



УДК 612.111:612.118.221.3:577.352.38

ЭРИТРОЦИТЫ КРОВИ – БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

© 2024 г. О. Г. Шевченко*, #

* Институт биологии Коми научного центра УрО РАН,
Россия, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

Поступила в редакцию 07.03.2024 г.

После доработки 18.03.2024 г.

Принята к публикации 19.03.2024 г.

В обзоре представлен анализ собственных и литературных данных, касающихся различных аспектов использования эритроцитов в качестве модели *in vitro* в комплексной оценке антиоксидантной активности широкого спектра природных и синтетических соединений, их смесей и растительных экстрактов. Обсуждены особенности воздействия на эритроцит наиболее часто применяемых в подобных исследованиях инициаторов окислительного стресса – 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорида (АAPH) и H₂O₂, механизмы, лежащие в основе развития гемолитического процесса. Дан критический анализ методологических подходов к оценке уровня гемолиза, характеризующего выживаемость эритроцитов в условиях окислительного стресса и позволяющего судить о наличии мембранопротекторной активности у исследуемых соединений. Рассмотрены критерии комплексной оценки состояния эритроцитов, используемые при изучении клеточных и молекулярных механизмов антиоксидантной активности субстанций широкого спектра на модели окислительного гемолиза эритроцитов. К числу традиционных методов относится определение интенсивности процессов перекисного окисления мембранных липидов на основании концентрации продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, а также оценка относительного содержания окисленных форм гемоглобина в эритроцитах. Перспективный подход – использование современных флуоресцентных методов. В частности, чувствительный маркер окислительного стресса в эритроцитах – флуоресценция продуктов деградации гема, по снижению интенсивности которой можно судить о наличии антиоксидантной активности у исследуемых соединений. Актуальный флуоресцентный метод – оценка уровня окислительного стресса путем измерения внутриклеточной концентрации АФК в эритроцитах. Анализ собственных и литературных данных позволяет рекомендовать метод окислительного гемолиза эритроцитов в скрининге вновь разработанных соединений с целью отбора наиболее интересных кандидатов для дальнейшего углубленного изучения. Его использование целесообразно при установлении зависимости структура–активность и выработке стратегии целенаправленного синтеза новых биологически активных соединений, сочетающих высокую гемосовместимость и антиоксидантную активность, перспективных для биомедицинского применения.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, эритроциты, окислительный гемолиз

DOI: 10.31857/S0132342324060026, **EDN:** NGLVVD

СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	721
2. ЭРИТРОЦИТ – УНИВЕРСАЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ <i>IN VITRO</i>	722
3. ЭРИТРОЦИТЫ В ИССЛЕДОВАНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ	722
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	726

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Сокращения: АФК – активные формы кислорода; ПОЛ – перекисное окисление липидов; АAPH – 2,2'-азобис(амидинопропан)-дигидрохлорид; ВНТ – бутилированный гидрокситолул, ионол; ferrylHb – феррилгемоглобин; metHb – метгемоглобин; MDA – малоновый диальдегид; охуHb – оксигемоглобин; ТВА – 2-тиобарбитуровая кислота.

Автор для связи: (+7 (912) 561-54-65; эл. почта: shevchenko@ib.komisc.ru).

1. ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода (АФК) генерируются в ходе нормального метаболизма и участвуют в различных клеточных процессах, образуются при воздействии физических факторов и при метаболизме ксенобиотиков [1–5]. Вместе с тем избыток АФК опасен для клеток, что обусловлено их способностью вызывать окислительную модификацию ключевых биомолекул: перекисное окисление липидов (ПОЛ), карбонилирование белков, образование карбонильного (альдегидно-кетонового) аддукта, нитрование, сульфоксидирование, повреждение цепи ДНК (разрывы или окисление азотистых оснований) [6]. Интенсификация процессов ПОЛ сопровождается изменениями структуры и свойств биологических мембран и функции клеток. Соединения, способные препятствовать окислению или замедлять его, действуя в более низкой концентрации по сравнению с концентрацией защищаемого субстрата, относят к антиоксидантам [2]. Усиление образования АФК наряду с уменьшением выработки антиоксидантов приводит к дисбалансу между количеством химически активных окислителей и способностью биологической системы к детоксикации, что идентифицируется как окислительный стресс [6–11].

В настоящее время окислительный стресс ассоциируется со старением и многочисленными хроническими заболеваниями, включая ревматоидный артрит, атеросклероз, сахарный диабет, неврологические и нейродегенеративные расстройства, а также сердечно-сосудистые патологии [2, 3, 6, 9, 12–21]. В последние два десятилетия активно разрабатываются терапевтические стратегии, нацеленные на использование регуляторов свободно-радикальных процессов для лечения заболеваний, связанных с интенсификацией образования АФК [18, 22]. Как природные, так и синтетические антиоксиданты широко используются не только в фармацевтике, но и в пищевой промышленности [3, 20, 23–28]. Вместе с тем сохраняет актуальность поиск новых эффективных и малотоксичных антиоксидантов, их выделение и производство из доступного растительного сырья [11, 29, 30]. В этом плане предметом интенсивных исследований все чаще становятся растительные фенолы вследствие их доступности, высокой биологической активности и меньших побочных эффектов по сравнению с синтетическими антиоксидантами [5, 18, 22, 30–32].

Многолетний опыт исследований природных и синтетических соединений, биологически активных комплексов естественного происхождения и пищевых продуктов свидетельствует о том, что на сегодняшний день не существует простых и универсальных методов оценки антиоксидантной активности в системах *in vitro* [5, 11, 23, 25, 33–42]. Получившие широкое распространение химические тесты не в полной мере учитывают параметры, имеющие значение в биологическом окружении, в том числе липофильность, биодоступность [5, 43, 44], а также 3D-структуру антиоксидантов [22]. Известно, что липофильность, степень инкорпорации, распределение и ориентация в липидном бислое клеточной мембранны, а также способность к ее стабилизации за счет уменьшения текучести являются факторами, вносящими решающий вклад в эффективность некоторых фенольных антиоксидантов [45–52]. Полагают, что способность этих соединений ограничивать текучесть мембран затрудняет диффузию свободных радикалов и таким образом снижает интенсивность свободнорадикальных реакций [46]. С мембраностабилизирующим действием связывают биологическую активность витамина Е [53] и танинов [54]. Способностью взаимодействовать с гидрофобными и/или гидрофильными областями мембранны посредством образования водородных связей отчасти обусловлена цитопротекторная и антиоксидантная активность отдельных амфи菲尔ных производных кофеина [55]. Взаимодействием флавоноидов с мембраной эритроцитов путем образования гидрофобных и гидрофильных связей с белками и липидами объясняют антиоксидантный и мембранопротекторный эффекты экстракта папайи [56]. Проведенные нами комплексные исследования механизмов биологической активности широко известного пространственно-затрудненного фенольного антиоксиданта ВНТ (бутилированный гидрокситолуол, ионол) и новых полусинтетических изоборнилфенолов, синтезированных в Институте химии Коми НЦ УрО РАН, также указывают на то, что способность фенольных антиоксидантов взаимодействовать с клеточной мембраной – важный фактор, определяющий их активность [57, 58].

Таким образом, необходимым условием выявления потенциальных биоантиоксидантов является комплексный подход, сочетающий использование тест-систем различной степени сложности, включая презентативные биологические модели, в том числе клеточные [34, 38, 39, 42–44, 59–63].

2. ЭРИТРОЦИТ – УНИВЕРСАЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ *IN VITRO*

В последние десятилетия эритроциты являются предметом интенсивного научного интереса [64]. Это уникальные, высокоспециализированные и самые распространенные в организме человека клетки, функция которых не ограничивается транспортом O_2 и CO_2 [64–66]. Зрелые эритроциты млекопитающих не обладают внутренними органеллами, что дает возможность изучать функциональные свойства плазматической мембраны без помех, накладываемых внутриклеточными мембранными образованиями [64, 67–74]. Менее специализированная, чем другие клеточные мембранны, мембрана эритроцитов осуществляет общие функции, что позволяет рассматривать эритроцит как универсальную репрезентативную модель для изучения мембранных систем других клеток [71, 72, 74–77]. Отсутствие ядра и митохондрий исключает влияние АФК на транскрипцию и регуляцию экспрессии генов [43, 78, 61], а также продукцию АФК митохондриями [79], что выгодно отличает эритроцит как модельный объект от других клеток млекопитающих.

Вследствие значительного содержания полиненасыщенных жирных кислот в липидах мембран, а также высокой концентрации гемоглобина, являющегося промотором окислительных процессов, эритроциты высокочувствительны к окислительным повреждениям [39, 47, 64, 66, 80–90]. Основной источник внутриклеточных АФК в эритроцитах – автоокисление оксигемоглобина, в результате которого образуется супероксид (O_2^-) и H_2O_2 [83, 91, 92].

Указанные выше особенности делают эритроциты удобной и доступной моделью *in vitro* при проведении токсикологических и фармакологических экспериментов [5, 90]. Эти клетки могут использоваться при изучении взаимодействия субстанций различного происхождения и назначения (в том числе лекарственных средств, пестицидов и тяжелых металлов) с клеточной мембраной [64, 77, 93, 94], токсичности ксенобиотиков [64, 90, 95], оценке потенциальной гемосовместимости [64, 96, 97]. Эритроциты могут быть полезны для выявления потенциальных антиоксидантов, установления зависимости структура–активность и детального изучения механизмов действия биологически активных соединений [5, 36, 45, 55, 61, 66, 89, 98–101]. Скрининг с использованием эритроцитов может проводиться и в доклинической оценке вновь разработанных соединений с целью отбора наиболее перспективных кандидатов для дальнейших углубленных исследований [18, 64, 102, 103]. Эксперименты *in vitro* с использованием клеток

млекопитающих представляют интерес и с точки зрения сокращения объема экспериментов на животных, что соответствует современным этическим принципам и существенно удешевляет работы [42, 64, 90, 104].

