

УДК. 577.3

ВАЗОДИЛАТАТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛ-СОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ

А.Ф. Ванин¹, д.б.н., профессор; В.П. Мох²; А.П. Полтораков¹, к.х.н.; В.А. Сереженков¹, к.б.н.; Д.В. Микоян¹, к.б.н.; Л.Н. Кубрина¹, к.б.н.

Институт химической физики им.Н.Н.Семенова Российской академии наук
Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Москва

Идентифицирована природа стабильного соединения, ответственного за длительную дилатацию изолированных сосудистых препаратов из брюшной аорты, наблюдаемую при введении в среду инкубации моно- и биядерных динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с цистеином. Этим соединением является нитрозильный комплекс железа с цистеином, возникающий при окислении значительной части этого тиола в аэробных условиях. Не исключено, что этот комплекс представляет собой эфир цистеина и чёрной соли Руссена.

Ключевые слова: цистеин, динитрозильные комплексы железа.

The nature of a stable compound responsible for prolonged dilatation of isolated vascular specimens taken from the abdominal aorta has been identified. The dilating effect was observed when mono- and binuclear dinitrosyl iron complex (DNIC) with cysteine had been introduced into the incubation medium. The concerned compound is nitrosyl iron complex with cysteine produced by oxidation of the considerable part of this thiol under aerobic conditions. It cannot be excluded that this complex is ether of cysteine and Roussin's black salt.

Key words: cysteine, dinitrosyl iron complex.

Введение

Парамагнитные мономерные динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиолатными лигандами (формула $\{(RS)_2Fe^+(NO^+)_2\}^+$) (18), где RS^- – низкомолекулярные или белковые группы, представляют собой одну из форм существования одного из универсальных регуляторов метаболических процессов – оксида азота (NO) в организме животных и человека [10]. В белок связанной форме ДНКЖ обеспечивают стабилизацию и депонирование NO; в низкомолекулярной форме – перенос NO к мишеням его действия [18].

Низкомолекулярные ДНКЖ с цистеином или глутатионом могут быть синтезированы химическим путём и стабилизированы в матрице водорастворимого полимера. Как доноры NO, эти комплексы могут оказывать различное биохимическое и физиологическое действие – модулировать активность ряда ферментов (6,15) и генов (1,8), вызывать у животных длительную гипотензию [11, 12], обусловленную вазодилаторной активностью [9, 17, 20], ингибировать агрегацию тромбоцитов [3], ускорять заживление кожных ран [5], вызывать эрекцию пениса у животных [2]. Более того, сами по себе эти комплексы характеризуются сильной антиоксидантной активностью [14]. Последнее проявляется в их способности реагировать с супероксидными радикалами с константой скорости $7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ сек}^{-1}$, что приводит к необратимой гибели этих комплексов [14]. В связи с этим, ДНКЖ с тиолатными лигандами как перехватчики супероксидных радикалов могут благотворно влиять на работу митохондрий и других клеточных органелл. Именно такое влияние могло обеспечивать кардиопр-

текторное действие на изолированное сердце, обнаруженное на этом препарате в наших опытах с ишемией-реперфузией изолированного сердца, вызывающей экспериментальный инфаркт-миокарда [4].

Ранее нами было обнаружено, что вазодилатирующее действие моно- и биядерных динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с цистеином приводит по мере повышения концентрации этих комплексов к появлению длительной фазы длительной релаксации сосудов [17]. При концентрации ДНКЖ $5 \times 10^{-5} \text{ M}$, приводившей практически к 100%-й релаксации сосудов, восстановление их тонуса начиналось через 20-30 минут после введения вазодилатора. Поскольку оба типа ДНКЖ исчезали через несколько минут после их введения в среду инкубации, было предположено, что длительная вазодилатация была обусловлена S-нитрозоцистеином (cys-NO), образующимся в реакции молекул цистеина с ионами нитрозония (NO^+), высвобождающимися из распадающихся ДНКЖ. Стабилизация cys-NO могла обеспечиваться присутствующим в среде инкубации ЭДТА, хелатором переходных металлов, защищающим cys-NO от разрушающего действия на него последних. Вклад в эффект длительной вазодилатации могли вносить и свободные молекулы NO, аккумулирующиеся в среде при распаде ДНКЖ.

