



УДК 577.15: 616.36-002: 543.544

## **Каталитические свойства глутатионпероксидазы при токсическом поражении печени у крыс и введении 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина**

Бражникова Д.А., Крыльский Е.Д., Матасова Л.В., Шульгин К.К.,  
Веревкин А.Н., Попов С.С., Попова Т.Н.

*ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

Поступила в редакцию 10.06.2019 г.

DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2019.19/787>

Проведено исследование некоторых каталитических свойств, а также регуляторного воздействия изоцитрата, глюкозо-6-фосфата и ионов  $Fe^{2+}$  на глутатионпероксидазу печени крыс, подвергнутых индукции токсического гепатита и введению 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина. Показано, что применение тестируемого соединения способствует изменению анализируемых параметров в направлении контрольных показателей, что может быть обусловлено конформационными перестройками молекулы глутатионпероксидазы в результате проявления 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолином антиокислительных свойств.

**Ключевые слова:** глутатионпероксидаза, токсическое поражение печени, 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин, окислительный стресс.

## **Catalytic properties of glutathione peroxidase under toxic liver damage and the administration of 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline in rats**

Brazhnikova D.A., Kryl'skii E.D., Matasova L.V., Shulgin K.K.,  
Verevkin A.N., Popov S.S., Popova T.N.

*Voronezh State University, Voronezh*

The study is devoted to clarifying the regulatory and catalytic properties of glutathione peroxidase from liver of rats with toxic liver damage and 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline exposure. The pathology was induced by intragastric administration of carbon tetrachloride at a dose of 0.064 cm<sup>3</sup> per 100 g of body weight. The test compound was orally administered at a dose of 50 mg/kg. Animals were divided into 3 groups during the experiment: control rats, animals with toxic liver damage, and rats receiving 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline against the background of the pathology. For the purification of glutathione peroxidase from rat liver, chromatographic separation methods with Sephadex G-25 and DEAE-cellulose were used. Glutathione peroxidase activity was measured by a conjugate reaction with glutathione reductase using the Warburg test. The protein content was assessed using the BCA protein assay kit. The results showed that in rats treated with 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline against the background of the pathology induction, the pH optimum and glutathione peroxidase affinity for glutathione were changed in the control direction. The obtained data may indicate a change in the conformational properties of the enzyme under conditions of a decrease the free radical oxidation intensity under the test compound action. In addition, the introduction of 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline contributed to the normaliza-

tion of the glutathione peroxidase regulatory properties, to respect to isocitrate, glucose-6-phosphate and Fe<sup>2+</sup>. Thus, the results of the work indicate the ability of 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline to have a corrective effect on the glutathione peroxidase catalytic and regulatory properties due, apparently, to the antioxidant properties manifestation by this compound.

**Keywords:** glutathione peroxidase, toxic liver damage, 6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline, oxidative stress.

## Введение

В настоящее время в условиях роста лекарственной и ксенобиотической нагрузки антропогенного характера высокую актуальность имеют работы, направленные на поиск новых гепатопротекторных средств. Ключевым органом, обеспечивающим детоксикацию ксенобиотиков, является печень, которая выполняет, помимо этого, широкий ряд иных функций, включая биосинтез белков крови, гомеостаз глюкозы, утилизацию различных питательных веществ [1, 2]. Воздействие высоких уровней токсинов на печень может привести к её метаболической дисфункции, которая варьирует от кратковременного повышения уровня печеночных ферментов до угрожающего жизни фиброза печени, цирроза, гепатоцеллюлярной карциномы [3]. Существуют убедительные доказательства, указывающие на существенную роль окислительного стресса и воспаления в этиологии повреждения печени [4]. Подобные эффекты могут быть индуцированы CCl<sub>4</sub>, промышленным растворителем, который, как известно, вызывает повреждение печени и широко используется при создании экспериментальной гепатопатии [2, 5].