При проведении экспериментов *in vitro* практикуется использование эритроцитов млекопитающих разных видов, прежде всего это человек [15, 55, 56, 64, 105–111] и лабораторные животные: кролики [39, 100], крысы [47, 70, 86, 89, 112, 113] и мыши [114–117]. Кроме того, возможно использование эритроцитов овец [30, 39, 44, 118], крупного рогатого скота [39, 119, 94], свиней [120], верблюдов [94] и лошадей [39, 98]. В большинстве публикаций выбор источника эритроцитов никак не обосновывается, очевидно, он обусловлен их доступностью для конкретной лаборатории [39, 121].

Необходимо отметить существование явно выраженных различий между эритроцитами млекопитающих различных видов, включая человека, в том числе по характеристикам липидов мембран [94, 122, 123]. Нами, в частности, были обобщены результаты сравнительного анализа состава фосфолипидов эритроцитов крови различных видов грызунов, выявлены существенные межвидовые различия в соотношении холинсодержащих фракций фосфолипидов (фосфатидилхолина и сфингомиэлина) [121]. Экспериментально подтверждено, что указанные особенности структуры эритроцитарных мембран обуславливают различия в реакции эритроцитов грызунов разных видов на воздействие химических соединений, способных взаимодействовать с липидами мембраны [124]. На вариабельность ответа эритроцитов животных разных видов на воздействие природных соединений, тяжелых металлов и АФК указано и в работах [39, 94, 125, 126]. Таким образом, использование эритроцитов в качестве модели *in vitro* при изучении механизмов действия соединений различной природы предполагает адекватный выбор их источника и выполнение всех экспериментов на одном объекте [121, 124].

3. ЭРИТРОЦИТЫ В ИССЛЕДОВАНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ

Использование эритроцитов непосредственно для выявления антиоксидантной активности различных субстанций, а также в целях углубленного изучения ее молекулярных и клеточных механизмов началось в 80–90-х гг. XX столетия [45, 67, 105, 127]. С тех пор метод окислительного гемолиза, основанный на ингибировании анти-

оксидантами повреждений мембранных эритроцитов, индуцированных источниками свободных радикалов, нашел широкое применение в мировой практике. Разработаны и продолжают совершенствоваться его различные вариации и комбинации с другими методами [5, 39, 62, 69, 70, 98, 128].

Окислительный гемолиз эритроцитов активно используется для оценки антиоксидантных свойств экстрактов лекарственных и пищевых растений [5, 29, 43, 56, 62, 108, 109, 112, 119, 129–132], а также соков, вина и чая [36, 129, 133]. Указанный метод нашел широкое применение при выявлении и изучении антиоксидантной активности индивидуальных соединений растительного происхождения, их производных и смесей, в том числе фенольных кислот и полифенолов [48, 30, 60, 118, 134–137], алкалоидов [55], поли- [113, 114, 138, 139] и олигосахаридов [38, 106, 115, 116], гликопротеинов [140], аминокислот [141], пептидов [100, 110], а также синтетических низкомолекулярных соединений [73, 142, 143].

В последние годы окислительный гемолиз эритроцитов активно используется и в нашей лаборатории при исследовании антиоксидантной активности разнообразных гидроксиароматических соединений [58, 144–166], их конъюгатов с порфиринаами [167], растительными полисахаридами [168, 169], полизиленгликолями [170] и наночастицами на основе бёмита (γ -AlO(OH)) [171–173]. С использованием эритроцитов в качестве клеточной модели нами проведена сравнительная оценка антиоксидантных свойств производных хлорофилла *a* [174], различных гетероциклических соединений [175–177], аллилполиалкоксibenзенов [178], монотерпеновых спиртов [179], комплексов меди с терпеновыми производными этилендиамина [180], антрахинонов [181–192], широкого спектра сероорганических соединений [182–192]. Нашел свое применение этот подход и в комплексном изучении биологической активности растительных экстрактов: древесной зелени сосны и лиственницы [193], плодов жимолости голубой [194], барбариса [195], рябины обыкновенной [196], а также отрубей пшеницы различных сортов [197].

Окислительный гемолиз может быть инициирован различными химическими веществами, способными к образованию радикалов. Чаще всего для этих целей используют 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид (ААРН) [5, 29, 38, 39, 44, 45, 55, 59, 62, 69, 98–100, 105, 106, 108–110, 114, 118, 127, 130, 132, 134, 136–140, 142, 143, 198, 199] и пероксид водорода [38, 56, 62, 66, 105, 112, 115, 117, 119, 131, 135]. ААРН – небольшая молекула, при разложении которой в водной

фазе с постоянной скоростью образуются сначала алкильные (R^\bullet), а далее, вследствие реакции с кислородом, – пероксильные (ROO^\bullet) радикалы, воздействующие на мембрану эритроцита [5, 39, 62, 67, 69, 105, 127, 200]. ААРН индуцирует гемолиз, интенсивность которого зависит от времени и концентрации ААРН. Характеризующая его сигмоидальная кривая имеет лаг-фазу, уменьшающуюся с увеличением концентрации ААРН [39, 106]. Гемолиз, индуцированный ААРН, включает полное и быстрое истощение внутриклеточного восстановленного глутатиона [69, 105, 106], за которым следует ПОЛ, окисление и деградация мембранных белков с образованием высокомолекулярных продуктов [59, 69, 70, 105, 106, 198, 200], окисление оксигемоглобина [98, 106, 136] и транспортных трансмембранных белков полосы 3 [70, 132, 200], и в конечном итоге к лизису клеток.

В отличие от ААРН, H_2O_2 – физиологический гидропероксид, который постоянно образуется в различных органах и клетках, включая эритроциты, вследствие дисмутации супероксидного анион-радикала $O_2^\bullet-$ [84, 201]. Экзогенный пероксид водорода легко проникает в эритроциты [84, 201] и взаимодействует с первичной мишенью – оксигемоглобином (oxyHb), окисляя его до метгемоглобина (metHb) и феррилгемоглобина (ferrylHb) с образованием высокореактивного гидроксильного радикала OH^\bullet [84, 105, 107, 202], самого сильного из известных окислителей [60]. Феррильные производные обладают относительно высокой цитотоксичностью [203] и способны окислять различные биомолекулы, включая SH-содержащие ферменты [202]. Взаимодействие окисленного гемоглобина с мембранными белками полосы 3 приводит к нарушению мембранных транспорта и проницаемости [66, 204]. Окисление гемоглобина H_2O_2 сопровождается деградацией гема, высвобождением железа и формированием флуоресцирующих продуктов [92, 205–207]. Другое последствие окислительных повреждений эритроцитов крови под воздействием H_2O_2 – активация ПОЛ [66, 67, 127].

Общий механизм действия антиоксидантов в условиях окислительного гемолиза эритроцитов может включать их взаимодействие с фосфолипидами мембранных, способствующее снижению текучести; ингибирование перекисного окисления мембранных липидов; хелатирование Fe^{2+} , высвобождающегося при окислении гемоглобина; взаимодействие с триптофановыми остатками белков, включая белки полосы 3 [5, 208]. О наличии антиоксидантной и мемранопротекторной активности у исследуемых субстанций судят по их способности увеличивать выживаемость эрит-

роцитов в условиях окислительного стресса. В процессе исследования оценивают уровень гемолиза (в динамике) и наличие лаг-фазы, т.е. времени, в течение которого соединения, обладающие антиоксидантной активностью, способны полностью ингибировать гемолиз. Добавление экзогенных антиоксидантов удлиняет лаг-фазу, а разница в лаг-фазе в присутствии и при отсутствии антиоксидантов рассматривается как период ингибирования, отражающий способность антиоксиданта защищать эритроциты [39, 67, 88, 106, 134, 200].

Количественная оценка уровня гемолиза, как правило, проводится спектрофотометрическим методом по концентрации гемоглобина. В большинстве публикаций содержится информация об определении степени гемолиза по абсорбции предварительно отцентрифужированного супернатанта при $\lambda = 540\text{--}544$ нм, что соответствует максимуму поглощения оксигемоглобина (oxyHb) [39]. Однако при указанной длине волн можно корректно определять лишь концентрацию окси-гемоглобина, тогда как в процессе окислительного гемолиза происходит образование метгемоглобина (metHb) и смещение максимума поглощения, вследствие чего истинная степень гемолиза не дооценивается [5, 98]. Выход из этой ситуации – регистрация поглощения при $\lambda = 523\text{--}524$ нм или при 591 нм – изосбестических точках в реакции окисления гемоглобина. В этом случае независимо от степени окисления гемоглобина измеренная абсорбция будет отражать концентрацию всего высвобожденного гемоглобина [5, 39, 98, 209].

