O., Weitzberg E. Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. // *Journal of Internal Medicine*. – 2016. – V. 279. – № 4. – P. 315–336.
873. Naseem K.M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2005. – V. 26. – № 1. – P. 33–65.
874. Komatsu S., Kitazawa T., Ikebe M. Visualization of stimulus-specific heterogeneous activation of individual vascular smooth muscle cells in aortic tissues. // *Journal of Cellular Physiology*. – 2018. – V. 233. – № 1. – P. 434–446.
875. Hou J., He H., Huang S. et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun.* – 2019. – V. 55. – № 9. – P. 1205–1208.
876. Nisoli E., Clementi E., Paolucci C., Cozzi V., Tonello C., Sciorati C. et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. // *Science*. 2003. V. 299. № 5608. P. 896–899. doi: 10.1126/science.1079368.
877. Akentieva N.P., Sanina N.A., Gizatullin A.R., N.I. Shkondina N.I., Prikhodchenko T.R., Shram S.I., Zhelev N. and Aldoshin S.M. Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019.- V.10, Article 1277, P. 1–21. doi:10.3389/fphar.2019.01277
724. Basudhar D., Bharadwaj G., Cheng R. Y., Jain S., Shi S., Heinecke J. L., Holland R. J., Ridnour L. A., Caceres V. M., Spadari-Bratfisch R. C., Paolucci N., Velázquez-Martínez C. A., Wink D. A., Miranda K. M. Synthesis and Chemical and Biological Comparison of Nitroxyl- and Nitric Oxide-Releasing Diazeniumdiolate-Based Aspirin Derivatives. // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. V. 56. № 20. P. 7804–7820.

концентрациях (<1 мкмоль). Поэтому мы выбрали исходную концентрацию ДНКЖ (2×10^{-4} М), которая при растворении выделяла от 8 до 16 нмоль NO.

Кроме того, в этом исследовании наши результаты показали, что ДНКЖ не только нетоксичны, но даже проявляют цитотропные свойства в фибробластах и кардиомиоцитах крыс. Нами были выбраны 3 соединения ДНКЖ (№ 3, № 4, № 6), которые наиболее эффективно ингибировали активность ферментов MMP, MPO и PARP. Мы изучали влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток в течение короткого и длительного времени. Установлено, что влияние ДНКЖ на жизнеспособность клеток проявляется через 15 мин, так как наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции. Однако максимальный эффект наблюдался через 10 часов. Затем жизнеспособность клеток снижалась, однако даже через 30 ч оставалась в 3-5 раз выше, чем в контрольных клетках, не обработанных ДНКЖ. Мы полагаем, что ДНКЖ повышают активность митохондриальных NADH-дегидрогеназ, которые участвуют во многих метаболических процессах, и поэтому они протекают интенсивнее под влиянием ДНКЖ и тем самым повышают жизнеспособность клеток.

Эти результаты указывают на то, что ДНКЖ являются цитотрофными агентами. Ранее было показано, что NO способен запускать митохондриальный биогенез в таких разнообразных клетках, как бурые адипоциты и клетки *3T3-L1*, *U937* и *HeLa* [875, 876, 878]. Однако авторы указали, что этот эффект NO зависел от гуанозин-3',5'-монофосфата (цГМФ) и был опосредован индукцией коактиватора γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом *1 α* , основного регулятора митохондриального биогенеза. Возможно, в нашем случае ДНКЖ также влияют на биогенез митохондрий, однако механизм их действия иной. Ранее было показано, что NO-цГМФ-зависимый путь способен контролировать митохондриальный биогенез и влиять на энергетический баланс организма [875]. В нашей работе мы показали, что ДНКЖ повышали активность митохондриальных дегидрогеназ, однако не влияли на уровень АТФ. Мы предполагаем, что обработка ДНКЖ приводила к усилению активности митохондриальных дегидрогеназ и тем самым предотвращала индукцию клетками апоптоза. Мы наблюдали клетки под микроскопом перед измерением жизнеспособности; клетки выглядели прикрепленными к поверхности и распластанными. Эти клетки являются

-
875. Hou J., He H., Huang S. et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun.* – 2019. – V. 55. – № 9. – P. 1205–1208.
876. Nisoli E., Clementi E., Paolucci C., Cozzi V., Tonello C., Sciorati C. et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. // *Science*. 2003. V. 299. № 5608. P. 896–899. doi: 10.1126/science.1079368.
877. Akentieva N.P., Sanina N.A., Gizatullin A.R., N.I. Shkondina N.I., Prikhodchenko T.R., Shram S.I., Zhelev N. and Aldoshin S.M. Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019.- V.10, Article 1277, P. 1–21. doi:10.3389/fphar.2019.01277
878. Lascaratos G., Garway-Heath D.F., Willoughby C.E., Chau K.Y., Schapira A.H. Mitochondrial dysfunction in glaucoma: understanding genetic influences. // *Mitochondrion*. 2012. V. 12. № 2. P. 202–212. doi: 10.1016/j.mito.2011.11.004.

адгезивными, и если бы произошел апоптоз, они округлились бы, оторвались от поверхности и начали плавать в питательной среде. Количество клеток не менялось под влиянием ДНКЖ, также мы не наблюдали увеличения числа апоптотических клеток.

Мы также изучали цитопротекторный эффект ДНКЖ против токсичности, вызванной доксорубицином, противоопухолевым препаратом. Известно, что доксорубин обладает высокой токсичностью и вызывает множество осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы после химиотерапевтического лечения онкологических заболеваний. Установлено, что доксорубин является антибиотиком антрациклинового ряда и оказывает антимитотическое и антипролиферативное действие на клетки [879, 880]. В литературе известно, что доксорубин индуцирует окислительный стресс из-за перепроизводства АФК и, соответственно, снижает уровень глутатиона в клетке, уменьшает активности по выведению АФК (например, каталазы и глутатионпероксидазы), значительно снижает потенциал внутренней митохондриальной мембраны и уровень АТФ [881-885]. В этом проявляется цитотоксический эффект доксорубина. Доксорубин связывается с ДНК в митохондриях, разрушает ее, снижает мембранный потенциал, что приводит к увеличению АФК и индукции апоптоза с последующей гибелью клеток. На этом основан принцип применения доксорубина в онкологии. В качестве контроля мы включили доксорубин, чтобы сравнить его токсическое действие на жизнеспособность клеток с защитным действием ДНКЖ и продемонстрировать снижение его токсичности за счет предварительной инкубации клеток с ДНКЖ. Результаты показали, что доксорубин вызывал снижение жизнеспособности клеток, тогда как клетки, обработанные соединениями № 3, 4 и 6, сохраняли более высокую жизнеспособность: их выживаемость была в 2-3 раза выше, чем у необработанных доксорубином клеток. Было показано, что ДНКЖ № 3 и № 4 являются наиболее эффективными цитопротекторами. Таким образом, наши данные показывают, что

-
879. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2014. – V. 10. – № 4. – P. 853–858.
880. Dubbelboer I.R., Lilienberg E., Sjögren E., Lennernäs H. A Model-Based Approach To Assessing the Importance of Intracellular Binding Sites in Doxorubicin Disposition. // *Molecular Pharmaceutics*. – 2017. – V. 14. – № 3. – P. 686–698.
881. Childs A. C., Phaneuf S. L., Dirks A. J. et al. Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio. // *Cancer Research*. – 2002. – V. 62. – № 16. – P. 4592–4598.
882. Mukhopadhyay P., Rajesh M., Bátkai S. et al. Role of superoxide, nitric oxide, and peroxynitrite in doxorubicin-induced cell death in vivo and in vitro. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2009. – V. 296. – № 5. – P. H1466–H1483.
883. Kuznetsov A.V., Margreiter R., Amberger A. et al. Changes in mitochondrial redox state, membrane potential and calcium precede mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced cell death. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2011. – V. 1813. – № 6. – P. 1144–1152.
884. Sifaoui I., López-Arencibia A., Martín-Navarro C.M. et al. In vitro effects of triterpenic acids from olive leaf extracts on the mitochondrial membrane potential of promastigote stage of *Leishmania* spp. // *Phytomedicine*. – 2014. – V. 21. – № 12. – P. 1689–1694.
885. Serafino A., Sinibaldi-Vallebona P., Lazzarino G. et al. Modifications of mitochondria in human tumor cells during anthracycline-induced apoptosis. // *Anticancer research*. – 2000. – V. 20. – № 5B. – P. 3383–3394.

ДНКЖ являются эффективными цитопротекторами длительного действия, защищающими клетки от токсического действия доксорубина.

Мы также изучали влияние ДНКЖ на митохондриальный мембранный потенциал клетки. Наши данные показали, что инкубация клеток с ДНКЖ незначительно снижала митохондриальный мембранный потенциал ($\Delta\Psi_m$), всего в 2-3 раза. Результаты показали, что влияние ДНКЖ на мембранный потенциал было умеренным, кратковременным и обратимым. Нами было исследовано изменение $\Delta\Psi$ под действием ДНКЖ через 10 часов. Результаты показали, что после обработки клеток ДНКЖ через 15 мин наблюдалось снижение $\Delta\Psi$, однако через 10 часов уровень $\Delta\Psi$ восстанавливался до исходного значения. Таким образом, действие ДНКЖ на $\Delta\Psi$ является временным и обратимым. В этом случае кратковременное падение $\Delta\Psi$ не является токсичным для клеток, а даже, наоборот, проявляет цитопротекторное действие. Ранее было показано, что длительная обработка доксорубином также приводила к быстрому падению мембранного потенциала (в 5 раз) с последующей гибелью клеток до 90% [285]. В нашем случае мы считаем, что кратковременное падение мембранного потенциала полезно для клетки, так как позволяет клеткам избавиться от избыточного заряда и тем самым снизить образование АФК, предотвратить апоптоз и защитить клетки от гибели. При постановке опытов мы также наблюдали за состоянием клеток под микроскопом. Эти клетки адгезивные, в нормальном состоянии они прикреплены к поверхности. Анализ клеток под микроскопом показал, что после предварительной обработки клеток ДНКЖ и последующей обработки доксорубином клетки не округлялись, оставались прикрепленными к поверхности, что свидетельствует об их нормальной жизнеспособности. Очевидно, что механизм действия ДНКЖ на мембранный потенциал отличается от механизма действия доксорубина. Ранее сообщалось, что механизм действия доксорубина включает кооперацию с ДНК, генерацию свободных радикалов и прямое воздействие на клеточные мембраны с подавлением синтеза нуклеиновых кислот [886]. Таким образом, лечение рака доксорубином сопровождается усилением продукции свободных радикалов в митохондриях, оказывающих вредное воздействие на структуру как опухолевых, так и нормальных клеток в результате окислительного стресса [887]. Это сопровождается многочисленными побочными эффектами доксорубина, токсичными для всего организма при химиотерапии. Например, нарушения сердечно-сосудистой системы включают кардиомиопатию, сердечную недостаточность и аритмию [888]. Этот процесс напрямую зависит от

225. Murphy G., Knauper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the "hemopexin" domain? // *Matrix Biol.* 1997. V. 15. P. 511–518.

886. Podyacheva E.Y., Kushnareva E.A., Karpov A.A., Toropova Y.G. Analysis of Models of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Rats and Mice. A Modern View From the Perspective of the Pathophysiologist and the Clinician. // *Frontiers in Pharmacology.* – 2021. – V. 12.

887. Koleini N., Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. // *Oncotarget.* – 2017. – V. 8. – № 28. – P. 46663.

888. Islam M.S. Calcium Signaling in the Islets // In book: *Islets of Langerhans.* Edition: 2nd Chapter: 21 Publisher: Springer Editors: Md. Shahidul Islam, 2014. P. 606–624.

потенциала митохондриальной мембраны: чем выше последний, тем большее количество свободных радикалов продуцируется митохондриями. Таким образом, большинство неблагоприятных эффектов доксорубина на нормальные клетки связаны с окислительным стрессом. Однако этот окислительный стресс можно уменьшить, обеспечив утечку избыточного заряда через митохондриальную мембрану [889-891]. Этот защитный механизм называется разобщением окислительного фосфорилирования. Он используется клетками *in vivo*, но также может быть индуцирован синтетическими соединениями. Естественные механизмы разобщения не всегда справляются со своими функциями. Показано, что снижение мембранного потенциала митохондрий часто наблюдается при патологических состояниях. Описано множество патологических состояний, при которых происходит гиперполяризация митохондрий, сопровождающаяся повышением уровня АФК в митохондриях, что приводит к ухудшению функционирования клетки в целом. Такая ситуация возникает при ожирении, нарушении углеводного обмена, а также при патологиях, связанных с развитием окислительного стресса: ишемическом поражении тканей, болезни Паркинсона и Альцгеймера, аутоиммунных заболеваниях [892, 893]. Использование разобщителей, способных регулировать повышение протонной проводимости митохондрий, способно устранить негативные эффекты, вызываемые этими патологическими состояниями, в частности за счет контроля уровня генерации АФК митохондриями [894, 895]. Подавляющее большинство разобщителей представляют собой отрицательно заряженные молекулы, анионы, механизм разобщения которых аналогичен анионам жирных кислот (RCOO^-). Установлено, что некоторые химические вещества избирательно накапливаются в митохондриях, снижают их мембранный потенциал и, таким образом, проявляют цитопротекторные свойства [894, 896]. Эти соединения могут быть использованы для профилактики тяжелых неврологических нарушений после ишемического инсульта [897-899]. Однако возможность медицинского применения таких молекул ограничивается чрезвычайно малым терапевтическим окном – разницей между терапевтической и токсической дозами препарата. Дело в том, что резкое снижение мембранного потенциала приводит к нарушению основной функции митохондрий – синтеза АТФ, необходимого для поддержания жизнедеятельности клетки и организма в целом [892].

-
889. Wang T., Gu J., Wu P.-F. et al. Protection by tetrahydroxystilbene glucoside against cerebral ischemia: involvement of JNK, SIRT1, and NF- κ B pathways and inhibition of intracellular ROS/RNS generation. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2009. – V. 47. – № 3. – P. 229–240.
890. Montaigne D., Hurt C., Neviere R. Mitochondria death/survival signaling pathways in cardiotoxicity induced by anthracyclines and anticancer-targeted therapies. // *Biochemistry research international*. – 2012. – V. 2012. – P. 951539.
891. Skulachev V.P. Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. // *Quarterly Reviews of Biophysics*. – 1996. – V. 29. – № 2. – P. 169–202.
892. Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Pevzner I.B. et al. Neuroprotective Effects of Mitochondria-Targeted Plastoquinone in a Rat Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. // *Molecules*. – 2018. – V. 23. – № 8.

В настоящее время группой академика Скулачева создан ряд веществ-катионных разобщителей, химическая структура которых позволяет им избирательно накапливаться в митохондриях и снижать избыточный митохондриальный потенциал [893, 899-902]. Действие катионных разобщителей является саморегулирующимся, поскольку это отрицательно заряженные молекулы, скорость их проникновения в митохондрии прямо пропорциональна митохондриальному потенциалу. Однако митохондриальный потенциал уменьшается с увеличением концентрации катионного разобщителя внутри митохондрий. Показано, что новый катионный разобщитель – бутиловый эфир родамина-19 (C4R1) эффективно накапливается в митохондриях до определенной концентрации, не нарушая их жизнедеятельности. В экспериментах на крысах – моделях ишемического инсульта – показано, что введение C4R1 после обратного нарушения мозгового кровообращения значительно уменьшало масштабы поражения головного мозга животных и связанных с ними неврологических расстройств [893, 901–903]. Следует отметить, что предотвращение образования кислородных радикалов в митохондриях является основополагающим принципом в борьбе со многими заболеваниями. Такие соединения будут обладать свойствами разоб-

-
893. Rolo A.P., Palmeira C.M. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2006. – V. 212. – № 2. – P. 167–178.
894. Nabben M., Shabalina I. G., Moonen-Kornips E. et al. Uncoupled respiration, ROS production, acute lipotoxicity and oxidative damage in isolated skeletal muscle mitochondria from UCP3-ablated mice. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. – 2011. – V. 1807. – № 9. – P. 1095–1105.
895. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. // *FEBS Letters*. – 1997. – V. 416. – № 1. – P. 15–18.
896. Normoyle K.P., Kim M., Farahvar A., Llano D., Jackson K., Wang H. The emerging neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein-2 in traumatic brain injury. // *Transl. Neurosci*. 2015. V. 6. № 1. P. 179–186. doi: 10.1515/tnci-2015-0019.
897. Kwok K.H., Ho P.W., Chu A.C., Ho J.W., Liu H.F., Yiu D.C. et al. Mitochondrial UCP5 is neuroprotective by preserving mitochondrial membrane potential, ATP levels, and reducing oxidative stress in MPP+ and dopamine toxicity. // *Free Radic. Biol. Med*. 2010. V. 49. № 6. P. 1023–1035. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.06.017.
898. Perez-Pinzon M.A., Stetler R.A., Fiskum G. Novel mitochondrial targets for neuroprotection. // *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2012. V. 32. № 7. P. 1362–1376. doi: 10.1038/jcbfm.2012.32.
899. Genrikhs E.E., Stelmashook E.V., Alexandrova O.P., Novikova S.V., Voronkov D.N., Glibka Y.A. et al. The single intravenous administration of mitochondria-targeted antioxidant SkQR1 after traumatic brain injury attenuates neurological deficit in rats. // *Brain Res. Bull*. 2019. V. 148. P. 100–108. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.03.011.
900. Lyamzaev K.G., Tokarchuk A.V., Panteleeva A.A., Mulkidjanian A.Y., Skulachev V.P., Chernyak B.V. Induction of autophagy by depolarization of mitochondria. // *Autophagy*. 2018. V. 14. № 5. P. 921–924. doi: 10.1080/15548627.2018.1436937.
901. Genrikhs E.E., Stelmashook E.V., Alexandrova O.P. et al. The single intravenous administration of mitochondria-targeted antioxidant SkQR1 after traumatic brain injury attenuates neurological deficit in rats. // *Brain Research Bulletin*. – 2019. – V. 148. – P. 100–108.
902. Isaev N.K., Novikova S.V., Stelmashook E.V., Barskov I.V., Silachev D.N., Khaspekov L.G., Skulachev V.P., Zorov D.B. Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQR1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat. *Biochemistry (Mosc)*. 2012. – V.77. №9. P. 996–9. doi: 10.1134/S0006297912090052.
903. Korshunova G.A., Shishkina A.V., Skulachev M.V. Design, synthesis, and some aspects of the biological activity of mitochondria-targeted antioxidants. // *Biochemistry (Moscow)*. – 2017. – V. 82. – № 7. – P. 760–777.

чителя, нормализующего митохондриальный потенциал. Активно ведутся клинические исследования по использованию таких молекул в лечении ряда заболеваний. Наконец, было показано, что нитроглицерин индуцирует защитный фенотип, который ограничивает повреждение после ишемии и реперфузии. Нитроглицерин защищает от постишемической эндотелиальной дисфункции, в частности за счет нарушения открывающейся поровой проницаемости митохондрий [904, 905].

Мы предполагаем, что ДНКЖ могут разобщать окислительное фосфорилирование в клетке и тем самым снижать потенциал митохондриальной мембраны [906]. Это предположение основано на структуре ДНКЖ. Суммарная формула ДНКЖ $(\text{Fe}(\text{SR})_2(\text{NO})_2)^{n+} \text{X}^-$ соответствует общей формуле катионных разобщителей: $(\text{X-Z})^{n+} \text{A}^n$, где «X» представляет собой группу, содержащую гетероатомы, такие как -S-, -N-, -O-; «Z» – группа, способная протонировать при физиологических значениях pH и обеспечивать адресную доставку всего соединения в митохондрии; «A» – противоион; «N» представляет собой целое число от 1 до 3, а также его таутомерные формы, сольваты, соли, изомеры или пролекарства и фармакологически приемлемый носитель. Кроме того, ДНКЖ могут проникать через мембраны. Мы предполагаем, что протестированные ДНКЖ обладают двойным механизмом действия, в частности они могут быть ловушками АФК и понижать митохондриальный потенциал. ДНКЖ состоит из двух частей: донор оксида азота и кластер [Fe-S] (нацеливание на митохондрии). NO обладает высокой реакционной способностью из-за своей электронной конфигурации, т. е. наличия неспаренного электрона на π -молекулярной орбитали [907]. В соответствии с этим высвобождаемый NO может взаимодействовать с радикалами ($\text{O}^{\cdot-}$, H^{\cdot}) и предотвращать окислительный стресс, работая как антиоксидант. Железо в кластере [Fe-S] одновалентно, поэтому оно может взаимодействовать с протонами и переходить в двухвалентное или трехвалентное состояние. Следовательно, кластер [Fe-S] может работать как мягкий разобщитель и вызывать падение митохондриального потенциала. Кроме того, высокое сродство NO к Fe^{2+} приводит к взаимодействию оксида азота с различными железосодержащими белками, например рибонуклеотидредуктазой, ферритином, [Fe-S] кластерами NADH-редуктазы, NADH-дегидрогеназой [908]. Известно, что NADH-дегидрогеназный комплекс, также называемый комплексом I, является первым мультибелковым комплексом

-
904. Gori T., Di Stolfo G., Dragoni S., Lisi M., Leone M. C., Forconi S. et al. The mechanism of nitrate-induced preconditioning. // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2008. V. 39. P. 191–196. doi.org/10.3233/CH-2008-1081.
 905. Divakaran S., Loscalzo J. The role of nitroglycerin and other nitrogen oxides in cardiovascular therapeutics. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017. V. 70. № 19. P. 2393–2410. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.1064.
 906. Aly H.A., Domenech O. Aroclor 1254 induced cytotoxicity and mitochondrial dysfunction in isolated rat hepatocytes. // *Toxicology.* 2009. V. 262. № 3. P. 175–183. doi: 10.1016/j.tox.2009.05.018.
 907. Wong M.W., Nobes R.H., Bouma W.J., Radom L. Isoelectronic analogs of molecular nitrogen: Tightly bound multiply charged species. // *The Journal of chemical physics.* – 1989. – V. 91. – № 5. – P. 2971–2979.
 908. Rahmanto Y.S., Kalinowski D.S., Lane D.J.R. et al. Nitrogen monoxide (NO) storage and transport by dinitrosyl-dithiol-iron complexes: long-lived NO that is trafficked by interacting proteins. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2012. – V. 287. – № 10. – P. 6960–6968.

электрон-транспортной дыхательной цепи. В отношении белков человека комплекс I часто называют NADH-дегидрогеназой [909]. NADH-дегидрогеназный комплекс состоит из одного флавиномононуклеотида и от 8 до 9 железо-серных кластеров (протетических групп) [910]. Этот комплекс играет центральную роль в клеточном дыхании и окислительном фосфорилировании: почти 40% протонного градиента для синтеза АТФ создается именно этим комплексом [911]. Более того, известно, что NO ингибирует митохондриальный дыхательный путь [912]. Мы предполагаем, что ДНКЖ генерируют NO, который взаимодействует с кластерами [Fe-S] NADH-дегидрогеназы, изменяет ее конформационное состояние и усиливает активность NADH-дегидрогеназы. Кроме того, лиганды, остающиеся после генерации оксида азота, кластеры [Fe-S], могут использоваться в качестве протетических групп NADH-дегидрогеназы и тем самым повышать ее активность.

Комплекс NADH-дегидрогеназа окисляет NADH, образующийся в матрице в ходе цикла трикарбоновых кислот. Электроны от NADH используются для восстановления мембранного переносчика, убихинона Q, который переносит их на следующий комплекс электрон-транспортной цепи митохондрий, комплекс III, или комплекс цитохрома *bc1* [913]. В результате действия ДНКЖ NADH-дегидрогеназы расщепляют большее количество NADH и образуется большое количество протонов (электронов), которые используются в различных метаболических и энергетических процессах в клетке. В результате повышается жизнеспособность клеток. Однако повышенная активность дегидрогеназ через определенное время приводит к накоплению избыточного заряда в митохондриях. Чрезмерное количество электронов может привести к увеличению образования АФК, окислительному стрессу и, как следствие, гибели клеток [914]. Мы предполагаем, что ДНКЖ (в частности, NO и Fe-S кластеры) также способны взаимодействовать с электронами, что приводит к снятию избыточного заряда через митохондриальную мембрану. Следствием этого является разобщение окислительного фосфорилирования, сопровождающееся снижением АФК, уменьшением митохондриального мембранного потенциала и приостановкой синтеза АТФ [915]. Однако мы показали, что снижение мембранного потен-

-
909. Birrell J.A., Yakovlev G., Hirst J. Reactions of the Flavin Mononucleotide in Complex I: A Combined Mechanism Describes NADH Oxidation Coupled to the Reduction of APAD⁺, Ferricyanide, or Molecular Oxygen. // *Biochemistry*. – 2009. – V. 48. – № 50. – P. 12005–12013.
 910. Whitehouse D.G., Moore A.L. Respiratory Chain and ATP Synthase. // in *Encyclopedia of Biological Chemistry* (Second Edition). – 2013. – P. 83–86.
 911. Efremov R.G., Baradaran R., Sazanov L. A. The architecture of respiratory complex I. // *Nature*. – 2010. – V. 465. – № 7297. – P. 441–445.
 912. Whiteman M., Chua Y.L., Zhang D. et al. Nitric oxide protects against mitochondrial permeabilization induced by glutathione depletion: role of S-nitrosylation? // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2006. – V. 339. – № 1. – P. 255–262.
 913. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochemical journal*. – 2009. – V. 417. – № 1. – P. 1–13.
 914. Yang T., Zelikin A.N., Chandrawati R. Progress and promise of nitric oxide-releasing platforms. // *Advanced Science*. – 2018. – V. 5. – № 6. – P. 1701043.
 915. Grivennikova V.G., Kotlyar A.B., Karliner J.S. et al. Redox-dependent change of nucleotide affinity to the active site of the mammalian complex I. // *Biochemistry*. – 2007. – V. 46. – № 38. – P. 10971–10978.

циала является незначительным и кратковременным, так как резкое снижение мембранного потенциала приводит к нарушению синтеза АТФ. Через некоторое время мембранный потенциал возвращается к нормальному состоянию. Известно, что реакция, катализируемая комплексом I, обратима, этот процесс называется аэробным сукцинат-индуцированным восстановлением NAD^+ [916]. В условиях высокого потенциала на мембране и избытка восстановленных убихинолов комплекс может восстанавливать NAD^+ с помощью своих электронов и передавать протоны обратно в матрикс [917].

Предлагаемый механизм действия ДНКЖ показан на рисунке 84. Все это в совокупности определяет их цитопротекторные свойства.

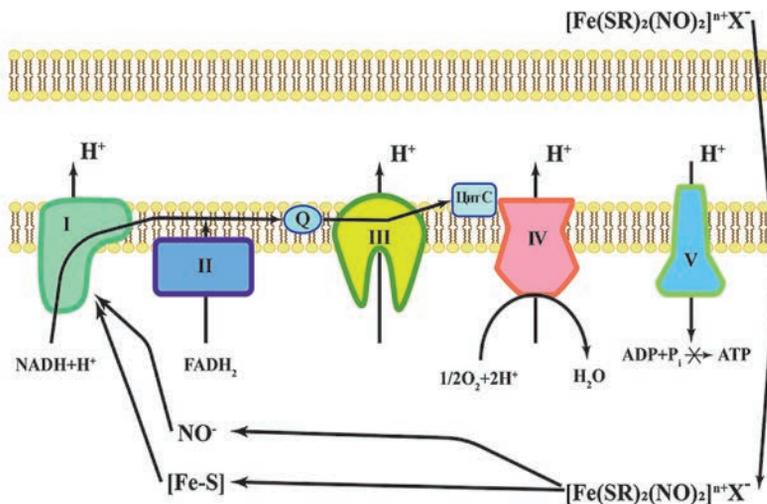


Рис. 84. Предполагаемый механизм действия ДНКЖ как разобщителей окислительного фосфорилирования

Ранее было установлено, что поддержание оптимального соотношения восстановленного глутатиона (GSH) к окисленному (GSSG) является важным условием жизнеспособности клеток [918-920]. Глутатион играет ключевую роль в окислительно-восстановительной регуляции основных процессов клеточной активности, а именно в регуляции клеточного цикла,

916. Kwok K. H.-H., Ho P. W.-L., Chu A. C.-Y. et al. Mitochondrial UCP5 is neuroprotective by preserving mitochondrial membrane potential, ATP levels, and reducing oxidative stress in MPP+ and dopamine toxicity. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2010. – V. 49. – № 6. – P. 1023–1035.
917. Bachhawat A.K., Yadav S. The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. // *IUBMB Life*. – 2018. – V. 70. – № 7. – P. 585–592.
918. Kim S.-J., Jung H.-J., Hyun D.-H. et al. Glutathione reductase plays an anti-apoptotic role against oxidative stress in human hepatoma cells. // *Biochimie*. – 2010. – V. 92. – № 8. – P. 927–932.
919. Parvez S., Long M. J. C., Poganik J. R., Aye Y. Redox Signaling by Reactive Electrophiles and Oxidants. // *Chemical Reviews*. – 2018. – V. 118. – № 18. – P. 8798–8888.
920. Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M. et al. Role of Glutathione in Cancer Progression and Chemoresistance. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – V. 2013. – P. 972913.

продукции энергии, апоптозе, пролиферации, дифференцировке, фолдинге белков, транскрипции, репарации ДНК, передаче сигналов и антиоксидантной защите [921-923]. Глутатион является низкомолекулярным антиоксидантом и может участвовать в неферментативной антиоксидантной защите, действуя как эффективный поглотитель свободных радикалов [924]. Снижение уровня GSH ниже нормальных значений служит показателем нарушения редокс-статуса клеток и изменения редокс-зависимой регуляции [924, 925]. Поэтому мы исследовали роль ДНКЖ на уровне глутатиона в клетках. Результаты исследования показали, что тестируемые ДНКЖ не влияли на уровень восстановленного глутатиона в клетках. Это свидетельствует о том, что ДНКЖ не вызывает окислительного стресса в клетках и не нарушает окислительно-восстановительный баланс.

В ряде работ было показано, что в нормальных условиях соотношение GSH/GSSG составляет 100:1. Поддержание оптимального соотношения GSH/GSSG в клетке необходимо для ее нормального функционирования и выживания [926]. Нарушение этого соотношения оказывает существенное влияние на процессы передачи сигнала, контроля экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференцировки, состояния клеточного метаболизма и клеточной активности в целом [927]. Недостаток GSH подвергает клетку риску окислительного повреждения и приводит к накоплению АФК в клетке. АФК играют важную роль сигнальных молекул, однако их накопление при патологических состояниях приводит к окислительному стрессу [928, 929].

Основным источником АФК в клетках является окислительное фосфорилирование. Митохондриальная дисфункция и окислительный стресс уча-

-
921. Robaczewska J., Kedziora-Kornatowska K., Kozakiewicz M. et al. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. // *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society.* – 2016. – V. 67. – № 3. – P. 331–337.
 922. Lu S.C., Mato J.M., Espinosa-Diez C., Lamas S. MicroRNA-mediated regulation of glutathione and methionine metabolism and its relevance for liver disease. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2016. – V. 100. – P. 66–72.
 923. Forman H.J. Glutathione—From antioxidant to post-translational modifier. // *Archives of biochemistry and biophysics.* – 2016. – V. 595. – P. 64–67.
 924. Rushworth G.F., Megson I.L. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. // *Pharmacology & therapeutics.* – 2014. – V. 141. – № 2. – P. 150–159.
 925. Tchouague M., Grondin M., Glory A., Averill-Bates D. Heat shock induces the cellular antioxidant defenses peroxiredoxin, glutathione and glucose 6-phosphate dehydrogenase through Nrf2. // *Chemico-Biological Interactions.* – 2019. – V. 310. – P. 108717.
 926. Nagapan T. S., Lim W. N., BaSri D.F., Ghazali A.R. Oral supplementation of L-glutathione prevents UVB-induced melanogenesis and oxidative stress in BALB/c mice. // *Experimental Animals.* – 2019. – P. 17–19.
 927. Sarniak A., Lipińska J., Tytman K., Lipińska S. Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation. // *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online).* – 2016. – V. 70. – P. 1150–1165.
 928. Ravera S., Bartolucci M., Cuccarolo P. et al. Oxidative stress in myelin sheath: The other face of the extramitochondrial oxidative phosphorylation ability. // *Free radical research.* – 2015. – V. 49. – № 9. – P. 1156–1164.
 929. Liu T., Zhang M., Mukosera G.T. et al. L-NAME releases nitric oxide and potentiates subsequent nitroglycerin-mediated vasodilation. // *Redox biology.* – 2019. – V. 26. – P. 101238.

ствуют в патогенезе многих заболеваний [930, 931]. Окислительный стресс вызывает многие дегенеративные заболевания и гибель клеток. Образование активных форм кислорода при участии митохондрий играет важную роль в индукции апоптоза в патофизиологических процессах в нейронах, кардиомиоцитах, а также в процессе старения [932-937]. Поэтому определение АФК может дать важную информацию о физиологическом состоянии клетки и функции митохондрий [930]. На основании этих результатов мы исследовали роль ДНКЖ в формировании АФК. Как и ожидалось, данное исследование показало, что ДНКЖ при данной дозе введения ($2,0 \times 10^{-4}$ М) не влияли на уровень АФК в клетке, то есть пероксинитрит (ONOO-) не образовывался в клетке. Возможно, ДНКЖ защищали фибробласты от АФК, поддерживая окислительно-восстановительный баланс. Это свидетельствует о том, что ДНКЖ не вызывали физиологических нарушений в фибробластах. Возможно, ДНКЖ препятствуют выработке в митохондриях кислородных радикалов, что является основополагающим принципом в борьбе со многими заболеваниями.

Следует отметить, что активные формы кислорода играют важную роль сигнальных молекул в организме и оказывают не только отрицательный эффект, но и положительный. При исследовании влияния ДНКЖ на уровень АФК в кардиомиоцитах нами показано, что ДНКЖ (№ 3, 4 и 6) повышали уровень АФК в 1,5-2 раза. Из литературы известно, что АФК могут также участвовать в ишемическом прекондиционировании и в кардиопротекции. Ранее было показано, что экзогенное применение оксидантов индуцирует прекондиционирование в интактных сердцах, а антиоксиданты блокируют эффекты прекондиционирования в различных моделях [933-935]. Кроме того, было показано, что донор NO (SNAP) вызывал генерацию АФК (в 1,6-1,7 раз) в кардиомиоцитах, и при этом наблюдался цитозащитный эффект в сердце кролика [936, 937]. Следовательно, наши результаты согласуются с литературными данными, и возможно, что исследуемые нами ДНКЖ также будут проявлять цитопротекторный эффект *in vivo*.

-
930. Grancara S., Zonta F., Ohkubo S. et al. Pathophysiological implications of mitochondrial oxidative stress mediated by mitochondriotropic agents and polyamines: the role of tyrosine phosphorylation. // *Amino Acids*. – 2015. – V. 47. – № 5. – P. 869–883.
 931. Haller H., Cosentino F., Lüscher T. F. Endothelial dysfunction, hypertension and atherosclerosis. // *Drugs in R & D*. – 2002. – V. 3. – № 5. – P. 311–323.
 932. Suski J., Lebiezinska M., Bonora M. et al. Relation between mitochondrial membrane potential and ROS formation. // *Mitochondrial Bioenergetics*. – 2018. – P. 357–381.
 933. Salimi A., Pourahmad J. Measurement of mitochondrial toxicity parameters in embryonic hippocampus. // *Teratogenicity Testing*. – 2018. – P. 537–544.
 934. Kleme M.L., Sané A., Garofalo C. et al. CFTR deletion confers mitochondrial dysfunction and disrupts lipid homeostasis in intestinal epithelial cells. // *Nutrients*. – 2018. – V. 10. – № 7. – P. 836.
 935. Lin N., Zhang H., Su Q. Advanced glycation end-products induce injury to pancreatic beta cells through oxidative stress. // *Diabetes & metabolism*. – 2012. – V. 38. – № 3. – P. 250–257.
 936. Lin N., Chen H., Zhang H. et al. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) inhibition ameliorates palmitate-induced INS-1 beta cell death. // *Endocrine*. – 2012. – V. 42. – № 1. – P. 107–117.
 937. Czarna M., Jarmuszkiewicz W. Role of mitochondria in reactive oxygen species generation and removal; relevance to signaling and programmed cell death. // *Postepy biochemii*. – 2006. – V. 52. – № 2. – P. 145–156.

Впервые мы обнаружили, что ДНКЖ защищают фибробласты от индуцированной доксорубицином токсичности. Таким образом, наши результаты показали, что ДНКЖ могут защищать клетки *in vitro* от доксорубина, известного противоопухолевого и сердечно-токсичного антрациклинового антибиотика. Мы предполагаем, что ДНКЖ могут на короткое время разобщать электрон-транспортную цепь и тем самым индуцировать утечку избытка электронов через мембрану и предотвращать возникновение окислительного стресса в клетке. Мы продемонстрировали здесь, что эти ДНКЖ могут быть использованы для поддержания или повышения жизнеспособности клеток.

Исследование физико-химических свойств наночастиц хитозан-гиалуроновая кислота: размер и дзета-потенциал

В настоящее время существуют различные подходы для разработки наночастиц (НЧ) по доставке лекарственных препаратов. Существует много публикаций по созданию наночастиц неорганического и органического типа. В качестве примера неорганических наночастиц можно привести золотые наночастицы, магнитные железо-оксидные наночастицы, цинк-оксидные наночастицы, углеродные нанотрубки [938-941]. Наночастицы на основе органических материалов включают наногели, дендримеры, наночастицы-пептиды [942, 943]. Однако недавние исследования показали, что все вышеперечисленные типы наночастиц сталкиваются с трудностями при взаимодействии с клетками. Это связано с большими размерами наночастиц (> 100 нм), не позволяющими им попасть в клетки, а также поглощением наночастиц макрофагами в кровяном русле. В случае малого размера наночастиц (< 100 нм) они легко выводятся из организма ретикуло-эндотелиальной системой (почки, печень).

Поэтому в нашей работе мы хотели создать наночастицы оптимального размера из биосовместимого и биodeградируемого материала, которые бы стабилизировали динитрозильные комплексы железа.

Взаимодействие НЧ с клеткой является очень динамичным процессом и зависит от физических характеристик НЧ, а также от свойств клеточной

-
938. Pyshkina O.A., Boeva Z.A., Volosova N. S., Sergeev V. G. Peculiarities of stable multi-walled carbon nanotubes dispersions formation in the presence of polycarbonic acids. // *Butlerov communications*. – 2013. – V. 35. – № 8. – P. 20–24.
939. Parveen A., Malashetty V.B., Mantripragada B. et al. Bio-functionalized gold nanoparticles: Benign effect in Sprague-Dawley rats by intravenous administration. // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2017. – V. 24. – № 8. – P. 1925–1932.
940. Mazitova G.T., Kiyenskaya K.I., Hlopetskii O.G. et al. Antimicrobial activity vs. shape of zinc oxide nanoparticles. // *Butlerov communications*. – 2017. – V. 52. – № 12. – P. 119–123.
941. Алексеев А.А., Брылев М.И., Королев В.Л. и др. Пептидные ингибиторы агрегации тромбоцитов. Часть 3. Разработка технологии получения лиофилизата наночастиц гетеромерного пептида с антиагрегационным действием. // *Бутлеровские сообщения*. – 2016. – Т. 46. – № 6. – С. 28–31.
942. Xu X., Wang X., Luo W. et al. Triple cell-responsive nanogels for delivery of drug into cancer cells. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2018. – V. 163. – P. 362–368.
943. Adjei I.M. Nanomaterial: Impacts on Cell Biology and Medicine / I. M. Adjei, B. Sharma, V. Labhasetwar. – 2014.

