

Study of the Antioxidant Properties of Porphyrins and Their Complexes with Metals

Natalya A. Antonova,^a Viktoria P. Osipova,^b Margarita N. Kolyada,^b
Natalya O. Movchan,^b Elena R. Milaeva,^{c@} and Yuriy T. Pimenov^a

^aAstrakhan State Technical University, 414025 Astrakhan, Russia

^bSouthern Scientific Centre RAS, 344006 Rostov-on-Don, Russia

^cM.V. Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, 119991 Moscow, Russia

@Corresponding author E-mail: milaeva@org.chem.msu.su

*The synthetic analogues of natural porphyrins are widely used in medicine as pharmaceutical diagnostic markers. It was shown the possibility of applying porphyrins in the therapy of the diseases, connected with the development of oxidative stress. The paper presents the results of the study of antioxidant activity of the free base meso-tetrakis(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)porphyrin R_4PH_2 , as well as non-substituted analogue - meso-tetraphenylporphyrin ($TPPH_2$) in the conditions of autooxidation and under promotion of oxidation by organotin compounds. The ability of the free base of porphyrin containing antioxidant 2,6-di-tert-butyl phenolic groups to decrease the oxidation by peroxide of lipids liver homogenates, sturgeon sperm, fish feed has been studied. Accumulation of intermediate oxidation products from liver homogenates, sperm of the Russian sturgeon (*Acipenser guldenstadti* Brandt) as a stable complex with thiobarbituric acid (TBARS) and oxidation products from fish feed (hydroperoxides ROOH) was monitored by spectrophotometry and iodometric titration, respectively. The efficiency of antioxidative action (EAA) of studied porphyrins in each series of experiences with varying duration of lipids peroxidation in liver homogenates was calculated as $EAA = [(C_0 - C_1)/C_0] \cdot 100\%$, where C_1 is TBARS concentration in homogenates of liver containing the studied compounds and C_0 in a control experiment without additions. If the value of EAA factor was positive, it was considered that the testing material shows the antioxidative action; in the case of negative EAD factor it was considered that the testing material shows the prooxidative activity. The initial concentration of the studied compounds was 0,1 mM. In the model system the antioxidant activity of R_4PH_2 in peroxidation of liver lipids remains almost constant in the wide interval of concentrations (0,01 - 10 mM). It was established that in the middle stages of the oxidation process (3 h, 24 h) the antioxidant action of $TPPH_2$ is inverted to the prooxidant. The presence of 2,6-di-tert-butylphenolic groups in the free base porphyrin macrocycle results in an inhibitory effect. The introduction of the redox-active ion metal in the macrocycle reduces the inhibition effect of 2,6-di-tert-butylphenol fragments in oxidative destruction of liver lipids. The prooxidative properties of $TPPH_2$ during the oxidative destruction of the lipids of fish fodder were observed. Addition of this porphyrin to lipid drawing from the fish fodder in the concentration 150 mg/kg of fodder leads to an increase in the level the formation of primary oxidation products, namely, hydroperoxides ROOH. The organic derivatives of tin, acting as superecotoxicants, promote peroxidation of lipids in the drawing from the fish fodder. The greatest promoting effect of the lipid peroxidation was observed in the presence of CH_3SnCl_3 . It was shown earlier that toxicity of heavy metals compounds could be connected with complexation of important bio dartboards as well as development of radical processes. So it is possible to use the active radicals traps as antidotes. With the aim of increasing of toxicoprotector efficiency, we offer to use compounds containing antioxidation part and complexating groups in molecule. Such compounds can be porphyrinic systems, but it is necessary to take into account the possibility of revealing of prooxidative properties by these compounds. It is discovered, that $TPPH_2$ strengthens the promoting influence of the methyl derivatives of tin on the level of accumulation of hydroperoxides in the lipid drawing from the fish fodder. Since the oxidative activity of $TPPH_2$ and R_nSnCl_{4-n} are summed consequently the application of $TPPH_2$ for detoxication of R_nSnCl_{4-n} is inadvisable. The promoting activity of organotin species in the presence of the porphyrin containing sterically-hindered phenolic moieties decreases significantly when compared with the activity of organotins alone. R_4PH_2 was superior to the standard antioxidants α -tocopherol, 2,6-di(tert-butyl)phenols, 2,6-di(tert-butyl)-4-methylphenol (ionol).*

Keywords: Porphyrins, metal porphyrins, peroxide oxidation, liver, fish sperm, fish fodder, organotin compounds.