Оценка антиоксидантной активности широкого спектра субстанций методом окислительного гемолиза предусматривает использование комплекса критериев, характеризующих состояние эритроцитов. К числу традиционных методов относится анализ интенсивности процессов ПОЛ на основании концентрации продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, а также определение относительного содержания окисленных форм гемоглобина (metHb и ferrylHb) в эритроцитах. Соединения, обладающие антиоксидантной активностью, не только увеличивают выживаемость эритроцитов, ингибируя окислительный гемолиз (т.е. проявляют мембранопротекторную активность), но и способствуют снижению интенсивности ПОЛ в мембранах эритроцитов. Образующиеся вследствие интенсификации ПОЛ гидроперекиси липидов очень нестабильны и быстро распадаются на вторичные продукты, такие как альдегиды (например, 4-гидрокси-2,3-ноненаль) и малоновый диальдегид (MDA) [5, 210]. MDA представляет собой высокореактив-

ную бифункциональную молекулу, способную нарушать различные функции мембран путем сшивания белков и фосфолипидов, что, в конечном итоге, приводит к их разрушению [66, 211–213]. Ввиду того, что MDA способен взаимодействовать с 2-тиобарбитуровой кислотой (2-thiobarbituric acid, TBA) с образованием окрашенного комплекса, оценка интенсивности процессов ПОЛ в мембранах эритроцитов на основании концентрации TBA-активных продуктов (TBA-reactive substances, TBA-RS) широко используется при оценке антиоксидантной активности различных соединений [5, 29, 30, 44, 48, 55, 60, 62, 65, 66, 69, 70, 100, 105–107, 118, 127, 136, 137, 140, 198].

Поскольку содержание гемоглобина (Hb) составляет 95–97% от общего количества белков эритроцитов, именно он является основной мишенью АФК в этих клетках. В отличие от окси-гемоглобина, метгемоглобин не способен выполнять основную физиологическую функцию – транспорт кислорода, что в условиях организма приводит к возникновению острой или хронической гипоксии [55, 214, 215]. Способность потенциальных биоантиоксидантов снижать содержание продуктов окисления гемоглобина (metHb и ferrylHb) также традиционно используют при оценке активности различных соединений и экстрактов в условиях окислительного гемолиза [29, 38, 54, 55, 66, 69, 105, 106, 108, 109, 136, 204].

Перспективный подход – использование современных флуоресцентных методов. Так, помимо относительного содержания окисленных форм гемоглобина чувствительным маркером окислительного стресса является флуоресценция продуктов деградации гема в лизатах эритроцитов [92, 206, 207, 2015]. Нами экспериментально подтверждено, что снижение интенсивности флуоресценции этих продуктов в присутствии потенциальных антиоксидантов также может использоваться как один из показателей, характеризующих антиоксидантную активность широкого спектра соединений [146–151, 153, 155, 157, 162–166, 177]. Отметим, что указанный метод может использоваться лишь в случае отсутствия собственной флуоресценции у изучаемых соединений в исследуемой области спектров (возбуждение при $\lambda = 321$ нм, эмиссия при $\lambda = 450\text{--}480$ нм).

Актуальный флуоресцентный метод оценки уровня окислительного стресса – прямое измерение внутриклеточной концентрации АФК в эритроцитах (cellular antioxidant assay, CAA-RBC) [5]. 2',7'-Диацетат дихлордигидрофлуоресцина (HDCF-DA) диффундирует в клетки и деацети-

лируется клеточными эстеразами с образованием 2',7'-дихлордигидрофлуоресцена (H₂DCF) [5, 34, 43, 61, 63, 90, 215, 216]. В процессе окислительного гемолиза эритроцитов H₂DCF быстро окисляется до конечного флуоресцирующего продукта – 2,7'-дихлорфлуоресцена (DCF). Степень ингибирования клеточной флуоресценции в последние годы широко используется в качестве одного из критериев антиоксидантной активности соединений [5, 35, 42, 43, 44, 61, 99, 111, 118, 130, 133, 139, 140, 215, 217, 218].

Исследования антиоксидантных свойств отдельных соединений, преимущественно фенольной природы, а также содержащих их растительных экстрактов может сопровождаться анализом морфологической трансформации эритроцитов, дающей ценную информацию как об особенностях взаимодействия антиоксидантов с клеточной мембраной, их распределении в ней, так и о физиологическом состоянии эритроцита в условиях окислительного стресса. Форма эритроцитов и ее изменения – важный показатель функционального состояния этих клеток в норме и при воздействии различных факторов [65, 71, 72, 208, 219–223]. По структуре поверхности эритроциты здорового организма представляют собой гетерогенную популяцию клеток, состав которой может динамически изменяться под воздействием физиологических и патологических факторов. В норме основную массу зрелых циркулирующих в крови эритроцитов составляют дискоциты [65, 224]. Вместе с тем морфологические изменения эритроцитов наблюдаются не только у циркулирующих в крови клеток, но также имеют место в условиях *in vitro* при взаимодействии эритроцитов с некоторыми химическими соединениями. Характер изменения формы эритроцитов вследствие интеркаляции экзогенных веществ в клеточную мембрану указывает на особенности распределения соединений во внутримембранном пространстве. Считается [225], что соединения, приводящие к образованию эхиноцитов (эритроцитов со множественными шиповидными выростами), встраиваются во внешний монослой эритроцитарной мембранны, вызывая непропорциональное увеличение его площади. В случае проникновения вещества во внутренний монослой происходит увеличение площади последнего, что приводит в конечном итоге к формированию стоматоцитов (эритроцитов чашевидной формы). Таким образом, ценная информация об особенностях взаимодействия различных соединений с мембраной и их распределении в ней может быть получена при

анализе морфологической трансформации эритроцитов методом сканирующей электронной микроскопии [72, 75, 90, 225, 226]. Указанный подход использовался при изучении молекуллярных и клеточных механизмов действия экстрактов растений и прополиса, содержащих природные антиоксиданты [72, 132, 199, 222, 223], индивидуальных флавоноидов и фенольных кислот [71, 219, 221], нестероидных противовоспалительных и иных фармакологических препаратов [72, 75, 220, 227, 228], производных 5-гидроксибензимидазола [226], синтезированных в ИХФ РАН гибридных антиоксидантов (ИХФАнов) [229–231] и анфенов [232]. Для ИХФАнов отмечена не только способность изменять форму эритроцитов за счет интеркаляции веществ в мембранные слои, но и существенная гемолитическая активность в высоких концентрациях [231]. Анализ морфологической трансформации способен дать информацию не только о распределении антиоксидантов в клеточной мембране, но также и об их способности препятствовать патологической модификации формы клеток под воздействием H₂O₂ [56, 112], АAPH [132], а также других индукторов окислительного гемолиза [71, 119, 221–223]. Исследование поверхностной архитектоники эритроцитов методом сканирующей электронной микроскопии проводилось и нами в комплексном изучении механизмов активности новых антиоксидантов – изоборнилфенолов и их производных [58, 233], а также терпенофенол-хлориновых конъюгатов [174]. Анализ морфологической трансформации эритроцитов при взаимодействии с изоборнилфенолами подтвердил способность этих соединений взаимодействовать с клеточной мембраной и изменять ее структурное состояние. Выявлена статистически значимая связь между характером морфологической трансформации эритроцитов (долей необратимо измененных клеток – стоматоцитов) и эритротоксичностью отдельных изоборнилфенолов [58, 233]. Изучение поверхностной структуры эритроцитов после инкубации с новыми терпенофенол-хлориновыми конъюгатами показало, что мембранопротекторная и антиоксидантная активность синтезированных соединений существенным образом зависит от их способности интеркалировать в эритроцитарную мембрану, что в значительной степени определяется природой заместителя амидной группы в положении 13(2) [174].

О способности антиоксидантов фенольной природы взаимодействовать с липидной фазой биомембран и изменять ее структуру можно судить

и на основании экспериментов с дополнительным воздействием на эритроциты Triton X-100 (алкилфенилполиэтиленгликоля). Указанный неионный детергент способен проникать в липидный бислой, нарушать его структуру и увеличивать подвижность углеводородных цепей фосфолипидов, что приводит к увеличению проницаемости мембраны и, в итоге, к гемолизу [234, 235]. Определяющий фактор устойчивости мембран к воздействию Triton X-100 – степень упорядоченности ацильных цепей фосфолипидов [236]. По нашим данным, предварительная инкубация эритроцитов с терпенофенолами, содержащими свободную карбоксильную группу, усиливалась их чувствительность к гемолитическому действию Triton X-100 [124, 145]. Полученные результаты позволяют предположить, что указанные фенольные антиоксиданты даже в относительно низких концентрациях, не вызывающих гемолиза, способны существенно изменять структуру липидной фазы мембран, что не может не отразиться на их биологической активности [154, 233]. Это предположение хорошо согласуется с результатами экспериментов, свидетельствующих о том, что именно различия в физико-химических особенностях структуры мембран обусловливают неодинаковую чувствительность эритроцитов млекопитающих разных видов к дестабилизирующему действию Triton X-100 [121, 124, 236].

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эритроцит в системе *in vitro* – удобная и доступная модель для изучения молекулярных и клеточных механизмов действия антиоксидантов. Скрининг с использованием эритроцитов может применяться в оценке вновь разработанных соединений с целью отбора наиболее интересных кандидатов для дальнейшего углубленного изучения. Полученные результаты могут способствовать целенаправленному синтезу новых биологически активных соединений, сочетающих высокую гемосовместимость и антиоксидантную активность, перспективных для биомедицинского применения.