В настоящей работе проведена проверка этих предположений. Показана их несостоятельность, что позволило перейти к другому предположению о природе соединений, определяющих длительную вазодилатацию, инициируемую высокими концентрациями моно- и биядерной форм ДНКЖ с цис-

теином (соответственно, М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ). Такими соединениями могут быть полиядерные формы ДНКЖ, например, цистеиновый эфир чёрной соли Руссена.

Материалы и методика

В экспериментах использовали норадrenalин (НА) (RBI, США), сульфат железа (Fluka, Швейцария), L-цистеин (cys), восстановленный глутатион (Sigma, США). Оксид азота (NO) в газообразной форме получали в реакции сульфата железа с нитритом натрия в 0,1 М HCl с последующей очисткой NO методом низко-температурной сублимации в откачанной вакуумной системе [16].

Синтез ДНКЖ с цистеином или глутатионом

М-ДНКЖ или Б-ДНКЖ с цистеином или глутатионом достигался обработкой газообразным NO растворов сульфата железа, растворов цистеина или глутатиона в 15 mM Гепес буфере (pH 7,4) при молярном соотношении тиолов и железа, равным 1:20 (М-ДНКЖ) или 1:1 (Б-ДНКЖ) при давлении NO 100-150 мм рт. ст. Синтез проводили в аппарате Тунберга. В верхнюю часть аппарата вводили 0,5 мл сульфата железа в дистиллированной воде (pH 5,5), в нижнюю часть аппарата вводили 4,5 мл раствора тиолов. После вакуумирования аппарата в него вводили NO, после чего смешивали оба раствора с последующим встряхиванием смеси в присутствии NO в течение 5 минут и откачкой NO. Концентрация полученных растворов М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ, определяемая количеством использованного при их синтезе железа, составляла 5 mM. Растворы замораживали в жидком азоте и хранили в нём до проведения соответствующих экспериментов.

Эксперименты на изолированных сосудах

Эксперименты проводили на кольцевых сегментах длиной 2-3 мм, приготовленных из брюшной аорты крыс-самцов весом 250-300 г. После декапитации животных препарат брюшной аорты очищали от жировой и соединительной тканей при 0°C в среде Кребса следующего состава (в mM): NaCl 119, KCl 4,7, CaCl₂ 2,5, MgSO₄ 1,17, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1,18, ЭДТА 0,026, глюкоза 11; pH 7,35-7,4. Кольцевые сегменты аорты очищали от эндотелия путём вращения в сегментах деревянной палочки, покрытой хлопком. Сегменты подвешивали на стальных держателях в рабочей камере (5-10 мл), заполненной средой Кребса в термостатируемых условиях (при температуре 37°C) при исходной растягивающей нагрузке 10-20 мН. Среду продували карбогеном (95% O₂ + 5% CO₂). Регистрацию изометрического растяжения проводили на датчике силы UC-2 (Gold, США). Период стабилизации системы сегментов составлял 60-90 минут. ДНКЖ вводили кумулятивно после сокращения сегментов НА (10⁻⁷М). Концентрация ДНКЖ соответствовала количеству в этих комплексах железа.

ЭПР и оптические измерения

Спектры ЭПР ДНКЖ регистрировали при температуре 77К (для образцов в жидком азоте) или при комнатной температуре на радиоспектрометре ESC-106 EPR (Bruker, Германия). Оптические измерения проводили на спектрофотометре UV-2501PC (Shimadzu Europa GmbH, Германия) в открытых кюветах с оптическим путём 10 или 2 мм.

Результаты

Cys-NO и NO, накапливающийся в среде Кребса при распаде ДНКЖ, не ответственны за длительную вазодилатацию, инициируемую введением в эту среду ДНКЖ с цистеином.

В соответствии с литературными данными [19] использованный нами препарат cys-NO эффективно расслаблял изолированные сосуды, однако длительность этого действия в использованной нами среде инкубации, содержащей 0.026 mM Na₂-ЭДТА, не превышала нескольких минут. При концентрации 5×10⁻⁵М cys-NO вызывал 90-100%-ю релаксацию сосудов с последующим восстановлением тонуса сосудов в течение 5-8 минут (рис. 1). Для сравнения на том же рисунке показана кинетика вазодилатации сосудов, вызванная введением в среду инкубации 5×10⁻⁵М М-ДНКЖ или Б-ДНКЖ с цистеином. Таким образом, длительная дилатация сосудов, вызываемая обоими формами ДНКЖ с цистеином, не могла быть обусловлена cys-NO, который мог возникать при распаде этих комплексов.