Исследование антиоксидантных свойств порфиринов и их комплексов с металлами

Н. А. Антонова,^a В. П. Осипова,^b М. Н. Коляда,^b Н. О. Мовчан,^b Е. Р. Милаева,^{c@} Ю. Т. Пименов^a

^aАстраханский государственный технический университет, 414025 Астрахань, Россия

^bЮжный научный центр РАН, пр. Чехова, 41, 344006 Ростов-на-Дону, Россия

^cМосковский государственный университет имени М. В. Ломоносова, химический факультет, Ленинские горы 1/3, 119991 Москва, Россия

@E-mail: milaeva@org.chem.msu.ru

В статье представлены результаты исследования антиоксидантной активности свободного основания мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)порфирина (R_4PH_2), а также его аналога - свободного основания мезо-тетрафенилпорфирина (TPPH₂) как в условиях автоокисления, так и при промотировании окислительного процесса оловоорганическими соединениями. Изучена способность свободного основания порфирина, содержащего антиоксидантные 2,6-ди-*трет*-бутилфенольные группы, снижать пероксидное окисление липидов гомогената печени, спермы осетровых, рыбного корма. Показано ингибирующее влияние 2,6-ди-*трет*-бутилфенольных групп в макрокольце свободного основания порфирина. Введение редокс-активного иона металла в макрокольцо фенолсодержащего порфирина уменьшает ингибирующий эффект фрагментов 2,6-ди-*трет*-бутилфенола в условиях окислительной деструкции липидов печени гидробионтов.

Ключевые слова: Порфирины, металлопорфирины, пероксидное окисление, печень, сперма рыб, рыбный корм, оловоорганические соединения.

Введение

Порфирины входят в состав большого числа гемовых ферментов и участвуют в процессе биологического окисления. Сочетание в этих соединениях уникальных особенностей порфириновой структуры с липофильными свойствами обуславливает применение синтетических порфиринов и их комплексов с различными металлами в фармакологии и медицине.^[1] Показана возможность применения порфиринов в терапии заболеваний, связанных с развитием окислительного стресса.^[2]

Одним из подходов в создании новых эффективных антиоксидантов - биомиметиков природных соединений - является сочетание в одной молекуле нескольких биологически активных центров.^[3] В качестве подобных соединений могут выступать порфирины, в состав молекул которых входят антиоксидантные группы 2,6-ди-*трет*-бутилфенола. Ранее было показано,^[4] что

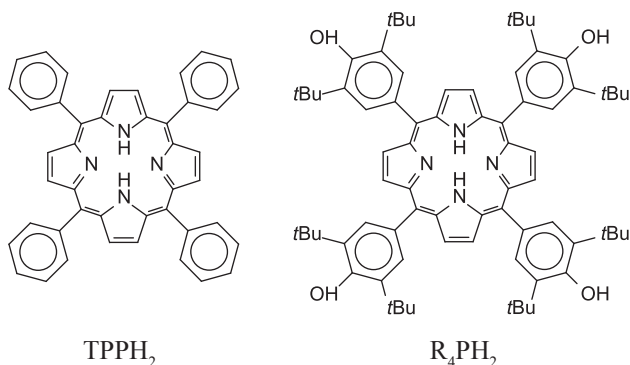
порфирины и их комплексы с различными металлами, содержащие 2,6-ди-*трет*-бутилфенол, а также липофильные остатки пальмитиновой кислоты, проявляют свойства антиоксидантов в процессах пероксидного окисления мембран интактных митохондрий, выделенных из печени крыс линии Wistar.

Целью данной работы является изучение антиоксидантной активности свободного основания мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)порфирина (R_4PH_2) и его комплексов с различными металлами (R_4PFe , R_4PPt , R_4PNi), а также его аналога – свободного основания мезо-тетрафенилпорфирина (TPPH₂), не содержащего антиоксидантных 2,6-ди-*трет*-бутилфенольных групп R, в процессах пероксидного окисления липидов гомогената печени, спермы осетровых рыб, рыбного корма.