Рассмотренные в обзоре подходы, в основе которых лежит использование эритроцитов в качестве модельного объекта, далеко не исчерпывающие. Использование тех или иных методов в скрининге, нацеленном на выявление новых антиоксидантов, а также в углубленном изучении механизмов их действия зависит как от поставленных задач, так и от возможностей конкретной лаборатории. В данном обзоре сделан акцент на методы, наиболее часто применяемые в исследованиях новых субстанций, активно проводимых в последнее десятилетие на базе Института биологии Коми НЦ

УрО РАН в тесном содружестве с сотрудниками Института химии Коми НЦ УрО РАН. Анализ собственных и литературных данных позволяет рекомендовать метод окислительного гемолиза эритроцитов в скрининге новых соединений с целью отбора наиболее интересных продуктов для дальнейшего углубленного изучения, исследование зависимости структура–активность, выработке стратегии целенаправленного синтеза новых биологически активных соединений.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание № 122040600022-1).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований, выполненных автором данной работы, с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Автор ОГШ написал данную статью.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prior R.L., Cao G. // HortScience. 2000. V. 35. P. 588–592.
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.4.588>
2. Litescu S.C., Eremia S., Radu G.L. // Bio-Farms for Nutraceuticals. Advances in Experimental Medicine and Biology / Eds. Giardi M.T., Rea G., Berra B. Springer, Boston, MA, 2010. V. 698.
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7347-4_18
3. Neha K., Haider M.R., Pathak A., Yar M.S. // Eur. J. Med. Chem. 2019. V. 178. P. 687–704.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>
4. Shlapakova T.I., Kostin R.K., Tyagunova E.E. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2020. V. 46. P. 657–674.
<https://doi.org/10.31857/S013234232005022X>
5. Cruz T.M., Lima A.S., Silva A.O., Mohammadi N., Zhang L., Azevedo L., Marques M.B., Granato D. // Food Chem. 2024. V. 440. P. 138281.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138281>

6. Pisoschi A.M., Pop A., Jordache F., Stanca L., Predoi G., Serban A.I. // Eur. J. Med. Chem. 2021. V. 209. P. 112891.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>
7. Sies H. // Am. J. Med. 1991. V. 91. P. 31S–38S.
[https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90281-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90281-2)
8. McCall M.R., Frei B. // Free Radic. Biol. Med. 1999. V. 26. P. 1034–1053.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00302-5](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00302-5)
9. Willett W.C. // Science. 2002. V. 296. P. 695–698.
<https://doi.org/10.1126/science.1071055>
10. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Squadrato F., Altavilla D., Bitto A. // Oxid. Med. Cell. Longev. 2017. V. 2017. P. 8416763.
<https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
11. Siddeeg A., AlKehayez N.M., Abu-Hiamed H.A., Al-Sanea E.A., AL-Farga A.M. // Saudi J. Biol. Sci. 2021. V. 28. P. 1633–1644.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.064>
12. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford, New York: Oxford University Press, 1999. 936 p. ISBN: 9780198500452.
13. Noda N., Wakasugi H. // Japan Med. Assoc. J. 2001. V. 44. P. 535–539.
14. Wang X., Wang W., Li L., Perry G., Lee H., Zhu X. // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1842. P. 1240–1247.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadic.2013.10.015>
15. Wojtunik-Kulesza K.A., Oniszczuk A., Oniszczuk T., Waksmundzka-Hajnos M. // Rev. Biomed. Pharmacother. 2016. V. 78. P. 39–49.
<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2015.12.024>
16. Chen C., Zhang Y., Gao Y., Xu Q., Ju X., Wang L. // J. Functional Foods. 2016. V. 26. P. 394–405.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.016>
17. Ranneh Y., Ali F., Akim A.M., Abd H., Hamid H., Khazaai A.F. // Appl. Biol. Chem. 2017. V. 60. P. 327–338.
<https://doi.org/10.1007/s13765-017-0285-9>
18. Liu Z.-Q. // Eur. J. Med. Chem. 2020. V. 189. P. 112020.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.112020>
19. McKay G.J., Lyner N., Linden G.J., Kee F., Moitry M., Biasch K., Amouyel Ph., Dallongeville J., Bongard V., Ferrieres J., Gey K.F., Patterson C.C., Woodside J.V. // Eur. J. Nutr. 2021. V. 60. P. 2631–2641.
<https://doi.org/10.1007/s00394-020-02455-2>
20. Varesi A., Varesi A., Chirumbolo S., Lim C., Pierella E., Piccini G.B., Carrara A., Ricevuti G., Scassellati C., Bonvicini C., Pascale A. // Antioxidants (Basel). 2022. V. 11. P. 1224.
<https://doi.org/10.3390/antiox11071224>
21. Martemucci G., Costagliola C., Mariano M., D'Andrea L., Napolitano P., D'Alessandro A. // Oxygen. 2022. V. 2. P. 48–78.
<https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
22. Liu Z.-Q. // Food Chem. 2022. V. 380. P. 132143.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132143>
23. Cavallini G., Dachà M., Potenza L., Ranieri A., Scattino C., Castagna A., Bergamini E. // Plant Foods Hum. Nutr. 2014. V. 69. P. 108–114.
<https://doi.org/10.1007/s11130-014-0414-0>
24. Carocho M., Morales P., Ferreira I.C.F.R. // Trends Food Sci. Technol. 2018. V. 71. P. 107–120.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>
25. Gömert E.D., Gökmen V. // Food Res. Int. 2018. V. 105. P. 76–93.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
26. Olmo-Cunillera A., Escobar-Avello D., Pérez A.J., Marhuenda-Muñoz M., Lamuela-Raventós R.M., Vallverdú-Queralt A. // Nutrients. 2020. V. 12. P. 54.
<https://doi.org/10.3390/nu12010054>
27. Sharma A., Yada M., Tiwari A., Ali U., Krishnan M., Bala M., Mridula D., Sharma P., Goudar G., Roy J.K., Navik U., Garg M. // J. Cereal Sci. 2023. V. 112. P. 103719.
<https://doi.org/10.1016/j.cjs.2023.103719>
28. Chen X., Tang W., Li X., Zhuang K., Lyu Q. // LWT. 2023. V. 177. P. 114369.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114369>
29. Jesus F., Gonçalves A.C., Alves G., Silva L.R. // Food Res. Int. 2019. V. 116. P. 600–610.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.079>
30. Zheng Q., Tan W., Feng X., Feng K., Zhong W., Liao C., Liu Y., Li S., Hu W. // Molecules. 2022. V. 27. P. 7625.
<https://doi.org/10.3390/molecules27217625>
31. Adelakun O.E., Kudanga, T., Green, I.R., le Roes-Hill, M., Burton, S.G. // Process Biochem. 2012. V. 47. P. 1926–1932.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.06.027>
32. Aruwa C.E., Amoo S.O., Koordanally N., Kudanga T. // Biocatal. Agrie. Biotechnol. 2021. V. 35. P. 102105.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102105>
33. Huang D., Ou B., Prior R.L. // J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53. P. 184–11856.
<https://doi.org/10.1021/jf030723c>
34. Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P. // Prog. Lipid Res. 2007. V. 46. P. 244.
<https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.05.002>
35. Singh S., Singh R.P. // Food Rev. Int. 2008. V. 24. P. 392–415.
<https://doi.org/10.1080/87559120802304269>
36. Tabart J., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J.-O., Dommes J. // Food Chem. 2009. V. 113. P. 1226–1233.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.013>
37. Niki E. // Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 49. P. 503–515.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016>
38. Fernandes J.C., Eaton P., Nascimento H., Giao M.S., Ramos O.S., Belo L., Silva A.S., Pintado M.E., Malacata F.X. // Carbohydr. Polym. 2010. V. 79. P. 1101–1106.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.10.050>
39. Takebayashi J., Chen J., Tai A.A. // In: Advanced Protocols in Oxidative Stress II. Methods in Molecular Biology / Ed. Armstrong D. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. V. 594. P. 287–296.
https://doi.org/10.1007/978-1-60761-411-1_20