Функцию поддержания интенсивности свободнорадикального окисления (СО) на стационарном уровне выполняет антиоксидантная система (АОС), к ферментативному звену которой относят глутатионпероксидазу (ГП; К.Ф. 1:11.1.9.). Данный фермент катализирует реакции восстановления органических и неорганических пероксидов с использованием в качестве донора протонов восстановленного глутатиона (GSH) [6]. Чрезмерное поступление в организм CCl<sub>4</sub> может способствовать формированию токсического гепатита, что обусловлено развитием окислительного стресса в условиях, когда резервов АОС оказывается недостаточно [7]. В связи с этим, актуальными представляются работы, направленные на поиск новых гепатопротекторных соединений, обладающих антиокислительной активностью.

Из литературы известно, что у некоторых производных дигидрохинолина имеются гепатопротекторные и антиоксидантные свойства. В частности, имеются данные о наличии у 6-этокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина, известного как этоксихин или сантохин, противоокислительного эффекта, что позволяет использовать данное соединение в качестве консерванта [8]. Исходя из этого, целесообразной представляется оценка применения производных дигидрохинолина при патологиях, сопряженных с развитием окислительного стресса. На кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» была разработана методика синтеза 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина (ДГХ) и осуществлено его получение для проведения настоящего исследования [9].

Таким образом, целью работы стало выяснение регуляторных и каталитических свойств ГП из печени крыс при воздействии ДГХ на фоне токсического поражения печени (ТПП).

## Эксперимент

В качестве объекта исследования использовались самцы белых лабораторных крыс (*Rattus norvegicus*) Wistar массой 200–250 г (питомник лабораторных животных

КролИнфо, Россия, Московская обл.). Все манипуляции были выполнены в соответствии с правилами гуманного обращения с лабораторными животными (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010) и санитарными нормами вивариев (ГОСТ 33216-2014). ТПП воспроизводили путем однократного внутрижелудочного введения четыреххлористого углерода в дозе  $0.064 \text{ см}^3$ , растворенного в  $1 \text{ см}^3$  вазелинового масла, на 100 г массы животного [10]. В ходе эксперимента крысы были разделены на 3 группы: 1 группу (n=4) составляли контрольные животные, содержащиеся на стандартном режиме вивария; 2 группа (n=4) включала крыс с индуцированным ТПП; животным 3 группы (n=4) через 3 часа после администрации  $\text{CCl}_4$  внутрижелудочно вводили ДГХ в дозе 50 мг на 1 кг веса, растворенного в  $1 \text{ см}^3$  1% крахмала, с интервалом в 24 часа. На четвертый день эксперимента у наркотизированных животных забирали печень. Ткань печени гомогенизировали в 4-х кратном объеме среды для выделения, содержащей 0.05 М трис-НСI буфер (pH=7.8), 1мМ ЭДТА, 1%  $\beta$ -меркаптоэтанол, после чего центрифугировали при 8000 g в течение 15 мин. Для исследования использовали полученный супернатант.

Скорость реакции, катализируемой ГП, оценивали спектрофотометрически по уменьшению оптической плотности при длине волны 340 нм. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее превращение 1 мкмоль субстрата за 1 минуту при  $25^\circ\text{C}$ . Активность фермента выражали в виде удельной активности. Среда спектрофотометрирования для определения активности ГП имела следующий состав: 50 мМ калий-фосфатный буфер (pH 7.4), содержащий 1мМ ЭДТА, 0.12 мМ НАДФН, 0.85 мМ GSH, 0.37 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 1 ед/ $\text{см}^3$  глутатионредуктазы. В контрольной пробе отсутствовал GSH. Определение белка проводили с помощью коммерческого набора BCA protein assay kit (BioVision, США).