Экспериментальная часть

Скорость пероксидного окисления липидов (ПОЛ) печени и спермы русского осетра (*Acipenser guldenstadti Brandt*) определяли по стандартной методике по накоплению карбонильных продуктов, образующих окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-зависимые продукты).^[5]

Пробу печени (0,5 г) или спермы (1 мл) русского осетра гомогенизировали в 19,5 мл охлажденного до 0-4°C раствора хлорида калия, поместив стакан гомогенизатора в лед. Полученную смесь выливали в стакан. В пробирки наливали 2,0 мл гомогената и по 0,1 мл растворов аскорбиновой кислоты и соли Мора, добавляли 1 мл раствора трихлоруксусной кислоты и раствор исследуемых порфиринов в хлороформе, либо в спирте. Концентрации добавок варьировали в ряду 0,01 mM, 0,1 mM, 1 mM, 10 mM. Предварительно установлено



отсутствие в данных условиях влияния хлороформа и спирта на скорость ПОЛ в контроле. Пробирки помещали на 10 мин в водяную баню при 37°C, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Затем отбирали в чистые пробирки по 2 мл надосадочной жидкости, добавляли по 1 мл раствора тиобарбитуровой кислоты, помещали пробы в кипящую водяную баню на 10 мин и затем охлаждали в ледяной воде до комнатной температуры. После охлаждения в пробы добавляли 1,0 мл хлороформа для получения прозрачного раствора и центрифугировали 15 мин при частоте оборотов 3000 об/мин. Отбирали надосадочную жидкость и измеряли экстинкцию пробы на спектрофотометре СФ-103 при 532 нм относительно контрольной пробы.

Расчет проводили по формуле:

$$X = (E - 3,2) / (0,156 \cdot 2),$$

где X - содержание ТБК-зависимых продуктов в исходном гомогенате, нмоль; E - экстинкция проб; 3,2 - общий объем исследуемых проб, мл; 2 - объем надосадочной жидкости, взятой на определение ТБК-зависимых продуктов, мл; 3 - объем проб, мл; 0,156 - экстинкция 1 нмоль ТБК-зависимых продуктов в 1 мл при 532 нм.

Эффективность антиоксидантного действия (ЭАД) исследуемых соединений рассчитывали по формуле:^[6]

$$\text{ЭАД} = [(C_0 - C_1) / C_0] \cdot 100\%$$

где C_0 - концентрация ТБК-зависимых продуктов в гомогенате печени или сперме (контроль), C_1 - концентрация ТБК-зависимых продуктов в гомогенате печени или сперме, содержащей исследуемое соединение.

В случае положительного значения показателя ЭАД тестируемое вещество проявляет антиоксидантное действие; в случае отрицательного значения показателя ЭАД - прооксидантное действие.

В качестве показателя качества рыбного корма использовали уровень накопления начальных продуктов ПОЛ - гидропероксидов в хлороформенной липидной вытяжке из рыбного комбикорма ОТ-6А. Определение проводили при комнатной температуре один раз в неделю в течение 12 недель. Исследуемые соединения вводили в липидную вытяжку из рыбного корма. Первоначально было проведено экстрагирование липидов из рыбного корма хлороформом. Для этого в емкость помещали 150-200 г корма, заливали хлороформом до полного смачивания гранул и оставляли на 6-8 ч. После этого липидную вытяжку процеживали через чистую 4-х слойную марлю. Затем вытяжку фильтровали через бумажный складчатый фильтр. Полученный экстракт (30 мл) наливали в предварительно взвешенные стаканы емкостью 50 мл. После полного испарения хлороформа стаканы с жиром взвешивали и по разности массы определяли пробу жира, которая составляла 0,2-0,4 г.

Определение перекисного числа (ПЧ) проводили по ГОСТ 8285-91 по количеству йода, выделенного из йодистого калия гидропероксидами, содержащимися в 100 г жира.

Для определения перекисного числа в коническую колбу с притертой пробкой вносили 10 мл вытяжки, 15 мл хлороформа и 15 мл ледяной уксусной кислоты. Затем в колбу добавляли 1 мл насыщенного водного раствора йодистого калия, закрывали пробкой, смесь тщательно перемешивали. Раствор выдерживали в течение 3 мин в темноте.

После этого в раствор добавляли 100 мл дистиллированной воды и 1 мл крахмала. Выделившийся йод титровали 0,01 н. раствором тиосульфата натрия.