40. Alam M.N., Bristi N.J., Rafiquzzaman M. // Saudi Pharm. J. 2013. V. 21. P. 143–152.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsp.2012.05.002>
41. Carocho M., Ferreira I.C.F.R. // Food Chem. Toxicol. 2013. V. 51. P. 15–25.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
42. Martinelli E., Granato D., Azevedo L., Gonçalves J.E., Lorenzo J.M., Munekata P.E.S., Simal-Gandara J., Barba F.J., Carrillo C., Rajoka M.S.R., Lucin L. // Trends Food Sci. Technol. 2021. V. 116. P. 232–243.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.024>
43. López-Alarcón C., Denicola A. // Anal. Chim. Acta. 2013. V. 763. P. 1–10.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
44. He J.-R., Zhu J.-J., Yin S.-W., Yang X.-Q. // Food Hydrocolloids. 2022. V. 122. P. 107076.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107076>
45. Koga T., Moro K., Terao J. // Lipids. 1998. V. 33. P. 58–995.
<https://doi.org/10.1007/s11745-998-0244-4>
46. Arora A., Byrem T.M., Nair M.G., Strasburg G.M. // Arch. Biochem. Biophys. 2000. V. 373. P. 102–109.
<https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1525>
47. López-Revuelta A., Sánchez-Gallego J.I., Hernández-Hernández A., Sánchez-Yagüe Y., Llanillo M. // Chem. Biol. Interact. 2006. V. 161. P. 79–91.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.03.004>
48. Blasa M., Candiracci M., Accorsi A., Piacentini M.P., Piatti E. // Food Chem. 2007. V. 104. P. 1635–1640.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.014>
49. Chaudhuri S., Banerjee A., Basu K., Sengupta B., Sengupta P.K. // Int. J. Biol. Macromol. 2007. V. 41. P. 42–48.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.12.003>
50. Chen Y., Deuster P. // Chemico-Biological Interactions. 2009. V. 182. P. 7–12.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.06.007>
51. Hapner C.D., Deuster P., Chen Y. // Chem. Biol. Interact. 2010. V. 186. P. 275–279.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.05.010>
52. Koh J.J., Qiu S., Zou H., Lakshminarayanan R., Li J., Zhou X., Tang C., Saraswathi P., Verma C., Tan D.T.H., Tan A.L., Liu S., Beuerman R.W. // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1828. P. 834–844.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.09.004>
53. Wang F., Wang T., Lai J., Li M., Zou C. // Biochem. Pharmacol. 2006. V. 71. P. 799–805.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.002>
54. Olchowik-Grabarek E., Makarova K., Mavlyanov S., Abdullajanova N., Zamaraeva M. // Environ Sci. Pollut. Res. 2018. V. 25. P. 1200–1209.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0520-2>
55. Sierakowska A., Jasiewicz B., Piosik Ł., Mrówczyńska L. // Sci. Rep. 2023. V. 13. P. 1785.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-27205-8>
56. Kumar S.S., Ka K., John M. // Food and Humanity. 2023. V. 1. P. 159–164.
<https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.05.007>
57. Shishkina L.N., Kozlov M.V., Marakulina K.M., Plashchina I.G., Plyusnina S.N., Shevchenko O.G., Fedorova I.V., Chukicheva I.Y., Kutchin A.V. // Biophysics. 2012. V. 57. P. 786–791.
<https://doi.org/10.1134/S0006350912060164>
58. Shevchenko O.G., Plyusnina S.N., Shishkina L.N., Chukicheva I.Y., Fedorova I.V., Kuchin A.V. // Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. A. 2013. V. 7. P. 302–312.
<https://doi.org/10.1134/S1990747812060062>
59. Hseu Y.-C., Chang W.-H., Chen C.-S., J.-W. Liao, Huang C.-J., Lu F.-J., Chia Y.-C., Hsu H.-K., Wu J.-J., Yang H.-L. // Food Chem. Toxicol. 2008. V. 46. P. 105–114.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.07.003>
60. Filipe P., Silva A.M.S., Seixas R.S.G.R., Pinto D.C.G.A., Santos A., Patterson L.K., Silva J.N., Cavaleiro J.A.S., Freitas J.P., Mazie J.-C., Santus R., Morlie P. // Biochem. Pharmacol. 2009. V. 77. P. 957–964.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.11.023>
61. Blasa M., Angelino D., Gennari L., Ninfali P. // Food Chem. 2011. V. 125. P. 685–691.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.065>
62. Botta A., Martínez V., Mitjans M., Balboa E., Conde E., Vinardell M.P. // Toxicol. In Vitro. 2014. V. 28. P. 120–124.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2013.10.004>
63. Chen Y., Lin Q., Wang J., Mu J., Liang Y. // Int. J. Biol. Macromol. 2023. V. 224. P. 958–971.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.181>
64. Podsiadlik M., Markowicz-Piasecka M., Sikora J. // Chem. Biol. Interact. 2020. V. 332. 109305.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109305>
65. Fujii J., Homma T., Kobayashi S., Warang P., Madkaikar M., Mukherjee M.B. // Free Radic. Res. 2021. V. 55. P. 562–580.
<https://doi.org/10.1080/10715762.2021.1873318>
66. Remigante A., Spinelli S., Straface E., Gambardella L., Caruso D., Falliti G., Dossena S., Marino A., Mora-bito R. // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 10991.
<https://doi.org/10.3390/ijms231910991>
67. Niki E., Yamamoto Y., Takahashi M., Yamamoto K., Yamamoto Y., Komuro E., Miki M., Mino M. // J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo). 1988. V. 34. P. 507–515.
<https://doi.org/10.3177/jnsv.34.507>
68. Chen J.Y., Huestis W.H. // Biochim. Biophys. Acta. 1997. V. 1323. P. 299–309.
[https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(96\)00197-6](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(96)00197-6)
69. Zou C.G., Agar N.S., Jones G.L. // Life Sci. 2001. V. 69. P. 75–86.
[https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01112-2](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01112-2)
70. Reddy C.S.S.S., Subramanyam M.V.V., Vani R., Devi S.A. // Toxicol. In Vitro. 2007. V. 21. P. 1355–1364.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.06.010>

71. Suwalsky M., Vargas P., Avello M., Villena F., Sotomayor C.P. // Int. J. Pharm. 2008. V. 363. P. 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.005>
72. Suwalsky M., Manrique M., Villena F., Sotomayor C.P. // Biophys. Chem. 2009. V. 141. P. 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2008.12.010>
73. Omarova E.O., Antonenko Y.N. // Biochemistry (Moscow). 2014. V. 79. P. 139–145. <https://doi.org/10.1134/S0006297914020072>
74. Manaargadoo-Catin M., Ali-Cherif A., Pougnas J.-L., Perrin C. // Adv. Colloid Interface Sci. 2016. V. 228. P. 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.10.011>
75. Suwalsky M., Belmar J., Villena F., Gallardo M.J., Jemiola-Rzeminska M., Strzalka K. // Arch. Biochem. Biophys. 2013. V. 539. P. 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.09.006>
76. D'Alessandro A., Hansen K.C., Eisenmesser E.Z., Zimring J.C. // Blood Transfus. 2019. V. 17. P. 281–288. <https://doi.org/10.2450/2019.0072-19>
77. Petit K., Suwalsky M., Colina J.R., Aguilar L.F., Jemiola-Rzeminska M., Strzalka K. // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 2019. V. 1861. P. 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.10.009>
78. Finkel T. // Curr. Opin. Cell. Biol. 1998. V. 10. P. 248–253. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(98\)80147-6](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(98)80147-6)
79. Buehler P.W., Alayash A.I. // Antioxid. Redox Signal. 2005. V. 7. P. 1755–1760. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.1755>
80. Chiu D., Lubin B., Shohet S.B. // Free Radicals in Biology / Ed. Pryor W.A. New York: Academic Press, 1982. V. 5. P. 115–160. ISBN: 9780323156837
81. Chiu D., Kuypers F., Lubin B. // Semin. Hematol. 1989. V. 26. P. 257–276.
82. Sadrzadeh S.M.H., Graf E., Panter S.S., Hallaway P.E., Eaton J.W. // J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 14354–14356.
83. Clemens M.R., Waller H.D. // Chem. Phys. Lipids. 1987. V. 45. P. 251–268. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90068-5](https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90068-5)
84. Van den Berg J.M., Kamp J.A.F., Lubin B.H., Roelofsen B., Kuypers F.A. // Free Radic. Biol. Med. 1992. V. 12. P. 487–498. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(92\)90102-m](https://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90102-m)
85. Domanski A.V., Lapshina E.A., Zavodnik I.B. // Biochemistry (Moscow). 2005. V. 70. P. 761–769. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0181-5>
86. López-Revuelta A., Sánchez-Gallego J.I., Hernandez-Hernandez A., Sánchez-Yagge J., Llanillo T.M. // Biochim. Biophys. Acta. 2005. V. 1734. P. 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.02.004>
87. Dai F., Miao Q., Zhou B., Yang L., Liu Z. // Life Sci. 2006. V. 78. P. 2488–2493. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.10.009>
88. Liu Z.-Q. // Cell Biochem. Biophys. 2006. V. 44. P. 233–239. <https://doi.org/10.1385/CBB:44:2:233>
89. Shiva S., Subramanyam M.V., Vani R., Asha D. // Toxicol. In Vitro 2007. V. 21. P. 1355–1364. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.06.010>
90. Farag M.R., Alagawany M. // Chem. Biol. Interact. 2018. V. 279. P. 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.007>
91. Misra H.P., Fridovich I.J. // Biol. Chem. 1972. V. 247. P. 6960–6962. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)44679-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)44679-6)
92. Nagababu E., Chrest F.J., Rifkind J.M. // Biochim. Biophys. Acta. 2003. V. 1620. P. 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00537-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00537-8)
93. Okamoto K., Maruyama T., Kaji Y., Harada M., Mawatari S., Fujino T., Uyesaka N. // Jpn. J. Physiol. 2004. V. 54. P. 39–46. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.54.39>
94. Alburaidi B.S., Alsenaidy A.M., Hasan A., Siddiqi N.J., Alrokayan S.H., Odeibat H.A., Abdulnasir A.J., Khan H.A. // J. King Saud University – Science. 2022. V. 4. P. 101772. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101772>
95. Anjum R., Maheshwari N., Mahmood R. // J. Trace Elem. Med. Biol. 2022. V. 69. P. 126888. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126888>
96. Jeswani G., Alexander A., Saraf S., Saraf S., Qureshi A., Ajazuddin // J. Controlled Release. 2015. V. 211. P. 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.001>
97. Dhonnar S.L., More R.A., Adole V.A., Jagdale B.S., Sadgir N.V., Santosh S. // J. Mol. Struct. 2022. V. 1253. P. 132216. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132216>
98. Nuruki Y., Matsumoto H., Tsukada M., Tsukahara H., Takajo T., Tsuchida K., Anzai K. // Chem. Pharm. Bull. 2021. V. 69. P. 67–71. <https://doi.org/10.1248/cpb.c20-00568>
99. Grodzicka M., Pena-Gonzalez C.E., Ortega P., Michlewski S. // Sustainable Materials and Technologies. 2022. V. 33. P. e00497. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2022.e00497>
100. Li H., Lin G., Liang Z., Li Y., Zhang R. // J. Mol. Struct. 2024. V. 1295. P. 136808. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136808>
101. Mustafa Y.F. // J. Mol. Struct. 2024. V. 1302. P. 137471. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137471>
102. Saravanan A., Das P., Maruthapandi M., Aryal S., Michaeli S., Mastai Y., Luong J.H.T., Gedanken A. // Surfaces and Interfaces. 2024. V. 46. P. 103857. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2024.103857>
103. Gangurde K.B., More R.A., Adole V.A., Ghotekar D.S. // J. Mol. Struct. 2024. V. 1299. P. 136760. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136760>