О наличии cys-NO в среде инкубации можно было судить по их превращению в парамагнитные моно-ДНКЖ с цистеином. Последнее достигалось введением в среду 2 mM цистеина и 0.1 mM ферросульфата. Возникающие при этом моно-ДНКЖ с цистеином давали сигнал ЭПР, характерный для этих комплексов [15]. При температуре регистрации сигнала при 77К он имел анизотропную форму, обусловленную анизотропией g-фактора со значениями $g_{\perp}=2.04$, $g_{\parallel}=2.014$, при комнатной температуре регистрации сигнал имел форму узкого изот-

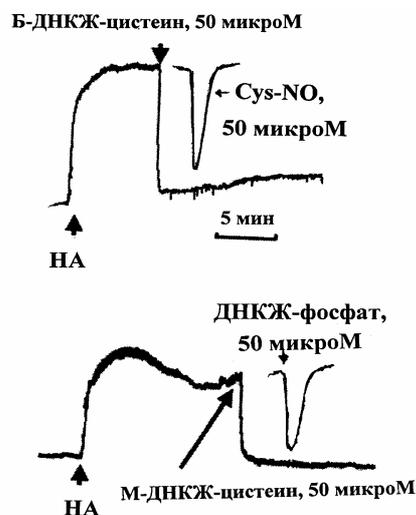


Рисунок 1 – Типичные кривые релаксации сосудов, вызванной введением в среду инкубации 50 микроМ Б-ДНКЖ и М-ДНКЖ с цистеином, cys-NO или ДНКЖ с фосфатом

ропного синглета с полушириной 0.7 мТ с центром при $g=2.03$ (рис. 2). Сигнал регистрировался в среде после добавления железа и цистеина через 1 минуту после введения cys-NO на фоне максимальной дилатации сосудов, вызываемой этим вазодилататором. Через 5-10 минут после введения последнего, когда тонус сосудов возвращался к исходному уровню, образования М-ДНКЖ с цистеином не наблюдалось, что, очевидно, было обусловлено полным распадом cys-NO . В аналогичных опытах с добавлением только цистеина или железа с цистеином в среду инкубации сосудов на фоне их полного расслабления, инициированного введением М-ДНКЖ или Б-ДНКЖ с цистеином, образования парамагнитных моно-ДНКЖ с цистеином не наблюдалось.

Длительная релаксация сосудов, инициируемая добавлением в среду инкубации сосудов ДНКЖ с цистеином, не могла быть обусловлена и накоплением в данной среде молекул NO , появляющихся в этой среде при распаде этих комплексов, о чем свидетельствуют результаты опытов с использованием в качестве вазодилататоров ЭПР-активных ДНКЖ с фосфатом, менее стабильных, чем ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами [18]. При их введении в среду в концентрации $5 \times 10^{-5} \text{M}$ они вызывали эффективное, но кратковременное (не более 5 минут) расслабление сосудов (рис. 1). Судя по результатам ЭПР анализа среды, в которую добавляли эти комплексы, длительность их вазодилаторного действия коррелировала со временем их жизни в инкубационной среде: через 5 минут после добавления комплексы не обнаруживались методом ЭПР. Высвобождающиеся при этом молекулы NO не обеспечивали заметной релаксации сосудов: по-видимому, они быстро уходили из раствора или быстро окислялись активными формами кислорода в этой среде.