мембраны. Физические характеристики НЧ, такие как форма, размер, поверхностный заряд или присутствие проникающих в клетки пептидов/нацеленных лигандов на поверхности НЧ, могут влиять на взаимодействия НЧ с клеткой [944].

Нами были приготовлены наночастицы (НА:СS {4:1}) методом ионной желатинизации. В отличие от большинства наночастиц с НА, наш подход не включает образование химических ковалентных связей, а основывается на простом ионном взаимодействии между НА, отрицательно заряженной молекулой и хитозаном, положительно заряженной молекулой. Кроме того, данный метод имеет следующие преимущества: наночастицы получаются спонтанно в мягких условиях без использования высоких температур или органических растворителей.

Кроме того, нами были также получены наночастицы с доксорубицином (НА-DOX:СS){6:1} методом ионной желатинизации. Препарат DOX был инкапсулирован в наночастицы за счет электростатического взаимодействия между положительно заряженным DOX и отрицательно заряженной НА, что приводило к образованию наноконплексов. Поскольку доксорубицин влияет на размер и поверхностный заряд наночастиц, было увеличено соотношение (НА:СS) {6:1} [945].

Размер и морфологию наночастиц (НА:СS {4:1}) исследовали с помощью электронной микроскопии. Было показано, что наночастицы имеют сферическую форму, однородный состав и размер примерно равный 100-400 нм.

Полученные нами наночастицы имели размер (100-400 нм), оптимальный для быстрого проникновения в клетку и длительного удержания в кровяном русле, что позволит осуществлять эффективный клеточный таргетинг.

Кроме того, с помощью метода динамического светорассеивания мы определяли гидродинамический радиус наночастиц. Показано, что наночастицы (НА:СS){4:1} в водном растворе имели гидродинамический радиус в диапазоне от 30-60 нм и 100-400 нм, наночастицы (НА-DOX:СS){6:1} от 100 ~ 300 нм. Следует отметить, что размеры наночастиц были меньше при измерении методом электронной микроскопии, чем при измерении DLS. Это связано с тем, что наночастицы при измерении методом электронной микроскопии находятся в сухом состоянии, а при измерении методом DLS наночастицы находятся в набухшем состоянии [946].

944. La Fuente M.De., Seijo B., Alonso M.J. Design of novel polysaccharidic nanostructures for gene delivery. // *Nanotechnology*. – 2008. – V. 19. – № 7. – P. 75105.

945. Aktaş Y., Andrieux K., Alonso M.J. et al. Preparation and in vitro evaluation of chitosan nanoparticles containing a caspase inhibitor. // *International journal of pharmaceutics*. – 2005. – V. 298. – № 2. – P. 378–383.

946. Alonso-Sande M., Cuna M., Remuñán-López C. et al. Formation of new glucomannan–chitosan nanoparticles and study of their ability to associate and deliver proteins. // *Macromolecules*. – 2006. – V. 39. – № 12. – P. 4152–4158.

Морфология полученных наночастиц была похожа на морфологию наночастиц из хитозана и наночастиц хитозан/полисахарид, полученных ранее методом ионной желатинизации [947-949].

Наночастицы, покрытые полисахаридами, являются новой тенденцией в системах лекарственной доставки. Следуя этому, мы использовали отрицательно заряженный полимер НА в качестве вектора доставки. НА – это несulfированный гликозаминогликан, входящий в состав соединительной, эпителиальной и нервной тканей [946-948]. НА является биологически совместимой, нетоксичной и легко биodeградируемой молекулой. НА может обеспечить защиту доставляемого лекарственного препарата и улучшить растворимость гидрофобных лекарств. Кроме того, поскольку НА является полианионным полисахаридом, она имеет множественные заряды для взаимодействия с поликатионами [948]. Для определения НА на поверхности наночастиц мы проводили измерение дзета-потенциала. Результаты показали, что значение дзета-потенциала НЧ равнялось -47.22 mV , что свидетельствует о преобладании НА на поверхности наночастиц. Такие отрицательно заряженные наночастицы будут легко проникать в клетку через цитоплазматическую мембрану, которая также имеет отрицательный заряд.

Исследование локализации наночастиц (гиалуроновая кислота – хитозан) в клетке

Для определения локализации наночастиц в клетке мы использовали хитозан, меченный родамином. Нами были получены наночастицы (НА:CS-Rhod){4:1}, которые мы добавляли к почечным эпителиальным клеткам *Vero*. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии было показано, что эти наночастицы проникали внутрь клеток и локализовались в цитоплазме. Следовательно, эти результаты продемонстрировали, что полученные наночастицы обладают высокой проницаемостью и легко проходят через цитоплазматическую мембрану клетки.

Для того чтобы подтвердить этот результат, мы также использовали доxorубин, который обладает собственной флуоресценцией, и поэтому его используют для визуализации распределения наночастиц в тканях и клетках [949].

При помощи конфокальной микроскопий, мы установили, что наночастицы (НА-DOX:CS) {6:1} после 24-часовой инкубации с клетками *HeLa*

947. Calvo P., Remunan-Lopez C., Vila-Jato J.L., Alonso M.J. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. // Journal of applied polymer science. – 1997. – V. 63. – № 1. – P. 125–132.

948. La Fuente M.De., Seijo B., Alonso M.J. Novel hyaluronan-based nanocarriers for transmucosal delivery of macromolecules. // Macromolecular bioscience. – 2008. – V. 8. – № 5. – P. 441–450.

949. Shah S., Chandra A., Kaur A. et al. Fluorescence properties of doxorubicin in PBS buffer and PVA films. // Journal of photochemistry and photobiology Biology. – 2017. – V. 170. – P. 65–69.

946. Alonso-Sande M., Cuna M., Remuñán-López C. et al. Formation of new glucomannan–chitosan nanoparticles and study of their ability to associate and deliver proteins. // Macromolecules. – 2006. – V. 39. – № 12. – P. 4152–4158.

проникали в клетку и были локализованы в цитоплазме. Однако сигнал от флуоресценций DOX был слабым. Как мы полагаем, это связано с тем, что препарат находился в составе наночастиц. Для более точного определения локализации наночастиц была использована FLIM-микроскопия. Результаты FLIM-микроскопии подтвердили, что сигнал от наночастиц с DOX был локализован в цитоплазме, в отличие от свободного DOX, сигнал которого находился в ядре клетки.

Таким образом, с помощью этих методов было показано, что наночастицы проходят через цитоплазматическую мембрану клеток и локализуются в цитоплазме и вокруг ядра клетки.

Исследование выделения NO из наночастиц-ДНКЖ с помощью электрохимического метода

Ранее было показано, что ДНКЖ после растворения в анаэробном водном растворе начинают выделять NO в первую секунду и этот эффект является непродолжительным [732, 733]. Поэтому для увеличения продолжительности высвобождения NO ДНКЖ были инкапсулированы в наночастицы методом физической ассоциации. Поскольку ДНКЖ являются катионными соединениями, они способны взаимодействовать с НА, которая представляет собой полианионный полисахарид.

В нашей работе мы впервые инкапсулировали в наночастицы ДНКЖ, которые являются донорами NO и эффективными ингибиторами MMP, MPO, PARP. Поэтому мы предполагаем, что данные соединения будут действовать на молекулярные мишени внутри клетки (на ферменты MMP, MPO, PARP), являющиеся биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний. Благодаря этому наши наночастицы будут осуществлять молекулярный таргетинг, что позволит увеличить селективность действия наночастиц. Мы инкапсулировали ДНКЖ в состав наночастиц и тем самым увеличили их стабильность, а также время и количество выделяемого NO, тем самым улучшили эффективность действия этих соединений. Несомненным преимуществом наночастиц является и то, что в качестве наноструктурированного материала мы использовали природный биополимер-хитозан и гиалуроновую кислоту, которые являются биосовместимыми и биodeградируемыми материалами. Наши данные согласуются с недавно опубликованной работой, в которой донор NO (S-нитрозо-меркапто-янтарная кислота) был инкапсулирован в НЧ, что позволило увеличить время выделения NO [950].

732. Emel'yanova N.S., Shmatko N.Y., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Quantum chemical modeling of possible reactions of mononuclear iron nitrosyl complex $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)(\text{NO})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in an aqueous solution. // Russ Chem Bull. 2017. V. 66. P. 1842–1846. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1955-9>.

733. Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N.S., Konyukhova A. S., Stupina T.S., Balakina A.A., Terentiev A.A., Aldoshin S.M. Cationic dinitrosyl iron complexes with thiourea exhibit selective toxicity to brain tumor cells in vitro. // Dalton Trans. 2022. V. 51. P. 8893–8905. <https://doi.org/10.1039/D2DT01011A>.

950. Cabrales P., Han G., Roche C. et al. Sustained release nitric oxide from long-lived circulating nanoparticles. // Free Radical Biology and Medicine. – 2010. – V. 49. – № 4. – P. 530–535.

Исследование комплекса наночастицы – ДНКЖ на жизнеспособность клеток

Результаты нашего исследования показали, что ДНКЖ № 3 и № 4 в составе наночастиц повышали жизнеспособность клеток в 1,5-2,5 раза по сравнению с ДНКЖ № 3 и № 4 без наночастиц. Это свидетельствует о том, что в составе наночастиц ДНКЖ являются более стабильными и выделяют оксид азота в течение длительного времени. Поскольку для определения влияния ДНКЖ на жизнеспособность мы использовали резазурин, который позволяет измерять активность митохондриальных НАДН-дегидрогеназ, можно предположить, что под действием ДНКЖ активность этих ферментов возрастает, и в связи с этим повышается жизнеспособность клеток. Кроме того, другим возможным объяснением повышения жизнеспособности под действием ДНКЖ может быть активация АМРК и увеличение транспорта глюкозы, как было показано ранее [951].

Следует отметить, что полученные нами наночастицы являются водорастворимыми, биосовместимыми, биопроницаемыми и легко биодеградируемыми, способными высвобождать лекарство внутри клетки за счет расщепления НА гиалуронидазами. Такие наночастицы, несомненно, будут представлять интерес для фармацевтической промышленности, поскольку они являются комбинацией безопасных биоматериалов, идеальны для инкапсулирования катионных гидрофильных препаратов, способны обеспечить внутриклеточную доставку лекарств, могут длительно выполнять необходимую функцию по доставке лекарственных препаратов, не нанося побочных вредных эффектов для человеческого организма, могут производиться просто и легко в больших масштабах в нанотехнологии и, наконец, являются стабильными. Однако необходимы дальнейшие исследования данных наночастиц на животных моделях *in vivo*.

Таким образом, исследование показало, что ДНКЖ оказывают цитотропное и цитопротекторное действие на клетки. Более того, мы впервые продемонстрировали, что ДНКЖ можно рассматривать как катионные митохондриальные разобщители. Эти соединения не нарушали жизненно важных метаболических процессов в клетке, а наоборот, оказывали защитное действие и повышали жизнеспособность клеток фибробластов и кардиомиоцитов крысы. Это указывает на то, что ДНКЖ обладают терапевтическим потенциалом для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ишемии и инсульта) и сердечных осложнений после химиотерапии у онкологических больных.

Оценивая данные с практической точки зрения, можно сделать вывод, что ДНКЖ являются перспективными кандидатами для дальнейших фармакологических исследований с целью разработки препаратов для лечения ССЗ.

951. Oleshkevich E. Merging Icosahedral Boron Clusters and Magnetic Nanoparticles: Aiming toward Multifunctional Nanohybrid Materials. / E. Oleshkevich, F. Teixidor, A. Rosell, C. Viñas // *Inorganic chemistry*. – 2018. – Vol. 57. – № 1. – P. 462–470.

Выводы

1. Впервые показано влияние ДНКЖ на активность МРО. Было установлено, что соединения 1, 2, 5 и 6 ингибировали активность фермента более чем на 30% (* $p < 0,05$), а соединение 7 активировало МРО на 40% (* $p < 0,05$). Соединения 3, 4 и 5 показали наиболее сильный ингибирующий эффект МРО – 56, 68 и 48% (* $p < 0,05$), соответственно. Концентрации полумаксимального ингибирования активности фермента составили для ДНКЖ № 3 – $4,5 \times 10^{-4}$ М, для ДНКЖ № 4 – $4,5 \times 10^{-7}$ М.
2. Впервые показано влияние ДНКЖ на активность ММР. Количественный анализ влияния ДНКЖ на активность ММР показал, что соединения 1, 2, 5 и 7 ингибировали активность фермента более чем на 40% (* $p < 0,05$). Соединения 3, 4 и 6 показали наиболее значительное ингибирование активности ММР, которое составило 96, 98 и 76% (* $p < 0,05$), соответственно. Концентрации полумаксимального ингибирования активности фермента составили для ДНКЖ № 3 – $4,0 \times 10^{-5}$ М, для ДНКЖ № 4 – $7,5 \times 10^{-4}$ М, для ДНКЖ № 6 – $3,6 \times 10^{-5}$ М.
3. Впервые изучено влияние ДНКЖ (№ 1, 2, 3, 4, 6, 7) на активность поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (hrPARP-1). Все проанализированные ДНКЖ (в концентрации 100 мкМ) оказывали значительное ингибирующее действие 80-85 % (* $p < 0,05$) на активность рекомбинантной hrPARP-1.
4. Впервые показано, что ДНКЖ № 3, 4 и 6 являются эффективными ингибиторами ренина. Концентрации полумаксимального ингибирования ренина (IC_{50}) составили для ДНКЖ № 3 – $9,6 \times 10^{-5}$ М, для ДНКЖ № 4 – $1,25 \times 10^{-4}$ М, а для ДНКЖ № 6 – 1×10^{-4} М.
5. Впервые было установлено, что ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) стимулировали жизнеспособность клеток. Было показано, что ДНКЖ № 3 увеличивало жизнеспособность фибробластов приблизительно в 8 раз (* $p < 0,05$), а ДНКЖ № 4 и № 6 – в 5 раз (* $p < 0,05$) по сравнению с контрольными клетками, не обработанными ДНКЖ. Жизнеспособность кардиомиоцитов после обработки ДНКЖ увеличивалась в 2 раза (* $p < 0,05$) по сравнению с контрольными клетками без обработки этими соединениями. Впервые установлено, что соединения № 3 и № 4 способны оказывать цитозащитный эффект от воздействия доксорубина.
6. Впервые изучено влияние ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) на митохондриальный мембранный потенциал фибробластов и кардиомиоцитов. Показано, что после воздействия ДНКЖ на клетки наблюдалось снижение митохондриального мембранного потенциала ($\Delta\psi$) в 2-3 раза (* $p < 0,05$). Установлено, что данный эффект был временным и через 10 часов митохондриальный мембранный потенциал восстанавливался до исходного уровня.

7. Впервые показано влияние ДНКЖ на уровень АФК. Результаты показали, что инкубация фибробластов с ДНКЖ (№ 3, № 4 и № 6) существенно не влияла на уровень АФК, тогда как в кардиомиоцитах соединения № 3 и № 4 повышали уровень АФК в 2,3 раза (* $p < 0,05$), а соединение № 6 увеличивало уровень АФК в 1,5 раза (* $p < 0,05$).
8. Методом ионной желатинизации были получены сферические наночастицы хитозан-гиалуроновая кислота размером от 100-400 нм. Показано, что наночастицы (НА:СS) имели потенциал -47.22 meV, а наночастицы (НА-DOX:СS) имели потенциал -45.6 meV. Это свидетельствует о том, что наночастицы являются отрицательно заряженными и стабильными.
9. Методом конфокальной и FLIM-микроскопии изучена локализация наночастиц (НА:СS) в клетках. Установлено, что наночастицы проходили через цитоплазматическую мембрану клеток и локализовались в цитоплазме после 24 час инкубации.
10. Для повышения стабильности ДНКЖ соединения были инкапсулированы в наночастицы (НА:СS) с использованием метода ионной желатинизации. Результаты показали, что инкапсулирование ДНКЖ в состав наночастиц стабилизирует эти соединения, а также пролонгирует и увеличивает количество генерируемого NO. Впервые показано, что наночастицы (НА-ДНКЖ № 3:СS) при концентрации ДНКЖ ($6.6 \times 10^{-5}M$) повышали жизнеспособность клеток Vero в 2,5 раза, а жизнеспособность кардиомиоцитов – в 3,3 раза. Это свидетельствует о том, что наночастицы (НА-ДНКЖ:СS) являются нетоксичными и имеют потенциал для использования в кардиологии и кардиоонкологии для повышения жизнеспособности клеток организма.

Рекомендации по использованию научных выводов и перспективы дальнейших исследований

В литературе широко представлено влияние ферментов МРО, ММР, PАРР на развитие и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование ингибиторов данных ферментов представляет интерес для лечения ССЗ. До настоящего исследования в литературе отсутствовали работы по влиянию ДНКЖ на активность ферментов МРО, ММР, PАРР. В данной работе было продемонстрировано, что соединения ДНКЖ (№ 1-6) достаточно эффективно ингибировали активность МРО, ММР, PАРР *in vitro*. Среди этих соединений наиболее эффективными оказались ДНКЖ № 3 и № 4. Эти данные демонстрируют возможность использования ДНКЖ в качестве ингибитора ферментов МРО, ММР, PАРР для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

В данном исследовании впервые было изучено влияние ДНКЖ на жизнеспособность и метаболизм фибробластов и кардиомиоцитов, проведена оценка эффективности их действия. Поэтому настоящую работу можно считать первым исследованием в этой области. Нами было показано, что катионные ДНКЖ увеличивают жизнеспособность фибробластов и кардиомиоцитов, обладают цитопротекторными свойствами. Методом флуоресцентного анализа установлено, что соединения ДНКЖ понижали митохондриальный мембранный потенциал, но не оказывали значительного эффекта на уровень глутатиона и АТФ в фибробластах и кардиомиоцитах. Исследуемые ДНКЖ не влияли на уровень АФК в фибробластах, но повышали уровень АФК в кардиомиоцитах. Подобное различие может объясняться более высоким количеством митохондрий в кардиомиоцитах по сравнению с фибробластами (разница ~ в 100 раз). Наше исследование показало, что ДНКЖ не нарушают жизненно важные метаболические процессы в клетке, а наоборот, оказывают защитный эффект и повышают жизнеспособность фибробластов и кардиомиоцитов. Это указывает на то, что эти соединения имеют потенциал для лечения ССЗ (ишемии, инсульта, атеросклероза, гипертонии и др.) в кардиологии и снижения токсичности противоопухолевых препаратов в кардионкологии.

Исследуемые нами ДНКЖ являются водорастворимыми, однако они недостаточно стабильны в водном растворе. Поэтому мы хотели создать наночастицы, которые осуществляли бы клеточный и молекулярный таргетинг, были нетоксичными, биосовместимыми и биодegradируемыми.

С этой целью для осуществления клеточного таргетинга мы разработали методику получения наночастиц размером ~100-400 нм. Этот размер наночастиц является оптимальным для таргетной доставки, поскольку наночастицы именно такого размера могут проникать в клетки, и они не будут выводиться ретикуло-эндотелиальной системой из кровяного русла. Исследование локализации наночастиц (гиалуроновая кислота – хитозан) в клетках показало, что наночастицы проходят через цитоплазматическую мембрану клеток и локализуются в цитоплазме и вокруг ядра клетки. Следовательно, данные наночастицы будут осуществлять клеточный таргетинг.

Для улучшения адресной эффективности наночастиц мы использовали концепцию активной таргетной доставки, которая состоит в использовании

биомолекулярного узнавания молекул на поверхности клеток, что приводит к более высокой степени специфичности. В данном случае мы декорировали наночастицы биологически адресной молекулой. В качестве такой молекулы мы использовали НА, которая является главным компонентом экстраклеточного матрикса в костном мозге, соединительных тканях. Этот биополимер регулирует различные клеточные процессы, включая пролиферацию, дифференциацию, подвижность, инвазивность, адгезию клеток и экспрессию генов. Именно НА увеличивает возможность таргетной доставки и ускоряет внутриклеточную доставку посредством эндоцитоза, поскольку все клетки экспрессируют эндогенные рецепторы для этого полимера (так называемые CD44 и RНАММ рецепторы). До сих пор наиболее популярные типы доставки лекарственных препаратов на основе НА использовали только методы химической ассоциации НА с носителем, с помощью ковалентных связей. Образцы этих наноносителей включают: комплексы лекарство-НА, НА-ковалентно модифицированные липосомы, гистидин, суперпарамагнитные наночастицы оксида железа и наноподобные кластеры.

В нашей работе мы получали наночастицы (хитозан-НА) методом ионной желатинизации. В отличие от большинства наночастиц с НА наш подход не включает образование химических ковалентных связей, а основывается на простом ионном взаимодействии между НА, отрицательно заряженной молекулой, и хитозаном, положительно заряженной молекулой.

В нашей работе мы впервые инкапсулировали в наночастицы ДНКЖ, которые являются донорами NO и эффективными ингибиторами МРО, ММР и PАРР. Поэтому данные соединения будут специфично действовать на молекулярные мишени внутри клетки, ферменты МРО, ММР и PАРР, являющиеся биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний. Благодаря этому полученные нами наночастицы способны осуществлять молекулярный таргетинг, что позволяет увеличить селективность действия наночастиц. Мы инкапсулировали ДНКЖ в состав наночастиц и тем самым увеличили их стабильность, а также время и количество выделяемого NO, тем самым улучшили эффективность действия этих соединений. Результаты наших исследований показали, что наночастицы являются нетоксичными, а также повышают жизнеспособность кардиомиоцитов и клеток Vero. Несомненным преимуществом наших наночастиц является и то, что в качестве наноструктурированного материала мы используем природный биополимер-хитозан, который является биосовместимым и биodeградируемым материалом.

Таким образом, полученные нами наночастицы являются водорастворимыми (гидрофильность НА), биосовместимыми и биodeградируемыми (хитозан), биопроницаемыми (отрицательный заряд НА), способными высвобождать лекарство внутри клетки за счет расщепления НА гиалуронидазами. Наночастицы (хитозан-НА) стабилизируют ДНКЖ, потенциальные кардиологические препараты для лечения ССЗ.

Следовательно, данное исследование ДНКЖ является одним из приоритетных направлений в биохимии и представляет интерес для лечения ССЗ. Для практического использования ДНКЖ в кардиологии и кардиоонкологии необходимы дальнейшие исследования данных соединений на животных моделях *in vivo*.

Список научных публикаций авторов

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК

1. *N. P. Akentieva, A R Gizatullin, N. A. Sanina, O Silvestre, O Savchuk, N. I. Shkondina, Kseniya Abramova , V. Tikhonov, S. Shram, S. M Aldoshin and J. Nieder.* Intracytoplasmic trafficking of nanoparticles based on hyaluronic acid and chitosan for targeted delivery of anticancer drugs. // *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2022, v.13, issue 4, 2023, 344, P.1–17. <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.344>.
2. *Natalia Akentieva, Natalia Sanina, Artur Gizatullin, Natalia Shkondina , Anna Andreeva, Stanislav Shram , Sergei Aldoshin.* Influence of Dinitrosyl Iron Complexes on the Activity of Enzymes, Indicators of Cardiovascular Diseases.// *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2022, Volume 13, Issue 2, 2023, 198, P.1–17. <https://doi.org/10.33263/BRIAC132.198>.
3. *Akentieva N.P., Gizatullin A.R., Sanina N.A. ; Dremova N.N., Torbov V.I. ; Shkondina N.I., Zhelev N., Aldoshin S.M.* Fabrication of chitosan-hyaluronic acid nanoparticles and encapsulation into nanoparticles of dinitrosyl iron complexes as potential cardiological drugs. *NANOMEDICINE JOURNAL*, Vol 7, # 3, PP. 199–210. DOI: 10.22038/nmj.2020.07.0004.
4. *N.P. Akentieva, A.R. Gizatullin, O. Silvestre, O. Savchuk, N. I. Shkondina, T. P. Prichodchenko, D. V. Mitschenko, A. V. Zhilenkov, P. A. Troshin, N.A. Sanina, N.H. Dremova, V.I. Torbov , S M. Aldoshin and J.B. Nieder.* Development of chitosan-hyaluronic acid nanoparticles and study of their physico-chemical properties for targeted delivery of anticancer drugs . // *Materials Science and Engineering*. 2020. V. 848. P. 1–8, 012002, doi:10.1088/1757-899X/848/1/012002.
5. *N.P. Akentieva, N.A. Sanina, A.R. Gizatullin, N.I. Shkondina, T.R. Prikhodchenko, S.I. Shram, N. Zhelev and S.M. Aldoshin.* Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, volume10, Article 1277, PP. 1–21. Doi:10.3389/fphar.2019.01277
6. *Акентьева Н.П., Санина Н.А., Приходченко Т.Р., Гизатуллин А.Р., Шкондина Н.И., Шушанов С.С., Ступина Т.С., Алдошин С.М.* Противоопухолевая активность динитрозильного комплекса железа на клетках множественной миеломы. // Доклады Академии наук (Биохимия, биофизика и молекулярная биология). 2019. Т. 486. № 6. С. 742–747. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524866742-747>
7. *Гизатуллин А.Р., Акентьева Н.П., Санина Н.А., Дремова Н.Н., Торбов В.И., Шкондина Н.И. , Приходченко Т.Р. , Алдошин С.М.* Дизайн наночастиц (хитозан-гиалурионовая кислота) для таргетной доставки динитрозильных комплексов железа, потенциальных кардиологических препаратов. // *Бутлеровские сообщения*. – 2018. – Т. 54. – № 6. – С. 138–143. ROI: jbc-01/18-54-6-138. ISSN 2074-0212

8. Акентьева Н., Гизатуллин А., Санина Н., Шматко Н., Горячев Н., Шкондина Н., Приходченко Т., Желев Н., Алдошин С.М. Влияние динитрозильных комплексов железа (доноров NO) на метаболические процессы в фибробластах легких человека. // Доклады Академии наук (биохимия и биофизика). 2018. Т. 483. № 4. С. 452–456. DOI: 10.1134/S1607672918060133.
9. Н.П. Акентьева, Н.А. Санина, А.Р. Гизатуллин, Н.Ю. Шматко, Н.С. Горячев, Н.И. Шкондина, Т.Р. Приходченко, академик РАН С.М. Алдошин. Ингибирующий эффект динитрозильных комплексов железа (доноров NO) на активность миелопероксидазы. // Доклады Академии Наук. Серия Биохимия, Биофизика, Молекулярная Биология. – 2017. – Т. 477. – № 6. – С. 733–737. DOI: 10.7868/S0869565217360221
10. Sanina N.A., Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V., Terent'ev A.A., Stupina T.S. et al. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // J. Coord. Chem. 2016. V.69. P. 812–825.
11. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]$. // New J. Chem. 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
12. Sanina N.A., Aldoshin S.M. Structure and properties of iron nitrosyl complexes with functionalized sulfur-containing ligands. // Russian Chemical Bulletin. 2011. V. 60. № 7. P. 1223–1251.
13. Sanina N.A., Manzhos R.A., Emel'yanova N.S. et al. Redox reactions of cationic nitrosyl iron complexes with thiourea and its aliphatic derivatives: The experiment and DFT investigation. // Journal of Molecular Structure. – 2019. – V. 1181. – P. 253–260.
14. Шматко Н.Ю., Корчагин Д.В., Шилов Г.В., Санина Н.А., Алдошин С.М. Молекулярная и кристаллическая структура катионного динитрозильного комплекса железа с 1,3-диметилтиомочевинной. // Журнал структурной химии. 2017. Т. 58. № 2. С. 398–400.
15. Sanina N.A., Kozub G.I., Zhukova O.S., Korchagin D.V., Kondrat'eva T.A., Morgunov R.B., Talantsev A.D., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V., Aldoshin S.M. New agent for nitric oxide (NO) chemotherapy: synthesis and properties of DNIC with hydrazinium cation in solid phase and solutions. // J. Mol. Structure. 2019. – V. 1181. – № 5. P. 321–328. doi: 10.1016/j.molstruc.2018.11.092
16. Sanina N., Shmatko N., Stupina T., Balakina A., Terent'ev A. NO-donor iron nitrosyl complex with N-ethylthiourea ligand exhibits selective toxicity to glioma A172 Cells. // Molecules. 2017. V. 22. P. 1426. doi: 10.3390/molecules22091426.
17. Санина Н.А., Алдошин С.М. Строение и свойства нитрозильных комплексов железа с функциональными серосодержащими лигандами. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2011. № 7. P. 1199–1227.

18. *Sanina N.A., Rakova O.A., Aldoshin S.M., Shilov G.V., Shulga Y.M., Kulikov A.V., Ovanesyanyan N.S.* Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione $[\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. // *Mendeleev Communications*. 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.
19. *Sanina N.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T.A., Korchagin D.V., Shilov G.V., Morgunov R.B., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V., Stupina T.S., Terent'ev A.A., Aldoshin S.M.* Anionic dinitrosyl iron complexes – new nitric oxide donors with selective toxicity to human glioblastoma cells. // *Journal of Molecular Structure*. 2022. V. 1266. P. 133506.
20. *Шматко Н.Ю.* Катионные динитрозильные комплексы железа с тиомочевинной и ее производными – новые доноры оксида азота. Кандидатская диссертация по химии. 2017. С. 158.
21. *Rakova O.A., Sanina N.A., Shilov G.V., Strelets V.V., Borzova I.B., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* $[\text{Bu}_4\text{N}]_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$: Synthesis, Structure, Redox Properties, and EPR Study. // *Russ. J. Coord. Chem.* 2001. V. 27. P. 657–663.
22. *Vasil'eva S.V., Sanina N.A., Moshkovskaya E.Y., Rudneva T.N., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* Formation of Dinitrosyl Iron Complex Is a Necessary Step in the Realization of the $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \llcorner 4\text{H}_2\text{O}$ Genetic Activity. // *Dokl. Biol. Sci.* 2005. V. 402. P. 230–232.
23. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V.* Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // *Inorganic Chemistry Communications*. 2014. V. 49. P. 44–47.
24. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Knyazkina E.V., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V.* Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$. // *New Journal of Chemistry*. 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
25. *Shestakov A.F., Shul'ga Y.M., Emel'yanova N.S., Sanina N.A., Aldoshin S.M.* Molecular and electronic structure and IR spectra of mononuclear dinitrosyl iron complex $\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2$: a theoretical study. // *Russ. Chem. Bull.* 2007. V. 56. P. 1289–1297. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0197-7>.
27. *Aldoshin S.M., Fel'dman E.B., Yurishchev M.A.* Quantum entanglement and quantum discord in magnetoactive materials. // *Low Temp. Phys.* 2014. V. 40. P. 5–21. <https://doi.org/10.1063/1.4862469>.
28. *Lyssenko K.A., Ananyev I.V., Aldoshin S.M., Sanina N.A.* Features of chemical bonding within the $\text{Fe}(\text{NO})_2$ fragment for crystalline bis (thiosulfate) tetranitrosyl diiron tetramethylammonium salt as an example according to high-resolution X-ray diffraction data. // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. P. 2351–2360. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-1163-4>
29. *Aldoshin S.M., Bozhenko K.V., Utenyshev A.N., Sanina N.A., Emel'yanova N.S.* Formation of supramolecular synthons in the crystalline structure of the dinitrosyl

- iron complexes with aliphatic thiourea ligands. // Journal of molecular modeling. 2020. V. 26. № 11. P. 330.
30. Aldoshin S.M., Morgunov R.B., Palii A.V., Shmatko N.Y., Sanina N.A. Study of magnetic behavior of salts of cationic dinitrosyl iron complexes with thiocarbamide and its derivatives. // Appl. Magn. Reson. 2015. V. 46. P. 1383–1393. <https://doi.org/10.1007/s00723-015-0689-9>.
 31. Санина Н.А., Ракова О.А., Алдошин С.М., Чуев И.И., Атовмян Е.Г., Ованесян Н.С. Синтез, рентгеноструктурное и спектральное исследование соединений $[Q_4N]_2[Fe_2(S_2O_3)_2(NO)_4]$ (Q=Me, Et, n-Pr, n-Bu). // Координационная химия. 2001. Т. 27. № 3. С. 198–202.
 32. Sanina N.A., Rakova O.A., Aldoshin S.M., Shilov G.V., Shulga Y.M., Kulikov A.V., Ovanesyan N.S. Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione $[Fe(SC_2H_3N_3)(SC_2H_2N_3)(NO)_2] \cdot 0.5H_2O$. // Mendeleev Communications. 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.
 33. Санина Н.А., Шилов Г.В., Алдошин С.М., Шестаков А.Ф., Сырцова Л.А., Ованесян Н.С., Чудинова Е.С., Шкондина Н.И., Емельянова Н.С., Котельников А.И. Строение биядерного тетранитрозильного комплекса железа с пиримидин-2-илом « μ_2 -S типа» и влияние pH на его NO-донорную способность в водных растворах. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2009. № 3. С. 560–571.
 35. Сырцова Л.А., Санина Н.А., Шестаков А.Ф., Шкондина Н.И., Руднева Т.Н., Емельянова Н.С., Котельников А.И., Алдошин С.М. Влияние гемоглобина на NO донорную активность μ_2 -S-бис(пиримидин-2-тиолато) тетранитрозил железа. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2010. № 12. С. 2150–2159.
 36. Emel'yanova N.S., Gutsev L.G., Pokidova O.V., Shestakov A.F., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Investigation of the interaction of the cationic nitrosyl iron complex $[Fe(SC(NH_2)_2)_2(NO)_2]^+$ with molecular oxygen. // Inorganica Chimica Acta (Q2). 2021. V. 522. P. 120361. DOI10.1016/j.ica.2021.120361.
 37. Покидова О.В., Психа Б.Л., Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Новикова В.О., Загайнова Е.А., Санина Н.А. Особенности распада нитрозильного комплекса железа с тиомочевинными лигандами в аэробных условиях: эксперимент, кинетическое и квантово-химическое моделирование. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2022. № 8. С. 1604–1613.
 38. Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Загайнова Е.А., Санина Н.А., Алдошин С.М. Влияние алкильных заместителей в катионах моноядерных динитрозильных комплексов железа с тиомочевинными лигандами на механизм их реакции с молекулярным кислородом: квантово-химическое моделирование. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2022. № 9. С. 1870–1877.
 39. Pokidova O., Emel'yanova N., Kormukhina A., Novikova V., Kulikov A., Kotelnikov A., Sanina N. Albumin as prospective carrier of nitrosyl iron complex with thiourea and thiosulfate ligands under aerobic conditions. // Dalton Transactions. 2022. V. 51. P. 6473. DOI: 10.1039/d2dt00291d.

40. Pokidova O.V., Kormukhina A.Yu., Kotelnikov A.I., Rudneva T.N., Lyssenko K.A., Sanina N.A. Features of the decomposition of cationic nitrosyl iron complexes with N-ethylthiourea and penicillamine ligands in the presence of albumin. // *Inorganica Chimica Acta*. 2021. 524. Article Number: 120453. DOI 10.1016/j.ica.2021.12045310.1016/j.ica.2021.120453.
41. Emel'yanova N.S., Shmatko N.Y., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Quantum chemical modeling of possible reactions of mononuclear iron nitrosyl complex $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)(\text{NO})_2]\text{ClH}_2\text{O}$ in an aqueous solution. // *Russ Chem Bull*. 2017. V. 66. P. 1842–1846. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1955-9>.
42. Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N. S., Konyukhova A. S., Stupina T. S., Balakina A. A., Terentiev A.A., Aldoshin S. M. Cationic dinitrosyl iron complexes with thiourea exhibit selective toxicity to brain tumor cells in vitro. // *Dalton Trans*. 2022. V. 51. P. 8893–8905. <https://doi.org/10.1039/D2DT01011A>.
43. Sanina N.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T.A. et al. Structure and properties of bis(1-phenyl-1h-tetrazole-5-thiolate)diiron tetranitrosyl. // *Journal of Molecular Structure*. – 2013. – V. 1041. – P. 183–189.
45. Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y. et al. Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // *Inorganic Chemistry Communications*. – 2014. – V. 49. – P. 44–47.
46. Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V. et al. A new member of the cationic dinitrosyl iron complexes family incorporating N-ethylthiourea is effective against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *Journal of Coordination Chemistry*. – 2016. – V. 69. – № 5. – P. 812–825.
47. Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V. et al. The cationic dinitrosyl iron complexes family with thiocarbamide derivatives: Synthesis, structure and properties in the solid state. // *Polyhedron*. – 2017. – V. 137. – P. 72–80.
48. Aldoshin S.M., Sanina N.A., Davydov M.I., Chazov E.I. A new class of nitric oxide donors. // *Herald of the Russian Academy of Sciences*. – 2016. – V. 86. – № 3. – P. 158–163.

Патенты

1. Санина Н.А., Козуб Г.И., Кондратьева Т.А., Алдошин С.М. Моноядерные динитрозильные комплексы железа, способ получения моноядерных динитрозильных комплексов железа, донор монооксида азота, применение моноядерного динитрозильного комплекса железа в качестве противоопухолевого лекарственного средства. // Патент № 2494104 РФ. Бюл. 2013. № 27 от 27.09.2013.
2. Санина Н.А., Шматко Н.Ю., Алдошин С.М. // Патент РФ № 2014115252. 2015.