104. *Orsine J.V.C., Costa R., Silva R., Santos M., Novaes M.* // Int. J. Nutr. Met. 2012. V. 4. P. 19–23.
<https://doi.org/10.5897/IJNAM11.064>
105. *Ko F.N., Hsiao G., Kuo Y.H.* // Free Radic. Biol. Med. 1997. V. 22. P. 215–222.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(96\)00295-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00295-x)
106. *Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y.* // Food Chem. Toxicol. 2009. V. 47. P. 1591–1599.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.04.006>
107. *Bellik Y., Iguer-Ouada M.* // Food Chem. 2016. V. 190. P. 468–473.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.126>
108. *Gonçalves A.C., Bento C., Silva B.M., Silva L.R.* // Food Res. Int. 2017. V. 95. P. 91–100.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.023>
109. *Bento C., Gonçalves A.C., Silva B., Silva L.R.* // J. Functional Foods. 2018. V. 43. P. 224–233.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.018>
110. *Du R., Liu K., Zhao S., Chen F.* // ACS Omega. 2020. V. 5. P. 12751–12759.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00349>
111. *Ahumada-Santos Y.P., Lypez-Angulo G., Pinto-González R.M., Clemente-Soto A.F., Lypez-Valenzuela J.A., Delgado-Vargas F.* // ADV. TRADIT. MED. (ADTM). 2024.
<https://doi.org/10.1007/s13596-023-00735-w>
112. *Ajila C.M., Rao P.U.J.S.* // Food Chem. Toxicol. 2008. V. 46. P. 303–309.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.08.024>
113. *Yan Y., Yu C., Chen J., Li X., Wang W., Li S.* // Carbohydr. Polym. 2011. V. 83. P. 217–224.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.045>
114. *Li X.M., Li X.L., Zhou A.G.* // Eur. Polymer J. 2007. V. 43. P. 488–497.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.10.025>
115. *Sun C.L., Wang L., Li J., Liu H.* // Food Chem. 2014. V. 160. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.067>
116. *Wu G.-H., Hu T., Li Z.-Y., Huang Z.-L., Jiang J.-G.* // Food Chem. 2014. V. 148. P. 351–356.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.029>
117. *Hou J., Cui H.-L.* // Curr. Microbiol. 2018. V. 75. P. 266–271.
<https://doi.org/10.1007/s00284-017-1374-z>
118. *Yin Z.N., Wu W.J., Sun C.Z., Liu H.F., Chen W.B., Zhan Q.P., Lei Z.G., Xin X., Ma J.J., Yao K., Min T., Zhang M.M., Wu H.* // Biomed. Environ. Sci. 2019. V. 32. P. 11–21.
<https://doi.org/10.3967/bes2019.002>
119. *Loganayaki N., Siddhuraju P., Manian S.J.* // Food Sci. Technol. 2013. V. 50. P. 687–695.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0389-x>
120. *Singh R.P., Kaur G.* // Food Chem. Toxicol. 2008. V. 46. P. 553–556.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.08.037>
121. *Shevchenko O.G., Shishkina L.N.* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2011. V. 47. P. 179–186.
<https://doi.org/10.1134/S0022093011020071>
122. *Al-Qarawi A.A., Mousa H.M.* // J. Arid Environments. 2004. V. 59. P. 675–683.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2004.02.004>
123. *Ivanov I.T.* // Comp. Biochem. Physiol.(A). Mol. Integr. Physiol. 2007. V. 147. P. 876–884.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.02.016>
124. *Shevchenko O.G., Plyusnina S.N.* // J. Evol. Biochem. Physiol. 2017. V. 53. P. 298–307.
<https://doi.org/10.1134/S0022093017040068>
125. *Brzezinska-Slebodzinska E.* // Vet. Res. Commun. 2003. V. 27. P. 211–217.
<https://doi.org/10.1023/A:1023344607691>
126. *Mineo H., Ogita A., Kanayama N., Kawagishi M., Sato E., Yamamoto N., Izawa A.K.M.* // Eur. J. Pharmacol. 2013. V. 702. P. 142–148.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.029>
127. *Miki M., Tamai H., Mino M., Yamamoto Y., Niki E.* // Arch. Biochem. Biophys. 1987. V. 258. P. 373–380.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(87\)90358-4](https://doi.org/10.1016/0003-9861(87)90358-4)
128. *Jani N., Ziogas J., Angus J.A., Wright C.E.* // J. Pharmacol. Toxicol. Methods. 2012. V. 65. P. 142–146.
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2012.03.006>
129. *Costa R.M., Magalhães A.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Carvalho M., Silva B.M.* // Food Chem. Toxicol. 2009. V. 47. P. 860–865.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.019>
130. *Frassinetti S., Gabriele M., Caltavuturo L., Longo V., Pucci L.* // Plant Foods Hum. Nutr. 2015. V. 70. P. 35–41.
<https://doi.org/10.1007/s11130-014-0453-6>
131. *Afsar T., Razak S., Khan M.R., Mawash S., Almajwal A., Shabir M., Haq I.U.* // BMC Complement. Altern. Med. 2016. V. 16. P. 258.
<https://doi.org/10.1186/s12906-016-1240-8>
132. *García-Becerra L., Mitjans M., Rivas-Morales C., Verde-Star J., Oranday-Cárdenas A., María P.V.* // Food Chem. 2011. V. 194. P. 1081–1088.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.131>
133. *Zhang L., Santos J.S., Cruz T.M., Marques M.B., do Carmo M.A.V., Azevedo L., Wang Y., Granato D.* // Food Res. Int. 2019. V. 125. P. 108516.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108516>
134. *Banerjee A., Kunwar A., Mishra B., Priyadarshini K.I.* // Chem. Biol. Interact. 2008. V. 174. P. 134–139.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.009>
135. *Barreca D., Lagana G., Tellone E., Ficarra S., Leuzzi U., Galtieri A., Bellucco E.J.* // Membrane Biol. 2009. V. 230. P. 163–171.
<https://doi.org/10.1007/s00232-009-9197-x>
136. *Qin B., Yang K., Cao R.* // J. Chem. 2020. P. 2786359.
<https://doi.org/10.1155/2020/2786359>
137. *Jamialahmadi K., Amiri A.H., Zahedipour F., Faraji F., Karim G.* // J. Pharmacopuncture. 2022. V. 25. P. 344–353.
<https://doi.org/10.3831/KPI.2022.25.4.344>

138. *Sen V.D., Sokolova E.M., Neshev N.I., Kulikov A.V., Pliss E.M.* // *Reactive and Functional Polymers*. 2017. V. 111. P. 53–59.
<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.12.006>
139. *Chen W., Ma J., Gong F., Xi H., Zhan Q., Li X., Wei F., Wu H., Lai F.* // *Carbohydr. Polym.* 2018. V. 200. P. 446–455.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.007>
140. *Zhang H., Han L., Sun X., Yu Y., Lv C., Lu J.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2022. V. 217. P. 761–774.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.023>
141. *Zheng L., Dong H., Su G., Zhao Q., Zhao M.* // *Food Chem.* 2016. V. 197. P. 807–813.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.012>
142. *Kim J., Hong V.S., Lee J.* // *Arch. Pharm. Res.* 2014. V. 37. P. 324–331.
<https://doi.org/10.1007/s12272-013-0189-0>
143. *Jasiewicz B., Babijczuk K., Warzajtis B., Rychlewska U., Starzyk J., Costa G., Mrywczynska L.* // *Molecules*. 2023. V. 28. P. 708.
<https://doi.org/10.3390/molecules28020708>
144. *Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Shevchenko O.G., Suponitsky K.Y., Kutchin A.V.* // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2011. V. 37. P. 614–618.
<https://doi.org/10.1134/S1068162011050049>
145. *Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Sukrusheva O.V., Schevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2015. V. 64. P. 1406–1412.
<https://doi.org/10.1007/s11172-015-1024-1>
146. *Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Shevchenko O.G., Suponitskii K.Y., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2017. V. 66. P. 91–98.
<https://doi.org/10.1007/s11172-017-1705-z>
147. *Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Schevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2017. V. 66. P. 297–303.
<https://doi.org/10.1007/s11172-017-1731-x>
148. *Buravlev E.V., Fedorova I.V., Shevchenko O.G.* // *Russ. Chem. Bull.* 2019. V. 68. P. 985–992.
<https://doi.org/10.1007/s11172-019-2508-1>
149. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G.* // *Russ. Chem. Bull.* 2019. V. 68. P. 79–85.
<https://doi.org/10.1007/s11172-019-2419-1>
150. *Buravlev E.V., Fedorova I.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2020. V. 69. P. 1573–1578.
<https://doi.org/10.1007/s11172-020-2937-x>
151. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G.* // *Russ. Chem. Bull.* 2020. V. 69. P. 1971–1978.
<https://doi.org/10.1007/s11172-020-2987-0>
152. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2021. V. 70. P. 183–190.
<https://doi.org/10.1007/s11172-021-3075-9>
153. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G.* // *Russ. Chem. Bull.* 2022. V. 71. P. 2621–2628.
<https://doi.org/10.1007/s11172-022-3691-z>
154. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015. V. 25. P. 826–829.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.12.075>
155. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Chukicheva I.Y., Kutchin A.V.* // *Chem. Papers.* 2018. V. 72. P. 201–208.
<https://doi.org/10.1007/s11696-017-0272-y>
156. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Anisimov A.A., Suponitsky K.Y.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2018. V. 152. P. 10–20.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.022>
157. *Buravlev E.V., Dvornikova I.A., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Chem. Biodivers.* 2019. V. 16. P. e1900362.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201900362>
158. *Buravlev E.V., Fedorova I.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Chem. Biodivers.* 2019. V. 16. P. e1800637.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201800637>
159. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Suponitsky K.Y.* // *Chem. Biodivers.* 2021. V. 18. P. e2100221.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.202100221>
160. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G.* // *ChemistrySelect*. 2022. V. 7. P. e202202474.
<https://doi.org/10.1002/slct.202202474>
161. *Buravlev E.V., Shevchenko O.G.* // *Chem. Papers.* 2023. V. 77. P. 6169–6182.
<https://doi.org/10.1007/s11696-023-02930-0>
162. *Shevchenko O.G., Buravlev E.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2023. V. 72. P. 1972–1990.
<https://doi.org/10.1007/s11172-023-3991-y>
163. *Chukicheva I.Yu., Fedorova I.V., Nizovtsev N.A., Koroleva A.A., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Chem. Nat. Compd.* 2018. V. 54. P. 875–882.
<https://doi.org/10.1007/s10600-018-2503-z>
164. *Chukicheva I.Y., Fedorova I.V., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. Chem. Bull.* 2023. V. 72. P. 2215–2223.
<https://doi.org/10.1007/s11172-023-4018-4>
165. *Shchukina O.V., Chukicheva I.Y., Kolegova T.A., Kutchin A.V., Shevchenko O.G., Suponitsky K.Y.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. V. 88. P. 664–675.
<https://doi.org/10.1134/S1070363218040096>
166. *Shchukina O.V., Chukicheva I.Y., Kutchin A.V., Shevchenko O.G.* // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2018. V. 44. P. 787–794.
<https://doi.org/10.1134/S1068162018050151>
167. *Buravlev E.V., Belykh D.V., Chukicheva I.Y., Tarabukina I.S., Shevchenko O.G., Kutchin A.V.* // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2013. V. 39. P. 434–437.
<https://doi.org/10.1134/S1068162013040055>
168. *Torlopov M.A., Shevchenko O.G., Chukicheva I.Y., Udroatinina E.V.* // *Reactive and Functional Polymers.* 2020. V. 156. P. 104740.
<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104740>
169. *Torlopov M.A., Shevchenko O.G., Drozd N.N., Udroatinina E.V.* // *Reactive and Functional Polymers.* 2023. V. 182. P. 105457.
<https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2022.105457>