Для получения ферментных препаратов ГП использовали следующую схему очистки. Гомогенат фильтровали и центрифугировали при 7000 g в течение 10 мин. Супернатант, содержащий ГП, использовали для дальнейшей очистки от низкомолекулярных соединений с помощью гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-25 ( $1.7 \times 20 \text{ см}$ ). Образец наносили в количестве не более 20-25% от объема колонки. В качестве среды элюции использовали 0.01 М калий-фосфатный буфер (pH 7.4). Скорость элюции составляла 25-30  $\text{см}^3/\text{ч}$ . Каждую фракцию объемом  $2 \text{ см}^3$  анализировали на присутствие ферментативной активности. Фракции, обладающие максимальной ферментативной активностью, объединяли и использовали для дальнейшей очистки с помощью колоночной ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой ( $1.2 \times 13 \text{ см}$ ). После сорбции белка проводили десорбцию фермента с помощью градиента концентрации KCl в среде элюции. Скорость элюции составляла 20-25  $\text{см}^3/\text{час}$ . Каждую фракцию, объемом  $2 \text{ см}^3$ , анализировали на присутствие ферментной активности и на содержание белка. Фракции с максимальной активностью фермента объединяли. Все этапы выделения и очистки фермента осуществляли при температуре  $0-4^\circ\text{C}$ .

Опыты проводили в 4-кратных биологических и 2-кратных аналитических повторностях. Для обработки результатов исследования использовали описательную статистику с определением выборочного среднего, выборочного стандартного отклонения, стандартной ошибки среднего [11]. Результаты работы анализировали, используя t-критерий Стьюдента для множественных сравнений с поправкой Бонферрони. Нормальность распределения значений в группах оценивалось с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверными считали различия при  $p < 0.05$ .

## Обсуждение результатов

В ходе работы были получены частично очищенные препараты ГП для оценки воздействия ДГХ на регуляторные свойства фермента при ТПП у крыс. После очистки ГП от низкомолекулярных примесей с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-25 объединяли фракции с наибольшей активностью фермента. Полученную смесь в объеме 6 см<sup>3</sup> наносили на колонку с ДЭАЭ-целлюлозой, объем собираемых фракций составлял 2 см<sup>3</sup>. При пропускании через колонку 0.01 М калий-фосфатного буфера наблюдался ярко выраженный пик активности фермента в объеме элюата 4-10 см<sup>3</sup> (рис. 1). В то же время, при последовательном пропускании через ДЭАЭ-целлюлозу растворов KCl с концентрациями 20, 40, 60 и 100 мМ активность ГП во фракциях практически отсутствовала. Полученные после элюирования фермента 0,01 М калий-фосфатным буфером фракции с наиболее высокой активностью ГП объединяли, полученный препарат использовали для оценки каталитических и регуляторных свойств фермента. Выход ГП после ДЭАЭ-хроматографии составил 28%, степень очистки – 24.5.

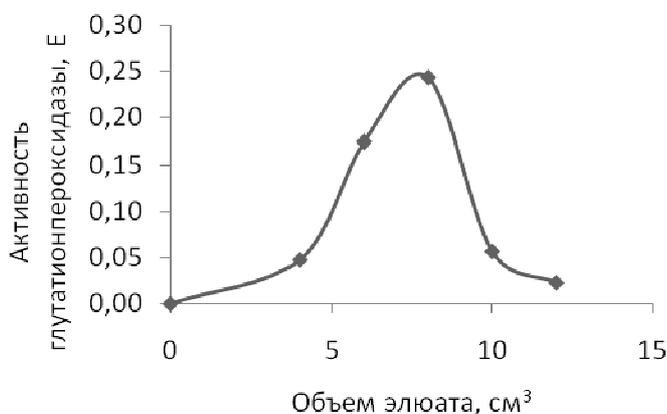


Рис. 1. Элюция глутатионпероксидазы с ДЭАЭ-целлюлозы 0.01 М калий-фосфатным буфером