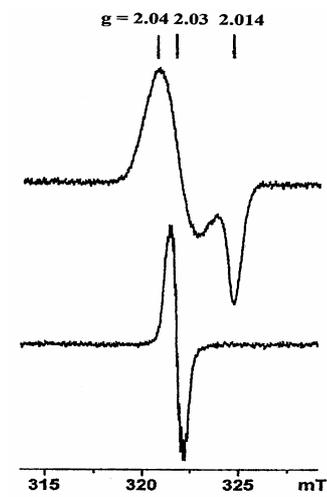


Рисунок 2 – Сигнал ЭПР М-ДНКЖ с цистеином, зарегистрированный при 77К (вверху) и комнатной температуре (внизу) при амплитуде модуляции магнитного поля 0,2 мТ и СВЧ мощности 20 мВ

Обратимые превращения М-ДНКЖ с цистеином, инициируемые кислородом

Продувание воздуха через водные растворы со скоростью 1 л в минуту (среда Кребса или 15 мМ Гепес буфер, pH 7,4), исходно содержавшие 1 или 0,2 мМ ДНКЖ с цистеином, приводило, судя по спектру поглощения раствора, к превращению этих комплексов сначала в Б-ДНКЖ с цистеином (примерно за 10 минут), а затем (примерно за 20 минут) последние превращались в соединение X, с характерным для него оптическим спектром поглощения с выраженной полосой на 280 нм (рис. 3). Соединение X сохранялось в растворе при пропускании через него воздуха в течение 2 часов. После этого раствор становился бесцветным без заметного поглощения в области 300-700 нм. Превращения М-ДНКЖ с цистеином, вызванные его контактом в воздухе, были обратимыми: при введении в раствор образующегося Б-ДНКЖ 20 мМ цистеина он при pH 7.4 переходил обратно в М-ДНКЖ. Что касается соединения X, оно при избытке цистеина превращалось сначала в Б-ДНКЖ, а затем в М-ДНКЖ.

Соединение X можно было воспроизводимо получить обработкой газообразным NO водного раствора цистеина и двухвалентного железа в Гепес буфере (pH 7,0) следующим образом. 0.2 мМ $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ и 0,4 мМ цистеина смешивали в аэробных условиях в Гепес буфере и затем через 2-3 минуты этот раствор после вакуумирования обрабатывали газообразным NO под давлением 100 мм рт. ст. в течение 5 минут. Полученное таким образом соединение X сохранялось в этом растворе в течение часа. Добавление к нему избытка цистеина при pH 7.8-8,0 приводило в быстрому превращению этого соединения последовательно в Б- и М-ДНКЖ с цистеином. При обработке соединения X сильным хелатором двухвалентного железа – о-фенантролином, вводившимся в десятикратном избытке, по сравнению X, это соединение полностью распадалось с образованием комплекса Fe^{2+} -

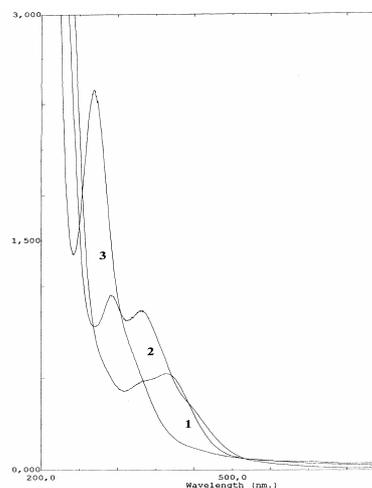


Рисунок 3 – Спектры поглощения М-ДНКЖ с цистеином (1), Б-ДНКЖ с цистеином (2) и соединения X (3)

о-фенантролин, обнаруживаемого по красной окраске раствора и характерному спектру поглощения. Полный распад соединения X инициировался добавлением в раствор N-метил-D-глуксаминдигидрокарбамата (МГД) с образованием мононитрозильного комплекса железа (МНКЖ) с МГД. Образование этого комплекса обнаруживалось по характерному для него спектру поглощения и триплетному сигналу ЭПР, регистрируемому при комнатной температуре (рис. 4) [19]. Характерно, что интенсивность сигнала ЭПР МНКЖ-МГД и спектра его поглощения соответствовала полному включению в них железа, использованного при синтезе соединения X.

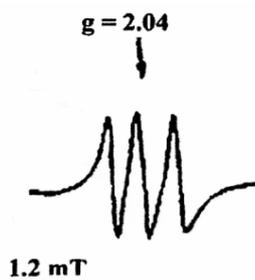


Рисунок 4 – Сигнал ЭПР МНКЖ-МГД, зарегистрированный при комнатной температуре в растворе соединения X после введения в него МГД

Следует отметить, что пропускание воздуха или карбогена через 0,05 мМ раствор М-ДНКЖ с цистеином также приводило к появлению соединения X, обнаруживаемого по слабой полосе поглощения на 280 нм. Однако не удалось обнаружить превращения этого соединения с Б-ДНКЖ при добавлении избытка цистеина (1 мМ) или появления отчетливого сигнала ЭПР МНКЖ-МГД при введении в раствор избытка МГД (1 мМ), очевидно, из-за недостаточной чувствительности оптического и ЭПР спектрометров.