Одновременно в тех же условиях проводили контрольный опыт.

ПЧ рассчитывали по формуле:

$$\text{ПЧ} = ((V - V_0) \cdot 0,00127 \cdot 100) / m$$

где: V - объем 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование в рабочем анализе, мл; V_0 - объем 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование в контрольном анализе, мл; K - коэффициент пересчета на точный раствор тиосульфата натрия 0,01 н.; m - масса пробы жира; 0,00127 - количество йода (г), эквивалентное 1 мл 0,01 н. раствора тиосульфата натрия.

Перекисное число, равное 1% йода, соответствует 78,7 мМ активного кислорода на 1 л липидов.

Порфирины синтезированы сотрудниками кафедры органической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова к.х.н. Д.Б. Шпаковским и аспирантом Цзинвэй Джан по известным методикам.^[7,8] Для проведения биотестирования полученные соединения очищали хроматографически на колонке с силикагелем, элюировали смесью CHCl_3 -гексан (4:1). Оловоорганические соединения $[(\text{CH}_3)_3\text{SnCl}_3, (\text{CH}_3)_2\text{SnCl}_2, (\text{CH}_3)_3\text{SnCl}]$ (Fluka) использовали без дополнительной очистки.

Результаты и их обсуждение

Пероксидное окисление липидов (ПОЛ) клеточных мембран вносит основной вклад в свободнорадикальные процессы *in vivo*.^[9] Данный процесс является естественным для жизнедеятельности клетки. Однако значительное возрастание уровня ПОЛ сопровождается деструкцией клеточных мембран и вызывает ряд патологических состояний. Повреждению мембранных структур клеток печени способствует наличие в гепатоцитах значительного количества ферментов, продуцирующих активные формы кислорода.^[10] Процесс пероксидного окисления усиливается вторичными реакциями - образованием из липидов высоко реакционноспособных и легко диффундирующих пероксильных радикалов и продуктов их распада - карбонильных соединений, которые обуславливают развитие патологических процессов в различных организмах.^[11]

В качестве биологического объекта исследования в данной работе был выбран русский осетр (*Acipenser guldenstadti Brandt*), что обусловлено существенным экономическим значением этого вида в ряду осетровых рыб. Кроме того, в последние десятилетия их уловы неуклонно снижаются,^[12] в том числе, и в результате возрастающего влияния антропогенной нагрузки, что диктует также необходимость поиска новых типов протекторов окислительного стресса.

Гомогенат печени является классической моделью для изучения ПОЛ, поскольку в клетках данного органа концентрируются белки защитной системы, предотвращающие токсичное действие как эндо-, так и экзогенных агентов.^[13] Для спермы рыб характерна высокая концентрация полиненасыщенных жирных кислот, низкая концентрация ферментов антиоксидантной защитной системы, которая способна ингибировать свободнорадикальные реакции, а также предупреждать или устранять последствия окислительных процессов в целом.^[14] Повышение уровня ПОЛ спермы приводит к повреждению мембран, снижению смачиваемости сперматозоидов и,

вследствие этого, к уменьшению их подвижности, аномальному строению, потере жизнеспособности.^[15]

Для исследования влияния свободного основания мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)порфирина (R_4PH_2) и его комплексов с металлами (R_4PFe , R_4PPt , R_4PNi), а также свободного основания мезо-тетрафенилпорфирина ($TPRH_2$) на *in vitro* Fe^{2+} -индуцированное пероксидное окисление липидов печени и спермы русского осетра применяли модельную систему ПОЛ указанных биосубстратов в условиях длительного окислительного процесса (48 ч).

Полученные результаты в модельной системе ПОЛ печени на всех исследуемых этапах окисления свидетельствуют о выраженном антиоксидантном действии R_4PH_2 (Рисунок 1). Максимальное значение ЭАД наблюдается для данного соединения на начальных этапах окислительного процесса: при выдерживании смеси 1 ч и 3 ч значения ЭАД составляют 56,76 и 68,75% соответственно. Для $TPRH_2$ при выдерживании смеси при 3 ч и 24 ч наблюдается инверсия антиоксидантного действия на слабое прооксидантное. Такой результат можно объяснить частичной окислительной деструкцией порфиринового кольца, что сопровождается образованием продуктов распада, обладающих свойствами промоторов окислительных реакций.