Как показали проведенные исследования, введение ДГХ приводило к изменению константы Михаэлиса ( $K_m$ ) по отношению к GSH, определенной методом двойных обратных координат: данный показатель возрастал относительно значения при патологии в 2.9 и приближался к значениям контрольных животных. Наблюдаемое уменьшение сродства ГП к субстрату могло происходить в результате изменения соотношения окисленного глутатиона и GSH при введении на фоне патологии ДГХ, обладающего, вероятно, способностью ослаблять развитие окислительного стресса. Известно, что  $CCl_4$ -индуцированная гепатотоксичность является результатом восстановительных реакций дегалогенирования, катализируемых печеночным цитохромом P-450, который образует нестабильные трихлорметильные и трихлорметилпероксильные радикалы, способные связываться с белками или липидами и инициировать пероксидное окисление липидов и повреждение печени [12]. В свою очередь, имеются сведения о способности производных дигидрохинолина оказывать про-воокислительный эффект. В частности, антирадикальная активность ДГХ может быть обусловлена наличием гидроксильной группы и p-сопряжением электронов N и O в пара-положении ароматического цикла [13]. Кроме того, среди производных дигидрохинолина имеются соединения, обладающие гепатопротекторными свойствами. Так, была показана способность 6,6-метилен-бис (2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина) и 6,6-метилен-бис (2,2-диметил-4-метансульфоновой кислоты натрия-1,2-дигидрохинолина) ослаблять острые поражения печени, индуцированные

галактозамином и  $CCl_4$  [14]. Известны также нейропротекторные свойства соединения, относящегося к хинолиновым 1,2-дигидропроизводным — этоксихина [15].

Ранее было показано, что оптимальное значение pH для ГП смещалось в кислую сторону при индукции ТПП [16]. Введение ДГХ на фоне патологии способствовало возвращению данного показателя к контрольным значениям (рис. 2). По-видимому, вследствие наличия у ДГХ антиокислительных свойств, происходило торможение интенсивности СО и сопутствующего развития ацидоза.

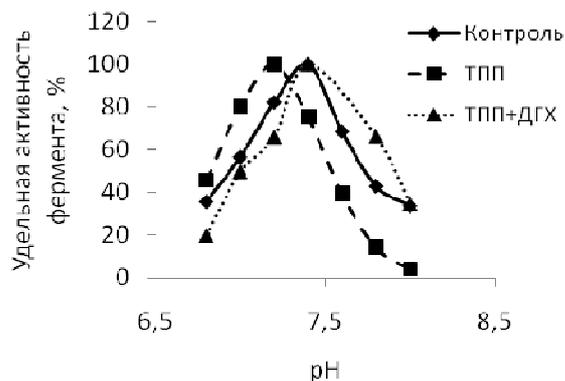


Рис. 2. Зависимость скорости глутатионпероксидазной реакции от концентрации ионов водорода у интактных крыс (Контроль), животных с токсическим поражением печени (ТПП) и крыс, которым на фоне развития патологии вводили 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохиолин в дозе 50 мг/кг (ТПП+ДГХ)

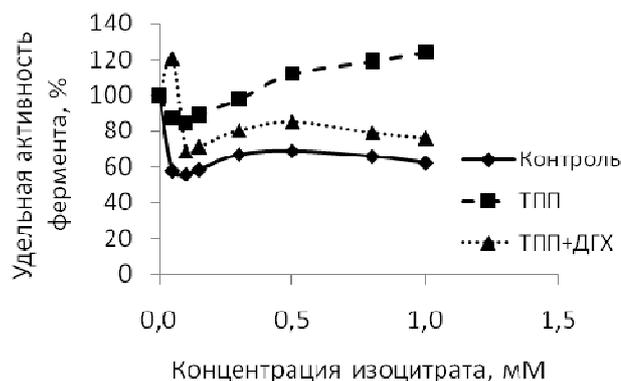
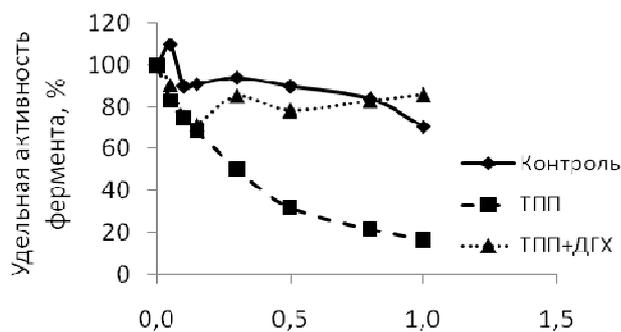