Пропускание воздуха через 1 мМ водный раствор М-ДНКЖ с глутатионом также приводило к образованию соответствующего Б-ДНКЖ, однако это достигалось за существенно большее время, чем для образования в таких же опытах Б-ДНКЖ с цистеином: более 1 часа. Последующее пропускание воздуха более 3 часов приводило только к распаду Б-ДНКЖ с глутатионом без появления соединения X.

Вазодилаторное действие М-ДНКЖ, Б-ДНКЖ и соединения X

На рис. 5 приведены кинетические кривые, характеризующие тонус сосудов при действии на них различных доз М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ с цистеином, а также соединения X, полученного длительным продуванием воздуха через среду Кребса, исходно содержащую 1 или 0,2 мМ М-ДНКЖ с цистеином. Исходя из этой концентрации, рассчитывали степень разбавления раствора, варьируя концентрацию М-ДНКЖ, Б-ДНКЖ и соединения X в среде инкубации сосудов в пределах от 10 нМ до 10 микромолей. При концентрации всех вазодилаторов

в пределах 10-100 нМ наблюдалась быстрая фаза расслабления сосудов с восстановлением исходного тонуса сосудов примерно за минуту. При более высоких концентрациях – 1-5 микроМ – наблюдалось увеличение времени восстановления тонуса, особенно заметное для М-ДНКЖ и соединения X.

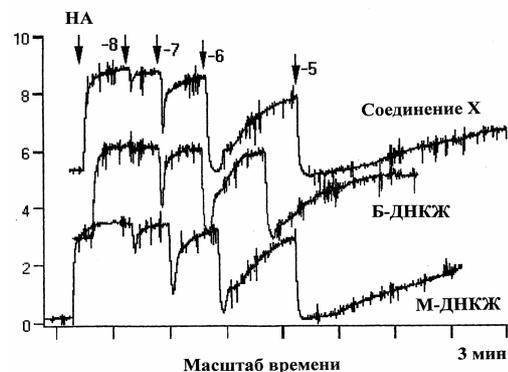


Рисунок 5 – Кинетика изменения тонуса сосудов под действием разных концентраций М-ДНКЖ с цистеином, Б-ДНКЖ с цистеином и соединения X. Приведены логарифмы концентраций в молях. НА – норадrenalин

Обсуждение

Рассмотрение данных, приводимых на рис. 1, показывает, что длительная релаксация сосудов при введении использованных вазодилаторов при концентрации выше 1 микроМ, не могла быть обусловлена ни образованием из этих соединений *cys-NO*, ни накоплением в растворе значительного количества выделяющегося из них *NO*. Эксперимент показал, что имеющийся в среде инкубации ЭДТА в концентрации 0,02 мМ как хелатор металлов, разрушающих *cys-NO*, оказался неспособным обеспечить защиту последнего от действия металлов. В результате *cys-NO* в концентрации 50 микромолей оказывал лишь кратковременное вазодилаторное действие. Быстро распадающийся в водной среде ДНКЖ с фосфатом [19] в той же концентрации обеспечивал быстрое появление в среде того же значительного количества свободного *NO*. Однако это не могло обеспечить длительной вазодилатации, очевидно, из-за быстрого выхода *NO* из этой среды или быстрого его окисления. Таким образом, в качестве агента, вызывающего длительную релаксацию сосудов при введении в среду инкубации в концентрации 1-5 микроМ быстро (в течение 1-2 минут) исчезающих М-ДНКЖ или Б-ДНКЖ [14] могло выступать соединение X, образующееся из этих комплексов. Как показали наши исследования, оно возникает при контакте М-ДНКЖ или Б-ДНКЖ с воздухом (кислородом) и характеризуется длительным временем жизни в кислород-содержащей среде.