В модельной системе ПОЛ спермы R_4PH_2 и $TPRH_2$

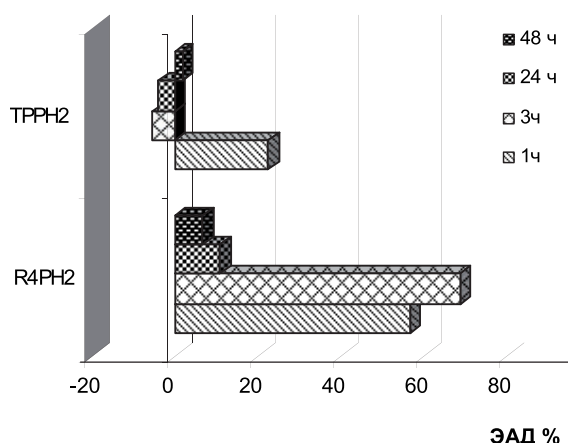


Рисунок 1. Зависимость антиоксидантного действия 0,1 mM R_4PH_2 и $TPRH_2$ в *in vitro* процессе ПОЛ гомогената печени русского осетра от времени.

проявили сходное антиокислительное действие. Оба соединения обладают антиоксидантной активностью за исключением начального периода окисления, что может быть связано с вовлечением NH-фрагментов свободных оснований порфиринов в процессы ингибирования цепных радикальных реакций пероксидного окисления. Однако для порфирина, содержащего антиоксидантные фенольные группы, активность более выражена и после 24 ч достигает значения ЭАД 72% (Рисунок 2).

Роль 2,6-ди-*трет*-бутилфенольных заместителей в возрастании антиоксидантной активности R_4PH_2 по сравнению с $TPRH_2$ связано также с обратимостью процессов образования феноксильных радикалов на периферии порфиринового кольца и хиноидных фрагментов в порфодиметеновой структуре.^[16,17]

Известно, что антиоксидантные/прооксидантные свойства соединений существенно образом зависят от концентрации.^[18] В связи с этим в настоящей работе были изучены концентрационные зависимости для R_4PH_2 в ряду 0,01 mM, 0,1 mM, 1 mM, 10 mM. Показано, что концентрация R_4PH_2 практически не влияет на уровень накопления ТБК-зависимых продуктов в гомогенате печени русского осетра. Значения ЭАД на начальном этапе окислительного процесса (3 часа) составляют 86%, 76%, 81 %, 76 %, соответственно.

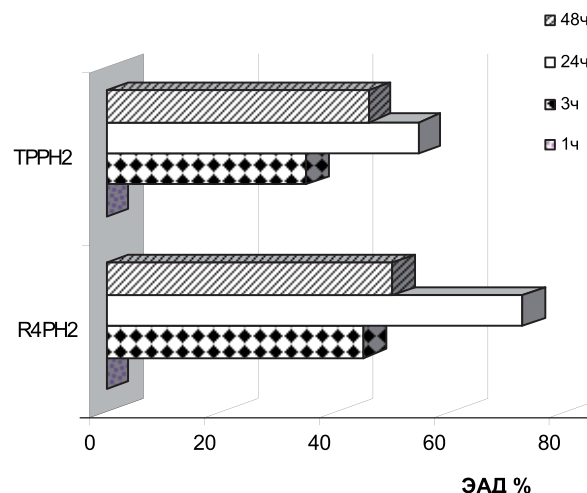


Рисунок 2. Зависимость антиоксидантного действия 0,1 mM R_4PH_2 и $TPRH_2$ в *in vitro* процессе ПОЛ липидов спермы русского осетра от времени.

Таким образом, при увеличении концентрации антиоксиданта до 10 mM эффективность его действия сохраняется, и инверсии антиоксидантного действия в прооксидантное не наблюдается.

Известно, что структурное и функциональное сходство синтетических металлопорфиринов с активными центрами гемовых оксидоредуктаз обуславливает их каталитическую активность в реакциях окисления органических субстратов.^[19] В данной работе было исследовано влияние металлопорфиринов R_4PM ($M = Fe^{III}$, Pt^{II} , Ni^{II}) на уровень ПОЛ печени русского осетра.