Тезисы и материалы докладов на научных конференциях

1. *Агентьева Н.П., Санина Н.А., Шушанов С.С., Шкондина Н.И., Беспалова О.О., Гизатуллин А.Р.* Динитрозильный комплекс железа – перспективный препарат для лечения множественной миеломы. Материалы V11 Всероссийской конференции по молекулярной онкологии 21–23 декабря 2022 г.
2. *Nataliya A. Sanina, Sergey M. Aldoshin,* Dinitrosyl iron complexes (DNICs) as promising agents for (NO)-chemotherapy of socially significant diseases // *MedChem – Russia 2022*, 16–19 мая 2022, Волгоград, Россия –<https://medchem21.com/index.php/program/>
3. *Н.А. Санина.* Доноры оксида азота в химиотерапии опухолей головного мозга // *Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии Novel Technologies in Medicine, Pharmacology Biology and Ecology, NT+ME `2022*, Крым, Ялта-Гурзуф, 29 мая – 8 июня 2022 <http://www.gloriozov.com/page-48.html>
4. *Абрамова К.А., Санина Н.А., Шкондина Н.И., Гизатуллин А.Р., Беспалова О.О., Агентьева Н.П.* Влияние динитрозильного комплекса железа на экспрессию генов ферментов в клетках множественной миеломы человека. Универсиада «Универсиада “Ломоносов” по фундаментальной физико-химической инженерии», 3 апреля 2021. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной физико-химической инженерии.
5. *Абрамова К.А., Санина Н.А., Шкондина Н.И., Гизатуллин А.Р., Беспалова О.О., Агентьева Н.П.* Цитопротекторный эффект динитрозильных комплексов железа, потенциальных кардиопрепаратов, в составе наночастиц. Конференция «XXVIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных “Ломоносов-2021”», 12–23 апреля 2021 в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.
6. *Кормухина А.Ю., Татьянаенко Л.В., Покидова О.В., Котельников А.И., Санина Н.А.* Влияние новых нитрозильных комплексов с тиомочевинной и ее производными на активность фосфодиэстеразы циклического гуанозинмонофосфата // ИБХФ РАН-ВУЗы «БИОХИМИЧЕСКАЯ ФИЗИКА» 15–16 ноября 2021 г. – устный доклад.
7. *Кормухина А.Ю., Покидова О.В., Котельников А.И., Санина Н.А.* Нитрозильные комплексы железа с функциональными серосодержащими лигандами: распад в водных растворах и особенности связывания с альбумином // *Современные тенденции развития функциональных материалов* 11–13 ноября 2021 г. Сочи, Сириус.
8. *Агентьева Н.П., Гизатуллин А.Р., Сильвестр О., Савчук О., Шкондина Н.И., Приходченко Т.Р., Мищенко Д.В., Жиленков А.В., Трошин П.А., Санина Н.А., Нидер Я.Б.* Разработка наночастиц (хитозан-гиалуроновая кислота) и изучение их физико-химических свойств для адресной

- доставки противоопухолевых препаратов. В книге «Новые материалы и перспективные технологии. Сборник материалов пятого междисциплинарного научного форума с международным участием». 2019. С. 451–455. Москва, 30 октября – 1 ноября 2019 г.
9. *Акентьева Н.П., Санина Н.А., Гизатуллин А.Р., Приходченко Т.Р., Шкондина Н.И.* Динитрозильные комплексы железа (доноры оксида азота)-потенциальные лекарственные препараты для лечения артериальной гипертензии. Тезисы на XV юбилейный Всероссийский конгресс «Артериальная гипертензия 2019: профилактика и лечение», 13–14 марта, 2019 г. Москва, место проведения: Конгресс-центр Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). //Сборник тезисов XV юбилейного Всероссийского конгресса «Артериальная гипертензия 2019: профилактика и лечение», 13–14 марта 2019 г., Москва, стр. 20–21. ISBN 978-5-9909887-6-7.
 10. *Сусленникова Н.Н., Акентьева Н.П.* Влияние ДНКЖ на метаболические процессы клеток множественной миеломы. Конференция «Молодая наука 2019». ИвГУ, г. Иваново, 25 апреля 2019 г.
 11. *Nataliya A. Sanina*, Novel class of agents for cancer chemotherapy, 12th Annual World Cancer Congress (WCC-2019) “Converging New Discoveries and Achievements of Cancer Research” Osaka, Japan on May 15th –17th , 2019, p. O–013 <http://www.bitcongress.com/cancer2019/default.asp>
 12. *А.Р. Гизатуллин, Н.А. Санина, Н.С. Горячев, Н.И. Шкондина, Т.Р. Приходченко, Н.П. Акентьева.* Изучение влияния на метаболизм клеток динитрозильных комплексов железа (доноров NO), потенциальных кардиологических препаратов. Тезисы на VI Евразийский конгресс кардиологов, 18–19 апреля 2018, Москва, Россия. // Сборник Тезисов «VI Евразийского конгресса кардиологов», г. Москва. 18–19 апреля 2018 г., стр. 73.
 13. *А.Р. Гизатуллин, Н.П. Акентьева, Н.А. Санина, Н.Н. Дремова, В.И. Торбов, Н.И. Шкондина, Т.Р. Приходченко, С.М. Алдошин.* Дизайн наночастиц (хитозан-гиалуроновая кислота) для таргетной доставки динитрозильных комплексов железа, потенциальных кардиологических препаратов. Тезисы на конференцию «Актуальные аспекты химической технологии биологически активных веществ», Москва, 25 мая 2018 г. // Сборник научных трудов: Актуальные аспекты технологии биологически активных веществ. 2018, выпуск 190, стр. 99–101. Под общ. ред. А.Е. Коваленко. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева. ISBN 978-5-7237-1610-0.
 14. *Гизатуллин А.Р., Акентьева Н.П., Санина Н.А., Горячев Н.С., Шкондина Н.И., Приходченко Т.Р.* Влияние динитрозильных комплексов железа (доноров NO) на метаболизм кардиомиоцитов. Тезисы на XXX Симпозиум «Современная химическая физика», 16–27 сентября 2018 г., Туапсе, Россия. // Сборник аннотаций «Современная химическая физика», XXX Симпозиум, стр.68. – ISBN 978-5-85493-204-2. 4.
 15. *Приходченко Т.Р., Акентьева Н.П., Санина Н.А., Немирова Е.С., Гизатуллин А.Р., Шкондина Н.И., Сусленникова Н.Н.* Изучение цитоток-

- сических свойств динитрозильного комплекса железа (донора NO) на клетках множественной миеломы. IV Всероссийская Конференция по молекулярной онкологии. 17–19 декабря 2018, Москва, Россия. // Сборник тезисов «Достижения в области молекулярной онкологии», 2018, v.5 (4), p.93. ISSN: 2313-805X.
16. *N. Sanina*, New agents for NO-chemotherapy of socially significant diseases: structure and properties of nitrosyl [1Fe-2S] ferredoxins mimetics – nitric oxide donors. // Programme & Book of Abstracts of Twentieth Materials Research Society of Serbia Annual Conference YUCOMAT 2018 (Herzig Novi, Montenegro, September 3-7, 2018) p.76.
 17. *Агентьева Н.П., Санина Н.А., Гизатуллин А.Р., Шматко Н.Ю., Приходченко Т.Р., Шкондина Н.И., Горячев Н.С., Алдошин С.М.* Динитрозильные комплексы железа (доноры NO) – ингибиторы миелопероксидазы, биомаркера атеросклероза. // В книге: Кардиология 2017: лечить не болезнь, а больного. Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции, 57 ежегодной сессии Российского кардиологического научно-производственного комплекса. 2017, № 2, с. 39–40.
 18. *Гизатуллин А.Р., Агентьева Н.П., Санина Н.А., Шматко Н.Ю., Приходченко Т.Р., Шкондина Н.И., Горячев Н.С., Алдошин С.М.* Кардиотропный эффект динитрозильных комплексов железа (доноров NO). Тезисы на X юбилейную международную конференцию Профилактика кардиологии 2017. Москва, 15–16 июня 2017 г. //Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017. Т. 16. № S. С. 10-11. ISSN172808800. Scopus.
 19. *Агентьева Н.П.* Наночастицы видят цель. // Газета Коммерсант, 14.01.2020. <https://www.kommersant.ru/doc/4220073>
 20. *N.A. Sanina, S.M. Aldoshin*, Design of nitrosyl non-heme biomimetics as nitric oxide donors for the therapy of social diseases: progress and prospect, //Abstract Book of 3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry, (8 September 28-October 03, 2017, Kazan, Russia) p.69
 21. *Sergey M. Aldoshin, Vladislav V. Bezrukov, Eugeny N. Gorban, Vitaly K. Koltover, Nataliya A. Sanina*, Iron-sulfur [2Fe-2S] nitrosyl complexes as new trend in synthesis of donors of nitric oxide for anti-aging therapy. // SfrBM 2017, SfrBM's 24th Annual Meeting Program and Abstracts November 29 – December 2, 2017 Hilton Baltimore Baltimore, MD USA, Free Radical Biology and Medicine, Volume 112, Supplement 1, November 2017, P. 54.

Список литературы

1. Сердечно-сосудистые заболевания. // Информационный бюллетень ВОЗ. 2015. № 317. P. 1–10
2. Collins D.R., Tompson A.C., Onakpoya I.J., Roberts N., Ward A.M., Heneghan C.J. Global cardiovascular risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease in adults: systematic review of systematic reviews. // *BMJ Open*. 2017. V. 7. № 3. e013650 doi: 10.1136/bmjopen-2016-013650
3. Global action plan for the prevention and control of NCDs. // WHO. 2013. 55.1-40.
4. Zaorsky N.G., Churilla T.M., Egleston B.L., Fisher S.G., Ridge J.A., Horwitz E.M. et al. Causes of death among cancer patients. // *Ann. Oncol*. 2017. V. 28. P. 400–407. doi:10.1093/annonc/mdw604
5. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer statistics, 2014. // *CA Cancer J. Clin*. 2014. V. 64. №1. P. 9–29. doi: 10.3322/caac.21208.
6. Coleman M.P., Gatta G., Verdecchia A., Esteve J., Sant M., Storm H. et al. EURO CARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. // *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol*. 2003.14 (Suppl 5), v128–v149.
7. Łacko A., Włodarska I., Zymlński R., Mazur G., Wróbel T., Gisterek I. Cardiac toxicity in cancer therapy. // *Pol. Merkur. Lekarski*. 2002. V. 13. № 73. P.79–85.
8. Truong J., Yan A.T., Cramarossa G., Chan K.K. Chemotherapy-induced cardiotoxicity: detection, prevention, and management. // *Can. J. Cardiol*. 2014. V. 30. №8. P. 869–878. doi:10.1016/j.cjca.2014.04.029
9. Adão R., de Keulenaer G., Leite-Moreira A., Brás-Silva C. Cardiotoxicity associated with cancer therapy: pathophysiology and prevention strategies. // *Rev. Port. Cardiol*. V. 201332. № 5. P. 395–409. doi: 10.1016/j.repc.2012.11.002
10. Carrillo-Larco R.M., Bernabe-Ortiz A. A divergence between underlying and final causes of death in selected conditions: an analysis of death registries in Peru. // *PeerJ*. 2018. V.6.e5948. doi: 10.7717/peerj.5948.
11. Ng M.Y., Zhang H., Weil A., Singh V. et al. A new assay measuring direct interaction of nonsense suppressors with the eukaryotic protein synthesis machinery. // *ACS Med. Chem. Lett*. 2018. V. 9. № 12. P.1285–1291. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett>.
12. Fidale T.M., Antunes H.K. M., Alex Dos Santos L., Rodrigues de Souza F., Deconte S.R., Borges Rosa de Moura F. et al. Increased dietary leucine reduces doxorubicin-associated cardiac dysfunction in rats. // *Front Physiol*. 2018. V. 8. № 1042. doi: 10.3389/fphys.2017.01042
13. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. // *Biosci. Rep*. 1999. V.19. P.133–154.

14. Jose C., Melser S., Benard G., Rossignol R. Mitoplasticity: adaptation biology of the mitochondrion to the cellular redox state in physiology and carcinogenesis. // *Antioxid. Redox. Signal.* 2013. V.18. № 7. P.808–849. doi: 10.1089/ars.2011.4357.
15. Lu T., Wang Y., Hung Ch., Chiou Sh., Liaw W. Bioinorganic Chemistry of the Natural [Fe(NO)₂] Motif: Evolution of a Functional Model for NO-Related Biomedical Application and Revolutionary Development of a Translational Model. // *Inorg. Chem.* 2018. V. 57. № 20. P.12425–12443. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.8b01818>
16. Shibata K., Shimokawa H., Yanagihara N., Otsuji Y., Tsutsui M. Nitric oxide synthases and heart failure-lessons from genetically manipulated mice. // *J. UOEH.* 2013. V. 35. № 2. P.147–158.
17. Chatterjee A., Black S. M., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. // *Vascul. Pharmacol.* 2008. V.49. P.134–140. doi: 10.1016/j.vph.2008.06.008
18. Tegeder I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. // *Cell Signal.* 2019. V.53. P. 348–356. doi: 10.1016/j.cellsig.2018.10.019
19. Raffetto J.D., Calanni F., Mattana P., Khalil R. A. Sulodexide promotes arterial relaxation via endothelium-dependent nitric oxide-mediated pathway. // *Biochem Pharmacol.* 2019. V.166. P. 347–356. doi: 10.1016/j.bcp.2019.04.021
20. Naseem K.M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // *Mol. Aspects. Med.* 2005. V. 26. № 1–2. P. 33–65.
21. Park J.W., Pikhova B., Dey S., Noguchi C.T., Schechter A.N. Compensatory mechanisms in myoglobin deficient mice preserve NO homeostasis. // *Nitric Oxide.* 2019. V. 90. P. 10–14. doi:10.1016/j.niox.2019.06.001
22. Wink D.A., Mitchell J.B. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. // *Free Radic. Biol. Med.* 1998. V. 25. P. 434–456. doi: 10.1002/jcp.25903
23. Thelitz S., Bekker J.M., Ovadia B., Stuart R.B., Johengen M.J., Black S.M., Fineman J.R. Inhaled nitric oxide decreases pulmonary soluble guanylate cyclase protein levels in 1-month-old lambs. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004. V. 127. № 5. P.1285–1292. doi: 10.1016/j.jtcvs.2003.07.024.
24. Komatsu S., Kitazawa T., Ikebe M. Visualization of stimulus-specific heterogeneous activation of individual vascular smooth muscle cells in aortic tissues. // *J. Cell Physiol.* 2018. V.233. № 1. P.434–446.
25. Ferrer-Sueta G., Campolo N., Trujillo M., Bartesaghi S., Carballal S., Romero N. et al. Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. // *Chem. Rev.* 2018. V.118. № 3. P.1338–1408. doi: 10.1021/acs.chemrev.
26. Davis K.L., Martin E., Turko I.V., Murad F. Novel effects of nitric oxide. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001. V. 41. P. 203–236.

27. *Taysi S., Tascan A. S., Ugur M. G., Demir M.* Radicals, oxidative/nitrosative stress and preeclampsia. // *Mini Rev. Med. Chem.* 2019. V.19. №3. P. 178–193. doi:10.2174/1389557518666181015151350
28. *Omar S.A., Webb A.J., Lundberg J.O., Weitzberg E.* Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. // *J. Intern. Med.* 2016. V. 279. № 4. P. 315–336. doi: 10.1111/joim.12441
29. *Xia Z., Vanhoutte P.M.* Nitric oxide and protection against cardiac ischemia. // *Curr. Pharm. Des.* 2011.V.17. № 18. P. 1774–1782.
30. *Hou J., He H., Huang S., Qian M., Wang J., Tan X.* et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun. (Camb).* 2019. V.55. № 9. P. 1205–1208. doi: 10.1039/c8cc07304j.
31. *Sanina N.A., Shmatko N.Yu., Korchagin D.V., Shilov G.V., Terent'ev A.A., Stupina T.S.* et al. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *J. Coord. Chem.* 2016. V. 69. P. 812–825.
32. *Piacenza L., Alvarez M.N., Peluffo G., Radi R.* Fighting the oxidative assault: the *Trypanosoma cruzi* journey to infection. // *Curr Opin Microbiol.* 2009. V.12. № 4. P. 415–421. doi: 10.1016/j.mib.2009.06.011.
33. *Piacenza L., Trujillo M., Radi R.* Reactive species and pathogen antioxidant networks during phagocytosis. // *J. Exp. Med.* 2019. V. 216. № 3. P. 501–516. doi:10.1084/jem.20181886.
34. *Keefer L.K.* Fifty years of diazeniumdiolate research. From laboratory curiosity to broad-spectrum biomedical advances. // *ACS Chem. Biol.* 2011. V. 6. P. 1147–1155.
35. *Münzel T., Schulz E.* Treatment of coronary heart disease with nitric oxide donors. // *Pharm. Unserer. Zeit.* 2010. V. 39. № 5. P. 359–368. doi: 10.1002/pauz.201000381
36. *Gatzke N., Hillmeister P., Dülsner A., Güc N., Dawid R., Smith K.H.* et al. Nitroglycerin application and coronary arteriogenesis. // *PLoS One.* 2018. V.13. № 8. e0201597. doi: 10.1371/journal.pone.0201597
37. *Lu L., Rao X., Cong R., Zhang C., Wang Z., Xu J.* et al. Design, synthesis and biological evaluation of nitrate derivatives of sauropunol A and B as potent vasodilatory agents. // *Molecules.* 2019. V. 24. №3. pii: E583. doi:10.3390/molecules24030583
38. *Liu B., Liu J., Wang J., Sun F., Jiang S., Hu F.* et al. Adiponectin protects against cerebral ischemic injury through AdipoR1/AMPK pathways. // *Front. Pharmacol.* 2019. V.10. № 597. doi: 10.3389/fphar.2019.00597.
39. *Kapelko V.I., Lakomkin V.L., Abramov A.A., Lukoshkova E.V., Undrovinas N.A., Khapchaev.* et al. Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. Article ID 9456163. P.10. doi.org/10.1155/2017/9456163

40. *Tardiolo G., Bramanti P., Mazzon E.* Migraine: experimental models and novel therapeutic approaches. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 12. pii: E2932. doi: 10.3390/ijms20122932
41. *Divakaran S., Loscalzo J.* The role of nitroglycerin and other nitrogen oxides in cardiovascular therapeutics. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017. V. 70. № 19. P. 2393–2410. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.1064
42. *Shumaev K.B., Dudylina A.L., Ivanova M.V., Pugachenko I.S., Ruuge E.K.* Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria. // *Biofactors.* 2018. V. 44. №3. P. 237–244. doi: 10.1002/biof.1418.
43. *Lewandowska H., Kalinowska M., Brzoska K., Wojciuk K., Wojciuk G., Kruszewski M.* Nitrosyl Iron Complexes—synthesis, structure and biology. // *Dalton. Trans.* 2011. V. 40. P. 8273–8289. <http://dx.doi.org/10.1039/c0dt01244k>
44. *Hrynychak I., Sousa E., Pinto M., Costa V.M.* The importance of drug metabolites synthesis: the case-study of cardiotoxic anticancer drugs. // *Drug. Metab. Rev.* 2017. V. 49. №2. P. 158–196. doi: 10.1080/03602532.2017.1316285
45. *Cuomo A., Rodolico A., Galdieri A., Russo M., Campi G., Franco R.* et al. Heart failure and cancer: mechanisms of old and new cardiotoxic drugs in cancer patients. // *Card. Fail. Rev.* 2019. V. 5. № 2. P. 112–118. doi: 10.15420/cfr.2018.32.2
46. *Kuriakose R.K., Kukreja R.C., Xi L.* Potential therapeutic strategies for hypertension-exacerbated cardiotoxicity of anticancer drugs. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. Article ID 8139861. P. 9. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8139861>
47. *Wenningmann N., Knapp M., Ande A., Vaidya T.R., Ait-Oudhia S.* Insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: molecular mechanisms, preventive strategies, and early monitoring. // *Mol. Pharmacol.* 2019. V. 96. № 2. P. 219–232. doi: 10.1124/mol.119.115725
48. *Reis-Mendes A.F., Sousa E., de Lourdes Bastos M., Costa V.M.* The role of the metabolism of anticancer drugs in their induced-cardiotoxicity. // *Curr. Drug. Metab.* 2015. V. 17. № 1. P. 75–90.
49. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y.* et al. Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations [Fe(SC(NH₂)₂)₂(NO)₂]. // *New J. Chem.* 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
50. *Sanina N.A., Aldoshin S.M.* Structure and properties of iron nitrosyl complexes with functionalized sulfur-containing ligands. // *Russian Chemical Bulletin.* 2011. V. 60. № 7. P. 1223–1251.
51. *Oh E.J., Park K., Kim K.S.* et al. Target specific and long-acting delivery of protein, peptide, and nucleotide therapeutics using hyaluronic acid derivatives. // *Journal of Controlled Release.* 2010. V. 141. № 1. P. 2–12.

52. *Mohammed M.A., Syeda J.T.M., Wasan K.M., Wasan E.K.* An Overview of Chitosan Nanoparticles and Its Application in Non-Parenteral Drug Delivery. // *Pharmaceutics*. 2017. V. 9. № 4.
53. *Liu Z., Jiao Y., Wang, Y.* et al. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008. V. 60. № 15. P. 1650–1662.
54. *Петренко Ю.* Окись азота и судьба человека. // *Наука и жизнь*. – 2007. – № 1.
55. *Furchgott R.F., Zawadzki J.V.* The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. // *Nature*. 1980. V.288. № 57890. P.373-376. doi: 10.1038/288373a0.
56. *Ignarro L.J.* Physiology and pathophysiology of nitric oxide. // *Kidney Int Suppl*. 1996. V.55. S2-5.
57. *Bian K., Murad F.* Nitric oxide (NO)-biogenesis, regulation, and relevance to human diseases. // *Front Biosci*. 2003. V. 8. d264-78. doi: 10.2741/997.
58. *Rabelink A.J.* Nobelprijs Geneeskunde en Fysiologie 1998 vanwege de betekenis van stikstofmonoxide als signaalmolecuul. Nobel prize in Medicine and Physiology 1998 for the discovery of the role of nitric oxide as a signalling molecule. // *Ned Tijdschr Geneesk*. 1998. V.142. № 52. P. 2828–2830.
59. *Голдовская Л.Ф.* Химия окружающей среды: учеб., для вузов. – М.: Мир. 2005. – 296 с.
60. *Салей А.П., Рецкий М.И.* Роль оксида азота в формировании мотивационного поведения и обучения // *Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация*. – 2003. – № 1. – С. 75–80.
61. *Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Карпюк В.Б.* Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // *Астма*. – 2001. –Т. 2. № 2. – С. 5–14.
62. *Синяченко О.В., Звягина Т.В.* Оксид азота в терапевтической практике. – Донецк: ООО «Юго-Восток ЛТД». 2001. – 258 с.
63. *Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S.* et al. The chemical biology of nitric oxide: Implications in cellular signaling. // *Free Radical Biology and Medicine*. 2008. Vol. 45. № 1. P. 18–31.
64. *Thomas D.D., Liu X., Kantrow S.P., Lancaster J.R.* The biological lifetime of nitric oxide: implications for the perivascular dynamics of NO and O₂. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – V. 98. – № 1. – P. 355–360.
65. *Метельская В.А., Гуманова Н.Г.* Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. // *Лабораторная медицина*. 2005. №7. с.19–24.
66. *Barbato J.E., Tzeng E.* Nitric oxide and arterial disease // *Journal of vascular surgery*. – 2004. – V. 40. – № 1. – P. 187–193.

67. *Stuehr D.* Enzymes of the L-Arginine to Nitric Oxide Pathway. // The Journal of nutrition. – 2004. – V. 134. – P. 2748S–2751S; discussion 2765S.
68. *Bian K, Doursout M.F., Murad F.* Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // J Clin Hypertens (Greenwich). 2008. V. 10. № 4. P.304–310. doi: 10.1111/j.1751-7176.2008.06632.x.
69. *Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolocci N., Ambs S., Colton C.A., Harris C.C., Roberts D.D., Wink D.A.* The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. // Free Radic Biol Med. 2008. V.45. №1. P.18–31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
70. *Поletaев А.Б., Морозов С.Г., Ковалев И.В.* Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. – М.: Медицина, 2002. – 168 с.
71. *Рябов Г.А., Азизов Ю.М.* Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. – 2001. – № 1. – С. 8–13.
72. *Салей А.П., Рецкий М.И.* Роль оксида азота в формировании мотивационного поведения и обучения // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация. – 2003. – № 1. – С. 75–80.
73. *Синяченко О.В., Звягина Т.В.* Оксид азота в терапевтической практике. – Донецк: ООО «Юго-Восток Лтд.», 2001. – 258 с.
74. *Harlev E., Nevo E., Lansky E.P., Ofir R., Bishayee A.* Anticancer potential of aloes: antioxidant, antiproliferative, and immunostimulatory attributes // Planta Med. 2012. V. 78. P. 843–852.
75. *Гринеvич В.В., Акмаев И.Г., Волкова О.В.* Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. – СПб. Symposium, 2004. – 159 с.
76. *Bredt D.S.* Nitric Oxide Signaling in Brain: Potentiating the Gain with YC-1. // Molecular Pharmacology. – 2003. – № 63. – P. 1206–1208.
77. *Мацко М.А.* Соотношение некоторых медиаторов стрессреализующих и стресслимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 14–16.
78. *Сомова Л.М., Плехова Н.Г.* Оксид азота как медиатор воспаления // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 6. – С. 7–80.
79. *Chaikijurajai T., Tang W.H.W.* Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // Expert opinion on therapeutic targets. – 2020. – V. 24. – № 7. – P. 695–705.
80. *Малахов В.О.* Основные стадии хронических церебральных заболеваний (патогенез, клиника, лечение, профилактика). – Харьков: Ранок, 2004. – 228 с.
81. *Казаков В.Н., Снегирь М.А., Снегирь А.Г., Гайдарова Е.В., Ивнев Б.Б., Натрус Л.В.* Пути взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной

- систем в регуляции функций организма // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2004. – Т. 13. – № 1. – С. 3–10.
82. Крыжановский С.А., Вититнова М.Б. Современные лекарственные средства: Новейший справочник. // 3 е изд., сокр. М.: РИПОЛ классик. 2007. С. 800–825.
83. Мацко М.А. Соотношение некоторых медиаторов стресс-реализующих и стресс лимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 14–16
84. Damiano J.S., Gress A.E., Hazlehurst L.A. et al. Cell adhesion mediated drug resistance: Role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. // Blood 1999. V. 93. P.1658–1667.
85. Rich P.R. The molecular machinery of Keilin's respiratory chain. // Biochemical Society Transactions. 2003. V. 31(pt 6). P. 1095–1105.
86. Полетаев А.Б., Морозов С.Г., Ковалев И.В. Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. – М.: Медицина, 2002. – 168 с.
87. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. // Biosci Rep. 1999. V.19. № 3. P.133–54. doi: 10.1023/a:1020265417394.
88. Davis K.L., Martin E., Turko I.V., Murad F. Novel Effects of Nitric Oxide. // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. – 2001. – V. 41. – № 1. – P. 203–236.
89. Wink D.A., Mitchell J.B. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. // Free radical biology & medicine. – 1998. – V. 25. – № 4–5. – P. 434–456.
90. Drexler H. Nitric oxide and coronary endothelial dysfunction in humans. // Cardiovasc Res. 1999. V. 43. № 3. P. 572–9. doi: 10.1016/s0008-6363(99)00152-2.
91. Liu V.W.T., Huang P.L. Cardiovascular roles of nitric oxide: a review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice . // Cardiovascular research. – 2008. – V. 77. – № 1. – P. 19–29.
92. Massion P.B., Feron O., Dessy C., Balligand J.L. Nitric oxide and cardiac function: Ten years after, and continuing. // Circulation Research. – 2003. – V. 93. – № 5. – P. 388–398.
93. Loscalzo J., Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. // Progress in Cardiovascular Diseases. – 1995. – V. 38. – № 2. – P. 87–104.
94. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в неспецифической защите респираторного тракта // Здоровье ребенка. – 2009. – № 1. – С. 16.
95. Miyamoto Y., Saito Y., Kajiyama N. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Is Positively Associated With Essential Hypertension. // Hypertension. – 1998. – V. 32. – № 1. – P. 3–8.

96. Акентьева Н., Гизатуллин А., Санина Н. и др. Влияние динитрозильных комплексов железа (доноров NO) на метаболические процессы в фибробластах лёгких человека. // Доклады Академии наук. – 2018. – Т. 483. – № 4. – С. 452–456.
97. *Jalbuena R.C., Tyrer H.W.* Accuracy of electronic deposition of cells onto microscope slides using a cytometric positioning system. // *Biomedical sciences instrumentation.* – 1991. – V. 27. – P. 9–19.
98. *Wimalawansa S.J.* Nitric oxide and bone. // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2010. – V. 1192. – № 1. – P. 391–403.
99. *Miller M.R., Megson I.L.* Recent developments in nitric oxide donor drugs. // *British Journal of Pharmacology.* – 2007. – V. 151. – № 3. – P. 305–321.
100. *Scatena R., Bottoni P., Pontoglio A., Giardina B.* Pharmacological modulation of nitric oxide release: new pharmacological perspectives, potential benefits and risks. // *Current medicinal chemistry.* – 2010. – V. 17. – № 1. – P. 61–73.
101. *Gori T., Parker J.D.* Nitrate-induced toxicity and preconditioning: a rationale for reconsidering the use of these drugs. // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2008. – V. 52. – № 4. – P. 251–254.
102. *Ahmadinejad M., Eghbal B., Sorgenicht W.* et al. Slow-release isosorbide-5-mononitrate – a new once daily therapeutic modality for angina pectoris. // *European Heart Journal.* – 1988. – V. 9. – № suppl_A. – P. 135–139.
103. *Grossi L., D'Angelo S.* Sodium nitroprusside: mechanism of NO release mediated by sulfhydryl-containing molecules. // *Journal of medicinal chemistry.* – 2005. – V. 48. – № 7. – P. 2622–2626.
104. *Bates J.N., Baker M.T., Guerra R.J., Harrison D.G.* Nitric oxide generation from nitroprusside by vascular tissue. Evidence that reduction of the nitroprusside anion and cyanide loss are required. // *Biochemical pharmacology.* – 1991. – V. 42 Suppl. – P. S157–65.
105. *Hottinger D.G., Beebe D.S., Kozhimannil T.* et al. Sodium nitroprusside in 2014: A clinical concepts review. // *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology.* – 2014. – V. 30. – № 4. – P. 462–471
106. *Keefe L.K.* Progress Toward Clinical Application of the Nitric Oxide–Releasing Diazeniumdiolates. // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* – 2003. – V. 43. – № 1. – P. 585–607.
107. *Maragos C.M., Morley D., Wink D.A.* et al. Complexes of NO with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide. Vasorelaxant effects. // *Journal of medicinal chemistry.* – 1991. – V. 34. – № 11. – P. 3242–3247.
108. *Hrabie J.A., Klose J.R., Wink D.A., Keefe L.K.* New nitric oxide-releasing zwitterions derived from polyamines. // *The Journal of Organic Chemistry.* – 1993. – V. 58. – № 6. – P. 1472–1476.
109. *Morley D., Keefe L.K.* Nitric oxide/nucleophile complexes: a unique class of nitric oxide-based vasodilators. // *Journal of cardiovascular pharmacology.* – 1993. – V. 22 Suppl 7. – P. S3–9.

110. *Saavedra J.E., Billiar T.R., Williams D.L.* et al. Targeting nitric oxide (NO) delivery in vivo. Design of a liver- selective NO donor prodrug that blocks tumor necrosis factor- α -induced apoptosis and toxicity in the liver. // *Journal of Medicinal Chemistry.* – 1997. – V. 40. – № 13. – P. 1947–1954.
111. *Lam C.F., Vvan Heerden P., Sviri S.* et al. The effects of inhalation of a novel nitric oxide donor, DETA/NO, in a patient with severe hypoxaemia due to acute respiratory distress syndrome. // *Anaesthesia and intensive care.* – 2002. – V. 30. – № 4. – P. 472–476.
112. *Lam C.-F., Caterina P., Filion P.* et al. The safety of aerosolized diethylenetriamine nitric oxide adduct after single-dose administration to anesthetized piglets and multiple-dose administration to conscious rats. // *Toxicology and applied pharmacology.* – 2003. – V. 190. – № 1. – P. 65–71.
113. *Zai A., Rudd M.A., Scribner A.W., Loscalzo J.* Cell-surface protein disulfide isomerase catalyzes transnitrosation and regulates intracellular transfer of nitric oxide. // *The Journal of clinical investigation.* – 1999. – V. 103. – № 3. – P. 393–399.
114. *Trujillo M., Alvarez M.N., Peluffo G.* et al. Xanthine oxidase-mediated decomposition of S-nitrosothiols. // *The Journal of biological chemistry.* – 1998. – V. 273. – № 14. – P. 7828–7834.
115. *Jourd'heuil D., Laroux F.S., Miles A.M.* et al. Effect of superoxide dismutase on the stability of S-nitrosothiols. // *Archives of biochemistry and biophysics.* – 1999. – V. 361. – № 2. – P. 323–330.
116. *Ramachandran N., Root P., Jiang X.M.* et al. Mechanism of transfer of NO from extracellular S-nitrosothiols into the cytosol by cell-surface protein disulfide isomerase. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2001. – V. 98. – № 17. – P. 9539–9544.
117. *Liu L., Hausladen A., Zeng M.* et al. A metabolic enzyme for S-nitrosothiol conserved from bacteria to humans. // *Nature.* – 2001. – V. 410. – № 6827. – P. 490–494.
118. *Ramsay B., Radomski M., De Belder A.* et al. Systemic effects of S-nitroso-glutathione in the human following intravenous infusion. // *British journal of clinical pharmacology.* – 1995. – V. 40. – № 1. – P. 101–102.
119. *Hanspal I.S., Magid K.S., Webb D.J., Megson I.L.* The effect of oxidative stress on endothelium-dependent and nitric oxide donor-induced relaxation: implications for nitrate tolerance. // *Nitric oxide : biology and chemistry.* – 2002. – V. 6. – № 3. – P. 263–270.
120. *Liang H., Nacharaju P., Friedman A., Friedman J. M.* Nitric oxide generating/releasing materials. // *Future science OA.* – 2015. – V. 1. – № 1.
121. *Keszler A., Diers A.R., Ding Z., Hogg N.* Thiolate-based dinitrosyl iron complexes: Decomposition and detection and differentiation from S-nitrosothiols. // *Nitric oxide : biology and chemistry.* – 2017. – V. 65. – P. 1–9.

122. *Mikoyan V.D., Burgova E.N., Borodulin R.R., Vanin A.F.* The binuclear form of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands in animal tissues. // *Nitric oxide : biology and chemistry.* – 2017. – V. 62. – P. 1–10.
123. *Boese M., Mordvintcev P.I., Vanin A.F.* et al. S-nitrosation of serum albumin by dinitrosyl-iron complex. // *The Journal of biological chemistry.* – 1995. – V. 270. – № 49. – P. 29244–29249.
124. *Graziano M., Lamattina L.* Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story. // *Trends in plant science.* – 2005. – V. 10. – № 1. – P. 4–8.
125. *Дроботова Д.Ю.* Гипотензивное и кардиопротекторное действие динитрозильных комплексов железа как физиологических доноров оксида азота. // *Кардиологический вестник.* 2011. Т. 2. С. 2–5.
126. *Timoshin A.A., Vanin A.F., Orlova T.R.* et al. Protein-bound dinitrosyl-iron complexes appearing in blood of rabbit added with a low-molecular dinitrosyl-iron complex: EPR studies. // *Nitric Oxide.* – 2007. – V. 16. – № 2. – P. 286–293.
127. *Vanin A.F., Manukhina E.B.* CHAPTER 3 – Hypotensive, vasodilatory and anti-aggregative properties of dinitrosyl-iron complexes. // *Radicals for Life / E. Van Faassen, A. Fyodorovich Vanin eds.* – Amsterdam : Elsevier, 2007. – P. 75–96.
128. *Mülsch A., Mordvintcev P., Vanin A.F., Busse R.* The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron(II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiols. // *FEBS letters.* – 1991. – V. 294. – № 3. – P. 252–256.
129. *Giannone G., Takeda K., Kleschyov A. L.* Novel activation of non-selective cationic channels by dinitrosyl iron-thiosulfate in PC12 cells. // *The Journal of physiology.* – 2000. – V. 529 Pt 3. – № Pt 3. – P. 735–745.
130. *Lewandowska H., Kalinowska M., Brzóška K.* et al. Nitrosyl iron complexes - Synthesis, structure and biology. // *Dalton Transactions.* – 2011. – V. 40. – № 33. – P. 8273–8289.
131. *Kruszewski M., Bartłomiejczyk T., Iwanenko T.* et al. Effect of labile iron pool on genotoxicity induced by nitric oxide. 2004.
132. *Vanin A.F., Mokh V.P., Serezhnikov V.A., Chazov E.I.* Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione ligands. // *Nitric oxide : biology and chemistry.* – 2007. – V. 16. – № 3. – P. 322–330.
133. *Arkhipova M.A., Mikoian V.D., Vanin A.F.* Effect of exogenous donors of nitric oxide and inhibitors of its enzymatic synthesis on experimental ischemic thrombosis in conjunctive veins of the rabbit eyes. // *Biofizika.* – 2008. – V. 53. – № 2. – P. 315–325.
134. *Кузнецов И.С., Серженков В.А., Романцова Т.И., Ванин А.Ф.* Роль метформина как донора оксида азота в регуляции углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. // *Сахарный диабет.* – 2013. – № 3 (60). – С. 41–45.