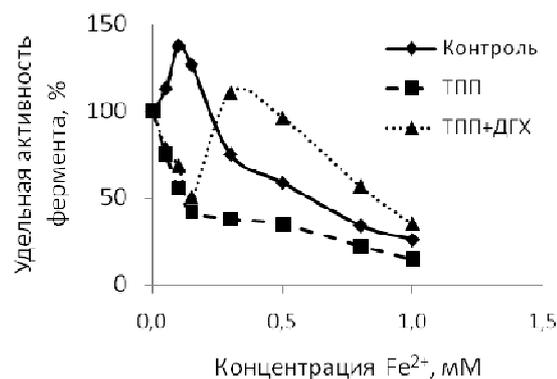
Рис. 3. Воздействие изоцитрата на активность глутатионпероксидазы из печени интактных крыс (Контроль), животных с токсическим поражением печени (ТПП) и крыс, которым на фоне развития патологии вводили 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохиолин в дозе 50 мг/кг (ТПП+ДГХ)

В условиях развития окислительного стресса интерес представляет оценка регуляторного воздействия изоцитрата (ИЦ) и глюкозо-6-фосфата (Г6Ф) на активность ГП. GSH, окисляемый в ГП-реакции, подвергается в дальнейшем ревосстановлению под действием глутатионредуктазы с расходом НАДФН. Основными поставщиками данного восстановительного эквивалента для глутатионовой АОС выступают НАДФ-ИДГ и Г6ФДГ, субстратами которых являются соответственно ИЦ и Г6Ф. Ранее было показано, что ИЦ способствует ингибированию активности ГП в концентрациях до 0,1 мМ [17]. Введение ДГХ на фоне патологии способствовало проявлению активирующего воздействия ИЦ на ГП в концентрации 0,05 мМ. При увеличении содержания в реакционной среде данного метаболита до 0,2 мМ наблюдалось снижение ферментативной активности, которая практически не изменялась при дальнейшем возрастании концентрации ИЦ (рис. 3). Кроме того, у животных с ТПП, которым вводили на фоне патологии ДГХ, происходило торможение ГП-реакции под воздействием Г6Ф, которое становилось менее выраженным по мере увеличения концентрации данного метаболита (рис. 4). По-видимому, данные изменения могли быть связаны со способностью тестируемого соединения восстанавливать свободные радикалы, что приводило к снижению нагрузки на глутатионовую АОС, НАДФН-генерирующие ферменты, и изменению концентрации субстратов данных ферментов – ИЦ и Г6Ф.



Концентрация глюкозо-6-фосфата, мМ

Рис. 4. Воздействие глюкозо-6-фосфата на активность глутатионпероксидазы из печени интактных крыс (Контроль), животных с токсическим поражением печени (ТПП) и крыс, которым на фоне развития патологии вводили 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохиолин в дозе 50 мг/кг (ТПП+ДГХ)



Концентрация Fe<sup>2+</sup>, мМ

Рис. 5. Воздействие ионов Fe<sup>2+</sup> на активность глутатионпероксидазы из печени интактных крыс (Контроль), животных с токсическим поражением печени (ТПП) и крыс, которым на фоне развития патологии вводили 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохиолин в дозе 50 мг/кг (ТПП+ДГХ)

Определенный интерес представляет также исследование воздействия на активность ГП ионов Fe<sup>2+</sup>, способных выступать в качестве прооксидантов посредством участия в реакциях Фентона и Хабера-Вайса. Как показали предыдущие исследования, у крыс с ТПП добавление в реакционную среду сульфата железа приводило к ингибированию ГП [18]. При этом у животных, получавших ДГХ на фоне патологии наблюдалось восстановление активности фермента при концентрациях Fe<sup>2+</sup> свыше 0,2 мМ (рис. 5).