Содержание ТБК-зависимых продуктов по отношению к контрольному эксперименту через 3 ч выдерживания гомогенатов печени в присутствии R_4PPt и R_4PNi свидетельствует о том, что данные соединения не оказывают существенного влияния на процесс пероксидного окисления липидов и не проявляют свойств антиоксидантов (Рисунок 3).

Для комплекса R_4PFe с редокс-активным ионом Fe^{III} уровень накопления продуктов ПОЛ возрастает до 170 %. Проксидантная активность порфирина железа R_4PFe^{III} связана со способностью образования биомиметиков природных гемовых систем - активного интермедиата $[(R_4P)^{+}]Fe^{IV}=O$, что было доказано ранее для мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)порфирина железа в процессах окисления органических субстратов методом ЭПР.^[20] Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что

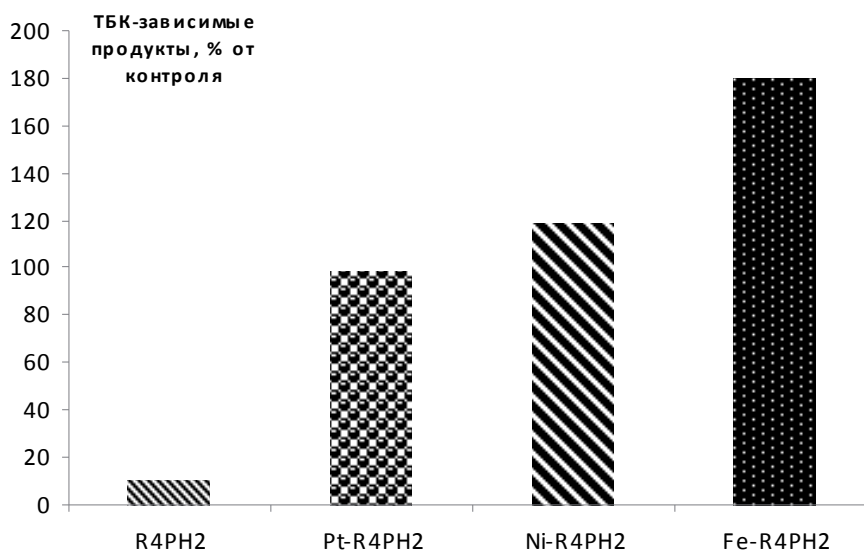


Рисунок 3. Влияние добавок порфиринов на накопление ТБК-зависимых продуктов в гомогенате печени русского осетра.

в модельной системе ПОЛ гомогенатов печени основным механизмом проокислительного действия R_4PFe^{III} является участие в данном процессе иона металла.

Антиоксидантная активность $TPPH_2$ и R_4PH_2 была изучена также в модельной системе пероксидного окисления липидных компонентов рыбного корма в условиях автоокисления и в присутствии токсикантов, индуцирующих ПОЛ. Рыбная мука, используемая для приготовления стартовых кормов, содержит высокий процент жира, и вследствие этого при хранении подвергается окислительной порче. При этом образуются токсичные продукты, отрицательно влияющие на рост рыб.^[21,22] В качестве токсикантов исследовали метильные производные олова $(CH_3)_3SnCl$, $(CH_3)_2SnCl_2$, $(CH_3)_3SnCl$, которые являются компонентами водоемов, поскольку кроме антропогенного источника этих соединений, их образование в водной среде возможно в результате реакций биохимического метилирования.^[23] Оловоорганические соединения, обладая липофильными свойствами, аккумулируются в тканях гидробионтов и, таким образом, накапливаются в рыбной муке как продукте переработки рыбы.^[24]

С другой стороны, ранее было показано,^[25] что токсичность оловоорганических соединений R_nSnCl_{4-n}

определяется не только присутствием атома олова в их молекулах, но и возможностью других маршрутов их биохимической трансформации. R_nSnCl_{4-n} участвуют в окислительных процессах в клеточных мембранах, что приводит к гомолитическому разрыву связей С-М и генерированию активных радикалов $R^\cdot$, инициирующих ПОЛ. В связи с этим вторичная токсичность может быть снижена путем введения в систему природных или синтетических антиоксидантов.