135. *Tsai M.-L., Liaw W.-F.* Neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ Dinitrosyliron Complex (DNIC) $[(\text{SC}_6\text{H}_4\text{-o-NHCOPh})(\text{Im})\text{Fe}(\text{NO})_2]$ (Im = Imidazole): Interconversion among the Anionic/Neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^0$ DNICs and Roussin's Red Ester. // *Inorganic Chemistry*. – 2006. – V. 45. – № 17. – P. 6583–6585.
136. *Tsou C.-C., Lu T.-T., Liaw W.-F.* EPR, UV-Vis, IR, and X-ray Demonstration of the Anionic Dimeric Dinitrosyl Iron Complex $[(\text{NO})_2\text{Fe}(\mu\text{-StBu})_2\text{Fe}(\text{NO})_2]$: Relevance to the Products of Nitrosylation of Cytosolic and Mitochondrial Aconitases, and High-Potential Iron Proteins. // *Journal of the American Chemical Society*. – 2007. – V. 129. – № 42. – P. 12626–12627.
137. *Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Топунов А.Ф.* Оксид азота – с гемоглобином и не только. *Химия и жизнь*. 2008. V. 4. P. 22–25
138. *Rahmanto Y.S., Kakinowski D.S., Lane D.J.R.* // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – PP. 6960.
139. *Chmura A., Szaciłowski K., Waksmundzka-Góra A., Stasicka Z.* Photochemistry of the $[\text{Fe}_4(\mu_3\text{-S})_3(\text{NO})_7]$ - complex in the presence of S-nucleophiles: a spectroscopic study. // *Nitric Oxide*. 2006. V.14. № 3. P. 247–260. doi:10.1016/j.niox.2005.10.005.
140. *Borodulin R.R., Kubrina L.N., Mikoyan V.D., Poltorakov A.P., Shvydkiy V.O., Burbaev D.Sh., Serezhenkov V.A., Yakhontova E.R., Vanin A.F.* Dinitrosyl iron complexes with glutathione as NO and NO^+ donors. // *Nitric Oxide*. 2013. V. 29. P. 4–16. doi: 10.1016/j.niox.2012.11.001.
141. *Sanina N.A., Manzhos R.A., Emel'yanova N. S.* et al. Redox reactions of cationic nitrosyl iron complexes with thiourea and its aliphatic derivatives: The experiment and DFT investigation. // *Journal of Molecular Structure*. – 2019. – V. 1181. – P. 253–260.
142. *Sun J., Aponte A.M., Menazza S., Gucek M., Steenbergen C., Murphy E.* Additive cardioprotection by pharmacological postconditioning with hydrogen sulfide and nitric oxide donors in mouse heart: S-sulphydration vs. S-nitrosylation. // *Cardiovasc Res*. – 2016. – V.110 – № 1 – P. 96–106.
143. *Chiusa M., Timolati F., Perriard J.C., Suter T.M., Zuppinger C.* Sodium nitroprusside induces cell death and cytoskeleton degradation in adult rat cardiomyocytes in vitro: implications for anthracycline-induced cardiotoxicity. // *Eur. J. Histochem*. – 2012. – V. 56. – № 2.:e15.
144. *Lee S., Lee S.J., Kim S.H., Ko K.S., Rhee B.D., Xu Z., Kim N., Han J.* NecroX-5 suppresses sodium nitroprusside-induced cardiac cell death through inhibition of JNK and caspase-3 activation. // *Cell Biol. Int*. – 2014. – V.38. – № 6. – P.702–707.
145. *Qiu M., Ke L., Zhang S., Zeng X., Fang Z., Liu J.* JS-K, a GST-activated nitric oxide donor prodrug, enhances chemo-sensitivity in renal carcinoma cells and prevents cardiac myocytes toxicity induced by Doxorubicin. // *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017. – V.80. – № 2. P.275–286.
146. *Lenčová-Popelová O., Jansová H., Jirkovský E., Bureš J., Jirkovská-Vávrová A., Mazurová Y., Reimerová P., Vostatková L., Adamcová M.,*

- Hroch M., Pokorná Z., Kovaříková P., Šimůnek T., Štěrba M.* Are cardioprotective effects of NO-releasing drug molsidomine translatable to chronic anthracycline cardiotoxicity settings? // *Toxicology*. – 2016. – V.372. P. 52–63.
147. *Truzzi D.R., Medeiros N.M., Augusto O., Ford P.C.* Dinitrosyl Iron Complexes (DNICs). From Spontaneous Assembly to Biological Roles. *Inorg Chem.* // 2021. – V. 60. – №21. – P.15835–15845. doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c00823.
148. *Thomas H., Diamond J., Vieco A.* et al. Global atlas of cardiovascular disease. // *Glob Heart*. – 2018. – V. 13. – P. 143–163.
149. *Hansson G.K., Hermansson A.* The immune system in atherosclerosis. // *Nature immunology*. – 2011. – V. 12. – № 3. – P. 204–212.
150. *Ketelhuth D.F.J., Hansson G.K.* Cellular immunity, low-density lipoprotein and atherosclerosis: break of tolerance in the artery wall. // *Thrombosis and haemostasis*. – 2011. – V. 106. – № 11. – P. 779–786.
151. *Libby P.* Inflammation in atherosclerosis. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2012. – V. 32. – № 9. – P. 2045–2051.
152. *Koenig W., Khuseynova N.* Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2007. – V. 27. – № 1. – P. 15–26.
153. *Peluso I., Morabito G., Urban L., Ioannone F., Serafini M.* Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. // *EndocrMetab Immune Disord Drug Targets*. 2012. V. 12. № 4. P. 351–360.
154. *Zhang D.X., Gutterman D.D.* Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2007. – V. 292. – № 5. – P. H2023–H2031.
155. *Förstermann U., Xia N., Li H.* Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. // *Circulation research*. – 2017. – V. 120. – № 4. – P. 713–735.
156. *Fiedler T.J., Davey C.A., Fenna R.E.* X-ray crystal structure and characterization of halide-binding sites of human myeloperoxidase at 1.8 Å resolution. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 16. P. 11964–11971.
157. *Zhang R., Brennan M.L., Shen Z., MacPherson J.C., Schmitt D., Molenda C.E., Hazen S.L.* Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. // *J Biol Chem*. 2002. V. 277. № 48. P. 46116–46122. doi: 10.1074/jbc.M209124200.
158. *Podrez E.A., Abu-Soud H.M., Hazen S.L.* Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. // *Free RadicBiol Med*. 2000. V. 28. № 12. P. 1717–1725. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00229-x.
159. *Abu-Soud H.M., Hazen S.L.* Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // *J Biol Chem*. 2000. V. 275. № 48. P. 37524–37532. doi: 10.1074/jbc.275.48.37524.

160. Шафран М.Г. Миелопероксидаза нейтрофильных лейкоцитов. // Успехи совр. биологии. 1981. Т.92. № 3 (6). С. 365–378
161. Marquez L.A., Dunford H.B. Kinetics of Oxidations of Tyrosine and Dityrosine by Myeloperoxidase Compounds I and II. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. № 5. P.30434–30440.
162. Морозов В.И., Цыпленков Н.В., Кокряков В.Н., Волков К.Н. и др. Выделение и характеристика миелопероксидазы лейкоцитов перитонеального экссудата. // Биохимия. 1997. Т. 62. № 6. С. 729–737.
163. Liu W.-Q., Zhang Y.-Z., Wu Y. et al. Myeloperoxidase-derived hypochlorous acid promotes ox-LDL-induced senescence of endothelial cells through a mechanism involving β -catenin signaling in hyperlipidemia. // Biochemical and biophysical research communications. – 2015. – V. 467. – № 4. – P. 859–865.
164. Khan A.A., Rahmani A.H., Aldebasi Y.H., Aly S.M. Biochemical and pathological studies on peroxidases—An updated review. // Global journal of health science. – 2014. – V. 6. – № 5. – P. 87.
165. Nicholls S.J., Hazen S.L. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2005. – V. 25. – № 6. – P. 1102–1111.
166. Chen Y., Hashiguchi N., Yip L., Junger W.G. Hypertonic saline enhances neutrophil elastase release through activation of P2 and A3 receptors. // American Journal of Physiology-Cell Physiology. – 2006. – V. 290. – № 4. – P. C1051–C1059.
167. Naegelen I., Beaume N., Plançon S. et al. Regulation of neutrophil degranulation and cytokine secretion: a novel model approach based on linear fitting. // Journal of immunology research. – 2015. – V. 2015.
168. Lacy P. Mechanisms of degranulation in neutrophils. // Allergy, Asthma & Clinical Immunology. – 2006. – V. 2. – № 3. – P. 1–11.
169. Vanhamme L., Boudjeltia K.Z., Van Antwerpen P., Delporte C. The other myeloperoxidase: Emerging functions. // Archives of biochemistry and biophysics. – 2018. – V. 649. – P. 1–14.
170. Miyasaki K. T., Zambon J.J., Jones C.A., Wilson M.E. Role of high-avidity binding of human neutrophil myeloperoxidase in the killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. // Infection and immunity. – 1987. – V. 55. – № 5. – P. 1029–1036.
171. Selvaraj R.J., Zgliczynski J.M., Paul B.B., Sbarra A.J. Enhanced Killing of Myeloperoxidase-Coated Bacteria in the Myeloperoxidase-H₂O₂-Cl⁻ System. // Journal of Infectious Diseases. – 1978. – V. 137. – № 4. – P. 481–485.
172. Davies M.J., Hawkins C.L., Pattison D.I., Rees M.D. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. // Antioxidants & redox signaling. – 2008. – V. 10. – № 7. – P. 1199–1234.

173. *Yang J.J., Preston G.A., Pendergraft W.F. et al.* Internalization of proteinase 3 is concomitant with endothelial cell apoptosis and internalization of myeloperoxidase with generation of intracellular oxidants. // *The American journal of pathology.* – 2001. – V. 158. – № 2. – P. 581–592.
174. *Baldus S., Eiserich J. P., Mani A. et al.* Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. // *The Journal of clinical investigation.* – 2001. – V. 108. – № 12. – P. 1759–1770.
175. *Ballieux B., Zondervan K. T., Kievit P. et al.* Binding of proteinase 3 and myeloperoxidase to endothelial cells: ANCA-mediated endothelial damage through ADCC? // *Clinical & Experimental Immunology.* – 1994. – V. 97. – № 1. – P. 52–60.
176. *Hess C., Sadallah S., Schifferli J.-A.* Induction of neutrophil responsiveness to myeloperoxidase antibodies by their exposure to supernatant of degranulated autologous neutrophils. // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.* – 2000. – V. 96. – № 8. – P. 2822–2827.
177. *Dai P., Harada Y., Takamatsu T.* Highly efficient direct conversion of human fibroblasts to neuronal cells by chemical compounds. // *Journal of clinical biochemistry and nutrition.* – 2015. – V. 56. – № 3. – P. 166–170.
178. *Pattison D.I., Hawkins C.L., Davies M.J.* What are the plasma targets of the oxidant hypochlorous acid? A kinetic modeling approach. // *Chemical research in toxicology.* – 2009. – V. 22. – № 5. – P. 807–817.
179. *Malle E., Marsche G., Arnhold J., Davies M. J.* Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids.* – 2006. – V. 1761. – № 4. – P. 392–415.
180. *Badouard C., Masuda M., Nishino H. et al.* Detection of chlorinated DNA and RNA nucleosides by HPLC coupled to tandem mass spectrometry as potential biomarkers of inflammation. // *Journal of Chromatography B.* – 2005. – V. 827. – № 1. – P. 26–31.
181. *Henderson J. P., Byun J., Takeshita J., Heinecke J.W.* Phagocytes produce 5-chlorouracil and 5-bromouracil, two mutagenic products of myeloperoxidase, in human inflammatory tissue. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2003. – V. 278. – № 26. – P. 23522–23528.
182. *Ismael F.O., Proudfoot J.M., Brown B.E. et al.* Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants HOCl and HOSCN with low-density lipoprotein (LDL): Implications for foam cell formation in atherosclerosis. // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 2015. – V. 573. – P. 40–51.
183. *Delporte C., Boudjeltia K.Z., Noyon C. et al.* Impact of myeloperoxidase-LDL interactions on enzyme activity and subsequent posttranslational oxidative modifications of apoB-100. // *Journal of lipid research.* – 2014. – V. 55. – № 4. – P. 747–757.

184. *Chen K., Pittman R.N., Popel A.S.* Nitric oxide in the vasculature: where does it come from and where does it go? A quantitative perspective. // *Antioxidants & redox signaling.* – 2008. – V. 10. – № 7. – P. 1185–1198.
185. *Jeremy J.Y., Rowe D., Emsley A.M., Newby A.C.* Nitric oxide and the proliferation of vascular smooth muscle cells. // *Cardiovascular research.* – 1999. – V. 43. – № 3. – P. 580–594.
186. *Abu-Soud H.M., Hazen S.L.* Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2000. – V. 275. – № 48. – P. 37524–37532.
187. *Yang J., Ji R., Cheng Y.* et al. L-arginine chlorination results in the formation of a nonselective nitric-oxide synthase inhibitor. // *Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* – 2006. – V. 318. – № 3. – P. 1044–1049.
188. *Xu J., Xie Z., Reece R.* et al. Uncoupling of endothelial nitric oxidase synthase by hypochlorous acid: role of NAD (P) H Oxidase–Derived Superoxide and Peroxynitrite. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* – 2006. – V. 26. – № 12. – P. 2688–2695.
189. *Lau D., Baldus S.* Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2006. V. 111. №1. P.16–26.
190. *Ramachandra C.J.A., Ja K. P. M. M., Chua J., Cong S., Shim W., Hausenloy D. J.* Myeloperoxidase As a Multifaceted Target for Cardiovascular Protection. // *Antioxidants & Redox signaling.* 2020.V. 32. № 15.
191. *Zhang R., Brennan M.L., Fu X., Aviles R.J., Pearce G.L., Penn M.S., Topol E.J., Sprecher D.L., Hazen S.L.* Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. // *JAMA.* 2001. V. 286. №17. P. 2136–42. doi: 10.1001/jama.286.17.2136.
192. *Baldus S., Heeschen C., Meinertz T., Zeiher A.M., Eiserich J.P., Münzel T., Simoons M.L., Hamm C.W.* CAPTURE Investigators. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. // *Circulation.* 2003. V. 108. № 12. P. 1440–1445. doi:10.1161/01.CIR.0000090690.67322.51.
193. *Brennan M.L., Penn M.S., Van Lente F., Nambi V., Shishehbor M.H., Aviles R.J., Goormastic M., Pepoy M.L., McErlean E.S., Topol E.J., Nissen S.E., Hazen S.L.* Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. // *N Engl J Med.* 2003. V. 349. № 17. P. 1595–1604. doi:10.1056/NEJMoa035003.
194. *Ndrepepa G.* Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. // *Clinica Chimica Acta.* – 2019. – V. 493. – P. 36–51.
195. *Podrez E.A., Poliakov E., Shen Z., Zhang R., Deng Y., Sun M., Finton P.J., Shan L., Febbraio M., Hajjar D.P., Silverstein R.L., Hoff H.F., Salomon R.G., Hazen S.L.* A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. // *J Biol Chem.* 2002. V. 277. № 41. P. 38517–38523. doi: 10.1074/jbc.M205924200.

196. Marsche G., Hammer A., Oskolkova O., Kozarsky K.F., Sattler W., Malle E. Hypochlorite-modified high density lipoprotein, a high affinity ligand to scavenger receptor class B, type I, impairs high density lipoprotein-dependent selective lipid uptake and reverse cholesterol transport. // *J Biol Chem.* 2002. V. 277. № 35. P. 32172–32179. doi: 10.1074/jbc.M200503200.
197. Chaikijurajai T., Tang W. H. W. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // *Expert opinion on therapeutic targets.* – 2020. – V. 24. – № 7. – P. 695–705.
198. Teng N., Maghzal G. J., Talib J. et al. The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture. // *Redox Report.* – 2017. – V. 22. – № 2. – P. 51–73.
199. Hazen S.L. Myeloperoxidase and plaque vulnerability. // *ArteriosclerThrombVasc Biol.* 2004. V. 24. № 7. P. 1143–1146.
200. Daugherty A., Dunn J.L., Rateri D.L., Heinecke J.W. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. // *J Clin Invest.* 1994. V. 94. № 1. P. 437–444. doi: 10.1172/JCI117342.
201. Thukkani A.K., McHowat J., Hsu F.F., Brennan M.L., Hazen S.L., Ford D.A. Identification of alpha-chloro fatty aldehydes and unsaturated lysophosphatidylcholine molecular species in human atherosclerotic lesions. // *Circulation.* 2003. V. 108. № 25. P. 3128–3133. doi: 10.1161/01.CIR.0000104564.01539.6A.
202. Zheng L., Nukuna B., Brennan M.L., Sun M., Goormastic M., Settle M., Schmitt D., Fu X., Thomson L., Fox P.L., Ischiropoulos H., Smith J.D., Kinter M., Hazen S.L. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. // *J Clin Invest.* 2004. V. 114. № 4. P.529–541. doi: 10.1172/JCI21109.
203. Sugiyama S., Okada Y., Sukhova G.K., Virmani R., Heinecke J.W., Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes.// *Am J Pathol.* 2001. V. 158. № 3. P. 879–891. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64036-9.
204. Baldus S., Heitzer T., Eiserich J.P., Lau D., Mollnau H., Ortak M., Petri S., Goldmann B., Duchstein H.J., Berger J., Helmchen U., Freeman B.A., Meinertz T., Münzel T. Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion. // *Free RadicBiol Med.* 2004. V. 37. № 6. P. 902–911. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.003.
205. Vita J.A., Brennan M.L., Gokce N., Mann S.A., Goormastic M., Shishehbor M.H., Penn M.S., Keaney J.F. Jr., Hazen S.L. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans.// *Circulation.* 2004. V. 110. № 9. P. 1134–1139. doi: 10.1161/01.CIR.0000140262.20831.8F.
206. Ali M. et al. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. // *JACC Basic to Transl. Sci.* 2016. V.1. № 7. P. 633–643.

207. *Galijasevic S.* The development of myeloperoxidase inhibitors. // *Bioorganic Med. Chem. Lett.* Elsevier Ltd. 2019. V. 29. № 1. P. 1–7.
208. *Chaikijurajai T., Tang W.H.W.* Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. // *Expert Opin Ther Targets.* 2020. V. 24. № 7. P. 695–705. doi:10.1080/14728222.2020.1762177.
209. *Nagase H., Visse R., Murphy G.* Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. // *Cardiovascular Research.* – 2006. – V. 69. – № 3. – P. 562–573.
210. *Cui N., Hu M., Khalil R.A.* Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. // *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017. V. 147. P. 1–73. doi:10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
211. *Solov'eva N.I.* Matrix metalloproteinases and their biological functions. // *BioorgKhim.* 1998. V. 24. № 4. P. 245–255.
212. *Hirohata S., Inagaki J., Ohtsuki T.* Diverse Functions of a Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motif-1. // *Yakugaku Zasshi.* 2017. V.137. P. 811–814. doi.org/10.1248/yakushi.16-00236-4.
213. *Güneş M.F., Akpınar M.B., Cömertoğlu I., Akyol S., Demirçelik B., Gürel Ö.M., Aynekin B., Erdemli H.K., Ateş M., Eryonucu B., Demircan K.* The Investigation of a Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs (ADAMTS) 1, 5 and 16 in Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections. // *Clin Lab* 2016. V. 62. P. 425–433.
214. *Atale N., Mishra C.B., Kohli S., Mongre R.K., Prakash A., Kumari S., Yadav U.C.S., Jeon R., Rani V.* Anti-inflammatory Effects of *S. cumini* Seed Extract on Gelatinase-B (MMP-9) Regulation against Hyperglycemic Cardiomyocyte Stress. // *Oxid Med Cell Longev.* 2021. 2021: 8839479. doi.org/10.1155/2021/8839479.
215. *Hu Q., Ecker M.* Overview of MMP-13 as a Promising Target for the Treatment of Osteoarthritis. // *Int J MolSci.* 2021. V. 22. P. 1742. doi.org/10.3390/ijms22041742.
216. *Nandi S.S., Katsurada K., Sharma N.M., Anderson D.R., Mahata S.K., Patel K.P.* MMP9 inhibition increases autophagic flux in chronic heart failure. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020. V. 319. P. H1414–H1437. doi.org/10.1152/ajpheart.00032.2020.
217. *MacColl E, Khalil R.A.* Matrix metalloproteinases as regulators of vein structure and function: implications in chronic venous disease. // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 2015. – V. 355. – № 3. – P. 410–428.
218. *Birkedal-Hansen H., Moore W.G., Bodden M.K., Windsor L.J., Birkedal-Hansen B., DeCarlo A., Engler J.A.* Matrix metalloproteinases: a review. // *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993. V. 4. № 2. P. 197–250. doi: 10.1177/10454411930040020401.

219. *Kleiner D.E. Jr., Stetler-Stevenson W.G.* Structural biochemistry and activation of matrix metalloproteases. // *Curr Opin Cell Biol.* 1993. V. 5. № 5. P. 891-897. doi: 10.1016/0955-0674(93)90040-w.
220. *Werb Z.* ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology. // *Cell.* 1997. V. 91. № 4. P. 439–442. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80429-8.
221. *Liu J., Khalil R.A.* Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. // *Progress in molecular biology and translational science.* – 2017. – V. 148. – P. 355–420.
222. *Ганусевич И.И.* Роль матриксных металлопротеаз (ММП) при злокачественных новообразованиях. // *Онкология.* – 2010, том 12, №1, С. 10–16.
223. *Sternlicht M.D., Werb Z.* How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. // *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001. V.17. P. 463-516. doi: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.463.
224. *Cauwe B., Van den Steen P.E., Opdenakker G.* The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases. // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2007. V. 42. P.113–185.
225. *Murphy G., Knauper V.* Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the “hemopexin” domain? // *Matrix Biol.* 1997. V. 15. P. 511–518.
226. *Roeb E., Schleinkofer K., Kernebeck T., Potsch S., Jansen B., Behrmann I., Matern S., Grotzinger J.* The matrix metalloproteinase 9 (mmp-9) hemopexin domain is a novel gelatin binding domain and acts as an antagonist. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 50326–50332.
227. *Redondo-Munoz J., Ugarte-Berzal E., Terol M.J., Van den Steen P.E., Hernandez del Cerro M., Roderfeld M., Roeb E., Opdenakker G., Garcia-Marco J.A., Garcia-Pardo A.* Matrix metalloproteinase-9 promotes chronic lymphocytic leukemia b cell survival through its hemopexin domain. // *Cancer Cell.* 2010. V. 17 . P. 160–172.
228. *Nagase H., Woessner Jr. J.F.* Matrix metalloproteinases. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 21491–21494.
229. *Bode W., Gomis-Ruth F.X., Stockler W.* Astacins, serralysins, snake venom and matrix metalloproteinases exhibit identical zinc-binding environments (HEXXHXXGXXH and Met-turn) and topologies and should be grouped into a common family, the ‘metzincins’. // *FEBS Lett.* 1993. V. 331. P. 134–140.
230. *Browner M.F., Smith W.W., Castelhana A.L.* Matrilysin-inhibitor complexes: common themes among metalloproteases. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. P. 6602–6610.
231. *Van den Steen P.E., Dubois B., Nelissen I., Rudd P.M., Dwek R.A., Opdenakker G.* Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 37. P. 375–536.

232. *Stamenkovic I.* Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. // *Semin. Cancer Biol.* 2000. V.10 . P. 415–433.
233. *Vu T.H., Werb Z.* Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. // *Genes Dev.* 2000. V. 14. P. 2123–2133.
234. *Springman E.B., Angleton E.L., Birkedal-Hansen H., Van Wart H.E.* Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a “cysteine switch” mechanism for activation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 364–368.
235. *Becker J.W., Marcy A.I., Rokosz L.L., Axel M.G., Burbaum J.J., Fitzgerald P.M., Cameron P.M., Esser C.K., Hagmann W.K., Hermes J.D. et al.* Stromelysin-1: three-dimensional structure of the inhibited catalytic domain and of the C-truncated proenzyme. // *Protein Sci.* 1995. V. 4. P.1966–1976.
236. *Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H.* The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metallo- proteinase gene family. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 5578–5582.
237. *Overall C.M., Lopez-Otin C.* Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. // *Nat. Rev. Cancer.* 2002. V. 2. P. 657–672.
238. *Van den Steen P.E., Dubois B., Nelissen I., Rudd P.M., Dwek R.A., Opdenakker G.* Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 37. P. 375–536.
239. *Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H.* The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metallo-proteinase gene family. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1990. V. 87. P. 5578–5582.
240. *Bannikov G.A., Karelina T.V., Collier I.E., Marmar B.L., Goldberg G.I.* Substrate binding of gelatinase B induces its enzymatic activity in the presence of intact propeptide. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 16022–16027.
241. *Peppin G.J., Weiss S.J.* Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1986. V. 83. P. 4322–4326.
242. *Gu Z., Kaul M., Yan B., Kridel S.J., Cui J., Strongin A., Smith J.W., Liddington R.C., Lipton S.A.* S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. // *Science.* 2002. V. 297. P. 1186–1190.
243. *Paquette B., Bisson M., Therriault H., Lemay R., Pare M., Banville P., Cantin A.M.* Activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 by 2- and 4-hydroxyestradiol. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2003. V. 87. P. 65–73.
244. *Toth M., Chvyrkova I., Bernardo M.M., Hernandez-Barrantes S., Fridman R.* Pro-MMP-9 activation by the MT1-MMP/MMP-2 axis and MMP-3: role of TIMP-2 and plasma membranes. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 308. P. 386–395.

245. *Radjabi A.R., Sawada K., Jagadeeswaran S., Eichbichler A., Kenny H.A., Montag A., Bruno K., Lengyel E.* Thrombin induces tumor invasion through the induction and association of matrix metalloproteinase-9 and beta1-integrin on the cell surface. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 2822–2834.
246. *Castro L., Rodriguez M., Radi R.* Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 29409–29415.
247. *Okamoto T., Akaike T., Nagano T., Miyajima S., Suga M., Ando M., Ichimori K., Maeda H.* Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1997. V. 342. P. 261–274.
248. *Hibbs Jr. J.B., Taintor R.R., Vavrin Z.* Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. // *Science.* 1987. V. 235. P. 473–476.
249. *Radi R., Rodriguez M., Castro L., Telleri R.* Inhibition of mitochondrial electron transport by peroxynitrite. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. V. 308. P. 89–95.
250. *Moro M.A., Darley-Usmar V.M., Goodwin D.A., Read N.G., Zamora-Pino R., Feelisch M., Radomski M.W., Moncada S.* Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1994. V. 91. P. 6702–6706.
251. *Villa L.M., Salas E., Darley-Usmar V.M., Radomski M.W., Moncada S.* Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1994. V. 91. P. 12383–12387.
252. *Radi R., Beckman J.S., Bush K.M., Freeman B.A.* Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 4244–4250.
253. *Rubbo H., Denicola A., Radi R.* Peroxynitrite inactivates thiol-containing enzymes of *Trypanosoma cruzi* energetic metabolism and inhibits cell respiration. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1994. V. 308. P. 96–102.
254. *Crow J.P., Beckman J.S., McCord J.M.* Sensitivity of the essential zinc-thiolate moiety of yeast alcohol dehydrogenase to hypochlorite and peroxynitrite. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. P. 3544–3552.
255. *Ischiropoulos H., Zhu L., Chen J., Tsai M., Martin J.C., Smith C.D., Beckman J.S.* Peroxynitrite-mediated tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1992. V. 298. P. 431–437.
256. *Alvarez B., Radi R.* Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. // *Amino Acids.* 2003. V. 25. P. 295–311.
257. *Augusto O., Bonini M.G., Amanso A.M., Linares E., Santos C.C., De Menezes S.L.* Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology. // *Free Radic. Biol. Med.* 2002. V. 32. P. 841–859.

258. *Radi R.* Peroxynitrite reactions and diffusion in biology. // *Chem. Res. Toxicol.* 1998. V. 11. P.720–772.
259. *Phillips P.G., Birnby L.M.* Nitric oxide modulates caveolin-1 and matrix metalloproteinase-9 expression and distribution at the endothelial cell/tumor cell interface. // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004. V. 286. P. L1055–L1065.
260. *Loftus I.M., Naylor A.R., Bell P.R.F., Thompson M.M.* Matrix metalloproteinases and atherosclerotic plaque instability. // *British Journal of Surgery.* – 2002. – V. 89. – № 6. – P. 680–694.
261. *Myasoedova V.A., Chistiakov D.A., Grechko A.V., Orekhov A.N.* Matrix metalloproteinases in pro-atherosclerotic arterial remodeling. // *Journal of molecular and cellular cardiology.* – 2018. – V. 123. – P. 159–167.
262. *Page-McCaw A., Ewald A. J., Werb Z.* Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. // *Nature reviews Molecular cell biology.* – 2007. – V. 8. – № 3. – P. 221–233.
263. *Younger S.T., Corey D.R.* Transcriptional gene silencing in mammalian cells by miRNA mimics that target gene promoters. // *Nucleic Acids Research.* – 2011. – V. 39. – № 13. – P. 5682–5691.
264. *Kim D.H., Sætrom P., Snøve O., Rossi J.J.* MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2008. – V. 105. – № 42. – P. 16230–16235.
265. *Johnson J.L.* Matrix metalloproteinases: Influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. // *Expert Review of Cardiovascular Therapy.* – 2007. – V. 5. – № 2. – P. 265–282.
266. *Gupta S.P.* Matrix metalloproteinase inhibitors: specificity of binding and structure-activity relationships. // *Experientia supplementum* (2012). – 2012. – V. 103. – P. v-vi.
267. *Chen Q., Jin M., Yang F.* et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. // *Mediators of inflammation.* – 2013. – V. 2013.
268. *Spinale F.G., Villarreal F.* Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // *BiochemPharmacol.* 2014. V. 90. № 1. P. 7–15. doi: 10.1016/j.bcp.2014.04.011.
269. *Qiang B., Toma J., Fujii H.* et al. Statin therapy prevents expansive remodeling in venous bypass grafts. // *Atherosclerosis.* – 2012. – V. 223. – № 1. – P. 106–113.
270. *Saeed M., Arun M.Z., Guzeloglu M., Onursal C., Gokce G., Korkmaz C.G., Reel B.* Low-dose doxycycline inhibits hydrogen peroxide-induced oxidative stress, MMP-2 up-regulation and contractile dysfunction in human saphenous vein grafts. // *Drug Des DevelTher.* 2019. V. 13. P. 1791–1801. doi: 10.2147/DDDT.S187842.

271. *Plutzky J.* The vascular biology of atherosclerosis. // *The American Journal of Medicine.* – 2003. – V. 115. – № 8, Supplement 1. – P. 55–61.
272. *Lijnen H.R.* Metalloproteinases in development and progression of vascular disease. // *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis.* – 2003. – V. 33. – № 5-6. – P. 275–281.
273. *Galis Z.S., Khatri J.J.* Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. // *Circulation research.* – 2002. – V. 90. – № 3. – P. 251–262.
274. *Molloy K.J., Thompson M.M., Jones J. L.* et al. Unstable carotid plaques exhibit raised matrix metalloproteinase-8 activity. // *Circulation.* – 2004. – V. 110. – № 3. – P. 337–343.
275. *Sukhova G.K., Schönbeck U., Rabkin E.* et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. // *Circulation.* – 1999. – V. 99. – № 19. – P. 2503–2509.
276. *Williams H., Johnson J.L., Jackson C.L.* et al. MMP-7 mediates cleavage of N-cadherin and promotes smooth muscle cell apoptosis. // *Cardiovascular research.* – 2010. – V. 87. – № 1. – P. 137–146.
277. *Inoue S., Nakazawa T., Cho A.* et al. Regulation of arterial lesions in mice depends on differential smooth muscle cell migration: a role for sphingosine-1-phosphate receptors. // *Journal of vascular surgery.* – 2007. – V. 46. – № 4. – P. 756–763.
278. *Olejzarz W., Łacheta D., Kubiak-Tomaszewska G.* Matrix Metalloproteinases as Biomarkers of Atherosclerotic Plaque Instability. // *International journal of molecular sciences.* – 2020. – V. 21. – № 11. P. 1–20. 3946. doi: 10.3390/ijms21113946. PMID: 32486345.
279. *Kuwahara F., Kai H., Tokuda K., Takeya M., Takeshita A., Egashira K., Imaizumi T.* Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation? // *Hypertension.* 2004. V. 43. P. 739–745.
280. *Collier P., Watson C.J., Voon V., Phelan D., Jan A., Mak G., Martos R., Baugh J.A., Ledwidge M.T., McDonald K.M.* Can emerging biomarkers of myocardial remodeling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? // *Eur. J. Heart Fail.* 2011. V. 13. P. 1087–1095.
281. *Basalyga D.M., Simionescu D.T., Xiong W., Baxter B.T., Starcher B.C., Vyavahare N.R.* Elastin degradation and calcification in an abdominal aorta injury model: role of matrix metalloproteinases. // *Circulation.* 2004. V. 110. P. 3480–3487.
282. *Heymans S., Lupu F., Terclavers S., Vanwetswinkel B., Herbert J.-M., Baker A., Collen D., Carmeliet P., Moons L.* Loss or inhibition of uPA or MMP-9 attenuates LV remodeling and dysfunction after acute pressure overload in mice. // *Am. J. Pathol.* 2005. V. 166. P. 15–25.

283. Mukherjee R., Colbath G.P., Justus C.D., Bruce J.A., Allen C.M., Hewett K.W., Saul J.P., Gourdie R.G., Spinale F.G. Spatiotemporal induction of matrix metalloproteinase-9 transcription after discrete myocardial injury. // *FASEB J.* 2010. V. 24 . P. 3819–3828.
284. Mukherjee R., Snipes J.M., Saunders S.M., Zavadzkas J.A., Spinale F.G. Discordant activation of gene promoters for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of the metalloproteinases following myocardial infarction. // *J. Surg. Res.* 2012. V.172. P. 59–67.
285. Mukherjee R., Mingoia J.T., Bruce J.A., Austin J.S., Stroud R.E., Escobar G.P., McClister Jr. D.M., Allen C.M., Alfonso-Jaume M.A., Fini M.E., Lovett D.H., Spinale F.G. Selective spatiotemporal induction of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 transcription after myocardial infarction. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. V. 291. P. H2216–H2228.
286. Martos R., Baugh J., Ledwidge M., O'Loughlin C., Conlon C., Patle A., Donnelly S.C., McDonald K. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. // *Circulation.* 2007. V.115. P. 888–895.
287. Martos R., Baugh J., Ledwidge M., O'Loughlin C., Murphy N.F., Conlon C., Patle A., Donnelly S.C., McDonald K. Diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction: improved accuracy with the use of markers of collagen turnover. // *Eur. J. Heart Fail.* 2009. V.11. P. 191–197.
288. Zile M.R., Desantis S.M., Baicu C.F., Stroud R.E., Thompson S.B., McClure C.D., Mehurg S.M., Spinale F.G. Plasma biomarkers that reflect determinants of matrix composition identify the presence of left ventricular hypertrophy and diastolic heart failure. // *Circ. Heart Fail.* 2011. V. 4. P. 246–256.
289. Kuliczowski W., Urbaniak J., Hallen J., Wozniak M., Polonski L., Mysiak A., Atar D., Zembala M., Serebruany V. Matrix metalloproteinases and the activity of their tissue inhibitors in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty. // *Kardiol. Pol.* 2013. V. 71. P. 453–463.
290. Rigas B., Kashfi K. Nitric-oxide-donating NSAIDs as agents for cancer prevention. // *Trends Mol. Med.* 2004. V. 10. P. 324–330.
291. Yeh R.K., Chen J., Williams J.L., Baluch M., Hundley T.R., Rosenbaum R.E., Kalala S., Traganos F., Benardini F., del Soldato P., Kashfi K., Rigas B. NO-donating nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) inhibit colon cancer cell growth more potently than traditional NSAIDs: a general pharmacological property? // *Biochem.Pharmacol.* 2004. V. 67. P. 2197–2205.
292. Williams J.L., Kashfi K., Ouyang N., del Soldato P., Kopelovich L., Rigas B. NO-donating aspirin inhibits intestinal carcinogenesis in Min (APC(Min/+)) mice. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 313. P. 784–788.
293. Thatcher G.R., Nicolescu A.C., Bennett B.M., Toader V. Nitrates and NO release: contemporary aspects in biological and medicinal chemistry. // *Free Radic. Biol.Med.* 2004. V. 37. P. 1122–1143.

294. Fiorucci S., Antonelli E., Distrutti E., Del Soldato P., Flower R.J., Clark M.J., Morelli A., Perretti M., Ignarro L.J. NCX-1015, a nitric-oxide derivative of prednisolone, enhances regulatory T cells in the lamina propria and protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2002. V. 99. P. 15770–15775.
295. Paul-Clark M.J., Mancini L., Del Soldato P., Flower R.J., Perretti M. Potent antiarthritic properties of a glucocorticoid derivative, NCX-1015, in an experimental model of arthritis. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2002. V. 99. P. 1677–1682.
296. Turesin F., del Soldato P., Wallace J.L. Enhanced anti-inflammatory potency of a nitric oxide-releasing prednisolone derivative in the rat. // Br. J. Pharmacol. 2003. V.139. P. 966–972
297. Lagente V., Advenier C. New nitric oxide-donating drugs for the treatment of airway diseases. // Curr. Opin. Investig. Drugs. 2004. V. 5. P. 537–541.
298. Lagente V., Naline E., Guenon I., Corbel M., Boichot E., Burgaud J.L., Del Soldato P., Advenier C. A nitric oxide-releasing salbutamol elicits potent relaxant and anti-inflammatory activities. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004. V. 310. P. 367–375.
299. Turner D.L., Ferrari N., Ford W.R., Kidd E.J., Paquet L., Renzi P., Broadley K.J. TPI 1020, a novel anti-inflammatory, nitric oxide donating compound, potentiates the bronchodilator effects of salbutamol in conscious guinea-pigs. // Eur. J.Pharmacol. 2010. V. 641. P. 213–219.
300. Marsh N., Marsh A. A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2000. V. 27. P. 313–319.
301. Sawicki G., Salas E., Murat J., Miszta-Lane H., Radomski M.W. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. // Nature. 1997. V. 386. № 6625. P. 616-619. doi: 10.1038/386616a0.
302. Fiotti N., Altamura N., Moretti M., Wassermann S., Zacchigna S., Farra R., Dapas B., Consoloni L., Giacca M., Grassi G., Giansante C. Short term effects of doxycycline on matrix metalloproteinases 2 and 9. // Cardiovasc Drugs Ther. 2009. V. 23. №2. P. 153–159. doi: 10.1007/s10557-008-6150-7.
303. Krishnatry A.S., Kamei T., Wang H., Qu J., Fung H.L. Identification of nitroglycerin-induced cysteine modifications of pro-matrix metalloproteinase-9. // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2011. V. 25. P. 2291–2298.
304. Krishnatry A.S., Fung S.M., Brazeau D.A., Soda D., Fung H.L. Nitroglycerin alters matrix remodeling proteins in THP-1 human macrophages and plasma metalloproteinase activity in rats. // Nitric Oxide. 2011. V. 24 . P. 66–76.
305. Death A.K., Nakhla S., McGrath K.C., Martell S., Yue D.K., Jessup W., Celermajer D.S. Nitroglycerin upregulates matrix metalloproteinase expression by human macrophages. // J. Am. Coll. Cardiol. 2002. V. 39. P. 1943–1950.

306. Wang J., O'Sullivan S., Harmon S., Keaveny R., Radomski M.W., Medina C., Gilmer J.F. Design of barbiturate–nitrate hybrids that inhibit MMP-9 activity and secretion. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 2154–2162.
307. Huerta S., Chilka S., Bonavida B. Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). // *Int. J. Oncol.* 2008. V. 33. P. 909–927.
308. Krishnatry A.S., Kamei T., Wang H., Qu J., Fung H.L. Identification of nitroglycerin-induced cysteine modifications of pro-matrix metalloproteinase-9. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011. V. 25. P. 2291–2298.
309. Amé J.C., Spenlehauer C., de Murcia G. The PARP superfamily. // *Bioessays.* – 2004. – V. 26. – № 8. – P. 882–893.
310. D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G.G. Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions. // *Biochemical Journal.* – 1999. – V. 342. – № 2. – P. 249–268.
311. Shall S., de Murcia G. Poly (ADP-ribose) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? // *Mutation Research/DNA Repair.* – 2000. – V. 460. – № 1. – P. 1–15.
312. Kim M.Y., Mauro S., Gévry N. et al. NAD⁺-dependent modulation of chromatin structure and transcription by nucleosome binding properties of PARP-1. // *Cell.* – 2004. – V. 119. – № 6. – P. 803–814.
313. Virág L., Szabó C. The Therapeutic Potential of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. // *Pharmacological Reviews.* – 2002. – V. 54. – № 3. – P. 375–429.
314. Schreiber V., Dantzer F., Amé J. C., De Murcia G. Poly (ADP-ribose): novel functions for an old molecule. // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2006. – V. 7. – № 7. – P. 517–528.
315. Saxena A., Saffery R., Wong L.H. et al. Centromere proteins Cenpa, Cenpb, and Bub3 interact with poly(ADP-ribose) polymerase-1 protein and are poly(ADP-ribosyl)ated. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2002. – V. 277. – № 30. – P. 26921–26926.
316. Samper E., Goytisolo F.A., De Murcia J.M. et al. Normal telomere length and chromosomal end capping in poly(ADP-ribose) polymerase-deficient mice and primary cells despite increased chromosomal instability. // *Journal of Cell Biology.* – 2001. – V. 154. – № 1. – P. 49–60.
317. Bürkle A. Poly(ADP-ribose): The most elaborate metabolite of NAD⁺. // *FEBS Journal.* – 2005. – V. 272. – № 18. – P. 4576–4589.
318. Diefenbach J., Bürkle A. Introduction to poly(ADP-ribose) metabolism. // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2005. – V. 62. – P. 721–730.
319. Hegedüs C., Virág L. Inputs and outputs of poly (ADP-ribosyl) ation: Relevance to oxidative stress. // *Redox biology.* – 2014. – V. 2. – P. 978–982.
320. Krishnakumar R., Gamble M.J., Frizzell K.M. et al. Reciprocal Binding of PARP-1 and Histone H1 at Promoters Specifies Transcriptional Outcomes. // *Science.* – 2008. – V. 319. – № 5864. – P. 819–821.