Сопоставление кинетики изменения тонусов сосудов под влиянием соединения X, с одной стороны, и М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ, с другой стороны (рис. 5) показывает их практически полное совпадение. Таким образом, есть основание утверждать,

что вазодилаторное действие как М-ДНКЖ с цистеином, так и Б-ДНКЖ с цистеином обусловлено не самими этими комплексами, а соединением X.

Какова природа этого соединения? Очевидно, что оно включает в себя как железо, так и оксид азота. Об этом свидетельствуют наши данные соответственно, о разрушительном действии на соединение X хелатора двухвалентного железа – о-фенантролина и образовании парамагнитных МНКЖ-МГД при действии на соединение X МГД. Не исключается наличие в нём в качестве лигандов железа и молекул цистеина. Поскольку соединение X образуется при воздействии кислорода на М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ, есть основание полагать, что соотношение железа и цистеина в соединении X, меньше, чем в М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ: кислород в первую очередь должен был воздействовать на легко окисляющийся в присутствии железа цистеин. В этой связи, следует отметить, что именно снижение уровня цистеина в растворе обеспечивает превращение М-ДНКЖ в Б-ДНКЖ. Синтез первого осуществляется при соотношении цистеин : железо более 20, тогда как Б-ДНКЖ образуется при соотношении цистеин : железо = 1 : 1. Для X это соотношение может быть меньше 1.

В настоящее время Б-ДНКЖ идентифицируется как соответствующий тиоэфир красной соли Руссена – формула $\{(RS)_2Fe_2(NO)_4\}$ [7, 13]. В этой связи, не исключено, что соединение X, образующееся при ещё меньшем соотношении цистеина и железа, может представлять собой аналог тиоэфира чёрной соли Руссена (предполагаемая формула $\{(RS)_3Fe_4(NO)_7\}$). Мы рассматриваем это предположение как рабочую гипотезу, требующую дальнейшего изучения, тем более, что в литературе до сих пор тиоэфиры чёрной соли Руссена ещё не упоминаются.

Характерно, что в наших опытах мы не обнаружили образования соединения X при замене в ДНКЖ цистеина на глутатион. В этом случае обнаружено образование только соответствующего Б-ДНКЖ. По-видимому, включение молекул глутатиона из-за их более крупных размеров, в чёрную соль Руссена невозможно.

Результаты настоящей работы позволяют сделать ряд заключений о путях функционирования ДНКЖ с тиол-содержащими лигандами в организме животных, в которых они выступают как в качестве депо оксида азота (белок-связанные ДНКЖ), так и в качестве переносчиков этого универсального регулятора метаболических процессов [18]. Очевидно, что такой перенос может осуществляться только низко-молекулярными ДНКЖ с эндогенными тиол-содержащими лигандами – цистеином или глутатионом. Основываясь на наших данных, есть основание полагать, что в организме животных и человека из-за невысокого уровня эндогенных тиолов ДНКЖ с цистеином функционируют как переносчики NO в форме соединения X (эфи-

ра цистеина и чёрной соли Руссена), тогда как ДНКЖ с глутатионом осуществляют этот перенос в форме Б-ДНКЖ (эфира глутатиона и красной соли Руссена).