В настоящей работе способность порфиринов стабилизировать липиды рыбного корма оценивали в течение 12 недель по скорости накопления гидроперекисей в липидной вытяжке из рыбной муки в сравнении с известными антиокислительными агентами - α -токоферолом, 2,6-ди-*трет*-бутилфенолом, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенолом (ионолом). При определении концентрации добавок в липидную вытяжку из рыбной муки руководствовались существующими нормами введения антиоксидантов в корма: все добавки вносили в концентрации 150 мг/кг корма (обычно содержание антиоксидантов в кормах не более 0,02 % (200 мг/кг)).^[26]

Добавка метильных производных олова в липидную вытяжку из рыбного корма промотирует окислительную деструкцию липидов рыбного корма

Таблица 1. Константы скорости окисления липидных компонентов рыбного корма в присутствии свободных оснований порфиринов, антиоксидантов и оловоорганических соединений. Концентрация оловоорганических соединений составляет 0,75 ммоль/кг рыбного корма, 25 °С.

Антиоксиданты	Концентрация антиоксидантов, ммоль/кг рыбного корма	Константы скорости окисления ($k \cdot 10^{-7}$, с ⁻¹)			
		-	CH_3SnCl_3	$(CH_3)_2SnCl_2$	$(CH_3)_3SnCl$
-	-	3,61	5,57	4,95	4,83
α -токоферол	0,34	1,07	1,76	1,22	1,18
2,6-ди- <i>трет</i> -бутилфенол	0,73	0,86	1,37	1,01	1,02
ионол	0,68	0,93	1,41	1,04	1,04
$TPPH_2$	0,14	4,82	5,97	5,84	5,76
R_4PH_2	0,13	0,79	1,35	0,97	1,10

(Таблица 1), что подтверждает ранее установленный радикальный механизм действия данных токсикантов.

Полученные результаты показывают, что известные антиоксиданты обладают высокой активностью. Свободное основание R_4PH_2 , как в условиях автоокисления, так и при промотировании окислительного процесса соединениями олова проявляет значительную активность и в ряде случаев превышает таковую для известных антиоксидантов при наименьшей концентрации этого соединения в среде инкубирования (0,13 ммоль/кг рыбного корма) (Таблица 1).

Тетрафенилпорфирин, $TRPH_2$, промотирует ПОЛ и проявляет прооксидантную активность: при автоокислении скорость накопления гидропероксидов увеличивается в 1,3 раза. При одновременном добавлении в липидную вытяжку $TRPH_2$ и метильных производных олова наблюдается возрастание содержания гидропероксидов. Данный эффект может быть связан с возможностью внедрения атома олова в порфириновое кольцо и образования комплексов, проявляющих более сильное прооксидантное действие.^[27]

Заключение

Таким образом, в данном исследовании в различных модельных системах установлена высокая антиоксидантная активность мезо-тетракис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)порфирина как в условиях автоокисления, так и при промотировании окислительного процесса токсикантами - оловоорганическими соединениями. Показано ингибирующее влияние 2,6-ди-*трет*-бутилфенольных групп в макрокольце свободного основания порфирина. Введение редокс-активного иона железа в макрокольцо фенолсодержащего порфирина уменьшает ингибирующий эффект фенольных групп в условиях пероксидного окисления липидов печени гидробионтов.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 09-03-99013-р_офи, 09-03-00090, 09-03-12261-офи_м).