321. *Kraus W.L., Lis J.T.* PARP goes transcription. // *Cell*. – 2003. – V. 113. – № 6. – P. 677–683.
322. *Sousa F.G., Matuo R., Soares D.G., Escargueil A.E., Henriques J.A., Larsen A.K., Saffi J.* PARPs and the DNA damage response. // *Carcinogenesis*. 2012. V. 33. № 8. P. 1433–1440. doi: 10.1093/carcin/bgs132.
323. *Hassa P.O., Hottiger M.O.* The functional role of poly (ADP-ribose) polymerase 1 as novel coactivator of NF- κ B in inflammatory disorders. // *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. – 2002. – V. 59. – № 9. – P. 1534–1553.
324. *Liaudet L., Pacher P., Mabley J.G.* et al. Activation of poly(ADP-Ribose) polymerase-1 is a central mechanism of lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation. // *American journal of respiratory and critical care medicine*. – 2002. – V. 165. – № 3. – P. 372–377.
325. *Ha H.C., Hester L.D., Snyder S.H.* Poly(ADP-ribose) polymerase-1 dependence of stress-induced transcription factors and associated gene expression in glia. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2002. – V. 99. – № 5. – P. 3270–3275.
326. *Zerfaoui M., Errami Y., Naura A.S.* et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a determining factor in Crm1-mediated nuclear export and retention of p65 NF-kappa B upon TLR4 stimulation. // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. – 2010. – V. 185. – № 3. – P. 1894–1902.
327. *Thomas C., Tulin A.V.* Poly-ADP-ribose polymerase: machinery for nuclear processes. // *Mol. Aspects Med*. – 2013. – V. 34. – № 6. – P. 1124–1137.
328. *Luo X., Kraus W.L.* On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. // *Genes Dev*. – 2012. – V. 26. – № 5. – P. 417–432.
329. *Aredia F., Scovassi A.I.* Poly(ADP-ribose): a signaling molecule in different paradigms of cell death. // *Biochem. Pharmacol*. – 2014. – V. 92. – № 1. – P. 157–163.
330. *Szabo C.* Cardioprotective effects of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. // *Pharmacol. Res*. – 2005. – V. 52. – № 1. – P. 34–43.
331. *Lupo B., Trusolino L.* Inhibition of poly(ADP-ribosyl)ation in cancer: old and new paradigms revisited. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – V. 1846. – № 1. – P. 201–215.
332. *Pacher P., Szabo C.* Role of the peroxynitrite-poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human disease. // *Am. J. Pathol*. – 2008. – V. 173. – № 1. – P. 2–13.
333. *Hatachi G., Tsuchiya T., Miyazaki T., Matsumoto K., Yamasaki N., Okita N., Nanashima A., Higami Y., Nagayasu T.* The poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitor PJ34 reduces pulmonary ischemia-reperfusion injury in rats. // *Transplantation*. 2014. V. 98. P. 618–624. doi.org/10.1097/TP.0000000000000305. 20.

334. *Korkmaz-İcöz S., Radovits T., Loganathan S., Li S., Ruppert M., Benke K., Brlecic P., Szabó C., Karck M., Szabó G.* Prolonging hypothermic ischaemic cardiac and vascular storage by inhibiting the activation of the nuclear enzyme poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase. // *Eur J Cardiothorac Surg.* 2017. V. 51. P. 829–835. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezw426>.
335. *Sahin K., Durdagi S.* Identifying new piperazine-based PARP1 inhibitors using text mining and integrated molecular modeling approaches. // *J Biomol Struct Dyn.* 2021. V. 39. P. 681–690. doi.org/10.1080/07391102.2020.1715262.
336. *Devalaraja-Narashimha K., Padanilam B.J.* PARP-1 inhibits glycolysis in ischemic kidneys. // *Journal of the American Society of Nephrology.* – 2009. – V. 20. – № 1. – P. 95–103.
337. *Andrabi S.A., Umanah G.K.E., Chang C.* et al. Poly (ADP-ribose) polymerase-dependent energy depletion occurs through inhibition of glycolysis. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2014. – V. 111. – № 28. – P. 10209–10214.
338. *Shevalye H., Stavniichuk R., Xu W.* et al. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibition counteracts multiple manifestations of kidney disease in long-term streptozotocin-diabetic rat model. // *Biochemical pharmacology.* – 2010. – V. 79. – № 7. – P. 1007–1014.
339. *Bai P., Virág L.* Role of poly(ADP-ribose) polymerases in the regulation of inflammatory processes. *FEBS Lett.* 2012. V. 586. № 21. P. 3771–3777. [doi: 10.1016/j.febslet.2012.09.026](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.09.026).
340. *Carrillo A., Monreal Y., Ramírez P.* et al. Transcription regulation of TNF- α -early response genes by poly(ADP-ribose) polymerase-1 in murine heart endothelial cells. // *Nucleic acids research.* – 2004. – V. 32. – № 2. – P. 757–766.
341. *Hassa P.O., Haenni S.S., Buerki C.* et al. Acetylation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 by p300/CREB-binding protein regulates coactivation of NF- κ B-dependent transcription. // *The Journal of biological chemistry.* – 2005. – V. 280. – № 49. – P. 40450–40464.
342. *Xu S., Bai P., Little P. J., Liu P.* Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) in atherosclerosis: from molecular mechanisms to therapeutic implications. // *Medicinal research reviews.* – 2014. – V. 34. – № 3. – P. 644–675.
343. *Lupo B., Trusolino L.* Inhibition of poly(ADP-ribosyl)ation in cancer: old and new paradigms revisited. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – V. 1846. – № 1. – P. 201–215.
344. *Curtin N.J., Szabo C.* Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. // *Mol. Aspects Med.* – 2013. – V. 34. – № 6. – P. 1217–1256.
345. *Pacher P., Szabo C.* Role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: the therapeutic potential of PARP inhibitors. // *Cardiovasc. Drug Rev.* – 2007. – V. 25. – № 3. – P. 235–260.

346. *Curtin N.J., Szabo C.* Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition: past, present and future. // *Nat Rev Drug Discov.* 2020. V. 19. № 10. P. 711–736. doi: 10.1038/s41573-020-0076-6.
347. *Morrow D.A., Brickman C.M., Murphy S.A.* et al. A randomized, placebo-controlled trial to evaluate the tolerability, safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of a potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (INO-1001) in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of the TIMI 37 trial. // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2009. – V. 27. – P. 359–364.
348. *Гормоны и почки. / Под ред. Б.М. Бреннера, Дж.Г. Стейна.* – М.: Медицина, 1983. – 336 с.
349. *Свищенко Е.П., Коваленко В.Н.* Гипертоническая болезнь, вторичные гипертензии. – Издательство К.: Лебедь, 2002. – 504 с.
350. *Уильямс Г.Г.* Альдостерон. Почечная эндокринология. // – М.: Медицина, 1987. – С. 272–295.
351. *Brewster U.C., Setara J.F., Perazella M.A.* The renin-angiotensin-aldosterone system: cardiorenal effects and implications for renal and cardiovascular disease states. // *Amer. J. Med. Sci.* – 2003. – V. 326. – P. 15–24.
352. *Ramya K., Suresh R., Kumar H.Y., Kumar B.R.P., Murthy N.B.S.* Decades-old renin inhibitors are still struggling to find a niche in antihypertensive therapy. A fleeting look at the old and the promising new molecules. // *Bioorg Med Chem.* 2020. V. 28. № 10. P. 115466. doi: 10.1016/j.bmc.2020.115466.
353. *Dihn D.T., Frauman A.G., Jonston C.I., Fabiani M.E.* Angiotensin receptors: distribution, signaling and function. // *Clinical Sci.* – 2001. – № 100. – P. 481–492.
354. *Свищенко Е.П., Коваленко В.Н.* Артериальная гипертензия. Практическое руководство. – К.: Морион, 2001. – 528 с.
355. *Шхвацабая И.К., Чихладзе Н.М.* Гиперальдостеронизм и артериальная гипертензия. – М.: Медицина, 1984. – 136 с.
356. *Brown M.J.* Renin: friend or foe. // *Heart.* – 2007. – V. 93. – P. 1026–1033.
357. *Тенпермен Д.Ж., Тенпермен Х.* Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
358. *Dostal D.E., Baker K.M.* Evidence for a role of an intracardiac renin-angiotensin system in normal and failing hearts. // *Trends Cardiovasc Med.* 1993. V. 3. P. 67–74.
359. *Белов Ю.В., Вараксин В.А.* Современное представление о постинфарктном ремоделировании левого желудочка. // *PMЖ.* 2002. V. 10. № 10. P. 469–471.
360. *Dargie H.J., McAlpine H.M., Morton J.J.* Neuroendocrine activation in acute myocardial infarction. // *J Cardiovasc Pharmacol.* 1987. V. 9 (Suppl2). P. 21–24.

361. *Мареев В.Ю.* Блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы на разных уровнях. // Практикующий врач. – 2000. – № 18. – С. 23–24.
362. *Heusch G., Rose J., Ehring T.* Cardioprotection by ACE inhibitors in myocardial ischaemia/reperfusion. The importance of bradykinin. // *Drugs.* 1997. V.54 (Suppl 5) P.31-41. doi: 10.2165/00003495-199700545-00006.
363. *Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Соболева Ю.В.* и др. Физиология и фармакология ренин-ангиотензиновой системы. // *Кардиология.* 1997. № 11. С. 91–95.
364. *Мареев В.Ю.* Блокада ренин-ангиотензин-альдостероновой системы на разных уровнях. // Практикующий врач. – 2000. – № 18. – С. 23–24.
365. *Палеев Н.Р., Палеев Ф. Н.* Цитокины и их роль в патогенезе заболеваний сердца. // *Клиническая медицина,* 2004. № 5. С. 4–7.
366. *Бузиаивили Ю.И., Ключников И.В., Мелконян А.М.* и др. Ишемическое ремоделирование левого желудочка (определение, патогенез, диагностика, медикаментозная и хирургическая коррекция). // *Кардиология.* 2002. № 10. С. 88–95.
367. *Барбараш О.Л., Бернс С.А., Монингер И.Г.* и др. Взаимосвязь проаритмических маркеров и показателей дисфункции миокарда у больных ИБС с умеренной сердечной недостаточностью. Эффективность спиронолактона в снижении риска возникновения желудочковых аритмий. // *Сердце.* 2006. № 6. С. 292–295.
368. *Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю.* Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. Москва, Медиа Медика. 2000. С. 266.
369. *Hornig B., Drexler H.* Reversal of endothelial dysfunction in humans. // *Coron Artery Dis.* 2001. V.12(6). P.463-73. doi: 10.1097/00019501-200109000-00005.
370. WHO report on cardiovascular diseases. // *World Health Organization.* 2017.
371. *Кокорин В.А., Волов Н.А., Дударева А.В., Сытник Н.В., Гэн Хайшу.* Нейрогуморальные нарушения и методы их коррекции у больных, перенесших инфаркт миокарда. // *Российский кардиологический журнал.* 2009. № 1 (75). С. 62–68.
372. *Jagadeesh G., Balakumar P., Stockbridge N.* How well do aliskiren's purported mechanisms track its effects on cardiovascular and renal disorders? // *Cell Signal.* 2012. V. 24. № 8. P. 1583–1591.
373. *Poulsen K., Burton J., Haber E.* Competitive inhibitors of renin. // *Biochemistry.* 1973. V. 12. № 20. P. 3877–3882.
374. *Sielecki A.R., Hayakawa K., Fujinaga M.* et al. Structure of recombinant human renin, a target for cardiovascular-active drugs, at 2.5Å resolution. // *Science.* 1989. V. 243. № 4896. P. 1346–1351.
375. *Gross F., Lazar J., Orth H.* Inhibition of the renin-angiotensinogen reaction by pepstatin. // *Science.* 1972. V. 175. № 4022. P. 656–660.

376. *Gross F., Lazar J., Orth H.* Inhibition of the renin-angiotensinogen reaction by pepstatin. // *Science*. 1972. V. 175. № 4022. P. 656–660.
377. *Skeggs L.T., Kahn J.R., Lentz K., Shumway N.P.* The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. // *J Exp Med*. 1957. V. 106. № 3. P. 439–453.
378. *Burton J., Poulsen K., Haber E.* Competitive inhibitors of renin Inhibitors eective at physiological pH. // *Biochemistry*. 1975. V.14. №17. P. 3892–3898.
379. *Haber E.* Defining the physiologic and pathophysiologic roles of renin: the role of specific inhibitors. // *Am J Kidney Dis*. 1985. V. 5. № 4. P. 14-22. doi: 10.1016/s0272-6386(85)80060-3.
380. *Workman R.J., McKown M.M., Gregerman R.I.* Renin Inhibition by proteins and peptides. // *Biochemistry*. 1974. V. 13. № 15. P. 3029–3035.
381. *Turcotte J.G., Yu C.S., Lee H.L., Pavanaram S.K., Sen S., Smeby R.R.* Synthesis of lysophosphatidylethanolamine analogs that inhibit renin activity. // *J Med Chem*. 1975. V. 18. № 12. P.1184–1190.
382. *Johnson R.L., Verschoor K.* Inhibition of renin by angiotensinogen peptide fragments containing the hydroxy amino acid residue 5-amino-3-hydroxy-7-methyloctanoic acid. // *J Med Chem*. 1983. V. 26. № 10. P.1457–1462.
383. *Boger J., Payne L.S., Perlow D.S.* et al. Renin inhibitors. Syntheses of subnanomolar, competitive, transition-state analog inhibitors containing a novel analog of statine. // *J Med Chem*. 1985. V. 28. № 12. P. 1779–1790.
384. *Weber A.E., Steiner M.G., Krieter P.A.* et al. Highly potent, orally active diester macrocyclic human renin inhibitors. // *J Med Chem*. 1992. V. 35. № 21. P. 3755–3773.
385. *Heitsch H., Henning R., Kleemann H.W.* et al. Renin inhibitors containing a pyridyl amino diol derived C-terminus. // *J Med Chem*. 1993. V. 36. № 19. P. 2788–2800.
386. *Oefner C., Binggeli A., Brey V.* et al. Renin inhibition by substituted piperidines: a novel paradigm for the inhibition of monomeric aspartic proteinases? // *Chem Biol*. 1999. V. 6. № 3. P. 127–131.
387. *Holsworth D.D., Cai C., Cheng X.M.* et al. Ketopiperazine-based renin inhibitors: optimization of the “C” ring. // *Bioorg Med Chem Lett*. 2006. V.16. № 9. P. 2500–2504.
388. *Yuan L., Wu J., Aluko R.E., Ye X.* Kinetics of renin inhibition by sodium houthuyfonate analogs. // *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006. V. 70. № 9. P. 2275–2280.
389. *Yokokawa F.* Recent progress on the discovery of non-peptidic direct renin inhibitors for the clinical management of hypertension. // *Expert Opin Drug Discov*. 2013. V. 8. № 6. P. 673–690.
390. *Lorthiois E., Breitenstein W., Cumin F.* et al. The discovery of novel potent trans-3, 4-disubstituted pyrrolidine inhibitors of the human aspartic protease renin from in silico three-dimensional (3D) pharmacophore searches. // *J Med Chem*. 2013. V. 56. № 6. P. 2207–2217.

391. *Chen A., Bayly C., Bezenzon O.* et al. Design and optimization of a substituted amino propanamide series of renin inhibitors for the treatment of hypertension. // *Bioorg MedChem Lett.* 2010. V. 20. № 7. P. 2204–2209.
392. *Imaeda Y., Tokuhara H., Fukase Y.* et al. Discovery of TAK-272: a novel, potent, and orally active renin inhibitor. // *ACS Med Chem Lett.* 2016. V. 7. № 10. P. 933–938.
393. *Hara T., Nishimura S., Yamamoto T.* et al. TAK-272 (imarikiren), a novel renin inhibitor, improves cardiac remodeling and mortality in a murine heart failure model. // *PLoS ONE.* 2018. V. 13. № 8. P. 1–16.
394. *Scheiper B., Matter H., Steinhagen H.* et al. Discovery and optimization of a new class of potent and non-chiral indole-3-carboxamide-based renin inhibitors. // *Bioorg Med Chem Lett.* 2010. V.20. № 21. P. 6268–6272.
395. *Jagadeesh G., Balakumar P., Stockbridge N.* How well do aliskiren's purported mechanisms track its effects on cardiovascular and renal disorders? // *Cell Signal.* 2012. V. 24. № 8. P.1583–1591.
396. *Balakumar P., Maung-U. K., Jagadeesh G.* Prevalence and prevention of cardiovascular disease and diabetes mellitus. // *Pharmacol Res.* 2016. V.113(Pt A). P. 600–609. doi: 10.1016/j.phrs.2016.09.040.
397. *Staessen J.A., Li Y., Richart T.* Oral renin inhibitors. // *Lancet.* 2006. V. 368. № 9545. P.1449–1456. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69442-7.
398. *Solomon S.D., Hee Shin S., Shah A.* et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren on left ventricular remodeling following myocardial infarction with systolic dysfunction. // *Eur Heart J.* 2011. V. 32. № 10. P. 1227–1234.
399. *Solomon S.D., Appelbaum E., Manning W.J.* et al. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren, the angiotensin receptor blocker losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. // *Circulation.* 2009. V. 119. № 4. P. 530–537.
400. *Krum H., McMurray J.J., Abraham W.T.* et al. The Aliskiren Trial to Minimize Outcomes in Patients with Heart failure trial (ATMOSPHERE): revised statistical analysis plan and baseline characteristics. // *Eur J Heart Fail.* 2015. V. 17. №10. P. 1075–1083.
401. *Montgomery R.L.* et al. Histone deacetylases 1 and 2 redundantly regulate cardiac morphogenesis, growth, and contractility. // *Genes Dev.* 2007. V. 21. P. 1790–1802.
402. *Haberland M., Montgomery R. L., Olson E. N.* The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. // *Nat Rev Genet.* 2009. V. 10. №1. P. 32–42. doi:10.1038/nrg2485.
403. *Kuwahara K.* et al. NRSF regulates the fetal cardiac gene program and maintains normal cardiac structure and function. // *EMBO J.* 2003. V. 22. № 23. P. 6310-6321. doi: 10.1093/emboj/cdg601.
404. *Chang S.* et al. Histone deacetylases 5 and 9 govern responsiveness of the heart to a subset of stress signals and play redundant roles in heart development. // *Mol Cell Biol.* 2004. V. 24. P. 8467–8476.

405. *Song K. et al.* The transcriptional coactivator CAMTA2 stimulates cardiac growth by opposing class II histone deacetylases. // *Cell*. 2006. V. 125. P. 453–466.
406. *Backs J., Olson E.N.* Control of cardiac growth by histone acetylation/deacetylation. // *Circ Res*. 2006. V. 98. P. 15–24.
407. *Hill J.A., Olson E.N.* Cardiac plasticity. // *N Engl J Med*. 2008. V. 358. № 13. P. 1370–1380. doi: 10.1056/NEJMra072139.
408. *Kim Y., Phan D., van Rooij E., Wang D.Z., McAnally J., Qi X., Richardson J.A., Hill J.A., Bassel-Duby R., Olson E.N.* The MEF2D transcription factor mediates stress-dependent cardiac remodeling in mice. // *J Clin Invest*. 2008. V.118. № 1. P. 124–132. doi: 10.1172/JCI33255.
409. *Lee A.Y., Paweletz C.P., Pollock R.M., Settlage R.E., Cruz J.C., Secrist J.P., Miller T.A., Stanton M.G., Kral A.M., Ozerova N.D., Meng F., Yates N.A., Richon V., Hendrickson R.C.* Quantitative analysis of histone deacetylase-1 selective histone modifications by differential mass spectrometry. // *J Proteome Res*. 2008. V. 7. № 12. P. 5177–5186. doi: 10.1021/pr800510p.
410. *Bolden J.E., Peart M.J., Johnstone R.W.* Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. // *Nature Rev Drug Discov*. 2006. V. 5. P.769–784.
411. *Duvic M., Talpur R., Ni X., Zhang C., Hazarika P., Kelly C., Chiao J.H., Reilly J.F., Ricker J.L., Richon V.M., Frankel S.R.* Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). // *Blood*. 2007. V. 109. № 1. P. 31–39. doi: 10.1182/blood-2006-06-025999.
412. *Xu W.S., Parmigiani R.B., Marks P.A.* Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. // *Oncogene*. 2007. V. 26. P. 5541–5552.
413. *Marks P.A.* Discovery and development of SAHA as an anticancer agent. // *Oncogene*. 2007. V. 26. P.1351–1356.
414. *Marks P.A., Breslow R.* Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. // *Nature Biotechnol*. 2007. V. 25. P. 84–90.
415. *Chun P.* Therapeutic effects of histone deacetylase inhibitors on heart disease. // *Arch. Pharm. Res*. 2020. V. 43. P.1276–1296. doi.org/10.1007/s12272-020-01297-0 .
416. *Bhaskara S., Chyla B.J., Amann J.M., Knutson S.K., Cortez D., Sun Z.W., Hiebert S.W.* Deletion of histone deacetylase 3 reveals critical roles in S phase progression and DNA damage control. // *Mol Cell*. 2008. V. 30. № 1. P. 61–72. doi: 10.1016/j.molcel.2008.02.030.
417. *Lehrman G., Hogue I.B., Palmer S., Jennings C., Spina C.A., Wiegand A., Landay A.L., Coombs R.W., Richman D.D., Mellors J.W., Coffin J.M., Bosch R.J., Margolis D.M.* Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. // *Lancet*. 2005. V. 366. № 9485. P. 549–555. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67098-5.

418. Fischer A., Sananbenesi F., Wang X., Dobbin M., Tsai L.H. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. // *Nature*. 2007. V. 447. P. 178–182.
419. Reddy P., Sun Y., Toubai T., Duran-Struuck R., Clouthier S.G., Weisiger E., Maeda Y., Tawara I., Krijanovski O., Gatza E., Liu C., Malter C., Mascagni P., Dinarello C.A., Ferrara J.L. Histone deacetylase inhibition modulates indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent DC functions and regulates experimental graft-versus-host disease in mice. // *J Clin Invest*. 2008. V. 118. № 7. P. 2562–2573. doi: 10.1172/JCI34712.
420. Kong Y., Tannous P., Lu G., Berenji K., Rothermel B.A., Olson E.N., Hill J.A. Suppression of class I and II histone deacetylases blunts pressure-overload cardiac hypertrophy. // *Circulation*. 2006. V. 113. №22. P. 2579–88. doi: 10.1161/circulationaha.106.625467.
421. Granger A., Abdullah I., Huebner F., Stout A., Wang T., Huebner T., Epstein J.A., Gruber P.J. Histone deacetylase inhibition reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice. // *FASEB J*. 2008. V. 22. № 10. P. 3549–60. doi: 10.1096/fj.08-108548.
422. Zhang B., West E.J., Van K.C., Gurkoff G.G., Zhou J., Zhang X.M., Kozikowski A.P., Lyeth B.G. HDAC inhibitor increases histone H3 acetylation and reduces microglia inflammatory response following traumatic brain injury in rats. // *Brain Res*. 2008. V. 1226. P.181–191. doi: 10.1016/j.brainres.2008.05.085.
423. Williams J.A., Barreiro C.J., Nwakanma L.U., Lange M.S., Kratz L.E., Blue M.E., Berrong J., Patel N.D., Gott V.L., Troncoso J.C., Johnston M.V., Baumgartner W.A. Valproic acid prevents brain injury in a canine model of hypothermic circulatory arrest: a promising new approach to neuroprotection during cardiac surgery. // *Ann Thorac Surg*. 2006. V. 81. № 6. P. 2235–2241; doi: 10.1016/j.athoracsur.2005.12.060.
424. Almeida A.M., Murakami Y., Baker A., Maeda Y., Roberts I.A., Kinoshita T., Layton D.M., Karadimitris A. Targeted therapy for inherited GPI deficiency. // *N Engl J Med*. 2007. V. 356. № 16. P. 1641–1647. doi: 10.1056/NEJMoa063369.
425. Nagy P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013. V.18. P. 1623–1641.
426. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. // *Успехи биологической химии*. 2014. Т.54. С. 299–314.
427. Townsend D.M., Tew K.D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2013. V. 57. P.145–155.
428. Green R.M., Graham M., O'Donovan M.R., Chipman J.K., Hodges N.J. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. // *Mutagenesis*. 2006. V. 21. P. 383–390.

429. Galano A., Alvarez-Idaboy J.R. Glutathione: mechanism and kinetics of its non-enzymatic defense action against free radicals. // RSC Advances. 2011. V.1. P. 1763–1771.
430. Jones D.P. Redefining oxidative stress. // Antioxidants & Redox Signaling. 2006. V. 8. P.1865–1879.
431. Cai Z., Yan L. J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. // Journal of Biochemical and Pharmacological Research. 2013. V.1. P. 15–26.
432. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer C.H., Donzelli S., Hussain P., Vecoli C., Paolucci N., Ambs S., Colton C.A., Harris C.C., Roberts D.D., Wink D.A. The Chemical Biology of Nitric Oxide: Implications in Cellular Signaling. // Free Radic Biol Med. 2008. V. 45. № 1. P.18–31. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
433. Lluís J. M., Morales A., Blasco C., Colell A., Mari M., GarciaRuiz C., Fernandez-Checa J. C. Critical role of mitochondrial glutathione in the survival of hepatocytes during hypoxia. // The Journal of Biological Chemistry. 2005. V. 280. P. 3224–3232.
434. Carpenter G., Cohen S. Epidermal growth factor. // The Journal of Biological Chemistry. 1990. V. 265. P. 7709–7712.
435. Пархоменко А.Н. Кардиопротекция при остром инфаркте миокарда. // Кардиология. 2004. № 2. С. 6–11.
436. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов в адаптации организма к изменению уровня кислорода. // Проблемы гипоксии. 2004. С. 112–138.
437. Brandes R.P., Janiszewski M. Direct detection of reactive oxygen species ex vivo. // Kidney Int. 2005. V. 67. № 5. P.1662–1664. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00258.x.
438. Новиков В.Е., Пожилова Е.В., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2015. Т. 14. № 2. С. 13–15.
439. Маркова Е.О., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Пожилова Е.В. Комплексное соединение аскорбиновой кислоты с антигипоксантами и антиоксидантными свойствами. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2013. Т. 12. № 1. С. 27–32.
440. Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: в физиологии, патологии и естественном старении. // Труды ИСА РАН. 2006. Т. 19. С. 50–52.
441. Новиков В.Е., Пономарева Н.С., Яснецов В.В., Кулагин К.Н. Фармакотерапия отека головного мозга: современное состояние проблемы. // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2021. Т. 20, №3, С.25–41.
442. Силачев Д.Н. Изучение новых нейропротекторов на модели фокальной ишемии головного мозга. // Диссертация, место защиты: Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. Москва, 2009. С. 22.

443. Павлов В.Н., Рахматуллина И.Р., Фархутдинов Р.Р., Пушкарев В.А., Данилко К.В., Галимова Э.Ф., Баймурзина Ю.Л., Петрова И.В., Мочалов К.С. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы. // Креативная хирургия и онкология. 2017. С. 54–55.
444. Glasauer A., Chandel N.S. Targeting antioxidants for cancer therapy. // *Biochem Pharmacol.* 2014. С. 32–33.
445. Lukyanova L.D., Sukoyan G.V., Kirova Y.I. Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1 α accumulation. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013. Т.154. № 5. С. 597–601.
446. Efremov R.G., Baradaran R., Sazanov L.A. The architecture of respiratory complex I. // *Nature.* – 2010. – V. 465. № 7297. – P. 441–445. – doi:10.1038/nature09066.
447. Rochaix J.D. Regulation of photosynthetic electron transport. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V.1807(3). P. 375–83. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.11.010.
448. Grivennikova V.G., Kotlyar A.B., Karliner J.S., Cecchini G., Vinogradov A.D. Redox-dependent change of nucleotide affinity to the active site of the mammalian complex I. // *Biochemistry.* 2007. С. 38–46.
449. Побежимова Т.П., Колесниченко А.В., Грабельных О.И. Методы изучения митохондрий растений. // *Полярнография и электрофорез.* 2004. С. 98.
450. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by achemi-osmotic type of mechanism. // *Nature.* 1961. V. 191. P. 144–148.
451. Stuart J.A., Cadenas S., Jakabsons M.B., Roussel D., Brand M.D. Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. V. 1504. № 1. P. 144–158.
452. Rolfe D.F., Newman J.M., Buckingham J.A., Clark M.G., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. // *Am. J. Phys.* 1999. V. 276. P. C692–C699.
453. Nobes C.D., Brown G.C., Olive P.N., Brand M.D. Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 12903–12909.
454. Rolfe D.F., Brand M.D. Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. // *Am. J. Phys.* 1996. V. 271. P. C1380–C1389.
455. Hamanaka R.B., Chandel N.S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. // *Trends Biochem. Sci.* 2010. V. 35. P. 505–513.
456. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochem. J.* 2009. V. 417. P. 1–13.

457. *Liu S.S.* Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. // *Biosci. Rep.* 1997. V.17. № 3. P. 259–272.
458. *Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A.* High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. // *FEBS Lett.* 1997. V. 416. P. 15–18.
459. *Boveris A., Chance B.* The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. // *Biochem. J.* 1973. V.134. P. 707–716.
460. *Skulachev V.P.* Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. // *Q. Rev. Biophys.* 1996. V. 29. P.169–202.
461. *Papa S., Skulachev V.P.* Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. // *Mol. Cell. Biochem.* 1997. V. 174. P. 305–319.
462. *Brand M.D.* Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. // *Exp. Gerontol.* 2000. V. 35. P. 811–820.
463. *Brookes P.S.* Mitochondrial H(+) leak and ROS generation: an odd couple. // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. V. 38. P. 12–23.
464. *Nicholls D.G.* A history of UCP1. // *Biochem. Soc. Trans.* 2001. V. 29. P. 751–755.
465. *Nedergaard J., Cannon B.* The ‘novel’ ‘uncoupling’ proteins UCP2 and UCP3: what do they really do? Pros and cons for suggested functions. // *Exp. Physiol.* 2003. V. 88. P. 65–84.
466. *Nedergaard J., Ricquier D., Kozak L.P.* Uncoupling proteins: current status and therapeutic prospects. // *EMBO Rep.* 2005. V. 6. P. 917–921.
467. *Echtay K.S.* Mitochondrial uncoupling proteins—what is their physiological role? // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 43. P. 1351–1371.
468. *Fleury C., Neverova M., Collins S., Raimbault S., Champigny O., Levi-Meyrueis C., Bouillaud F., Seldin M.F., Surwit R.S., Ricquier D., Warden C.H.* Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. // *Nat. Genet.* 1997. V. 15. P. 269–272.
469. *Pecqueur C., Alves-Guerra M.C., Gelly C., Levi-Meyrueis C., Couplan E., Collins S., Ricquier D., Bouillaud F., Miroux B.* Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 8705–8712.
470. *Azzu V., Affourtit C., Breen E.P., Parker N., Brand M.D.* Dynamic regulation of uncoupling protein 2 content in INS-1E insulinoma cells. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 1777. P. 1378–1383.
471. *Boss O., Samec S., Paoloni-Giacobino A., Rossier C., Dulloo A., Seydoux J., Muzzin P., Giacobino J.P.* Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. // *FEBS Lett.* 1997. V. 408. P. 39–42.

472. Vidal-Puig A., Solanes G., Grujic D., Flier J.S., Lowell B.B. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997. V. 235. P. 79–82.
473. Aguirre E., Cadenas S. GDP and carboxyatractylate inhibit 4-hydroxynon-enal-activated proton conductance to differing degrees in mitochondria from skeletal muscle and heart. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P.1716–1726.
474. Zackova M., Jezek P. Reconstitution of novel mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. // *Biosci. Rep.* 2002. V. 22. P. 33–46.
475. Echtay K.S., Winkler E., Frischmuth K., Klingenberg M. Uncoupling proteins 2 and 3 are highly active H(+) transporters and highly nucleotide sensitive when activated by coenzyme Q (ubiquinone). // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001. V. 98. P. 1416–1421.
476. Brand M.D., Parker N., Affourtit C., Mookerjee S.A., Azzu V. Mitochondrial uncoupling protein 2 in pancreatic beta-cells. // *Diabetes Obes. Metab.* 2010. V. 12 (Suppl 2). P. 134–140.
477. Robson-Doucette C.A., Sultan S., Allister E.M., Wikstrom J.D., Koshkin V., Bhattacharjee A., Prentice K.J., Sereda S.B., Shirihai O.S., Wheeler M.B. Beta-cell uncoupling protein 2 regulates reactive oxygen species production, which influences both insulin and glucagon secretion. // *Diabetes.* 2011. V. 60. P. 2710–2719.
478. Zhang C.Y., Baffy G., Perret P., Krauss S., Peroni O., Grujic D., Hagen T., Vidal Puig A.J., Boss O., Kim Y.B., Zheng X.X., Wheeler M.B., Shulman G.I., Chan C.B., Lowell B.B. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. // *Cell.* 2001. V.105. P. 745–755.
479. Bouillaud F. UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V.1787. P. 377–383.
480. Newell M.K., Villalobos-Menuet E., Schweitzer S.C., Harper M.E., Camley R.E. Cellular metabolism as a basis for immune privilege. // *J. Immune Based TherVaccines.* 2006. V. 4. P. 1.
481. Harper M.E., Antoniou A., Villalobos-Menuet E., Russo A., Trauger R., Vendemio M., George A., Bartholomew R., Carlo D., Shaikh A., Kupperman J., Newell E.W., Bepalov I.A., Wallace S.S., Liu Y., Rogers J.R., Gibbs G.L., Leahy J.L., Camley R.E., Melamed R., Newell M.K. Characterization of a novel metabolic strategy used by drug-resistant tumor cells. // *FASEB J.* 2002. V.16. P. 1550–1557.
482. Voza A., Parisi G., De Leonardis F., Lasorsa F.M., Castegna A., Amorese D., Marmo R., Calcagnile V.M., Palmieri L., Ricquier D., Paradies E., Scarcia P., Palmieri F., Bouillaud F., Fiermonte G. UCP2 transports C4 metabolites out of mitochondria, regulating glucose and glutamine oxidation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014. V.111. P. 960–965.

-
483. Pecqueur C., Bui T., Gelly C., Hauchard J., Barbot C., Bouillaud F., Ricquier D., Miroux B., Thompson C.B. Uncoupling protein-2 controls proliferation by promoting fatty acid oxidation and limiting glycolysis-derived pyruvate utilization. // *FASEB J.* 2008. V. 22. P. 9–18.
484. Bezaire V., Sprriet L.L., Campbell S., Sabet N., Gerrits M., Bonen A., Harper M.E. Constitutive UCP3 overexpression at physiological levels increases mouse skeletal muscle capacity for fatty acid transport and oxidation. // *FASEB J.* 2005. V.19. P. 977–979.
485. Seifert E.L., Bezaire V., Estey C., Harper M.E. Essential role for uncoupling protein-3 in mitochondrial adaptation to fasting but not in fatty acid oxidation or fatty acid anion export. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 25124–25131.
486. Himms-Hagen J., Harper M.E. Physiological role of UCP3 may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis. // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2001. V. 226. P. 78–84.
487. Schrauwen P., Hoeks J., Hesselink M.K. Putative function and physiological relevance of the mitochondrial uncoupling protein-3: involvement in fatty acid metabolism? // *Prog. Lipid Res.* 2006. V. 45. P. 17–41.
488. Mailloux R.J., Harper M.E. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 51. P. 1106–1115.
489. Azzu V., Jastroch M., Divakaruni A.S., Brand M.D. The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P. 785–791.
490. Mailloux R.J., Seifert E.L., Bouillaud F., Aguer C., Collins S., Harper M.E. Glutathionylation acts as a control switch for uncoupling proteins UCP2 and UCP3. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. P. 21865–21875.
491. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. // *Bioenergetics.* 2018. V.1859. P. 940–950.
492. Chance B., Williams G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. III. The steady state. // *J. Biol. Chem.* 1955. V. 217. P. 409–427.
493. Nicholls D.G. The influence of respiration and ATP hydrolysis on the proton-electrochemical gradient across the inner membrane of rat-liver mitochondria as determined by ion distribution. // *Eur. J. Biochem.* 1974. V. 50. P. 305–315.
494. Divakaruni A.S., Brand M.D. The regulation and physiology of mitochondrial proton leak. // *Physiology.* 2011. V. 26. P. 192–205.
495. Starkov A.A., Fiskum G. Regulation of brain mitochondrial H₂O₂ production by membrane potential and NAD(P)H redox state. // *J. Neurochem.* 2003. V. 86. P. 1101–1107.
496. Votyakova T.V., Reynolds I.J. DeltaPsi(m)-dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. // *J. Neurochem.* 2001. V. 79. P. 266–277.

497. Lambert A.J., Brand M.D. Superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. // *Biochem. J.* 2004. V. 382. P. 511–517.
498. Turrens J.F., Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. // *Biochem. J.* 1980. V. 191. P. 421–427.
499. Liu Y., Fiskum G., Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. // *J. Neurochem.* 2002. V. 80. P. 780–787.
500. Kushnareva Y., Murphy A.N., Andreyev A. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state. // *Biochem. J.* 2002. V. 368. P. 545–553.
501. Hansford R.G., Hogue B.A., Mildaziene V. Dependence of H₂O₂ formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 1997. V. 29. P. 89–95.
502. Tahara E.B., Navarete F.D., Kowaltowski A.J. Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. // *Free Radic. Biol. Med.* 2009. V. 46. P. 1283–1297.
503. Han D., Canali R., Rettori D., Kaplowitz N. Effect of glutathione depletion on sites and topology of superoxide and hydrogen peroxide production in mitochondria. // *Mol. Pharmacol.* 2003. V. 64. P. 1136–1144.
504. Toime L.J., Brand M.D. Uncoupling protein-3 lowers reactive oxygen species production in isolated mitochondria. // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 49. P. 606–611.
505. MacLellan J.D., Gerrits M.F., Gowing A., Smith P.J., Wheeler M.B., Harper M.E. Physiological increases in uncoupling protein 3 augment fatty acid oxidation and decrease reactive oxygen species production without uncoupling respiration in muscle cells. // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 2343–2350.
506. Longo V.D., Liou L.L., Valentine J.S., Gralla E.B. Mitochondrial superoxide decreases yeast survival in stationary phase. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1999. V. 365. P. 131–142.
507. Miwa S., Brand M.D. Mitochondrial matrix reactive oxygen species production is very sensitive to mild uncoupling. // *Biochem. Soc. Trans.* 2003. V. 31. P. 1300–1301.
508. Tretter L., Adam-Vizi V. Uncoupling is without an effect on the production of reactive oxygen species by in situ synaptic mitochondria. // *J. Neurochem.* 2007. V.103. P. 1864–1871.
509. Brennan J.P., Southworth R., Medina R.A., Davidson S.M., Duchon M.R., Shattock M.J. Mitochondrial uncoupling, with low concentration FCCP, induces ROS-dependent cardioprotection independent of KATP channel activation. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 313–321.
510. Mailloux R.J., Harper M.E. Mitochondrial proticity and ROS signaling: lessons from the uncoupling proteins. // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 451–458.