Литература

1. Васильева С.В., Ступакова М.В., Лобышева И.И., Микоян В.Д., Ванин А.Ф. Активация регулона SoxRs в *Escherichia coli* оксидом азота и его физиологическими донорами // Биохимия. – 2001. – Т.66. – С. 984-988.
2. Велиев У.И., Котов С.В., Шишло В.К., Сerezhenkov В.А., Ванин А.Ф. Действие динитрозильных комплексов железа с тиол-содержащими лигандами на состоянии кавернозных тел в пенисе крыс // Биофизика. – 2008. – Т. 53. – С. 326-335.
3. Мordvinцев П.И., Руднева В.Г., Ванин А.Ф., Шимкевич Л.Л., Ходоров Б.И. Ингибиторное действие низкомолекулярных динитрозильных комплексов на агрегацию тромбоцитов // Биохимия. – 1986. – Т. 51. – С. 1851-1857.
4. Писаренко О.И., Серебрякова Л.И., Цкитишвили О.В., Студнева И.М., Ванин А.Ф., Чазов Е.И. Кардиозащитное действие динитрозильных комплексов железа с цистеином у крыс *in vivo* // Известия РАН, сер. Биол. – 2008. – № 1 – С. 1-5.
5. Шехтер А.Б., Руденко Т.Г., Сerezhenkov В.А., Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с цистеином и глутатионом ускоряют заживление кожных ран у животных // Биофизика. – 2007. – Т. 52. – С. 534-538.
6. Boldyrev A.A., Bulygina E.R., Kramarenko G.G., A.F. Vanin. Effect of nitrosocompounds on Na/K-ATPase // Biochim. Biophys. Acta - 1997. - Vol.132. - P. 243- 251.
7. Chen Y.-J., Ku W.-C., Feng L.-T., Tsai M.-L., Hsieh C.-H., Hsu W.-H., Liaw W.-F., Hung C.-H., Chen Y.-J., Nitric oxide physiological responses and delivery mechanisms probed by water-soluble Roussin's red ester and $\{Fe(NO)\}$ DNIC // J. Am. Chem. Soc. - 2008. – Vol.130 – P. 10929-10938.
8. Ding H., Demple B. Direct nitric oxide signal transduction via nitrosylation of iron sulfur centers in the SoxR transcription activator // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2000. - Vol. 97 – P. 5146-5150.
9. Ignarro L.J. // Nitric Oxide: Biology and Pharmacology. San-Diego, 1st Academic Press. - 2000.
10. Kleschyov A.L., Mordvintcev P.I., A.F. Vanin A.F. Role of nitric oxide and iron in hypotensive action of nitrosyl iron complexes with various anionic ligands // Studia Biofizika - 1985. - Vol. 105. - P. 93-102.
11. Lakomkin V.L., Vanin A.F., Timoshin A.A., Kapelko V.I., Chazov E.I. Longlasting hypotensive action of stable preparations of dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands in conscious normotensive and hypertensive rats // Nitric Oxide: Biol. Chem. – 2007 – Vol. 16. - P. 413-418.
12. Lu T.-T., Tsou C.-C., Huang H.-W., Hsu I.-J., Chen J.-M., Kuo T.-S., Wang Y., Liaw W.-F., Anionic Roussin's red esters (RREs) *syn-lanti*-[Fe(m-SEt)(NO)]: the critical role of thiolate ligands in regulating the transformation of RREs into dinitrosyl iron complexes and the anionic RREs // Inorg. Chem. – 2008. - Vol. 47. - P. 6040-6050.
13. Shumayev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., Lobysheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., A.F. Vanin A.F. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin and methemoglobin-bound dinitrosyl-iron complexes // Nitric Oxide: Biol. Chem. - 2007. - Vol. 18. - P. 37-46.
14. Turella P., Pedersen J.Z., Caccari A.M., De Maria F., Mastroberardino P., Lo Bello M., Federici G., Ricci G. Glutathione transferase superfamily behaves like storage proteins for dinitrosyl-diglutathionyl-iron complex in heterogenous systems // J. Biol. Chem. – 2003. -Vol. 278. - P. 42294-42299.
15. Vanin A.F., Muller B., Alencar J.L., Lobysheva I.I., Nepveu F., Stoclet J.-C. Evidence that intrinsic iron but not intrinsic copper determines S-nitrosocysteine decomposition in buffer solution // Nitric Oxide: Biol. Chem. – 2002. - Vol. 7. - P. 194-202.
16. 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 // Nitric Oxide: Biol. Chem. - 2007. – Vol. 16. - P. 322-330.
17. Vanin A.F., van Faassen E. DNIC: physico-chemical properties and their observations in cells and tissues // in: Radicals for Life: Various Forms of Nitric Oxide, E. van Faassen, A.F. Vanin, eds, Elsevier Press. - 2007. - P. 19-74.
18. Vanin A.F., van Faassen. Mononitrosyl iron complexes with dithiocarbamate ligands: physico-chemical properties // in: Radicals for Life: Various Forms of Nitric Oxide eds, Elsevier Press. - 2007. - P. 383-405.
19. Vedernikov Yu.P., Mordvintcev P.I., Malenkova I.V., Vanin A.F., Similarity between the vasorelaxing activity of dinitrosyl iron cysteine complexes and endothelium-derived relaxing factor // Eur. J. Pharmacol. - 1992. - Vol. 211. - P. 313-317.

Поступила 08.04.09