Список литературы

References

1. Keppler B.K. *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*. Weinheim: VCH, **1993**, 434 p.
2. Patel M., Day B.J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1999**, 20, 359 p.
3. Burlakova E.B. In: *Khimicheskaya i biologicheskaya kinetika. Novye Gorizonty* [Chemical and Biochemical Kinetics. New Horizons]. Moskva: Khimiya, **2005**, 2, 10 (in Russ.).
4. Milaeva E.R., Gerasimova O.A., Jingwei Zhang, Shpakovsky D.B., Syrbu S.A., Semeykin A.S., Koifman O.I., Kireeva E.G., Shevtsova E.F., Bachurin S.O., Zefirov N.S. *J. Inorg. Biochem.* **2008**, 102, 1348–1358.
5. Stroeve E.N., Makarova V.G. *Praktikum po biologicheskoy khimii* [Practical Works on Biological Chemistry]. Moskva: Vyssh. shk., **1986**, 279 p. (in Russ.).
6. Zajtsev V.G. *Model'nye sistemy perekisnogo okisleniya lipidov i ikh primenenie dlya otsenki antioksidantnogo dejstviya lekarstvennykh preparatov* [The Model Systems of Peroxidation of Lipids and Their Application for Estimation of the Antioxidant Action of Pharmaceutical Preparations]. Autoref. Diss. Cand. Biol. Sci., Volgograd, **2001**, 23 p. (in Russ.).
7. Milgrom L.R., Jones C.C., Harriman A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1988**, 2, 71.
8. T aylor T.G., Nolan K.B., Hildreth R. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6149.
9. Fridovich I. *J. Exp. Biol.* **1998**, 201, 1203–1209.
10. Britton R.S., Bacon B.R. *Hepato-Gastroenterology* **1994**, 41(4), 343–348.
11. Pinchuk I., Lichtenberg D. *Progress in Lipid Research* **2002**, 41, 279–314.
12. Ivanov V.P., Vlasenko A.D., Khodorevskaya R.P., Raspopov V.M. In: *3rd International Symposium Sturgeon*, Piacenza, Italy, 1997, July 8–11, **1997**, 199–200. (in Russ.).
13. Lehninger A. *Biokhimiya*. Moskva: Mir, **1974**, 956 p [Lehninger A. *Biochemistry*. New York: Worth Publishers, Inc. 1972, Russ. transl.].
14. Akimova N.V., Ruban G.I. In: *1st Congress of Ichthyologists of Russia*, Sept. 1997, Astrakhan', Russia, **1997**, 138 p. (in Russ.).
15. Tsebrzhins'kij O.I. *Fiziol. Zh.* **2000**, 46(4), 71–75 (in Ukr.).
16. Milaeva E.R., Gracheva Yu.A., Shpakovsky D.B., Gerasimova O.A., Tyurin V.Yu., Petrosyan V.S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2003**, 8, 701–706.
17. Milaeva E.R., Tyurin V.Yu., Shpakovsky D.B., Gerasimova O.A., Jingwei Zhang, Gracheva Yu.A. *Heteroatom Chemistry* **2006**, 17, 475–480.
18. Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. *Chemico-Biol. Interact.* **2006**, 160, 1–40.
19. Sheldon R.A., Koshi J.K. *Metal-Catalysed Oxidation of Organic Compounds*. Academic Press, New York, **1981**, 643 p.
20. Christoforidis K.C., Louloudi M., Milaeva E. R., Sanakis Y., Deligiannakis Y. *Molecular Physics* **2007**, 105(15), 2185–2194.
21. Sklyarov V.Ya., Gamygin E.A., Ryzhkov L.P. *Spravochnik po kormleniyu ryb* [Handbook on Fish Feeding]. Moskva: Legkaya i pischevaya prom-st', **1984**, 120 p. (in Russ.).
22. Ostroumova I.N. *Sovremennye voprosy ekologicheskoy fiziologii ryb* [The Modern Questions of the Ecological Physiology of Fishes]. Moskva: Nauka, **1979**, 59–67 (in Russ.).
23. Crompton T.R. *Occurrence and Analysis of Organometallic Compounds in the Environment*, New York: John Wiley, **1998**, 248 p.
24. Esina O.I. *Dejstvie organicheskikh soedinenij olova na molod' osetrovykh ryb* [The Action of Organic Compounds on the Young Sturgeon Fishes]. Diss. Cand. Biol. Sci. Astrakhan', **2006**, 120 p. (in Russ.).
25. Milaeva E., Petrosyan V., Berberova N., Pimenov Y., Pellerito L. *Bioinorg. Chem. Appl.* **2004**, 2, 17.
26. Ponomarev S.V., Gamygin E.A., Nikonov S.I., Ponomareva E.N., Grozesku Yu.N., Bakhareva A.A. *Tekhnologii vyraschivaniya i kormleniya ob'ektov akvakul'tury yuga Rossii* [The Technology of Cultivation and Feeding of Aquacultural Objects of Russian South]. Astrakhan': Nova plus, **2002**, 254 p. (in Russ.).
27. Asadi M., Zabardasti A., Ghasemi J. *Polyhedron* **2002**, 21, 683–687.

Received 12.07.2010

Accepted 19.08.2010

First published on the web 27.09.2010