511. *Negre-Salvayre A., Hirtz C., Carrera G., Cazenave R., Trolly M., Salvayre R., Penicaud L., Casteilla L.* A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. // *FASEB J.* 1997. V.11. P. 809–815.
512. *Teshima Y., Akao M., Jones S.P., Marban E.* Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. // *Circ. Res.* 2003. V. 93. P. 192–200.
513. *Lee K.U., Lee I.K., Han J., Song D.K., Kim Y.M., Song H.S., Kim H.S., Lee W.J., Koh E.H., Song K.H., Han S.M., Kim M.S., Park I.S., Park J.Y.* Effects of recombinant adenovirus-mediated uncoupling protein 2 overexpression on endothelial function and apoptosis. // *Circ. Res.* 2005. V. 96. P. 1200–1207.
514. *Pi J., Bai Y., Daniel K.W., Liu D., Lyght O., Edelstein D., Brownlee M., Corkey B.E., Collins S.* Persistent oxidative stress due to absence of uncoupling protein 2 associated with impaired pancreatic beta-cell function. // *Endocrinology.* 2009. V. 150. P. 3040–3048.
515. *Arsenijevic D., Onuma H., Pecqueur C., Raimbault S., Manning B.S., Miroux B., Couplan E., Alves-Guerra M.C., Gubern M., Surwit R., Bouillaud F., Richard D., Collins S., Ricquier D.* Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. // *Nat. Genet.* 2000. V. 26. P. 435–439.
516. *Vidal-Puig A.J., Grujic D., Zhang C.Y., Hagen T., Boss O., Ido Y., Szczepanik A., Wade J., Mootha V., Cortright R., Muoio D.M., Lowell B.B.* Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 16258–16266.
517. *Brand M.D., Pamplona R., Portero-Otin M., Requena J.R., Roebuck S.J., Buckingham J.A., Clapham J.C., Cadenas S.* Oxidative damage and phospholipid fatty acyl composition in skeletal muscle mitochondria from mice underexpressing or overexpressing uncoupling protein 3. // *Biochem. J.* 2002. V. 368. P. 597–603.
518. *Ozcan C., Palmeri M., Horvath T.L., Russell K.S., Russell R.R.* 3rd Role of uncoupling protein 3 in ischemia-reperfusion injury, arrhythmias, and preconditioning. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. V. 304. P. H1192–H1200.
519. *Dlaskova A., Clarke K.J., Porter R.K.* The role of UCP 1 in production of reactive oxygen species by mitochondria isolated from brown adipose tissue. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1797. P. 1470–1476.
520. *Oelkrug R., Kutschke M., Meyer C.W., Heldmaier G., Jastroch M.* Uncoupling protein 1 decreases superoxide production in brown adipose tissue mitochondria. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 21961–21968.
521. *Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Colombo R., Milzani A.* S-glutathionylation in protein redox regulation. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 43. P. 883–898.

522. Hurd T.R., Costa N.J., Dahm C.C., Beer S.M., Brown S.E., Filipovska A., Murphy M.P. Glutathionylation of mitochondrial proteins. // *Antioxid. Redox Signal.* 2005. V. 7. P. 999–1010.
523. Hirasaka K., Lago C.U., Kenaston M.A., Fathe K., Nowinski S.M., Nikawa T., Mills E.M. Identification of a redox-modulatory interaction between uncoupling protein 3 and thioredoxin 2 in the mitochondrial intermembrane space. // *Antioxid. Redox Signal.* 2011. V. 15. P. 2645–2661.
524. Green K., Brand M.D., Murphy M.P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. // *Diabetes.* 2004. V. 53 (Suppl 1). P. S110–S118.
525. Nishikawa T., Edelstein D., Du X.L., Yamagishi S., Matsumura T., Kaneda Y., Yorek M.A., Beebe D., Oates P.J., Hammes H.P., Giardino I., Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. // *Nature.* 2000. V. 404. P. 787–790.
526. Ganote C.E., Armstrong S.C. Effects of CCCP-induced mitochondrial uncoupling and cyclosporin A on cell volume, cell injury and preconditioning protection of isolated rabbit cardiomyocytes. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 749–759.
527. Bienengraeber M., Ozcan C., Terzic A. Stable transfection of UCP1 confers resistance to hypoxia/reoxygenation in a heart-derived cell line. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2003. V. 35. P. 861–865.
528. Hoerter J., Gonzalez-Barroso M.D., Couplan E., Mateo P., Gelly C., Cassard-Doulier A.M., Diolez P., Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling protein 1 expressed in the heart of transgenic mice protects against ischemic-reperfusion damage. // *Circulation.* 2004. V. 110. P. 528–533.
529. Speakman J.R., Talbot D.A., Selman C., Snart S., McLaren J.S., Redman P., Krol E., Jackson D.M., Johnson M.S., Brand M.D. Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. // *Aging Cell.* 2004. V. 3. P. 87–95.
530. Brennan J.P., Berry R.G., Baghai M., Duchon M.R., Shattock M.J. FCCP is cardioprotective at concentrations that cause mitochondrial oxidation without detectable depolarization. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 322–330.
531. Minners J., van den Bos E.J., Yellon D.M., Schwalb H., Opie L.H., Sack M.N. Dinitrophenol, cyclosporin A, and trimetazidine modulate preconditioning in the isolated rat heart: support for a mitochondrial role in cardioprotection. // *Cardiovasc. Res.* 2000. V. 47. P. 68–73.
532. Modriansky M., Gabrielova E. Uncouple my heart: the benefits of inefficiency. // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2009. V. 41. P. 133–136.
533. Johnson-Cadwell L.I., Jekabsons M.B., Wang A., Polster B.M., Nicholls D.G. ‘Mild uncoupling’ does not decrease mitochondrial superoxide levels in cultured cerebellar granule neurons but decreases spare respiratory capacity and increases toxicity to glutamate and oxidative stress. // *J. Neurochem.* 2007. V. 101. P. 1619–1631.

534. *Echtay K.S., Roussel D., St-Pierre J., Jekabsons M.B., Cadenas S., Stuart J.A., Harper J.A., Roebuck S.J., Morrison A., Pickering S., Clapham J.C., Brand M.D.* Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. // *Nature*. 2002. V. 415. P. 96–99.
535. *Echtay K.S., Esteves T.C., Pakay J.L., Jekabsons M.B., Lambert A.J., Portero-Otin M., Pamplona R., Vidal-Puig A.J., Wang S., Roebuck S.J., Brand M.D.* A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. // *EMBO J*. 2003. V. 22. P. 4103–4110.
536. *Shabalina I.G., Petrovic N., Kramarova T.V., Hoeks J., Cannon B., Nedergaard J.* UCP1 and defense against oxidative stress. 4-Hydroxy-2-nonenal effects on brown fat mitochondria are uncoupling protein 1-independent. // *J. Biol. Chem*. 2006. V. 281. P. 13882–13893.
537. *Orava J., Nuutila P., Lidell M.E., Oikonen V., Noponen T., Viljanen T., Scheinin M., Taittonen M., Niemi T., Enerback S., Virtanen K.A.* Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. // *Cell Metab*. 2011. V. 14. P. 272–279.
538. *Bartelt A., Bruns O.T., Reimer R., Hohenberg H., Itrich H., Peldschus K., Kaul M.G., Tromsdorf U.I., Weller H., Waurisch C., Eychmuller A., Gordts P.L., Rinninger F., Bruegelmann K., Freund B., Nielsen P., Merkel M., Heeren J.* Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. // *Nat. Med*. 2011. V. 17. P. 200–205.
539. *Ouellet V., Labbe S.M., Blondin D.P., Phoenix S., Guerin B., Haman F., Turcotte E.E., Richard D., Carpentier A.C.* Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. // *J. Clin. Invest*. 2012. V. 122. P. 545–552.
540. *Inokuma K., Ogura-Okamatsu Y., Toda C., Kimura K., Yamashita H., Saito M.* Uncoupling protein 1 is necessary for norepinephrine-induced glucose utilization in brown adipose tissue. // *Diabetes*. 2005. V. 54. P. 1385–1391.
541. *Stanford K.I., Middelbeek R.J., Townsend K.L., An D., Nygaard E.B., Hitchcox K.M., Markan K.R., Nakano K., Hirshman M.F., Tseng Y.H., Goodyear L.J.* Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. // *J. Clin. Invest*. 2013. V. 123. P. 215–223.
542. *Chondronikola M., Volpi E., Borsheim E., Porter C., Annamalai P., Enerback S., Lidell M.E., Saraf M.K., Labbe S.M., Hurren N.M., Yfanti C., Chao T., Andersen C.R., Cesani F., Hawkins H., Sidossis L.S.* Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans. // *Diabetes*. 2014. V. 63. P. 4089–4099.
543. *Fitzgibbons T.P., Czech M.P.* Epicardial and perivascular adipose tissues and their influence on cardiovascular disease: basic mechanisms and clinical associations. // *J. Am. Heart Assoc*. 2014. V. 3. P. e000582.
544. *Chang L., Milton H., Eitzman D.T., Chen Y.E.* Paradoxical roles of perivascular adipose tissue in atherosclerosis and hypertension. // *Circ. J*. 2013. V. 77. P. 11–18.

545. *Soonpaa M.H., Field L.J.* Assessment of cardiomyocyte DNA synthesis during hypertrophy in adult mice. // *Am. J. Phys.* 1994. V. 266. P. H1439–H1445.
546. *Thoonen R., Ernande L., Cheng J., Nagasaka Y., Yao V., Miranda-Bezerra A., Chen C., Chao W., Panagia M., Sosnovik D.E., Puppala D., Armoundas A.A., Hindle A., Bloch K.D., Buys E.S., Scherrer-Crosbie M.* Functional brown adipose tissue limits cardiomyocyte injury and adverse remodeling in catecholamine-induced cardiomyopathy. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 84. P. 202–211.
547. *Lowell B.B., S-Susulic V., Hamann A., Lawitts J.A., Himms-Hagen J., Boyer B.B., Kozak L.P., Flier J.S.* Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. // *Nature.* 1993. V. 366. P. 740–742.
548. *Feldmann H.M., Golozoubova V., Cannon B., Nedergaard J.* UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. // *Cell Metab.* 2009. V. 9. P. 203–209.
549. *Cypess A.M., Lehman S., Williams G., Tal I., Rodman D., Goldfine A.B., Kuo F.C., Palmer E.L., Tseng Y.H., Doria A., Kolodny G.M., Kahn C.R.* Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 360. P. 1509–1517.
550. *Virtanen K.A., Lidell M.E., Orava J., Heglind M., Westergren R., Niemi T., Taittonen M., Laine J., Savisto N.J., Enerback S., Nuutila P.* Functional brown adipose tissue in healthy adults. // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 360. P. 1518–1525.
551. *Villarroya F., Peyrou M., Giralt M.* Transcriptional regulation of the uncoupling protein-1 gene. // *Biochimie.* 2017. V. 134. P. 86–92.
552. *Jia J.J., Tian Y.B., Cao Z.H., Tao L.L., Zhang X., Gao S.Z., Ge C.R., Lin Q.Y., Jois M.* The polymorphisms of UCP1 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. // *Mol. Biol. Rep.* 2010. V. 37. P. 1513–1522.
553. *Zheng G., Lyu J., Liu S., Huang J., Liu C., Xiang D., Xie M., Zeng Q.* Silencing of uncoupling protein 2 by small interfering RNA aggravates mitochondrial dys-function in cardiomyocytes under septic conditions. // *Int. J. Mol. Med.* 2015. V. 35. P. 1525–1536.
554. *Krauss S., Zhang C.Y., Scorrano L., Dalgaard L.T., St-Pierre J., Grey S.T., Lowell B.B.* Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. // *J. Clin. Invest.* 2003. V.112. P. 1831–1842.
555. *Chan C.B., De Leo D., Joseph J.W., McQuaid T.S., Ha X.F., Xu F., Tsushima R.G., Pennefather P.S., Salapatek A.M., Wheeler M.B.* Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. // *Diabetes.* 2001. V. 50. P. 1302–1310.
556. *Joseph J.W., Koshkin V., Zhang C.Y., Wang J., Lowell B.B., Chan C.B., Wheeler M.B.* Uncoupling protein 2 knockout mice have enhanced insulin secretory capacity after a high-fat diet. // *Diabetes.* 2002. V. 51. P. 3211–3219.

557. Joseph J.W., Koshkin V., Saleh M.C., Sivitz W.I., Zhang C.Y., Lowell B.B., Chan C.B., Wheeler M.B. Free fatty acid-induced beta-cell defects are dependent on uncoupling protein 2 expression. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 51049–51056.
558. Affourtit C., Brand M.D. Uncoupling protein-2 contributes significantly to high mitochondrial proton leak in INS-1E insulinoma cells and attenuates glucose-stimulated insulin secretion. // *Biochem. J.* 2008. V. 409. P. 199–204.
559. Affourtit C., Jastroch M., Brand M.D. Uncoupling protein-2 attenuates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E insulinomacells by lowering mitochondrial reactive oxygen species. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 50. P. 609–616.
560. Leloup C., Tourrel-Cuzin C., Magnan C., Karaca M., Castel J., Carneiro L., Colombani A.L., Ktorza A., Casteilla L., Penicaud L. Mitochondrial reactive oxygen species are obligatory signals for glucose-induced insulin secretion. // *Diabetes.* 2009. V. 58. P. 673–681.
561. Bordone L., Motta M.C., Picard F., Robinson A., Jhala U.S., Apfeld J., McDonagh T., Lemieux M., McBurney M., Szilvasi A., Easlon E.J., Lin S.J., Guarente L. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. // *PLoS Biol.* 2006. V. 4. P. e31.
562. Rudofsky G. Jr., Schroedter A., Schlotterer A., Voron'ko O.E., Schlimme M., Tafel J., Isermann B.H., Humpert P.M., Morcos M., Bierhaus A., Nawroth P.P., Hamann A. Functional polymorphisms of UCP2 and UCP3 are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes. // *Diabetes Care.* 2006. V. 29. P. 89–94.
563. Fisler J.S., Warden C.H. Uncoupling proteins, dietary fat and the metabolic syndrome. // *Nutr. Metab. (Lond.).* 2006. V. 3. P. 38.
564. Blanc J., Alves-Guerra M.C., Esposito B., Rousset S., Gourdy P., Ricquier D., Tedgui A., Miroux B., Mallat Z. Protective role of uncoupling protein 2 in atherosclerosis. // *Circulation.* 2003. V.107. P. 388–390.
565. Moukdar F., Robidoux J., Lyght O., Pi J., Daniel K.W., Collins S. Reduced anti-oxidant capacity and diet-induced atherosclerosis in uncoupling protein-2-deficient mice. // *J. Lipid Res.* 2009. V. 50. P. 59–70.
566. Park D., Han C.Z., Elliott M.R., Kinchen J.M., Trampont P.C., Das S., Collins S., Lysiak J.J., Hoehn K.L., Ravichandran K.S. Continued clearance of apoptotic cells critically depends on the phagocyte Ucp2 protein. // *Nature.* 2011. V. 477. P. 220–224.
567. Tian X.Y., Wong W.T., Xu A., Lu Y., Zhang Y., Wang L., Cheang W.S., Wang Y., Yao X., Huang Y. Uncoupling protein-2 protects endothelial function in diet-induced obese mice. // *Circ. Res.* 2012. V. 110. P. 1211–1216.
568. Deierborg T., Wieloch T., Diano S., Warden C.H., Horvath T.L., Mattiasson G. Overexpression of UCP2 protects thalamic neurons following global ischemia in the mouse. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2008. V. 28. P. 1186–1195.

569. Mehta S.L., Li P.A. Neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein 2 in cerebral stroke. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2009. V. 29. P. 1069–1078.
570. Safari F., Anvari Z., Moshtaghioun S., Javan M., Bayat G., Forosh S.S., Hekmatimoghaddam S. Differential expression of cardiac uncoupling proteins 2 and 3 in response to myocardial ischemia-reperfusion in rats. // *Life Sci.* 2014. V. 98. P. 68–74.
571. Schrauwen P. Skeletal muscle uncoupling protein 3 (UCP3): mitochondrial uncoupling protein in search of a function. // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2002. V. 5. P. 265–270.
572. Stavinoha M.A., RaySpellicy J.W., Essop M.F., Graveleau C., Abel E.D., Hart-Sailors M.L., Mersmann H.J., Bray M.S., Young M.E. Evidence for mitochondrial thioesterase 1 as a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-regulated gene in cardiac and skeletal muscle. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004. V. 287. P. E888–E895.
573. Young M.E., Patil S., Ying J., Depre C., Ahuja H.S., Shipley G.L., Stepkowski S.M., Davies P.J., Taegtmeier H. Uncoupling protein 3 transcription is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor (alpha) in the adult rodent heart. // *FASEB J.* 2001. V. 15. P. 833–845.
574. Murray A.J., Panagia M., Hauton D., Gibbons G.F., Clarke K. Plasma free fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor alpha in the control of myocardial uncoupling protein levels. // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 3496–3502.
575. Giralt M., Villarroya F. Mitochondrial uncoupling and the regulation of glucose homeostasis. // *Curr. Diabetes Rev.* 2017. V.13. P. 386–394.
576. Jia J.J., Zhang X., Ge C.R., Jois M. The polymorphisms of UCP2 and UCP3 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. // *Obes. Rev.* 2009. V. 10. P. 519–526.
577. Musa C.V., Mancini A., Alfieri A., Labruna G., Valerio G., Franzese A., Pasanisi F., Licenziati M.R., Sacchetti L., Buono P. Four novel UCP 3 gene variants associated with childhood obesity: effect on fatty acid oxidation and on prevention of tri-glyceride storage. // *Int. J. Obes.* 2012. V. 36. P. 207–217.
578. Krook A., Digby J., O'Rahilly S., Zierath J.R., Wallberg-Henriksson H. Uncoupling protein 3 is reduced in skeletal muscle of NIDDM patients. // *Diabetes.* 1998. V. 47. P. 1528–1531.
579. Schrauwen P., Hesselink M.K., Blaak E.E., Borghouts L.B., Schaart G., Saris W.H., Keizer H.A. Uncoupling protein 3 content is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. // *Diabetes.* 2001. V. 50. P. 2870–2873.
580. Schrauwen P., Mensink M., Schaart G., Moonen-Kornips E., Sels J.P., Blaak E.E., Russell A.P., Hesselink M.K. Reduced skeletal muscle uncoupling protein-3 content in prediabetic subjects and type 2 diabetic patients: restoration by rosiglita-zone treatment. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006. V. 91. P. 1520–1525.

581. *Garcia-Martinez C., Sibille B., Solanes G., Darimont C., Mace K., Villarroya F., Gomez-Foix A.M.* Overexpression of UCP3 in cultured human muscle lowers mitochondrial membrane potential, raises ATP/ADP ratio, and favors fatty acid vs. glucose oxidation. // *FASEB J.* 2001. V.15. P. 2033–2035.
582. *Boudina S., Sena S., O'Neill B.T., Tathireddy P., Young M.E., Abel E.D.* Reduced mitochondrial oxidative capacity and increased mitochondrial uncoupling impair myocardial energetics in obesity. // *Circulation.* 2005. V.112. P. 2686–2695.
583. *Peterson L.R., Herrero P., Schechtman K.B., Racette S.B., Waggoner A.D., Kisrieva-Ware Z., Dence C., Klein S., Marsala J., Meyer T., Gropler R.J.* Effect of obesity and insulin resistance on myocardial substrate metabolism and efficiency in young women. // *Circulation.* 2004. V.109. P. 2191–2196.
584. *Scheuermann-Freestone M., Madsen P.L., Manners D., Blamire A.M., Buckingham R.E., Styles P., Radda G.K., Neubauer S., Clarke K.* Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. // *Circulation.* 2003. V. 107. P. 3040–3046.
585. *Anedda A., Lopez-Bernardo E., Acosta-Iborra B., Saadeh Suleiman M., Landazuri M.O., Cadenas S.* The transcription factor Nrf2 promotes survival by enhancing the expression of uncoupling protein 3 under conditions of oxidative stress. // *Free Radic. Biol. Med.* 2013. V. 61. P. 395–407.
586. *Lopez-Bernardo E., Anedda A., Sanchez-Perez P., Acosta-Iborra B., Cadenas S.* 4-Hydroxynonenal induces Nrf2-mediated UCP3 upregulation in mouse cardio-myocytes. // *Free Radic. Biol. Med.* 2015. V. 88. P. 427–438.
587. *Safari F., Anvari Z., Moshtaghion S., Javan M., Bayat G., Forosh S.S., Hekmatimoghaddam S.* Differential expression of cardiac uncoupling proteins 2 and 3 in response to myocardial ischemia-reperfusion in rats. // *Life Sci.* 2014. V. 98. P. 68–74.
588. *Eltzschig H.K., Eckle T.* Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. // *Nat. Med.* 2011. V. 17. P. 1391–1401.
589. *Hausenloy D.J., Yellon D.M.* Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. // *J. Clin. Invest.* 2013. V. 123. P. 92–100.
590. *Cadenas S.* ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. V. 117. P. 76–89.
591. *Zweier J.L., Flaherty J.T., Weisfeldt M.L.* Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1987. V. 84. P. 1404–1407.
592. *Chouchani E.T., Pell V.R., Gaude E., Aksentijevic D., Sundier S.Y., Robb E.L., Logan A., Nadtochiy S.M., Ord E.N.J., Smith A.C., Eyassu F., Shirley R., Hu C.H., Dare A.J., James A.M., Rogatti S., Hartley R.C., Eaton S., Costa A.S.H., Brookes P.S., Davidson S.M., Duchon M.R., Saeb-Parsy K., Shattock M.J., Robinson A.J., Work L.M., Frezza C., Krieg T., Murphy M.P.* Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. // *Nature.* 2014. V. 515. P. 431–435.

593. Chouchani E.T., Pell V.R., James A.M., Work L.M., Saeb-Parsy K., Frezza C., Krieg T., Murphy M.P. A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury. // *Cell Metab.* 2016. V. 23. P. 254–263.
594. Perrino C., Schiattarella G.G., Sannino A., Pironti G., Petretta M.P., Cannavo A., Gargiulo G., Iardi F., Magliulo F., Franzone A., Carotenuto G., Serino F., Altobelli G.G., Cimini V., Cuocolo A., Lombardi A., Goglia F., Indolfi C., Trimarco B., Esposito G. Genetic deletion of uncoupling protein 3 exaggerates apoptotic cell death in the ischemic heart leading to heart failure. // *J. Am. Heart Assoc.* 2013. V. 2. P. e000086.
595. De Bilbao F., Arsenijevic D., Vallet P., Hjelle O.P., Ottersen O.P., Bouras C., Raffin Y., Abou K., Langhans W., Collins S., Plamondon J., Alves-Guerra M.C., Haguenaue A., Garcia I., Richard D., Ricquier D., Giannakopoulos P. Resistance to cerebral ischemic injury in UCP2 knockout mice: evidence for a role of UCP2 as a regulator of mitochondrial glutathione levels. // *J. Neurochem.* 2004. V. 89. P. 1283–1292.
596. Hausenloy D.J., Yellon D.M. Ischaemic conditioning and reperfusion injury. // *Nat. Rev. Cardiol.* 2016. V.13. P. 193–209.
597. Clarke S.J., Khaliulin I., Das M., Parker J.E., Heesom K.J., Halestrap A.P. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening by ischemic preconditioning is probably mediated by reduction of oxidative stress rather than mitochondrial protein phosphorylation. // *Circ. Res.* 2008. V.102. P. 1082–1090.
598. Sack M.N. Mitochondrial depolarization and the role of uncoupling proteins in ischemia tolerance. // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 72. P. 210–219.
599. McLeod C.J., Aziz A., Hoyt R.F. Jr., McCoy J.P. Jr., Sack M.N. Uncoupling proteins 2 and 3 function in concert to augment tolerance to cardiac ischemia. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 33470–33476.
600. Boulanger C.M. Secondary endothelial dysfunction: hypertension and heart failure. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. V. 31. P. 39–49.
601. Kojda G., Harrison D.G. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiologic importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes, and heart failure. // *Cardiovasc. Res.* 1999. V. 43. P. 562–571.
602. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. // *Pharmacol. Rev.* 1991. V.43. P.109–142.
603. Kapelko V.I., Lakomkin V.L., Abramov A.A., Lukoshkova E.V., Undrovinas N.A., Khapchaev A.Y., Shirinsky V.P. Protective effects of dinitrosyl iron complexes under oxidative stress in the heart. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2017. V.2017. P.1–10.
604. Шматко Н.Ю., Корчагин Д.В., Шилов Г.В., Санина Н.А., Алдошин С.М. Молекулярная и кристаллическая структура катионного динитрозильного комплекса железа с 1,3-диметилтиомочевинной. // *Журнал структурной химии.* 2017. Т. 58. № 2. С. 398–400.

605. Whitesides G.M. The “right” size in nanobiotechnology. // Nature biotechnology. – 2003. – V. 21. – № 10. – P. 1161–1165.
606. Nguyen T.K., Selvanayagam R., Ho K.K.K. et al. Co-delivery of nitric oxide and antibiotic using polymeric nanoparticles. // Chemical Science. – 2016. – V. 7. – № 2. – P. 1016–1027.
607. Schreer A., Tinson C., Sherry J. P., Schirmer K. Application of Alamar blue/5-carboxyfluorescein diacetate acetoxymethyl ester as a noninvasive cell viability assay in primary hepatocytes from rainbow trout. // Analytical biochemistry. – 2005. – V. 344. – № 1. – P. 76–85.
608. Johnson D.C., LaCourse W.R. Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection at gold and platinum electrodes. // Analytical Chemistry. – 1990. – V. 62. – № 10. – P. 589A–597A.
609. Moloudi K., Samadian H., Jaymand M., Khodamoradi E., Hoseini-Ghahfarokhi M., Fathi F. Iron oxide/gold nanoparticles-decorated reduced graphene oxide nanohybrid as the thermo-radiotherapy agent. // IET Nanobiotechnol. – 2020. - V. 14. № 5. – P.428–432. doi: 10.1049/iet-nbt.2020.0106.
610. Oleshkevich E., Teixidor F., Rosell A., Viñas C. Merging Icosahedral Boron Clusters and Magnetic Nanoparticles: Aiming toward Multifunctional Nanohybrid Materials. // Inorganic chemistry. – 2018. – V. 57. – № 1. – P. 462–470.
611. Zhang X., Broderick M. Electrochemical NO sensors and their applications in biomedical research. // Biomedical Significance of Nitric Oxide. – 2003.
612. Srinivasan M., Rajabi M., Mousa S. A. Multifunctional Nanomaterials and Their Applications in Drug Delivery and Cancer Therapy. // Nanomaterials. – 2015. – V. 5. – № 4. – P. 1690–1703.
613. Mondal S., Manivasagan P., Bharathiraja S. et al. Magnetic hydroxyapatite: a promising multifunctional platform for nanomedicine application. // International journal of nanomedicine. – 2017. – V. 12. – P. 8389–8410.
614. Hess K.L., Oh E., Tostanoski L.H. et al. Engineering Immunological Tolerance Using Quantum Dots to Tune the Density of Self-Antigen Display. // Advanced functional materials. – 2017. – V. 27. – № 22.
615. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A. et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. // Nano-micro letters. – 2015. – V. 7. – № 3. – P. 219–242.
616. Zhang H., Annich G. M., Miskulin J. et al. Nitric Oxide-Releasing Fumed Silica Particles: Synthesis, Characterization, and Biomedical Application. // Journal of the American Chemical Society. – 2003. – V. 125. – № 17. – P. 5015–5024.
617. Rothrock A.R., Donkers R.L., Schoenfisch M.H. Synthesis of Nitric Oxide-Releasing Gold Nanoparticles. // Journal of the American Chemical Society. – 2005. – V. 127. – № 26. – P. 9362–9363.
618. Stasko N.A., Schoenfisch M.H. Dendrimers as a Scaffold for Nitric Oxide Release. // Journal of the American Chemical Society. – 2006. – V. 128. – № 25. – P. 8265–8271.

619. *Duong H.T.T., Kamarudin Z.M., Erlich R.B.* et al. Intracellular nitric oxide delivery from stable NO-polymeric nanoparticle carriers. // *Chem. Commun.* – 2013. – V. 49. – № 39. – P. 4190–4192.
620. *Seyedbrahimi R., Razavi S., Varshosaz J.* Controlled Delivery of Brain Derived Neurotrophic Factor and Gold-Nanoparticles from Chitosan/TPP Nanoparticles for Tissue Engineering Applications. // *Journal of Cluster Science.* – 2020. – V. 31. – № 1. – P. 99–108.
621. *Mizrahy S., Peer D.* Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. // *Chemical Society reviews.* – 2012. – V. 41. – № 7. – P. 2623–2640.
622. *Heo R., You D.G., Um W.* et al. Dextran sulfate nanoparticles as a theranostic nanomedicine for rheumatoid arthritis. // *Biomaterials.* – 2017. – V. 131. – P. 15–26.
623. *Yang J., Han S., Zheng H.* et al. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. // *Carbohydrate polymers.* – 2015. – V. 123. – P. 53–66.
624. *Gericke M., Schulze P., Heinze T.* Nanoparticles Based on Hydrophobic Polysaccharide Derivatives–Formation Principles, Characterization Techniques, and Biomedical Applications. // *Macromolecular Bioscience.* – 2020. – V. 20. – № 4. – P. 1900415.
625. *Cabrales P., Han G., Nacharaju P.* et al. Reversal of hemoglobin-induced vasoconstriction with sustained release of nitric oxide. // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology.* – 2011. – V. 300. – № 1. – P. H49–56.
626. *Zhang Y., Liu J., Fu Y.* et al. Self-assembly of polyion complex nanocarriers from ammonium glycyrrhizinate and monomethoxy poly (ethylene glycol)-b-poly (γ -amino- ϵ -caprolactone). // *Journal of Materials Chemistry B.* – 2013. – V. 1. – № 11. – P. 1614–1621.
627. *Suma T., Miyata K., Ishii T.* et al. Enhanced stability and gene silencing ability of siRNA-loaded polyion complexes formulated from polyaspartamide derivatives with a repetitive array of amino groups in the side chain. // *Biomaterials.* – 2012. – V. 33. – № 9. – P. 2770–2779.
628. *Zhang L., Liu T., Xiao Y.* et al. Hyaluronic Acid-Chitosan Nanoparticles to Deliver Gd-DTPA for MR Cancer Imaging. // *Nanomaterials (Basel, Switzerland).* – 2015. – V. 5. – № 3. – P. 1379–1396.
629. *Yang Y., Wang S., Wang Y.* et al. Advances in self-assembled chitosan nanomaterials for drug delivery. // *Biotechnology advances.* – 2014. – V. 32. – № 7. – P. 1301–1316.
630. *Kofuji K., Qian C.-J., Nishimura M.* et al. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. // *European Polymer Journal.* – 2005. – V. 41. – № 11. – P. 2784–2791.
631. *Sorlier P., Denuzière A., Viton C., Domard A.* Relation between the Degree of Acetylation and the Electrostatic Properties of Chitin and Chitosan. // *Biomacromolecules.* – 2001. – V. 2. – № 3. – P. 765–772.

632. *Thanou M., Verhoef J.C., Junginger H.E.* Oral drug absorption enhancement by chitosan and its derivatives. // *Advanced drug delivery reviews.* – 2001. – V. 52. – № 2. – P. 117–126.
633. *Prego C., Torres D., Fernandez-Megia E.* et al. Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery. Effect of chitosan pegylation degree. // *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society.* – 2006. – V. 111. – № 3. – P. 299–308.
634. *Wedmore I., McManus J. G., Pusateri A. E., Holcomb J. B.* A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. // *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* – 2006. – V. 60. – № 3. – P. 655–658.
635. *Lin Y.-H., Mi F.-L., Chen C.-T.* et al. Preparation and Characterization of Nanoparticles Shelled with Chitosan for Oral Insulin Delivery. // *Biomacromolecules.* – 2007. – V. 8. – № 1. – P. 146–152.
636. *Lim S.T., Martin G.P., Berry D.J., Brown M.B.* Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan. // *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society.* – 2000. – V. 66. – № 2-3. – P. 281–292.
637. *Lim S.T., Forbes B., Berry D.J.* et al. In vivo evaluation of novel hyaluronan/chitosan microparticulate delivery systems for the nasal delivery of gentamicin in rabbits. // *International journal of pharmaceutics.* – 2002. – V. 231. – № 1. – P. 73–82.
638. *Lourenco C., Teixeira M., Simões S., Gaspar R.* Steric stabilization of nanoparticles: Size and surface properties. // *International Journal of Pharmaceutics.* – 1996. – V. 138. – № 1. – P. 1–12.
639. *Brigger I., Dubernet C., Couvreur P.* Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. // *Advanced drug delivery reviews.* – 2012. – V. 64. – P. 24–36.
640. *Choi K.Y., Min K.H., Na J.H.* et al. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential drug carrier for cancer therapy: synthesis, characterization, and in vivo biodistribution. // *J. Mater. Chem.* – 2009. – V. 19. – № 24. – P. 4102–4107.
641. *Yang X.-Y., Li Y.-X., Li M.* et al. Hyaluronic acid-coated nanostructured lipid carriers for targeting paclitaxel to cancer. // *Cancer letters.* – 2013. – V. 334. – № 2. – P. 338–345.
642. *Peer D., Karp J.M., Hong S.* et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. // *Nano-Enabled Medical Applications.* – 2020. – P. 61–91.
643. *Peer D., Margalit R.* Loading mitomycin C inside long circulating hyaluronan targeted nano-liposomes increases its antitumor activity in three mice tumor models. // *International journal of cancer.* – 2004. – V. 108. – № 5. – P. 780–789.
644. *Stern R.* Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. // *Eur. J. Cell Biol.* 2004. V. 83. № 7. P. 317–325.

645. *Holmes M.W. A., Bayliss M.T., Muir H.* Hyaluronic acid in human articular cartilage. Age-related changes in content and size. // *Biochem. J.* 1988. V. 250. P. 435–441.
646. *Xu X., Jha A. K., Harrington D. A.* et al. Hyaluronic acid-based hydrogels: from a natural polysaccharide to complex networks. // *Soft matter.* – 2012. – V. 8. – № 12. – P. 3280–3294.
647. *Almond A.* Hyaluronan. // *Cellular and Molecular Life Sciences.* – 2007. – V. 64. – № 13. – P. 1591–1596.
648. *Entwistle J., Hall C.L., Turley E.A.* HA receptors: regulators of signalling to the cytoskeleton. // *Journal of cellular biochemistry.* – 1996. – V. 61. – № 4. – P. 569–577.
649. *Yang L., Gao S., Asghar S.* et al. Hyaluronic acid/chitosan nanoparticles for delivery of curcuminoid and its in vitro evaluation in glioma cells. // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2015. – V. 72. – P. 1391–1401.
650. *Mitchell P.* Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by achemi-osmotic type of mechanism. // *Nature.* 1961. V. 191. P. 144–148.
651. *Stuart J.A., Cadenas S., Jekabsons M.B., Roussel D., Brand M.D.* Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. V. 1504. № 1. P. 144–158.
652. *Rolfe D.F., Newman J.M., Buckingham J.A., Clark M.G., Brand M.D.* Contribution of mitochondrial proton leak to respiration rate in working skeletal muscle and liver and to SMR. // *Am. J. Phys.* 1999. V. 276. P. C692–C699.
653. *Nobes C.D., Brown G.C., Olive P.N., Brand M.D.* Non-ohmic proton conductance of the mitochondrial inner membrane in hepatocytes. // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 12903–12909.
654. *Rolfe D.F., Brand M.D.* Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. // *Am. J. Phys.* 1996. V. 271. P. C1380–C1389.
655. *Hamanaka R.B., Chandel N.S.* Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. // *Trends Biochem. Sci.* 2010. V. 35. P. 505–513.
656. *Murphy M.P.* How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochem. J.* 2009. V. 417. P. 1–13.
657. *Liu S.S.* Generating, partitioning, targeting and functioning of superoxide in mitochondria. // *Biosci. Rep.* 1997. V. 17. № 3. P. 259–272.
658. *Lu T.-T., Wang Y.-M., Hung Ch.-H., Chiou Sh.-J., Liaw W.-F.* Bioinorganic chemistry of the natural [Fe(NO)₂] motif: evolution of a functional model for NO-related biomedical application and revolutionary development of a translational model. // *Inorg. Chem.* 2018. V. 57(20). P. 12425–12443. doi: 10.1021/acs.inorgchem.8b01818.