170. Chukicheva I.Y., Torlopov M.A., Buravlev E.V., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2014. V. 40. P. 76–81.
<https://doi.org/10.1134/s1068162014010026>
171. Martakov I.S., Shevchenko O.G., Torlopov M.A., Gerasimov E.Y., Sitnikov P.A. // J. Inorg. Biochem. 2019. V. 199. P. 110782.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110782>
172. Martakov I.S., Shevchenko O.G. // J. Inorg. Biochem. 2020. V. 210. P. 111168.
<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111168>
173. Martakov I.S., Shevchenko O.G., Torlopov M.A., Sitnikov P.A. // J. Mol. Struct. 2022. V. 1248. P. 131471.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131471>
174. Belykh D.V., Buravlev E.V., Chukicheva I.Yu., Tarabukina I.S., Kuchin A.V., Shevchenko O.G., Plyusnina S.N. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2012. V. 38. P. 558–564.
<https://doi.org/10.1134/S1068162012050044>
175. Dvornikova I.A., Buravlev E.V., Fedorova I.V., Shevchenko O.G., Chukicheva I.Y., Kuchin A.V. // Russ. Chem. Bull. 2019. V. 68. P. 1000–1005.
<https://doi.org/10.1007/s11172-019-2510-7>
176. Popova S.A., Shevchenko O.G., Chukicheva I.Y., Kuchin A.V. // Chem. Biodivers. 2019. V. 16. P. e1800317.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201800317>
177. Popova S.A., Shevchenko O.G., Chukicheva I.Y. // Chem. Biolog. Drug Design. 2022. V. 100. P. 994–1004.
<https://doi.org/10.1111/cbdd.13955>
178. Samet A.V., Shevchenko O.G., Rusak V.V., Chartov E.M., Myshlyavtsev A., Rusanov D., Semenova M.N., Semenov V.V. // J. Nat. Prod. 2019. V. 82. P. 1451–1458.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00878>
179. Nikitina L.E., Lisovskaya S.A., Startseva V.A., Frolova L.L., Kuchin A.V., Shevchenko O.G., Ostolopovskaya O.V., Pavelyev R.S., Khelkhal M.A., Gilfanov I.R., Fedyunina I.V., Khaliullin R.R., Akhverdiev R.F., Gerasimov A.V., Abzaldinova E.V., Izmailov A.G. // Bionanoscience. 2021. V. 11. P. 970–976.
<https://doi.org/10.1007/s12668-021-00912-8>
180. Gur'eva Y.A., Zalevskaya O.A., Shevchenko O.G., Slepukhin P.A., Makarov V.A., Kuchin A.V. // RSC Adv. 2022. V. 12. P. 8841–8851.
<https://doi.org/10.1039/d2ra00223j>
181. Buravlev E.V., Shevchenko O.G. // Chem. Papers. 2023. V. 77. P. 499–508.
<https://doi.org/10.1007/s11696-022-02492-7>
182. Izmest'ev E.S., Sudarikov D.V., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2015. V. 41. P. 77–82.
<https://doi.org/10.7868/S0132342314050078>
183. Pestova S.V., Izmestev E.S., Rubtsova S.A., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. // Russ. Chem. Bull. 2015. V. 64. P. 723–731.
<https://doi.org/10.1007/s11172-015-0926-2>
184. Pestova S.V., Izmest'ev E.S., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2017. V. 43. P. 302–310.
<https://doi.org/10.1134/S1068162017030141>
185. Gyrdymova Y.V., Sudarikov D.V., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Chemistry Biodiversity. 2017. V. 14. P. 1–10.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201700296>
186. Gyrdymova Y.V., Demakova M.Y., Shevchenko O.G., Sudarikov D.V., Frolova L.L., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Chem. Nat. Compd. 2017. V. 53. P. 895–900.
<https://doi.org/10.1007/s10600-017-2150-9>
187. Gyrdymova Y.V., Sudarikov D.V., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A., Slepukhin P.A., Patov S.A., Lakhvich F.A., Pashkovskii F.S., Kuchin A.V. // Chem. Nat. Compd. 2018. V. 54. P. 883–888.
<https://doi.org/10.1007/s10600-018-2504-y>
188. Melekhin A.K., Sudarikov D.V., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Chem. Nat. Compd. 2018. V. 54. P. 281–285.
<https://doi.org/10.1007/s10600-018-2324-0>
189. Sudarikov D.V., Krymskaya Y.V., Shevchenko O.G., Slepukhin P.A., Rubtsova S.A., Kuchin A.V. // Chemistry Biodiv. 2019. V. 16. P. e1900413.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201900413>
190. Sudarikov D.V., Krymskaya Y.V., Melekhin A.K., Shevchenko O.G., Rubtsova S.A. // Chemical Papers. 2021. V. 75. P. 2957–2963.
<https://doi.org/10.1007/s11696-020-01362-4>
191. Sudarikov D.V., Gyrdymova Y.V., Borisov A.V., Lukyanova J.M., Rumyantcev R.V., Shevchenko O.G., Baidamshina D.R., Zakarova N.D., Kayumov A.R., Sinegubova E.O., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Rubtsova S.A. // Molecules. 2022. V. 27. P. 5101.
<https://doi.org/10.3390/molecules27165101>
192. Ksenofontov A.A., Bocharov P.S., Antina E.V., Shevchenko O.G., Samorodov A.V., Gilfanov I.R., Pavelyev R.S., Ostolopovskaya O.V., Startseva V.A., Fedyunina I.V., Azizova Z.R., Gaysin S.I., Pestova S.V., Izmest'ev E.S., Rubtsova S.A., Khelkhal M.A., Nikitina L.E. // Biomol. 2022. V. 12. P. 1599.
<https://doi.org/10.3390/biom12111599>
193. Nikonova N.N., Hurshkainen T.V., Shevchenko O.G., Kuchin A.V. // Holzforschung. 2022. V. 76. P. 276–284.
<https://doi.org/10.1515/hf-2021-0122>
194. Golubev D., Zemskaya N., Shevchenko O., Shaposhnikov M., Kukuman D., Patov S., Punegov V., Moskalev A. // Biogerontology. 2022. V. 23. P. 215–235.
<https://doi.org/10.1007/s10522-022-09954-1>
195. Golubev D., Platonova E., Zemskaya N., Shevchenko O., Shaposhnikov M., Nekrasova P., Patov S., Ibragimova U., Valuisky N., Borisov A., Zhukova X., Sorokina S., Litvinov R., Moskalev A. // Biogerontology. 2023. V. 25. P. 507–528.
<https://doi.org/10.1007/s10522-023-10083-6>
196. Platonova E.Yu., Golubev D.A., Zemskaya N.V., Shevchenko O.G., Patov S.A., Shaposhnikov M.V., Moskalev A.A. // Molecular Biology. 2023. V. 57. P. 978–992.
<https://doi.org/10.1134/S0026893323060134>

197. *Mikhailova D.V., Shevchenko O.G., Golubev D.A., Platonova E.Y., Zemskaya N.V., Shoeva O.Y., Gordieva E.I., Patov S.A., Shaposhnikov M.V., Khlestkina E.K., Moskalev A.A.* // *Antioxidants (Basel)*. 2023. V. 12. P. 2010.
<https://doi.org/10.3390/antiox12112010>
198. *Yang H.-L., Korivi M., Lin M.-K., Chang H.C.-W., Wu C.-R., Lee M.-S., Chen W.T.-L., Hseu Y.-C.* // *J. Food Drug Anal.* 2017. V. 25. P. 898–907.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.007>
199. *Woźniak M., Mrówczyńska L., Waśkiewicz A., Rogoziński T., Ratajczak I.* // *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2019. V. 29. P. 301–308.
<https://doi.org/10.1016/j.bjfp.2019.02.002>
200. *Sato Y., Kanazawa S., Sato K., Suzuki Y.* // *Biochemistry*. 1995. V. 21. P. 8940–8949.
<https://doi.org/10.1248/bpb.21.250>
201. *Halliwell B., Clement M.V., Longa L.H.* // *FEBS Lett.* 2000. V. 486. P. 10–13.
[https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)02197-9](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02197-9)
202. *Kowalczyk A., Puchała M., Wesołowska K., Serafin E.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. V. 1774. P. 86–92.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.11.005>
203. *Everse J., Hsia N.* // *Free Radic. Biol. Med.* 1997. V. 22. P. 1075–1099.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(96\)00499-6](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00499-6)
204. *Rocha S., Costa E., Coimbra S., Nascimento H., Catarino C., Rocha-Pereira P., Quintanilha A., Belo L., Santos-Silva A.* // *Blood Cells Mol Dis.* 2009. V. 43. P. 68–73.
<https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2009.03.002>
205. *Nagababu E., Rifkind J.M.* // *Biochem. Biophys. Res. Com.* 1998. V. 247. P. 592–596.
206. *Nagababu E., Fabry M.E., Nagel R.L., Rifkind J.M.* // *Blood Cells Mol. Dis.* 2008. V. 41. P. 60–66.
<https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2007.12.003>
207. *Nagababu E., Mohanty J.G., Bhamidipaty S., Ostera G.R., Rifkind J.M.* // *Life Sciences*. 2010. V. 86. P. 133–138.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.11.015>
208. *Choudhary O. P., Sarkar R., Priyanka, Chethan G.E., Doley P.J., Kalita P.C., Kalita A.* // *Ann. Med. Surg. (Lond)*. 2021. V. 70. P. 102895.
<https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102895>
209. *Takebayashi J., Kaji H., Ichiyama K., Makino K., Gohda E., Yamamoto I., Tai A.* // *Free Rad. Biol. Med.* 2007. V. 43. P. 1156–1164.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.002>
210. *Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O.* // *World Allergy Organ. J.* 2012. V. 5. P. 9–19.
<https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
211. *Hebbel R.P., Leung A., Mohandas N.* // *Blood*. 1990. V. 76. P. 1015–1020.
212. *Sugihara T., Rawicz W.E.A., Hebbel R.P.* // *Blood*. 1991. V. 77. P. 2757–2763.
213. *Çimen M.* // *Clin. Chim. Acta*. 2008. V. 390. P. 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.12.025>
214. *Skold A., Cosco D.L., Klein R.* // *South. Med. J.* 2011. V. 104. P. 757–761.
<https://doi.org/10.1097/SMJ.0b013e318232139f>
215. *Arif A., Salam S., Mahmood R.* // *Toxicol. In Vitro*. 2020. V. 65. P. 104810.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104810>
216. *Park S., Saravanakumar K., Sathiyaseelan A., Park S.J., Hu X., Wang M.-H.* // *LWT*. 2022. V. 154. P. 112727.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112727>
217. *Singh S., Singh D.K., Meena A., Dubey V., Masood N., Luqman S.* // *Phytomedicine*. 2019. V. 55. P. 92–104.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.009>
218. *Peng A., Lin L., Zhao M., Sun B.* // *Food Res. Int.* 2019. V. 123. P. 64–74.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.046>
219. *Suwalsky M., Jemiola-Rzeminska M., Astudillo C., Gallardo M.J., Staforelli J.P., Villena F., Strzalka K.* // *Biochim. Biophys. Acta*. 2015. V. 1848. P. 2829–2838.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.08.017>
220. *Suwalsky M., Zambrano P., Villena F., Manrique-Moreno M., Gallardo M.J., Jemiola-Rzeminska M., Strzalka K., Edwards A.M., Mennickent S., Dukes N.* // *J. Membr. Biol.* 2015. V. 248. P. 683–693.
<https://doi.org/10.1007/s00232-015-9780-2>
221. *Suwalsky M., Colina J., Gallardo M.J., Jemiola-Rzeminska M., Strzalka K., Manrique-Moreno M., Sepúlveda B.* // *J. Membr. Biol.* 2016. V. 249. P. 769–779.
<https://doi.org/10.1007/s00232-016-9924-z>
222. *Suwalsky M., Ramírez P., Avello M., Villena F., Gallardo M.J., Barriga A., Manrique-Moreno M.* // *J. Membr. Biol.* 2016. V. 249. P. 349–361.
<https://doi.org/10.1007/s00232-016-9873-6>
223. *Suwalsky M., Duguet J., Speisky H.* // *J. Membr. Biol.* 2017. V. 250. P. 239–248.
<https://doi.org/10.1007/s00232-017-9955-0>
224. *Novitskii V.V., Ryazantseva N.V., Semin I.R.* // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2000. V. 130. P. 979–982.
<https://doi.org/10.1023/A:1002870025084>
225. *Sheetz M.P., Singer S.J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1974. V. 71. P. 4457–4461.
<https://doi.org/10.1073/pnas.71.11.4457>
226. *Luneva O.G., Gendel' L.Ya., Kuznetsov Yu.V., Smirnov L.D.* // *Biophysics*. 2005. V. 50. P. 294–298.
227. *Manrique-Moreno M., Suwalsky M., Villena F., Garidel P.* // *Biophys. Chem.* 2010. V. 147. P. 53–58.
<https://doi.org/10.1016/j.bpc.2009.12.010>

228. Manrique-Moreno M., Villena F., Sotomayor C.P., Edwards A.M., Mucoz M.A., Garidel P., Suwalsky M. // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1808. P. 2656–2664. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.005>
229. Parshina E.Yu., Rubin A.B., Gendel L.Ya. // Biophysics. 2004. V. 49. P. 981–985.
230. Parshina E.Yu., Gendel L.Ya., Rubin A.B. // Biol. Bull. 2007. V. 34. P. 537–541. <https://doi.org/10.1134/S1062359007060015>
231. Parshina E.Yu., Gendel L.Ya., Rubin A.B. // Biophysics. 2009. V. 54. P. 706–708. <https://doi.org/10.1134/S0006350909060098>
232. Parshina E.Y., Silicheva M.A., Volod'kin A.A., Gendel L.Y. // Biophysics. 2017. V. 62. P. 754–758. <https://doi.org/10.1134/S0006350917050189>
233. Shevchenko O.G., Plyusnina S.N., Buravlev E.V., Chukicheva I.Y., Fedorova I.V., Shchukina O.V., Kutchin A.V. // Russ. Chem. Bull. 2017. V. 66. P. 1881–1890. <https://doi.org/10.1007/s11172-017-1962-x>
234. Basiglio C.L., Pozzi E.J.S., Mottino A.D., Roma M.G. // Chem. Biol. Interact. 2009. V. 79. P. 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.12.008>
235. Preté P.S.C., Domingues C.C., Meirelles N.C., Malheiros S.V.P., Goñi F.M., Paula E., Schreier S. // Biochim. Biophys. Acta. (Biomembr.) 2011. V. 1808. P. 1641–1670. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.10.016>
236. Rodi P.M., Trucco V.M., Gennaro A.M. // Biophys. Chem. 2008. V. 135. P. 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2008.02.015>

Blood Erythrocytes – a Biological Model for Evaluating Antioxidant Activity of Chemical Compounds

O. G. Shevchenko*, #

Phone: +7 (912) 561-54-65; e-mail: shevchenko@ib.komisc.ru

* Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
ul. Kommunisticheskaya 28, Syktyvkar, 167982 Russia

This review presents an analysis of literature, including our own work, on various aspects of using RBC as an *in vitro* model in the comprehensive evaluation of antioxidant activity of a wide range of natural and synthetic compounds, their mixtures, and plant extracts. The existing practice of using human, laboratory, and domestic animal red blood cells is examined. The characteristics of the most commonly used initiators of oxidative stress in such studies, 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) and H₂O₂, as well as the mechanisms underlying the development of the hemolytic process are discussed. A critical analysis of methodological approaches to assessing the level of hemolysis is provided. The review further discusses the evaluation of erythrocyte survival under oxidative stress conditions and the ability of the tested compounds to act as membrane protectors. The text considers the criteria for a comprehensive assessment of erythrocytes, facilitating the study of cellular and molecular mechanisms underlying antioxidant activity of a wide range of substances on a model of oxidative hemolysis of erythrocytes. Traditional methods include assessment of the intensity of membrane lipid peroxidation (LPO) processes through measurement of concentration of products that react with 2-thiobarbituric acid, as well as assessment of relative content of oxidized forms of hemoglobin in erythrocytes. The use of modern fluorescent methods is another promising approach. In particular, the fluorescence of heme degradation products, the decrease in intensity of which can indicate the presence of antioxidant activity in the compounds under investigation, is a sensitive marker of oxidative stress in erythrocytes. Another prominent fluorescent method is the assessment of the level of oxidative stress by measuring the intracellular concentration of ROS in erythrocytes. Analysis of our own and literature data allows us to recommend the method of oxidative hemolysis of erythrocytes as the method to screen newly developed compounds in order to select the most interesting candidates for further in-depth studies. It is appropriate for establishing the structure-activity relationship and developing a strategy for the targeted synthesis of new biologically active compounds combining high hemocompatibility and antioxidant activity, promising for biomedical applications.

Keywords: antioxidant activity, erythrocytes, oxidative hemolysis