659. *Hsiao H.Y., Santos J.H., Chung C.W., Villaflora O.B., Lu T.T.* Fe in biosynthesis, translocation, and signal transduction of NO: toward bioinorganic engineering of dinitrosyl iron complexes into NO-delivery scaffolds for tissue engineering. // *Dalton Trans.* 2019. V. 48. P. 9431–9453.
660. *Lehnert N., Kim E., Dong H.T., Harland J.B., Hunt A.P., Manickas E.C., Oakley K.M., Pham J., Reed G.C., Alfaro V.S.* The biologically relevant coordination chemistry of iron and nitric oxide: electronic structure and reactivity. // *Chem. Rev.* 2021. V. 121. № 24. P. 14682–14905. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00253.
661. *Vanin A.F.* Physico-chemistry of dinitrosyl iron complexes as a determinant of their biological activity. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 19. P. 10356. doi: 10.3390/ijms221910356.
662. *Truzzi D.R., Medeiros N.M., Augusto O., Ford P.C.* Dinitrosyl iron complexes (DNICs). From spontaneous assembly to biological roles. // *Inorganic chemistry.* 2021. V. 60. № 21. P. 15835–15845. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.1c00823.
663. *Sanina N.A., Kozub G.I., Zhukova O.S., Korchagin D.V., Kondrat'eva T.A., Morgunov R.B., Talantsev A.D., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* New agent for nitric oxide (NO) chemotherapy: synthesis and properties of DNIC with hydrazinium cation in solid phase and solutions. // *J. Mol. Structure.* 2019. – V. 1181. – № 5. P. 321–328. doi: 10.1016/j.molstruc.2018.11.092.
664. *Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F.* Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes Bound with Hemoglobin on Oxidative Modification by Peroxynitrite. // *Int J Mol Sci.* 2021. – V. 22. № 24. – P. 13649. doi: 10.3390/ijms222413649.
665. *Sanina N., Shmatko N., Stupina T., Balakina A., Terent'ev A.* NO-donor iron nitrosyl complex with N-ethylthiourea ligand exhibits selective toxicity to glioma A172 Cells. // *Molecules.* 2017. V. 22. P. 1426. doi: 10.3390/molecules22091426.
666. *Akentieva N.P., Sanina N.A., Prichodchenko T.R., Gizatullin A.R., Shkondina N.I., Shushanov S.S., Stupina T.S., Aldoshin S.M.* Anticancer activity of dinitrosyl iron complex (NO donor) on the multiple myeloma cells. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2019. V. 486. № 1. P. 238–242. doi: 10.1134/S1607672919030190.
667. *Hickok J.R., Sahni S., Shen H., Arvind A., Antoniou C., Fung L.W., Thomas D.D.* Dinitrosyliron complexes are the most abundant nitric oxide-derived cellular adduct: biological parameters of assembly and disappearance. // *Free Radical Biol. Med.* 2011. V. 51. № 8. P. 1558–1566. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.030.
668. *Mallard J.R., Kent M.* Electron spin resonance in surviving rat tissues. // *Nature.* 1966. V. 210. № 5036. P. 588–591. doi: 10.1038/210588a0.
669. *Vanin A.F., Nalbandyan R.M.* Free radicals of a new type in yeast cells. // *Biophysics (Oxf).* 1965. V. 10. P. 167–168.

670. *Enemark J.H., Feltham R.D.* Principles of structure, bonding, and reactivity for metal nitrosyl complexes. // *Coord. Chem. Rev.* 1974. V. 13. P. 339–406.
671. *Санина Н.А., Алдошин С.М.* Строение и свойства нитрозильных комплексов железа с функциональными серосодержащими лигандами. // *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2011. № 7. P. 1199–1227.
672. *Chiang C.Y., Miller M.L., Reibenspies J.H., Darensbourg M.Y.* Bismercapto ethanediazacyclooctane as a N₂S₂ Chelating Agent and Cys–X–Cys Mimic for Fe(NO) and Fe(NO)₂. // *Journal of the American Chemical Society.* 2004. V. 126. № 35. P. 10867–10874.
673. *Baltusis L.M., Karlin K.D., Rabinowitz H.N., Dewan J.C., Lippard S.J.* Synthesis and structure of Fe(L'H)(NO)₂, a tetracoordinate complex having a twelve-membered chelate ring, and its conversion to pentacoordinate FeL'(NO) through formal loss of “HNO” (L' = SCH₂CH₂NMeCH₂CH₂CH₂NMeCH₂CH₂S-). // *Inorganic Chemistry.* 1980. V. 19. № 9. P. 2627–2632.
674. *Sanina N. A., Rakova O. A., Aldoshin S. M., Shilov G. V., Shulga Y. M., Kulikov A. V., Ovanesyan N. S.* Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione [Fe(SC₂H₃N₃)(SC₂H₂N₃)(NO)₂]·0.5H₂O. // *Mendeleev Communications.* 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.
675. *Tsou C.-C., Tsai F.-T., Chen H.-Y., Hsu I.-J., Liaw W.-F.* Insight into One-Electron Oxidation of the {Fe(NO)₂}⁹ Dinitrosyl Iron Complex (DNIC): Aminyl Radical Stabilized by [Fe(NO)₂] Motif. // *Inorganic Chemistry.* 2013. V. 52. № 3. P. 1631–1639.
676. *Tonzetich Z. J., Do L. H., Lippard S. J.* Dinitrosyl iron complexes relevant to Rieske cluster nitrosylation. // *Journal of the American Chemical Society.* 2009. V. 131. № 23. P. 7964–7965.
677. *Connelly N.G., Gardner C.* Simple halogenonitrosyl anions of iron. // *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions.* 1976. № 16. P. 1525–1527.
678. *Tsai M.-L., Liaw W.-F.* Neutral {Fe(NO)₂}⁹ dinitrosyliron complex (DNIC) [(SC₆H₄-o-HCOPh)(Im)Fe(NO)₂] (Im = imidazole): interconversion among the anionic/neutral {Fe(NO)₂}⁹ DNICs and Roussin's red ester. // *Inorganic Chemistry.* 2006. V. 45. № 17. P. 6583–6585.
679. *Hung M.-C., Tsai M.-C., Lee G.-H., Liaw W.-F.* Transformation and structural discrimination between the neutral {Fe(NO)₂}¹⁰ dinitrosyliron complexes (DNICs) and the anionic/cationic {Fe(NO)₂}⁹ DNICs. // *Inorganic Chemistry.* 2006. V. 45. № 15. P. 6041–6047.
680. *Tsou C.-C., Tsai F.-T., Chen H.-Y., Hsu I.-J., Liaw W.-F.* Insight into One-Electron Oxidation of the {Fe(NO)₂}⁹ Dinitrosyl Iron Complex (DNIC): Aminyl Radical Stabilized by [Fe(NO)₂] Motif. // *Inorganic Chemistry.* 2013. V. 52. № 3. P. 1631–1639.
681. *Hess J.L., Hsieh C.H., Reibenspies J.H., Darensbourg M.Y.* N-Heterocyclic Carbene Ligands as Mimics of Imidazoles / Histidine for the Stabilization of Di- and Trinitrosyl Iron Complexes. // *Inorganic Chemistry.* 2011. V. 50. № 17. P. 8541–8552.

682. *Mulsch A., Mordvincev P., Vanin A.F., Busse R.* The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron (II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiols. // *FEBS Lett.* 1991. V. 294. № 3. P. 252–256.
683. *Vanin A.F., Stukan R.A., Manukhina E.B.* Dimeric and monomeric forms of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands: physico-chemical properties and vasodilator activity. // *Biofizika.* 1997. V. 42(1). P. 10–21.
684. *Vanin A.F., Serezhenkov V.A., Mikoyan V.D., Genkin M.V.* The 2.03 signal as an indicator of dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands. // *Nitric Oxide.* 1998. V. 2. № 4. P. 224–234.
685. *Kleschyov A.L., Strand S., Schmitt S., Gottfried D., Skatchkov M., Sjakste N., Daiber A., Umansky V., Munzel T.* Dinitrosyl-iron triggers apoptosis in Jurkat cells despite overexpression of Bcl-2. // *Free Radical Biol. Med.* 2006. V. 40. P. 1340–1348.
686. *Vanin A.F., Lozinskii V.I., Kapel'ko V.I.* Polymer composition for obtaining a stabilized form of the dinitrosyl iron complex and a method for producing the specified form of the complex. // Patent RU No. 2005. 2291880.
687. *Sanina N.A., Kozub G. I., Kondrat'eva T.A., Korchagin D.V., Shilov G.V., Morgunov R.B., Ovanesyan N.S., Kulikov A.V., Stupina T.S., Terent'ev A.A., Aldoshin S.M.* Anionic dinitrosyl iron complexes – new nitric oxide donors with selective toxicity to human glioblastoma cells. // *Journal of Molecular Structure.* 2022. V. 1266. P. 133506.
688. *Atkinson F.L., Blackwell H.E., Brown N.C., Connelly N.G., Crossley J.G., Orpen A.G., Rieger A.L., Rieger P.H.* Synthesis of the 17-electron cations $[\text{FeL}(\text{L}')(\text{NO})_2]^+$ (L, L' = PPh₃, OPPh₃): structure and bonding in four-coordinate metal dinitrosyls, and implications for the identity of paramagnetic iron dinitrosyl complex catalysts. // *Journal of the Chemical Society. Dalton Transactions.* 1996. № 17. P. 3491–3502.
689. *Shih W.-C., Lu T.-T., Yang L.-B., Tsai F.-T., Chiang M.-H., Lee J.-F., Chiang Y.-W., Liaw W.-F.* New members of a class of dinitrosyliron complexes (DNICs): the characteristic EPR signal of the six-coordinate and five-coordinate $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}^n$ DNICs. // *Journal of Inorganic Biochemistry.* 2012. V. 113. P. 83–93.
690. *Jo D.-H., Chiou Y.-M., Que L.* Models for Extradisol Cleaving Catechol Dioxygenases: Syntheses, Structures, and Reactivities of Iron (II)–Monoanionic Catecholate Complexes. // *Inorganic Chemistry.* 2001. V. 40. № 13. P. 3181–3190.
691. *Reginato N., McCrory C. T. C., Pervitsky D., Li L.* Synthesis, X-ray Crystal Structure, and Solution Behavior of $\text{Fe}(\text{NO})_2(1\text{-MeIm})_2$: Implications for Nitrosyl Non-Heme-Iron Complexes with $g = 2.03$. // *Journal of the American Chemical Society.* 1999. V. 121. № 43. P. 10217–10218.
692. NBO 6.0. *Glendening E.D., Badenhoop J.K., Reed A.E., Carpenter J.E., Bohmann J.A., Morales C.M., Landis C.R., and Weinhold F.* // Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin. Madison. WI. 2013. <http://nbo6.chem.wisc.edu/>

693. *Ванин А.Ф.* Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. // Монография. Издательство М.– Ижевск: Институт компьютерных исследований. 2019. С. 220. ISBN:978-5-4344-0761-8
694. *Шматко Н.Ю.* Катионные динитрозильные комплексы железа с тиомочевинной и ее производными – новые доноры оксида азота, кандидатская диссертация по химии. 2017. С. 158.
695. *Rakova O.A., Sanina N.A., Shilov G.V., Strelets V.V., Borzova I.B., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* $[\text{Bu}_4\text{N}]_2[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$: Synthesis, Structure, Redox Properties, and EPR Study. // *Russ. J. Coord. Chem.* 2001. V. 27. P. 657–663.
696. *Vasil'eva S.V., Sanina N.A., Moshkovskaya E.Y., Rudneva T.N., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* Formation of Dinitrosyl Iron Complex Is a Necessary Step in the Realization of the $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\mu\text{-S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \leftarrow 4\text{H}_2\text{O}$ Genetic Activity. // *Dokl. Biol. Sci.* 2005. V. 402. P. 230–232.
697. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V.* Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // *Inorganic Chemistry Communications.* 2014. V. 49. P. 44–47.
698. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Knyazkina E.V., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V.* Nitrosyl iron complexes with enhanced NO donating ability: synthesis, structure and properties of a new type of salt with the DNIC cations $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$. // *New Journal of Chemistry.* 2015. V. 39. № 2. P. 1022–1030.
699. *Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V., Terent'ev A.A., Stupina T.S., Balakina A.A., Komleva N.V., Ovanesyanyan N.S., Kulikov A.V., Aldoshin S.M.* A new member of the cationic dinitrosyl iron complexes family incorporating N-ethylthiourea is effective against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *Journal of Coordination Chemistry.* 2016. V. 69. № 5. P. 812–825.
700. *Tung C.Y., Tseng Y.T., Lu T.T., Liaw W.F.* Insight into the Electronic Structure of Biomimetic Dinitrosyliron Complexes (DNICs): Toward the Syntheses of Amido-Bridging Dinuclear DNICs. // *Inorg Chem.* – 2021. – V. 60. – №21. – P.15846–15873. doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c00566.
701. *Davidovich P.B., Gurzhiy V.V., Sanina N.A., Shchukarev A.V., Garabadzhiu A.V., Belyaev A.N.* Synthesis and structure of dinitrosyl iron complexes with secondary thiolate bridging ligands $[\text{Fe}_2(\mu\text{-SCHR}_2)_2(\text{NO})_4]$, R = Me, Ph // *Polyhedron.* 2015. V. 90. P.197–201.
702. *Allen F.H., Kennard O., Watson D.G., Brammer L., Orpen A.G., Taylor R.* Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2.* 1987. № 12. P. S1-S19.

703. *Shestakov A.F., Shul'ga Y.M., Emel'yanova N.S., Sanina N.A., Aldoshin S.M.* Molecular and electronic structure and IR spectra of mononuclear dinitrosyl iron complex $\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2$: a theoretical study. // *Russ. Chem. Bull.* 2007. V. 56. P. 1289–1297. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0197-7>.
704. *Brothers S.M., Darensbourg M.Y., Hall M.B.* Modeling structures and vibrational frequencies for dinitrosyl iron complexes (DNICs) with density functional theory. // *Inorg. Chem.* 2011. V. 50. P. 8532–8540. <https://doi.org/10.1021/ic201137t>.
705. *Lu T.T., Lai S.H., Li Y.W., Hsu I.J., Jang L.Y., Lee J.F., Chen I.C., Liaw W.F.* Discrimination of mononuclear and dinuclear dinitrosyl iron complexes (DNICs) by S K-edge X-ray absorption spectroscopy: insight into the electronic structure and reactivity of DNICs. // *Inorg. Chem.* 2011. V. 50. P. 5396–5406. <https://doi.org/10.1021/ic102108b>.
706. *Sandala G.M., Hopmann K.H., Ghosh A., Noodleman L.* Calibration of DFT functionals for the prediction of Fe Mössbauer spectral parameters in iron-nitrosyl and iron-sulfur complexes: accurate geometries prove essential. // *J. Chem. Theory Comput.* 2011. V. 7. P. 3232–3247. <https://doi.org/10.1021/ct200187d>.
707. *Aldoshin S.M., Fel'dman E.B., Yurishchev M.A.* Quantum entanglement and quantum discord in magnetoactive materials. // *Low Temp. Phys.* 2014. V. 40. P. 5–21. <https://doi.org/10.1063/1.4862469>.
708. *Lyssenko K.A., Ananyev I.V., Aldoshin S.M., Sanina N.A.* Features of chemical bonding within the $\text{Fe}(\text{NO})_2$ fragment for crystalline bis (thiosulfate) tetranitrosyl diiron tetramethylammonium salt as an example according to high-resolution X-ray diffraction data. // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. P. 2351–2360. <https://doi.org/10.1007/s11172-015-1163-4>.
709. *Clark T., Murray J.S., Politzer P.* A perspective on quantum mechanics and chemical concepts in describing noncovalent interactions. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. V. 20. P. 30076–30082. <https://doi.org/10.1039/c8cp06786d>.
710. *Politzer P., Murray J.S., Clark T., Resnati G.* The σ -hole revisited. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017. V. 19. P. 32166–32178. <https://doi.org/10.1039/C7CP06793C>.
711. *Aldoshin S.M., Bozhenko K.V., Utenyshev A.N., Sanina N.A., Emel'yanova N.S.* Formation of supramolecular synthons in the crystalline structure of the dinitrosyl iron complexes with aliphatic thiourea ligands. // *Journal of molecular modeling.* 2020. V. 26. № 11. P. 330.
712. *Aldoshin S.M., Morgunov R.B., Palii A.V., Shmatko N.Y., Sanina N.A.* Study of magnetic behavior of salts of cationic dinitrosyl iron complexes with thiocarbamide and its derivatives. // *Appl. Magn. Reson.* 2015. V. 46. P. 1383–1393. <https://doi.org/10.1007/s00723-015-0689-9>.

713. *Hung M.-C., Tsai M.-C., Lee G.-H., Liaw W.-F.* Transformation and structural discrimination between the neutral $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}_{10}$ dinitrosyliron complexes (DNICs) and the anionic/cationic $\{\text{Fe}(\text{NO})_2\}_9$ DNICs. // *Inorganic Chemistry*. 2006. V. 45. № 15. P. 6041–6047.
714. *De La Cruz C., Sheppard N.* A structure-based analysis of the vibrational spectra of nitrosyl ligands in transition-metal coordination complexes and clusters. // *Spectrochim. Acta A Mol. and Biomol. Spectrosc.* 2011. V. 78. № 1. P. 7–28.
715. *Lewandowska H.* Spectroscopic Characterization of Nitrosyl Complexes. // Ed. by D.M.P. Mingos. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 2014. P. 115–165.
716. *Санина Н.А., Ракова О.А., Алдошин С.М., Чуев И.И., Атовмян Е.Г., Ованесян Н.С.* Синтез, рентгеноструктурное и спектральное исследование соединений $[\text{Q4N}]_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]$ (Q=Me, Et, n-Pr, n-Bu). // *Координационная химия*. 2001. Т. 27. № 3. С. 198–202.
717. *Sanina N.A., Rakova O.A., Aldoshin S.M., Shilov G.V., Shulga Y.M., Kulikov A.V., Ovanesyan N. S.* Structure of the neutral mononuclear dinitrosyl iron complex with 1,2,4-triazole-3-thione $[\text{Fe}(\text{SC}_2\text{H}_3\text{N}_3)(\text{SC}_2\text{H}_2\text{N}_3)(\text{NO})_2] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$. // *Mendelevov Communications*. 2004. V. 14. № 1. P. 7–8.
718. *Strasdeit H., Krebs B., Henkel G.* Synthese und struktur von $\text{Fe}(\text{SPh})_2(\text{NO})_2$, dem "monomeren" des Roussinschen phenylesters. // *Zeitschrift für Naturforschung*. 1986. V. 41b. P. 1357–1362.
719. *Ванин А.Ф., Налбандян Р.М.* Свободные радикалы нового типа в дрожжевых клетках. // *Биофизика*. 1965. Т. 10. С. 167–168.
720. *Chiou S.-J., Wang C.-C., Chang C.-M.* Synthesis of dinitrosyl iron complexes (DNICs) with intramolecular hydrogen bonding. // *Journal of Organometallic Chemistry*. 2008. V. 693. № 24. P. 3582–3586.
721. *Ye S., Neese F.* The Unusual Electronic Structure of Dinitrosyl Iron Complexes. // *Journal of the American Chemical Society*. 2010. V. 132. № 11. P. 3646–3647.
722. *Römel't M., Ye S., Neese F.* Calibration of Modern Density Functional Theory Methods for the Prediction of ^{57}Fe Mössbauer Isomer Shifts: Meta-GGA and Double-Hybrid Functionals. // *Inorganic Chemistry*. 2009. V. 48. № 3. P. 784–785.
723. *Санина Н.А., Козуб Г.И., Кондратьева Т.А., Алдошин С.М.* Моноядерные динитрозильные комплексы железа, способ получения моноядерных динитрозильных комплексов железа, донор монооксида азота, применение моноядерного динитрозильного комплекса железа в качестве противоопухолевого лекарственного средства. // Патент № 2494104 РФ. Бюл. 2013. № 27 от 27.09.2013.
724. *Basudhar D., Bharadwaj G., Cheng R. Y., Jain S., Shi S., Heinecke J.L., Holland R.J., Ridnour L.A., Caceres V.M., Spadari-Bratfisch R.C., Paolocci N., Velázquez-Martínez C.A., Wink D.A., Miranda K.M.* Synthesis and Chemical

- and Biological Comparison of Nitroxyl- and Nitric Oxide-Releasing Diazeniumdiolate-Based Aspirin Derivatives. // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. V. 56. № 20. P. 7804–7820.
725. Санина Н.А., Шилов Г.В., Алдошин С.М., Шестаков А.Ф., Сырцова Л.А., Ованесян Н.С., Чудинова Е.С., Шкондина Н.И., Емельянова Н.С., Котельников А.И. Структура биядерного тетранитрозильного комплекса железа с пиримидин-2-илом « μ_2 -S типа» и влияние pH на его NO-донирующую способность в водных растворах. // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2009. № 3. С. 560–571.
726. Сырцова Л.А., Санина Н.А., Шестаков А.Ф., Шкондина Н.И., Руднева Т.Н., Емельянова Н.С., Котельников А.И., Алдошин С.М. Влияние гемоглобина на NO донорную активность μ_2 -S-бис(пиримидин-2-тиолато) тетранитрозил железа. // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2010. № 12. С. 2150–2159.
727. Emel'yanova N.S., Gutsev L.G., Pokidova O.V., Shestakov A.F., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Investigation of the interaction of the cationic nitrosyl iron complex $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]^+$ with molecular oxygen. // *Inorganica Chimica Acta (Q2)*. 2021. V. 522. P. 120361. DOI10.1016/j.ica.2021.120361.
728. Покидова О.В., Психа Б.Л., Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Новикова В.О., Загайнова Е.А., Санина Н.А. Особенности распада нитрозильного комплекса железа с тиомочевинными лигандами в аэробных условиях: эксперимент, кинетическое и квантово-химическое моделирование. // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022. № 8. С. 1604–1613.
729. Емельянова Н.С., Гуцев Л.Г., Загайнова Е.А., Санина Н.А., Алдошин С.М. Влияние алкильных заместителей в катионах моноядерных динитрозильных комплексов железа с тиомочевинными лигандами на механизм их реакции с молекулярным кислородом: квантово-химическое моделирование. // *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022. № 9. С. 1870–1877.
730. Pokidova O., Emel'yanova N., Kormukhina A., Novikova V., Kulikov A., Kotelnikov A., Sanina N. Albumin as prospective carrier of nitrosyl iron complex with thiourea and thiosulfate ligands under aerobic conditions. // *Dalton Transactions*. 2022. V. 51. P. 6473. DOI: 10.1039/d2dt00291d.
731. Pokidova O.V., Kormukhina A.Yu., Kotelnikov A.I., Rudneva T.N., Lyssenko K.A., Sanina N.A. Features of the decomposition of cationic nitrosyl iron complexes with N-ethylthiourea and penicillamine ligands in the presence of albumin. // *Inorganica Chimica Acta*. 2021. 524. Article Number: 120453. DOI 10.1016/j.ica.2021.120453. DOI10.1016/j.ica.2021.120453.
732. Emel'yanova N.S., Shmatko N.Y., Sanina N.A., Aldoshin S.M. Quantum chemical modeling of possible reactions of mononuclear iron nitrosyl complex $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NH}_2)_2)_2(\text{NO})_2]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in an aqueous solution. // *Russ Chem Bull*. 2017. V. 66. P. 1842–1846. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1955-9>.

733. *Sanina N.A., Sulimenkov I.V., Emel'yanova N.S., Konyukhova A. S., Stupina T.S., Balakina A.A., Terentiev A.A., Aldoshin S.M.* Cationic dinitrosyl iron complexes with thiourea exhibit selective toxicity to brain tumor cells in vitro. // *Dalton Trans.* 2022. V. 51. P. 8893–8905. <https://doi.org/10.1039/D2DT01011A>.
734. *Truzzi D.R., Medeiros N.M., Augusto O., Ford P.C.* Dinitrosyl Iron Complexes (DNICs). From Spontaneous Assembly to Biological Roles. // *Inorg. Chem.* 2021. V. 60. № 21. P. 15835–15845.
735. *McCleverty J.A.* Chemistry of nitric oxide relevant to biology. // *Chem Rev.* 2004. V. 104. № 2. P. 403–418. doi: 10.1021/cr020623q.
736. *Grievink H., Zeltzer G., Drenger B., Berenshtein E., Chevion M.* Protection by Nitric Oxide Donors of Isolated Rat Hearts Is Associated with Activation of Redox Metabolism and Ferritin Accumulation. // *PLoS One.* 2016. V. 11. № 7. P. e0159951. doi: 10.1371/journal.pone.0159951.
737. *Afzal M.Z., Reiter M., Gastonguay C., McGivern J.V., Guan X., Ge Z.D., Mack D.L., Childers M.K., Ebert A.D., Strande J.L.* Nicorandil, a Nitric Oxide Donor and ATP-Sensitive Potassium Channel Opener, Protects Against Dystrophin-Deficient Cardiomyopathy. // *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016. V. 21. № 6. P. 549–562. doi: 10.1177/1074248416636477.
738. *Санина Н.А., Шматко Н.Ю., Алдошин С.М.* // Патент РФ № 2014115252. 2015.
739. *Lau D., Baldus S.* Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2006. V. 111. №1. P. 16-26. doi: 10.1016/j.pharmthera.2005.06.023.
740. *Karakas M., Koenig W.* Myeloperoxidase production by macrophage and risk of atherosclerosis. // *Curr Atheroscler Rep.* 2012. V. 14. P. 277–283. doi: [org/10.1007/s11883-012-0242-3](https://doi.org/10.1007/s11883-012-0242-3).
741. *Zeng L., Mathew A.V., Byun J., Atkins K.B., Brosius F.C. 3rd, Pennathur S.* Myeloperoxidase-derived oxidants damage artery wall proteins in an animal model of chronic kidney disease-accelerated atherosclerosis. // *J Biol Chem.* 2018. V. 293. P. 7238–7249. doi: [org/10.1074/jbc.RA117.000559](https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000559).
742. *Maiocchi S.L., Ku J., Thai T., Chan E., Rees M.D., Thomas S.R.* Myeloperoxidase: A versatile mediator of endothelial dysfunction and therapeutic target during cardiovascular disease. // *Pharmacol Ther.* 2021. V. 221. P. 107711. doi: [org/10.1016/j.pharmthera.2020.107711](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107711).
743. *Abu-Soud H.M., Hazen S.L.* Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase. // *J Biol Chem.* 2000. V. 275. № 8. P. 5425–5430. doi: [10.1074/jbc.275.8.5425](https://doi.org/10.1074/jbc.275.8.5425).
744. *Wang X., Khalil R.A.* Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. // *Advances in Pharmacology.* 1-е изд. Elsevier Inc. 2018. V. 81. P. 241–330.
745. *Waldman M., Nudelman V., Shainberg A., Abraham N.G., Kornwoski R., Aravot D., Arad M., Hochhauser E.* PARP-1 inhibition protects the diabetic

- heart through activation of SIRT1-PGC-1 α axis. // *Exp Cell Res*. 2018. V. 373. № 1-2. P.112–118. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.10.003.
746. *Damiani R.M., Moura D.J., Viau C.M., Brito V., Morás A.M., Henriques J.A.P., Saffi J.* Influence of PARP-1 inhibition in the cardiotoxicity of the topoisomerase 2 inhibitors doxorubicin and mitoxantrone. // *Toxicol In Vitro*. 2018. V. 52. P. 203–213. doi: 10.1016/j.tiv.2018.06.013.
747. *Macchiavello S., Fardella C., Baudrand R.* Update in the clinical management of low renin hypertension. // *Rev Med Chil* 2019. V. 147. P. 490–498. doi.org/10.4067/S0034-98872019000400490.
748. *Baudrand R., Vaidya A.* The Low-Renin Hypertension Phenotype: Genetics and the Role of the Mineralocorticoid Receptor. // *Int J Mol Sci*. 2018. V. 19. P. 546. doi.org/10.3390/ijms19020546.
749. *Lu Y.T., Fan P., Zhang D., Zhang Y., Meng X., Zhang Q.Y., Zhao L., Yang K.Q., Zhou X.L.* Overview of Monogenic Forms of Hypertension Combined With Hypokalemia. // *Front Pediatr*. 2021. V. 8. P. 543309. doi.org/10.3389/fped.2020.543309.
750. *Tapia-Castillo A., Carvajal C.A., López-Cortés X., Vecchiola A., Fardella C.E.* Novel metabolomic profile of subjects with non-classic apparent mineralocorticoid excess. // *Sci Rep* 2021. V. 11. P. 17156. doi.org/10.1038/s41598-021-96628-6.
751. *Akhadov S.V., Ruzbanova G.R., Molchanova G.S., Talalaeva T.G., Khoreva S.N.* The role and target level of individual components of the renin-angiotensin-aldosterone system in the development of cardiovascular complications in patients with arterial hypertension. // *Russian Journal of Cardiology*. 2009. V. 14. P. 26–32.
752. *Chappell M.C.* Biochemical evaluation of the renin-angiotensin system: the good, bad, and absolute? // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016. V. 310. P. H137-152. doi.org/10.1152/ajpheart.00618.2015.
753. *Yang S., Wang Z., Guo M., Du M., Wen X., Geng L., Yu F., Liu L., Li Y., Feng L., Zhou T.* UPLC-MS-Based Serum Metabolomics Reveals Potential Biomarkers of Ang II-Induced Hypertension in Mice. // *Front Cardiovasc Med*. 2021. V. 8. P. 683859. doi.org/10.3389/fcvm.2021.683859.
754. *Sutanto H., Dobrev D., Heijman J.* Angiotensin Receptor-Neprilysin Inhibitor (ARNI) and Cardiac Arrhythmias. // *Int J Mol Sci*. 2021. V. 22. P. 8994. doi.org/10.3390/ijms22168994.
755. *Hartman R.E., Rao P.S.S., Churchwell M.D., Lewis S.J.* Novel therapeutic agents for the treatment of diabetic kidney disease. // *Expert Opin Investig Drugs*. 2020. V. 29. P. 1277–1293. doi.org/10.1080/13543784.2020.1811231.
756. *Corti R., Burnett J.C.J., Rouleau J.L., Ruschitzka F., Lüscher T.F.* Vasopeptidase inhibitors: a new therapeutic concept in cardiovascular disease? // *Circulation*. 2001. V. 104. P. 1856–1862. doi.org/10.1161/hc4001.097191.

757. Marques A.A.M., da Silva C.H.F., de Souza P., de Almeida C.L.B., Cechinel-Filho V., Lourenço E.L.B., Gasparotto Junior A. Nitric oxide and Ca²⁺-activated high-conductance K⁺ channels mediate nothofagin-induced endothelium-dependent vasodilation in the perfused rat kidney. // *Chem Biol Interact.* 2020. V. 327. P. 109182. doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109182.
758. Liu T., Zhang M., Mukosera G.T., Borchardt D., Li Q., Tipple T.E., Ishtiaq Ahmed A.S., Power G.G., Blood A.B. L-NAME releases nitric oxide and potentiates subsequent nitroglycerin-mediated vasodilation. // *Redox Biol.* 2019. V. 26. P. 101238. doi.org/10.1016/j.redox.2019.101238.
759. Jin L., Conklin D.J. A novel evaluation of endothelial dysfunction ex vivo: "Teaching an Old Drug a New Trick". // *Physiol Rep.* 2021. V. 9. P. e15120. doi.org/10.14814/phy2.15120.
760. Gallinari P., Di Marco S., Jones P., Pallaoro M., Steinkühler C. HDACs, histone deacetylation and gene transcription: from molecular biology to cancer therapeutics. // *Cell Res.* 2007. V.17. P. 195-211. doi.org/10.1038/sj.cr.7310149
761. Luque-Martin R., Van den Bossche J., Furze R.C., Neele A.E., van der Velden S., Gijbels M.J.J., van Roomen C.P.P.A., Bernard S.G., de Jonge W.J., Rioja I., Prinjha R.K., Lewis H.D., Mander P.K., de Winther M.P.J. Targeting histone deacetylases in myeloid cells inhibits their maturation and inflammatory function with limited effects on atherosclerosis. // *Front. Pharmacol.* 2019. V. 10. P. 1242. doi.org/10.3389/fphar.2019.01242.
762. Bagchi R.A., Weeks K.L. Histone deacetylases in cardiovascular and metabolic diseases. // *J Mol Cell Cardiol.* 2019. V.130. P. 151–159. doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.04.003.
763. Shanmugam G., Rakshit S., Sarkar K. HDAC inhibitors: Targets for tumor therapy, immune modulation and lung diseases. // *Transl Oncol.* 2022. V. 16. P. 101312. doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101312.
764. Hamminger P., Rica R., Ellmeier W. Histone deacetylases as targets in autoimmune and autoinflammatory diseases. // *Adv Immunol.* 2020. V.147. P. 1–59. doi.org/10.1016/bs.ai.2020.06.001.
765. Fitzpatrick J., Kim E. Synthetic modeling chemistry of iron-sulfur clusters in nitric oxide signaling. // *Acc Chem Res.* – 2015.- V.48. -№8. P. 2453–61. doi: 10.1021/acs.accounts.5b00246.
766. Hou J., He H., Huang S., Qian M., Wang J., Tan X. et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun. (Camb).* 2019. V. 55. № 9. P.1205–1208. doi: 10.1039/c8cc07304j.
767. Webb A., Bond R., McLean P., Uppal R., Benjamin N., Ahluwalia A. Reduction of nitrite to nitric oxide during ischemia protects against myocardial ischemia–reperfusion damage. // *PNAS.* 2004. V.101. № 37. P. 13683–13688. doi.org/10.1073/pnas.0402927101.

768. *Rochette L., Malka G., Cottin Y.* Hypoxia and heart regeneration: A new paradoxical approach for cardioprotection. // *Arch Cardiovasc Dis.* 2017. V. 110. № 10. P. 503–507. doi: 10.1016/j.acvd.2017.06.001.
769. *Weiss H., Friedrich T., Hofhaus G., Preis D.* The respiratory-chain NADH dehydrogenase (complex I) of mitochondria. // *Eur J Biochem.* 1991. V. 197. № 3. P. 563–576. doi: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb15945.x.
770. *Truong J., Yan A.T., Cramarossa G., Chan K.K.* Chemotherapy-induced cardiotoxicity: detection, prevention, and management. // *Can. J. Cardiol.* 2014. V. 30. № 8. P. 869–878. doi:10.1016/j.cjca.2014.04.029.
771. *Adão R., de Keulenaer G., Leite-Moreira A., Brás-Silva C.* Cardiotoxicity associated with cancer therapy: pathophysiology and prevention strategies. // *Rev. Port. Cardiol.* 2013. V. 32. № 5. P. 395–409. doi: 10.1016/j.repc.2012.11.002.
772. *Agudelo D., Bourassa P., Bérubé G., Tajmir-Riahi H.A.* Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity. // *J. Photochem. Photobiol.* 2016. V. 158. P. 274–279. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.02.032.
773. *Joshi D.C., Bakowska J.C.* Determination of mitochondrial membrane potential and reactive oxygen species in live rat cortical neurons. // *J. Vis. Exp.* 2011. V. 51. P. 2704. doi: 10.3791/2704.
774. *Taddei S., Viridis A., Ghiadoni L., Magagna A., Pasini A. F., Garbin U.* et al. Effect of calcium antagonist or beta blockade treatment on nitric oxide-dependent vasodilation and oxidative stress in essential hypertensive patients. // *J. Hypertens.* 2001. V. 19. P. 1379–1386.
775. *Margaill I., Plotkine M., Lerouet D.* Antioxidant strategies in the treatment of stroke. // *Free Radic. Biol. Med.* 2005. V. 39. P. 429–443.
776. *Struzyńska L., Chalimoniuk M., Sulkowski G.* The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. // *Toxicology.* 2005. V. 212. № 2-3. P. 185–194. doi: 10.1016/j.tox.2005.04.013.
777. *De Lourdes Barriviera M., Fontes C. F., Hassón-Voloch A., Louro S. R.* Influence of nitric oxide donors on the intrinsic fluorescence of Na⁺,K⁺-ATPase and effects on the membrane lipids. // *Nitric Oxide.* 2005. V. 13. № 1. P. 10–20.
778. *Bogdanova A., Petrushanko I.Y., Hernansanz-Agustin P., Martinez-Ruiz A.* Oxygen Sensing by Na, K-ATPase: These Miraculous Thiols. // *Frontiers in Physiology.* 2016. V. 7. P. 314. doi.org/10.3389/fphys.2016.00314.
779. *Pirkmajer S., Chibalin A. V.* NO turns on Na, K-ATPase in skeletal muscle. // *ActaPhysiol. (Oxf).* 2016. V. 216. № 4. P. 386–391. doi: 10.1111/apha.12652.
780. *Pavlovic D., Hall A. R., Kennington E. J., Aughton K., Boguslavskyi A., Fuller W.* et al. Nitric oxide regulates cardiac intracellular Na⁺ and Ca²⁺ by modulating Na/K ATPase via PKCε and phospholemman-dependent mechanism. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2013. V. 61. P. 164–171. doi:10.1016/j.yjmcc.2013.04.013.

781. Lu K., Chang G., Ye L., Zhang P., Li Y., Zhang D. Protective effects of extendin-4 on hypoxia/reoxygenation-induced injury in H9c2 cells. // *Mol. Med. Rep.* 2015. V. 2. P. 3007–3016. doi: 10.3892/mmr.2015.3682.
782. Xiao W., Wang R. S., Handy D. E., Loscalzo J. NAD(H) and NADP(H) redox couples and cellular energy metabolism. // *Antioxid. Redox. Signal.* 2018. V. 28. № 3. P. 251–272. doi: 10.1089/ars.2017.7216.
783. Ferrer-Sueta G., Campolo N., Trujillo M., Bartesaghi S., Carballal S., Romero N. et al. Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. // *Chem. Rev.* 2018. V. 118. № 3. P. 1338–1408. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00568.
784. Scicinski J., Oronskya B., Ning S., Knox S., Peehl D., Kim M. M. et al. NO to cancer: the complex and multifaceted role of nitric oxide and the epigenetic nitric oxide donor, RRx-001. // *Redox Biol.* 2015. V. 6. P. 1–8. doi: 10.1016/j.redox.2015.07.002.
785. Costa F., Das R., Kini Bailur J., Dhodapkar K., Dhodapkar M.V. Checkpoint Inhibition in Myeloma: Opportunities and Challenges. // *Front Immunol.* 2018. V. 9. P. 2204. doi:10.3389/fimmu.2018.02204.
786. Rigas B., Sun Y. Induction of oxidative stress as a mechanism of action of chemopreventive agents against cancer. // *Br J Cancer.* 2008. V. 98. № 7. P.1157–1160. doi: 10.1038/sj.bjc.6604225.
787. Maciag A.E., Holland R. J., Robert Cheng Y.S., Rodriguez L. G., Saavedra J. E., Anderson L. M., Keefer L. K. Nitric oxide-releasing prodrug triggers cancer cell death through deregulation of cellular redox balance. // *Redox Biology.* 2013. V. 1. P. 115–124.
788. Liu B., Huang X., Li Y., Liao W., Li M., Liu Y., He R., Feng D., Zhu R., Kurihara H. JS-K, a nitric oxide donor, induces autophagy as a complementary mechanism inhibiting ovarian cancer. // *BMC Cancer.* 2019. V. 19. № 1. P. 645. doi: 10.1186/s12885-019-5619-z.
789. Akentieva N.P., Sanina N.A., Gizatullin A.R., Shmatko N.Y., Goryachev N.S., Shkondina N.I., Prikhodchenko T.R., Aldoshin S.M. The inhibitory effect of dinitrosyl iron complexes (NO donors) on myeloperoxidase activity. // *Dokl Biochem Biophys.* 2017. V. 477. № 1. P. 389–393. doi: 10.1134/S1607672917060126.
790. Венкатараман К. Химия синтетических красителей. Пер. с англ. Под ред. Л. С. Эфроса. Л., «Химия», 1977. . Т. 5. 432 с.
791. García-Giménez J.L, Markovic J., Dasi F., Queval G., Schnaubelt D., Foyer C.H., Pallardó F.V. Nuclear glutathione. // *Biochim Biophys Acta.* 2013. V.1830. № 5. P. 3304–3316. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.10.005.
792. Cai Z., Yan L.J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. // *J Biochem Pharmacol Res.* 2013. V. 1. № 1. P. 15–26.
793. Manevich Y., Townsend D.M., Hutchens S., Tew K.D. Diazeniumdiolate mediated nitrosative stress alters nitric oxide homeostasis through

- intracellular calcium and S-glutathionylation of nitric oxide synthetase. // PLoS One. 2010. V. 5. № 11. P. e14151. doi: 10.1371/journal.pone.0014151.
794. Wang Z., Tian Y., Zhang H. et al. Using hyaluronic acid-functionalized pH stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted delivery to CD44-overexpressing cancer cells. // International journal of nanomedicine. – 2016. – V. 11. – P. 6485–6497.
795. Tuteja N., Chandra M., Tuteja R., Misra M. K. Nitric Oxide as a Unique Bioactive Signaling Messenger in Physiology and Pathophysiology. // Journal of biomedicine & biotechnology. – 2004. – V. 2004. – № 4. – P. 227–237.
796. N. P. Akentieva, N. A. Sanina, A. R. Gizatullin, N. I. Shkondina, T. R. Prikhodchenko, S.I. Shram, N. Zhelev and S. M. Aldoshin. Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. // Frontiers in Pharmacology. 2019. V. 10. Article 1277. PP. 1–21. Doi:10.3389/fphar.2019.01277
797. Tegeder I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. // Cellular Signalling. – 2019. – V. 53. – P. 348–356.
798. Henning R. J., Bourgeois M., Harbison R. D. Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) and PARP Inhibitors: Mechanisms of Action and Role in Cardiovascular Disorders. // Cardiovascular Toxicology. – 2018. – V. 18. – № 6. – P. 493–506.
799. Ali M., Pulli B., Courties G. et al. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. // JACC: Basic to Translational Science. – 2016. – V. 1. – № 7. – P. 633–643.
800. Spinale F. G., Villarreal F. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors. // Biochemical pharmacology. – 2014. – V. 90. – № 1. – P. 7–15.
801. Abu-Soud H. M., Hazen S. L. Nitric Oxide Modulates the Catalytic Activity of Myeloperoxidase. // Journal of Biological Chemistry. – 2000. – V. 275. – № 8. – P. 5425–5430.
802. Kröncke K.-D. Zinc Finger Proteins as Molecular Targets for Nitric Oxide-Mediated Gene Regulation. // Antioxidants & Redox Signaling. – 2001. – V. 3. – № 4. – P. 565–575.
803. Zhou X., Cooper K. L., Huestis J. et al. S-nitrosation on zinc finger motif of PARP-1 as a mechanism of DNA repair inhibition by arsenite. // Oncotarget. – 2016. – V. 7. – № 49. – P. 80482–80492.
804. Lau D., Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. // Pharmacology & therapeutics. – 2006. – V. 111. – № 1. – P. 16–26.
805. Baldus S., Heeschen C., Meinertz T. et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. // Circulation. – 2003. – V. 108. – № 12. – P. 1440–1445.

806. *Vita J. A., Brennan M.-L., Gokce N.* et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. // *Circulation*. – 2004. – V. 110. – № 9. – P. 1134–1139.
807. *Zheng L., Nukuna B., Brennan M.-L.* et al. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. // *The Journal of clinical investigation*. – 2004. – V. 114. – № 4. – P. 529–541.
808. *Thukkani A.K., McHowat J., Hsu F.-F.* et al. Identification of alpha-chloro fatty aldehydes and unsaturated lysophosphatidylcholine molecular species in human atherosclerotic lesions. // *Circulation*. – 2003. – V. 108. – № 25. – P. 3128–3133.
809. *Brennan M.-L., Penn M.S., Van Lente F.* et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. // *The New England journal of medicine*. – 2003. – V. 349. – № 17. – P. 1595–1604.
810. *Abu-Soud H.M., Hazen S.L.* Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. // *The Journal of biological chemistry*. – 2000. – V. 275. – № 48. – P. 37524–37532.
811. *Carr A. C., Frei B.* The nitric oxide congener nitrite inhibits myeloperoxidase/H₂O₂/Cl⁻-mediated modification of low density lipoprotein. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – V. 276. – № 3. – P. 1822–1828.
812. *Galijasevic S.* The development of myeloperoxidase inhibitors. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2019. V. 29. P. 1–7.
813. *Zietzer A., Niepmann S.T., Camara B.* et al. Sodium thiocyanate treatment attenuates atherosclerotic plaque formation and improves endothelial regeneration in mice. // *PloS one*. – 2019. – V. 14. – № 4. – P. e0214476.
814. *Zheng W., Warner R., Ruggeri R., Su C., Cortes C., Skoura A., Ward J., Ahn K., Kalgutkar A., Sun D., Maurer T.S., Bonin P.D., Okerberg C., Bobrowski W., Kawabe T., Zhang Y., Coskran T., Bell S., Kapoor B., Johnson K., Buckbinder L.* PF-1355, a mechanism-based myeloperoxidase inhibitor, prevents immune complex vasculitis and anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2015. – V. 353. – № 2. – P. 288–98. doi: 10.1124/jpet.114.221788.
815. *Verma R.P., Hansch C.* Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q) SARs. // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2007. – V. 15. – № 6. – P. 2223–2268.
816. *Liu P., Sun M., Sader S.* Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2006. – V. 22. – № SUPPL. B. – P. 25B–30B.
817. *Ridnour L.A., Windhausen A.N., Isenberg J.S.* et al. Nitric oxide regulates matrix metalloproteinase-9 activity by guanylyl-cyclase-dependent and -independent pathways. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2007. – V. 104. – № 43. – P. 16898–16903.

818. *Sanina N.A., Kozub G.I., Kondrat'eva T.A.* et al. Structure and properties of bis(1-phenyl-1h-tetrazole-5-thiolate)diiron tetranitrosyl. // *Journal of Molecular Structure.* – 2013. – V. 1041. – P. 183–189.
819. *Sanina N.A., Aldoshin S.M., Shmatko N.Y.* et al. Mesomeric tautomerism of ligand is a novel pathway for synthesis of cationic dinitrosyl iron complexes: X-ray structure and properties of nitrosyl complex with thiourea. // *Inorganic Chemistry Communications.* – 2014. – V. 49. – P. 44–47.
820. *McCarthy S.M., Bove P.F., Matthews D.E.* et al. Nitric Oxide Regulation of MMP-9 Activation and Its Relationship to Modifications of the Cysteine Switch. // *Biochemistry.* – 2008. – V. 47. – № 21. – P. 5832–5840.
821. *Maret W.* Zinc coordination environments in proteins as redox sensors and signal transducers. // *Antioxidants & redox signaling.* – 2006. – V. 8. – № 9-10. – P. 1419–1441.
822. *Gömöri K., Szabados T., Kenyeres É.* et al. Cardioprotective Effect of Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitors. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2020. – V. 21. – № 19.
823. *Spaulding K., Takaba K., Collins A.* et al. Short term doxycycline treatment induces sustained improvement in myocardial infarction border zone contractility. // *PLOS ONE.* – 2018. – V. 13. – № 2. – P. 1–17.
824. *Medina S., Zhou X., Lauer F. T.* et al. Modulation of PARP activity by Monomethylarsonous (MMA+3) acid and uranium in mouse thymus. // *Toxicology and Applied Pharmacology.* – 2021. – V. 411. – P. 115362.
825. *Sidorkina O., Espey M.G., Miranda K.M.* et al. Inhibition of poly(ADP-RIBOSE) polymerase (PARP) by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2003. – V. 35. – № 11. – P. 1431–1438.
826. *Espey M.G., Miranda K.M., Feelisch M., Fukuto J., Grisham M.B., Vitek M.P., Wink D.A.* Mechanisms of cell death governed by the balance between nitrosative and oxidative stress. // *Ann N Y Acad Sci.* 2000. V. 899. P. 209–221. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06188.x.
827. *Sidorkina O., Espey M.G., Miranda K.M.* et al. Inhibition of poly(ADP-RIBOSE) polymerase (PARP) by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2003. – V. 35. – № 11. – P. 1431–1438.
828. *Bowes J., McDonald M.C., Piper J., Thiemermann C.* Inhibitors of poly (ADP-ribose) synthetase protect rat cardiomyocytes against oxidant stress. // *Cardiovascular research.* – 1999. – V. 41. – № 1. – P. 126–134.
829. *Halmosi R., Berente Z., Osz E.* et al. Effect of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors on the ischemia-reperfusion-induced oxidative cell damage and mitochondrial metabolism in Langendorff heart perfusion system. // *Molecular pharmacology.* – 2001. – V. 59. – № 6. – P. 1497–1505.
830. *Gilad E., Zingarelli B., Salzman A.L., Szabó C.* Protection by Inhibition of Poly (ADP-ribose) Synthetase Against Oxidant Injury in Cardiac Myoblasts

- In Vitro. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1997. – V. 29. – № 9. – P. 2585–2597.
831. *Wooster R., Cleton-Jansen A. M., Collins N.* et al. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. // Nature genetics. – 1994. – V. 6. – № 2. – P. 152–156.
832. *Shridhar V., Siegfried J., Hunt J.* et al. Genetic instability of microsatellite sequences in many non-small cell lung carcinomas. // Cancer research. – 1994. – V. 54. – № 8. – P. 2084–2087.
833. *Indraccolo S., Minuzzo S., Nicoletti L.* et al. Mutator phenotype in human hematopoietic neoplasms and its association with deletions disabling DNA repair genes and bcl-2 rearrangements. // Blood. – 1999. – V. 94. – № 7. – P. 2424–2432.
834. *Ben-Yehuda D., Krichevsky S., Caspi O.* et al. Microsatellite instability and p53 mutations in therapy-related leukemia suggest mutator phenotype. // Blood. – 1996. – V. 88. – № 11. – P. 4296–4303.
835. *Tentori L., Portarena I., Barbarino M.* et al. Inhibition of telomerase increases resistance of melanoma cells to temozolomide, but not to temozolomide combined with poly (adp-ribose) polymerase inhibitor. // Molecular pharmacology. – 2003. – V. 63. – № 1. – P. 192–202.
836. *Delaney C.A., Wang L.Z., Kyle S.* et al. Potentiation of temozolomide and topotecan growth inhibition and cytotoxicity by novel poly (adenosine diphosphoribose) polymerase inhibitors in a panel of human tumor cell lines. // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. – 2000. – V. 6. – № 7. – P. 2860–2867.
837. *Tentori L., Lacal P.M., Benincasa E.* et al. Role of wild-type p53 on the antineoplastic activity of temozolomide alone or combined with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. – 1998. – V. 285. – № 2. – P. 884–893.
838. *Szabó G., Bährle S., Stumpf N.* et al. Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibition reduces reperfusion injury after heart transplantation. // Circulation research. – 2002. – V. 90. – № 1. – P. 100–106.
839. *Yang Z., Zingarelli B., Szabó C.* Effect of genetic disruption of poly (ADP-ribose) synthetase on delayed production of inflammatory mediators and delayed necrosis during myocardial ischemia-reperfusion injury. // Shock (Augusta, Ga.). – 2000. – V. 13. – № 1. – P. 60–66.
840. *Liaudet L., Yang Z., Al-Affar E. B., Szabó C.* Myocardial ischemic preconditioning in rodents is dependent on poly (ADP-ribose) synthetase. // Molecular medicine (Cambridge, Mass.). – 2001. – V. 7. – № 6. – P. 406–417.
841. *Kaesler N., Babler A., Floege J., Kramann R.* Cardiac Remodeling in Chronic Kidney Disease. // Toxins (Basel). 2020. V. 12. P. 161. doi.org/10.3390/toxins12030161.

842. *Putra B.E., Jonny, Soewandi A.H.* Renal Intra-Arterial Heparin Flushing for Blood Pressure Control in Refractory Hypertension: A New Method to Salvage the Unsalvageable Renal Artery Stenosis. // *Indian J Nephrol.* 2019. V. 29. P. 200–203. doi.org/10.4103/ijn.IJN_194_18.
843. *Zhang Z.Y., Qian L.L., Wang R.X.* Molecular mechanisms underlying renin-angiotensin-aldosterone system mediated regulation of BK channels. // *Front Physiol.* 2017. V. 8. P. 698. doi.org/10.3389/fphys.2017.00698.
844. *Beusekamp J.C., Tromp J., Cleland J.G.F., Givertz M.M., Metra M., O'Connor C.M., Teerlink J.R., Ponikowski P., Ouwerkerk W., van Veldhuisen D.J., Voors A.A., van der Meer P.* Hyperkalemia and Treatment With RAAS Inhibitors During Acute Heart Failure Hospitalizations and Their Association With Mortality. // *JACC Heart Fail.* 2019. V. 7. P. 970–979. doi.org/10.1016/j.jchf.2019.07.010.
845. *Murohara T.* Role of RAAS inhibitors for the treatment of heart failure. // *Nihon Rinsho.* 2012. V. 70. P. 1577–1581.
846. *De Lima R.G., Silva B.R., da Silva R.S., Bendhack L.M.* Ruthenium complexes as NO donors for vascular relaxation induction. // *Molecules.* 2014. V. 19. P. 9628–9654. doi.org/10.3390/molecules19079628.
847. *Palatini P., Grassi G.* Nondipping status and impaired nitroglycerin-mediated vasodilation in resistant hypertension: evidence and mechanisms. // *J Hypertens.* 2015. V. 33. P. 1533–1535. doi.org/10.1097/HJH.0000000000000641.
848. *Münzel T., Steven S., Daiber A.* Organic nitrates: update on mechanisms underlying vasodilation, tolerance and endothelial dysfunction. // *Vascul Pharmacol.* 2014. V. 63. P. 105–113. doi.org/10.1016/j.vph.2014.09.002.
849. *Ahmad A., Dempsey S.K., Daneva Z.* et al. Role of Nitric Oxide in the Cardiovascular and Renal Systems. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2018. – V. 19. – № 9.
850. *Divakaran S., Loscalzo J.* The Role of Nitroglycerin and Other Nitrogen Oxides in Cardiovascular Therapeutics. // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2017. – V. 70. – № 19. – P. 2393–2410.
851. *Bian K., Doursout M.-F., Murad F.* Vascular System: Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Diseases. // *The Journal of Clinical Hypertension.* – 2008. – V. 10. – № 4. – P. 304–310.
852. *Howard M.D., Hood E.D., Zern B.* et al. Nanocarriers for Vascular Delivery of Anti-Inflammatory Agents. // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* – 2014. – V. 54. – № 1. – P. 205–226.
853. *Carrillo-Larco R.M., Bernabe-Ortiz A.* A divergence between underlying and final causes of death in selected conditions: an analysis of death registries in Peru. // *PeerJ.* – 2018. – V. 6. – P. e5948.
854. *Morphy R., Kay C., Rankovic Z.* From magic bullets to designed multiple ligands. // *Drug. Discov. Today.* 2004. V. 9. № 15. P. 641–651. doi:10.1016/S1359-6446(04)03163-0.

855. *Wöhrle J., Nusser T., Hoffmeister A., Kestler H.A., Grebe O.C., Höher M.* et al. Effect of molsidomine on rheological parameters and the incidence of cardiovascular events. // *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2003. V. 128. № 24. P. 1333–1337. doi:10.1055/s-2003-39973.
856. *Keefer L.K., Nims R.W., Davies K.M., Wink D.A.* "NONOates" (1-substituted diazen-1-ium-1,2-diolates) as nitric oxide donors: convenient nitric oxide dosage forms. // *Methods Enzymol.* 1996. V. 268. P. 281–293. doi:10.1016/s0076-6879(96)68030-6.
857. *Fitzhugh A.L., Keefer L.K.* Diazeniumdiolates: pro- and antioxidant applications of the "NONOates". // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. V. 28. № 10. P. 1463–1469. doi:10.1016/s0891-5849(00)00251-3.
858. *Anthony A.R., Rhodes P.* Chemistry, analysis, and biological roles of S-nitrosothiols. // *Anal. Biochem.* 1997. V. 249. № 1. P. 1–9. doi:10.1006/abio.1997.2129.
859. *Gaston B.* Nitric oxide and thiol groups. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V. 1411. № 2-3. P. 323–333. doi:10.1016/s0005-2728(99)00023-7.
860. *Oszajca J., Stochel G., Wasielewska E., Stasicka Z., Gryglewski R.J., Jakubowski A.* et al. Cyanonitrosylmetallates as potential NO-donors. // *J. Inorg. Biochem.* 1998. V. 69. № 1-2. P. 121–127. doi:10.1016/s0162-0134(97)10032-0.
861. *Costanzo S., Ménage S., Purrello R.* et al. Re-examination of the formation of dinitrosyl–iron complexes during reaction of S-nitrosothiols with Fe(II). // *Inorganica Chimica Acta.* – 2001. – V. 318. – № 1. – P. 1–7.
862. *Lancaster J. R.* The use of diamino fluorescein for nitric oxide detection: Conceptual and methodological distinction between NO and nitrosation. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2010. – V. 49. – № 6. – P. 1145.
863. *Tsai M.-L., Chen C.-C., Hsu I.-J.* et al. Photochemistry of the Dinitrosyl Iron Complex [S5Fe(NO)2]- Leading to Reversible Formation of [S5Fe(μ -S)2FeS5]2-: Spectroscopic Characterization of Species Relevant to the Nitric Oxide Modification and Repair of [2Fe–2S] Ferredoxins. // *Inorganic Chemistry.* – 2004. – V. 43. – № 16. – P. 5159–5167.
864. *Turella P., Pedersen J.Z., Caccuri A.M.* et al. Glutathione Transferase Superfamily Behaves Like Storage Proteins for Dinitrosyl-Diglutathionyl-Iron Complex in Heterogeneous Systems. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2003. – V. 278. – № 43. – P. 42294–42299.
865. *Yang W., Rogers P.A., Ding H.* Repair of Nitric Oxide-modified Ferredoxin [2Fe–2S] Cluster by Cysteine Desulfurase (IscS). // *Journal of Biological Chemistry.* – 2002. – V. 277. – № 15. – P. 12868–12873.
866. *Butler A. R., Megson I. L.* Non-Heme Iron Nitrosyls in Biology. // *Chemical Reviews.* – 2002. – V. 102. – № 4. – P. 1155–1166.
867. *Sanina N.A., Shmatko N.Y., Korchagin D.V.* et al. A new member of the cationic dinitrosyl iron complexes family incorporating N-ethylthiourea is effective against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. // *Journal of Coordination Chemistry.* – 2016. – V. 69. – № 5. – P. 812–825.

868. *Shmatko N.Y., Korchagin D.V., Shilov G.V.* et al. The cationic dinitrosyl iron complexes family with thiocarbamide derivatives: Synthesis, structure and properties in the solid state. // *Polyhedron*. – 2017. – V. 137. – P. 72–80.
869. *Schiewer C.E., Müller C.S., Dechert S.* et al. Effect of oxidation and protonation states on [2Fe–2S] cluster nitrosylation giving {Fe(NO)₂}⁹ dinitrosyl iron complexes (DNICs). // *Inorganic chemistry*. – 2018. – V. 58. – № 1. – P. 769–784.
870. *Aldoshin S.M., Sanina N.A., Davydov M.I., Chazov E.I.* A new class of nitric oxide donors. // *Herald of the Russian Academy of Sciences*. – 2016. – V. 86. – № 3. – P. 158–163.
871. *Raffetto J.D., Calanni F., Mattana P., Khalil R.A.* Sulodexide promotes arterial relaxation via endothelium-dependent nitric oxide-mediated pathway. // *Biochemical Pharmacology*. – 2019. – V. 166. – P. 347–356.
872. *Omar S.A., Webb A.J., Lundberg J.O., Weitzberg E.* Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. // *Journal of Internal Medicine*. – 2016. – V. 279. – № 4. – P. 315–336.
873. *Naseem K.M.* The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2005. – V. 26. – № 1. – P. 33–65.
874. *Komatsu S., Kitazawa T., Ikebe M.* Visualization of stimulus-specific heterogeneous activation of individual vascular smooth muscle cells in aortic tissues. // *Journal of Cellular Physiology*. – 2018. – V. 233. – № 1. – P. 434–446.
875. *Hou J., He H., Huang S.* et al. A mitochondria-targeted nitric oxide donor triggered by superoxide radical to alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury. // *Chem. Commun.* – 2019. – V. 55. – № 9. – P. 1205–1208.
876. *Nisoli E., Clementi E., Paolucci C., Cozzi V., Tonello C., Sciorati C.* et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. // *Science*. 2003. V. 299. № 5608. P. 896–899. doi: 10.1126/science.1079368.
877. *Akentieva N.P., Sanina N.A., Gizatullin A.R., N.I. Shkondina N.I., Prikhodchenko T.R., Shram S.I., Zhelev N. and Aldoshin S.M.* Cytoprotective Effects of Dinitrosyl Iron Complexes on Viability of Human Fibroblasts and Cardiomyocytes. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019.- V.10, Article 1277, P. 1–21. doi:10.3389/fphar.2019.01277
878. *Lascaratos G., Garway-Heath D.F., Willoughby C.E., Chau K.Y., Schapira A.H.* Mitochondrial dysfunction in glaucoma: understanding genetic influences. // *Mitochondrion*. 2012. V. 12. № 2. P. 202–212. doi: 10.1016/j.mito.2011.11.004.
879. *Rivankar S.* An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2014. – V. 10. – № 4. – P. 853–858.
880. *Dubbelboer I.R., Lilienberg E., Sjögren E., Lennernäs H.A* Model-Based Approach To Assessing the Importance of Intracellular Binding Sites in Doxorubicin Disposition. // *Molecular Pharmaceutics*. – 2017. – V. 14. – № 3. – P. 686–698.

881. Childs A.C., Phaneuf S.L., Dirks A.J. et al. Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio. // *Cancer Research*. – 2002. – V. 62. – № 16. – P. 4592–4598.
882. Mukhopadhyay P., Rajesh M., Bátkai S. et al. Role of superoxide, nitric oxide, and peroxynitrite in doxorubicin-induced cell death in vivo and in vitro. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2009. – V. 296. – № 5. – P. H1466–H1483.
883. Kuznetsov A.V., Margreiter R., Amberger A. et al. Changes in mitochondrial redox state, membrane potential and calcium precede mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced cell death. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2011. – V. 1813. – № 6. – P. 1144–1152.
884. Sifaoui I., López-Arencibia A., Martín-Navarro C.M. et al. In vitro effects of triterpenic acids from olive leaf extracts on the mitochondrial membrane potential of promastigote stage of *Leishmania* spp. // *Phytomedicine*. – 2014. – V. 21. – № 12. – P. 1689–1694.
885. Serafino A., Sinibaldi-Vallebona P., Lazzarino G. et al. Modifications of mitochondria in human tumor cells during anthracycline-induced apoptosis. // *Anticancer research*. – 2000. – V. 20. – № 5B. – P. 3383–3394.
886. Podyacheva E.Y., Kushnareva E.A., Karpov A.A., Toropova Y.G. Analysis of Models of Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy in Rats and Mice. A Modern View From the Perspective of the Pathophysiologist and the Clinician. // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – V. 12.
887. Koleini N., Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. // *Oncotarget*. – 2017. – V. 8. – № 28. – P. 46663.
888. Islam M.S. Calcium Signaling in the Islets // In book: *Islets of Langerhans*. Edition: 2nd Chapter: 21 Publisher: Springer Editors: Md. Shahidul Islam, 2014. P. 606–624.
889. Wang T., Gu J., Wu P.-F. et al. Protection by tetrahydroxystilbene glucoside against cerebral ischemia: involvement of JNK, SIRT1, and NF- κ B pathways and inhibition of intracellular ROS/RNS generation. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2009. – V. 47. – № 3. – P. 229–240.
890. Montaigne D., Hurt C., Nevier R. Mitochondria death/survival signaling pathways in cardiotoxicity induced by anthracyclines and anticancer-targeted therapies. // *Biochemistry research international*. – 2012. – V. 2012. – P. 951539.
891. Skulachev V.P. Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. // *Quarterly Reviews of Biophysics*. – 1996. – V. 29. – № 2. – P. 169–202.
892. Silachev D.N., Plotnikov E.Y., Pevzner I.B. et al. Neuroprotective Effects of Mitochondria-Targeted Plastoquinone in a Rat Model of Neonatal Hypoxic–

- Ischemic Brain Injury. // *Molecules*. – 2018. – V. 23. – № 8.
893. *Rolo A.P., Palmeira C.M.* Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2006. – V. 212. – № 2. – P. 167–178.
894. *Nabben M., Shabalina I.G., Moonen-Kornips E.* et al. Uncoupled respiration, ROS production, acute lipotoxicity and oxidative damage in isolated skeletal muscle mitochondria from UCP3-ablated mice. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. – 2011. – V. 1807. – № 9. – P. 1095–1105.
895. *Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A.* High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. // *FEBS Letters*. – 1997. – V. 416. – № 1. – P. 15–18.
896. *Normoyle K.P., Kim M., Farahvar A., Llano D., Jackson K., Wang H.* The emerging neuroprotective role of mitochondrial uncoupling protein-2 in traumatic brain injury. // *Transl. Neurosci.* 2015. V. 6. № 1. P. 179–186. doi: 10.1515/tnsci-2015-0019.
897. *Kwok K.H., Ho P.W., Chu A.C., Ho J.W., Liu H.F., Yiu D.C.* et al. Mitochondrial UCP5 is neuroprotective by preserving mitochondrial membrane potential, ATP levels, and reducing oxidative stress in MPP⁺ and dopamine toxicity. // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 49. № 6. P. 1023–1035. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.06.017.
898. *Perez-Pinzon M. A., Stetler R. A., Fiskum G.* Novel mitochondrial targets for neuroprotection. // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012. V. 32. № 7. P. 1362–1376. doi: 10.1038/jcbfm.2012.32.
899. *Genrikhs E.E., Stelmashook E.V., Alexandrova O.P., Novikova S.V., Voronkov D.N., Glibka Y.A.* et al. The single intravenous administration of mitochondria-targeted antioxidant SkQR1 after traumatic brain injury attenuates neurological deficit in rats. // *Brain Res. Bull.* 2019. V. 148. P. 100–108. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.03.011.
900. *Lyamzaev K.G., Tokarchuk A.V., Panteleeva A.A., Mulkidjanian A.Y., Skulachev V.P., Chernyak B.V.* Induction of autophagy by depolarization of mitochondria. // *Autophagy*. 2018. V. 14. № 5. P. 921–924. doi: 10.1080/15548627.2018.1436937.
901. *Genrikhs E.E., Stelmashook E.V., Alexandrova O.P.* et al. The single intravenous administration of mitochondria-targeted antioxidant SkQR1 after traumatic brain injury attenuates neurological deficit in rats. // *Brain Research Bulletin*. – 2019. – V. 148. – P. 100–108.
902. *Isaev N.K., Novikova S.V., Stelmashook E.V., Barskov I.V., Silachev D.N., Khaspekov L.G., Skulachev V.P., Zorov D.B.* Mitochondria-targeted plastoquinone antioxidant SkQR1 decreases trauma-induced neurological deficit in rat. *Biochemistry (Mosc)*. 2012. – V.77. №9. P. 996–9. doi: 10.1134/S0006297912090052.
903. *Korshunova G.A., Shishkina A.V., Skulachev M.V.* Design, synthesis, and some aspects of the biological activity of mitochondria-targeted antioxidants. // *Biochemistry (Moscow)*. – 2017. – V. 82. – № 7. – P. 760–777.

904. Gori T., Di Stolfo G., Dragoni S., Lisi M., Leone M. C., Forconi S. et al. The mechanism of nitrate-induced preconditioning. // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2008. V. 39. P. 191–196. doi.org/10.3233/CH-2008-1081.
905. Divakaran S., Loscalzo J. The role of nitroglycerin and other nitrogen oxides in cardiovascular therapeutics. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017. V. 70. № 19. P. 2393–2410. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.1064.
906. Aly H.A., Domenech O. Aroclor 1254 induced cytotoxicity and mitochondrial dysfunction in isolated rat hepatocytes. // *Toxicology.* 2009. V. 262. № 3. P. 175–183. doi: 10.1016/j.tox.2009.05.018.
907. Wong M. W., Nobes R. H., Bouma W. J., Radom L. Isoelectronic analogs of molecular nitrogen: Tightly bound multiply charged species. // *The Journal of chemical physics.* – 1989. – V. 91. – № 5. – P. 2971–2979.
908. Rahmanto Y.S., Kalinowski D.S., Lane D. J. R. et al. Nitrogen monoxide (NO) storage and transport by dinitrosyl-dithiol-iron complexes: long-lived NO that is trafficked by interacting proteins. // *Journal of Biological Chemistry.* – 2012. – V. 287. – № 10. – P. 6960–6968.
909. Birrell J.A., Yakovlev G., Hirst J. *Reactions of the Flavin Mononucleotide in Complex I: A Combined Mechanism Describes NADH Oxidation Coupled to the Reduction of APAD⁺, Ferricyanide, or Molecular Oxygen.* // *Biochemistry.* – 2009. – V. 48. – № 50. – P. 12005–12013.
910. Whitehouse D.G., Moore A.L. *Respiratory Chain and ATP Synthase.* // in *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition).* – 2013. – P. 83–86.
911. Efremov R.G., Baradaran R., Sazanov L.A. The architecture of respiratory complex I. // *Nature.* – 2010. – V. 465. – № 7297. – P. 441–445.
912. Whiteman M., Chua Y.L., Zhang D. et al. Nitric oxide protects against mitochondrial permeabilization induced by glutathione depletion: role of S-nitrosylation? // *Biochemical and biophysical research communications.* – 2006. – V. 339. – № 1. – P. 255–262.
913. Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. // *Biochemical journal.* – 2009. – V. 417. – № 1. – P. 1–13.
914. Yang T., Zelikin A.N., Chandrawati R. Progress and promise of nitric oxide-releasing platforms. // *Advanced Science.* – 2018. – V. 5. – № 6. – P. 1701043.
915. Grivennikova V.G., Kotlyar A.B., Karliner J.S. et al. Redox-dependent change of nucleotide affinity to the active site of the mammalian complex I. // *Biochemistry.* – 2007. – V. 46. – № 38. – P. 10971–10978.
916. Kwok K. H.-H., Ho P. W.-L., Chu A. C.-Y. et al. Mitochondrial UCP5 is neuroprotective by preserving mitochondrial membrane potential, ATP levels, and reducing oxidative stress in MPP⁺ and dopamine toxicity. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2010. – V. 49. – № 6. – P. 1023–1035.
917. Bachhawat A.K., Yadav S. The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the γ -glutamyl cycle. // *IUBMB Life.* – 2018. – V. 70. – № 7. – P. 585–592.

918. Kim S.-J., Jung H.-J., Hyun D.-H. et al. Glutathione reductase plays an anti-apoptotic role against oxidative stress in human hepatoma cells. // *Biochimie*. – 2010. – V. 92. – № 8. – P. 927–932.
919. Parvez S., Long M. J. C., Poganik J. R., Aye Y. Redox Signaling by Reactive Electrophiles and Oxidants. // *Chemical Reviews*. – 2018. – V. 118. – № 18. – P. 8798–8888.
920. Traverso N., Ricciarelli R., Nitti M. et al. Role of Glutathione in Cancer Progression and Chemoresistance. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – V. 2013. – P. 972913.
921. Robaczewska J., Kedziora-Kornatowska K., Kozakiewicz M. et al. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. // *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. – 2016. – V. 67. – № 3. – P. 331–337.
922. Lu S. C., Mato J. M., Espinosa-Diez C., Lamas S. MicroRNA-mediated regulation of glutathione and methionine metabolism and its relevance for liver disease. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2016. – V. 100. – P. 66–72.
923. Forman H.J. Glutathione—From antioxidant to post-translational modifier. // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 2016. – V. 595. – P. 64–67.
924. Rushworth G.F., Megson I.L. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. // *Pharmacology & therapeutics*. – 2014. – V. 141. – № 2. – P. 150–159.
925. Tchouague M., Grondin M., Glory A., Averill-Bates D. Heat shock induces the cellular antioxidant defenses peroxiredoxin, glutathione and glucose 6-phosphate dehydrogenase through Nrf2. // *Chemico-Biological Interactions*. – 2019. – V. 310. – P. 108717.
926. Nagapan T.S., Lim W.N., BaSri D.F., Ghazali A.R. Oral supplementation of L-glutathione prevents UVB-induced melanogenesis and oxidative stress in BALB/c mice. // *Experimental Animals*. – 2019. – P. 17–19.
927. Sarniak A., Lipińska J., Tytman K., Lipińska S. Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation. // *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)*. – 2016. – V. 70. – P. 1150–1165.
928. Ravera S., Bartolucci M., Cuccarolo P. et al. Oxidative stress in myelin sheath: The other face of the extramitochondrial oxidative phosphorylation ability. // *Free radical research*. – 2015. – V. 49. – № 9. – P. 1156–1164.
929. Liu T., Zhang M., Mukosera G. T. et al. L-NAME releases nitric oxide and potentiates subsequent nitroglycerin-mediated vasodilation. // *Redox biology*. – 2019. – V. 26. – P. 101238.
930. Grancara S., Zonta F., Ohkubo S. et al. Pathophysiological implications of mitochondrial oxidative stress mediated by mitochondriotropic agents and polyamines: the role of tyrosine phosphorylation. // *Amino Acids*. – 2015. – V. 47. – № 5. – P. 869–883.

931. *Haller H., Cosentino F., Lüscher T. F.* Endothelial dysfunction, hypertension and atherosclerosis. // *Drugs in R & D.* – 2002. – V. 3. – № 5. – P. 311–323.
932. *Suski J., Lebiezinska M., Bonora M.* et al. Relation between mitochondrial membrane potential and ROS formation. // *Mitochondrial Bioenergetics.* – 2018. – P. 357–381.
933. *Salimi A., Pourahmad J.* Measurement of mitochondrial toxicity parameters in embryonic hippocampus. // *Teratogenicity Testing.* – 2018. – P. 537–544.
934. *Kleme M. L., Sané A., Garofalo C.* et al. CFTR deletion confers mitochondrial dysfunction and disrupts lipid homeostasis in intestinal epithelial cells. // *Nutrients.* – 2018. – V. 10. – № 7. – P. 836.
935. *Lin N., Zhang H., Su Q.* Advanced glycation end-products induce injury to pancreatic beta cells through oxidative stress. // *Diabetes & metabolism.* – 2012. – V. 38. – № 3. – P. 250–257.
936. *Lin N., Chen H., Zhang H.* et al. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) inhibition ameliorates palmitate-induced INS-1 beta cell death. // *Endocrine.* – 2012. – V. 42. – № 1. – P. 107–117.
937. *Czarna M., Jarmuszkiewicz W.* Role of mitochondria in reactive oxygen species generation and removal; relevance to signaling and programmed cell death. // *Postepy biochemii.* – 2006. – V. 52. – № 2. – P. 145–156.
938. *Pyshkina O. A., Boeva Z.A., Volosova N. S., Sergeev V. G.* Peculiarities of stable multi-walled carbon nanotubes dispersions formation in the presence of polycarbonic acids. // *Butlerov communications.* – 2013. – V. 35. – № 8. – P. 20–24.
939. *Parveen A., Malashetty V.B., Mantripragada B.* et al. Bio-functionalized gold nanoparticles: Benign effect in Sprague-Dawley rats by intravenous administration. // *Saudi Journal of Biological Sciences.* – 2017. – V. 24. – № 8. – P. 1925–1932.
940. *Mazitova G.T., Kiyenskaya K.I., Hlopetskii O.G.* et al. Antimicrobial activity vs. shape of zinc oxide nanoparticles. // *Butlerov communications.* – 2017. – V. 52. – № 12. – P. 119–123.
941. *Алексеев А.А., Брылев М.И., Королев В.Л.* и др. Пептидные ингибиторы агрегации тромбоцитов. Часть 3. Разработка технологии получения лиофилизата наночастиц гетеромерного пептида с антиагрегационным действием. // *Бутлеровские сообщения.* – 2016. – Т. 46. – № 6. – С. 28–31.
942. *Xu X., Wang X., Luo W.* et al. Triple cell-responsive nanogels for delivery of drug into cancer cells. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2018. – V. 163. – P. 362–368.
943. *Adjei I. M.* Nanomaterial: Impacts on Cell Biology and Medicine / I. M. Adjei, B. Sharma, V. Labhasetwar. – 2014.
944. *La Fuente M. De., Seijo B., Alonso M. J.* Design of novel polysaccharidic nanostructures for gene delivery. // *Nanotechnology.* – 2008. – V. 19. – № 7. – P. 75105.

-
945. *Aktaş Y., Andrieux K., Alonso M.J.* et al. Preparation and in vitro evaluation of chitosan nanoparticles containing a caspase inhibitor. // *International journal of pharmaceutics.* – 2005. – V. 298. – № 2. – P. 378–383.
946. *Alonso-Sande M., Cuna M., Remuñán-López C.* et al. Formation of new glucomannan–chitosan nanoparticles and study of their ability to associate and deliver proteins. // *Macromolecules.* – 2006. – V. 39. – № 12. – P. 4152–4158.
947. *Calvo P., Remunan-Lopez C., Vila-Jato J.L., Alonso M.J.* Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. // *Journal of applied polymer science.* – 1997. – V. 63. – № 1. – P. 125–132.
948. *La Fuente M. De., Seijo B., Alonso M.J.* Novel hyaluronan-based nanocarriers for transmucosal delivery of macromolecules. // *Macromolecular bioscience.* – 2008. – V. 8. – № 5. – P. 441–450.
949. *Shah S., Chandra A., Kaur A.* et al. Fluorescence properties of doxorubicin in PBS buffer and PVA films. // *Journal of photochemistry and photobiology Biology.* – 2017. – V. 170. – P. 65–69.
950. *Cabrales P., Han G., Roche C.* et al. Sustained release nitric oxide from long-lived circulating nanoparticles. // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2010. – V. 49. – № 4. – P. 530–535.
951. *Oleshkevich E.* Merging Icosahedral Boron Clusters and Magnetic Nanoparticles: Aiming toward Multifunctional Nanohybrid Materials. / E. Oleshkevich, F. Teixidor, A. Rosell, C. Viñas // *Inorganic chemistry.* – 2018. – Vol. 57. – № 1. – P. 462–470.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ХИМИЧЕСКОЙ
ФИЗИКИ И МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ» РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК

Акентьева Н.П., Санина Н.А., Гизатуллин А.Р.

**ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ
ЖЕЛЕЗА (ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА) -
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ
ЛЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Издатель – Российская академия наук

Публикуется в авторской редакции

Издается по решению Научно-издательского совета
Российской академии наук (НИСО РАН) от 31.03.2023 г.
и распространяется бесплатно

Подписано в печать 20.11.2023. Формат 70x100/16. 28,25 усл. печ. л.
Гарнитура Times New Roman
Печать офсетная. Бумага мелованная. Тираж 300 экз. Заказ 23-08402

Отпечатано в типографии ООО «КОНСТАНТА».
308519, Белгородская обл., Белгородский р-н, пос. Северный, ул. Березовая, 1/12.
Тел./факс (4722) 300-720, www.konstanta-print.ru