Таким образом, на основании проведенных исследований было показано, что ДГХ воздействует на ряд каталитических и регуляторных параметров ГП, изменяя соответствующие значения в направлении контрольных показателей, вероятно, благодаря наличию антиокислительной активности.

## Заключение

В ходе работы была проведена оценка ряда каталитических и регуляторных свойств ГП из печени крыс, которым вводили ДГХ на фоне индукции ТПП. Показано, что под воздействием тестируемого препарата исследуемые параметры изменялись в направлении значений, характерных для контрольных животных. Наблюдаемые сдвиги в свойствах ГП могут быть связаны с конформационными перестройками молекулы фермента, происходящими при уменьшении интенсивности СО вследствие проявления ДГХ антиокислительных свойств в условиях развития патологии.

## Список литературы

1. Lu Y., Hu D., Ma S., Zhao X. Et al. // *International Immunopharmacology*. 2016. Vol. 34, pp. 44-52. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.02.003.
2. Yang B.Y., Zhang X.Y., Guan S.W., Hua Z.C. // *Molecules*. 2015. Vol. 20. No 7. pp 12250-12265. DOI: 10.3390/molecules200712250.
3. Sun H., Chen L., Zhou W., Hu L. et al. // *Journal of Hepatology*. 2011. Vol. 54. No 3. pp. 471-480. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.08.011.

4. Berasain C., Castillo J., Perugorria M.J., Latasa M.U. et al. // *Annals of the New York Academy of Science*. 2009. Vol. 1155. pp. 206-221. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.03704.x.
5. Zou J., Qi F., Ye L., Yao S. // *Medical Science Monitor*. 2016. Vol. 22. pp. 880-889.
6. Сафонова О.А., Попова Т.Н., Саиди Л. // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2008. № 2. С. 112-116.
7. Sun J., Wen X., Liu J., Kan J. et al. // *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 2018117. pp. 659-664. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.203.
8. Bailey C.A., Srinivasan L.J., McGeachin R.B. // *Poultry Science*. 1996. Vol. 75. pp. 1109-1112. DOI: 10.3382/ps.0751109
9. Попова Т.Н., Шульгин К.К., Шихалиев Х.С., Крыльский Е.Д. и др. Патент РФ, №RU 2 677 883 C1. 2017.
10. Андреещева Е.М., Попова Т.Н., Артюхов В.Г., Матасова Л.В. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2004. № 4. С. 399-402.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М. Практика. 1999. 459 с.
12. Lee Y.S., Cho I.J., Kim J.W., Lee M.K. et al. // *Food Sci. Nutr.* 2018. Vol. 7. No 1. pp. 322-338. doi: 10.1002/fsn3.893.
13. Касаикина О.Т., Лобанова Т.В., Фенцов Д.В., Иванов Ю.А. // *Известия АН СССР. Серия Химия*. 1983. № 10. С. 2214-2218.
14. Feher J., Bar-Pollak Z., Sreter L., Feher E. et al. // *Br. J. Exp. Pathol.* 1982. Vol. 63. No 4. pp. 394-400.
15. Zhu J., Carozzi V.A., Reed N., Mi R. et al. // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. No 28861. DOI: 10.1038/srep28861.
16. Сафонова О.А., Шульгин К.К., Агарков А.А., Попова Т.Н., Саиди Л. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2011. Т. 11. № 6. С. 934-941.
17. Шульгин К.К. Дисс. канд. биол. наук. Воронеж. 2008. 173 с.
18. Шульгин К.К., Попов С.С., Рахманова Т.И., Попова Т.Н. и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2016. Т. 16. № 6. С. 916-923.

## References

1. Lu Y., Hu D., Ma S., Zhao X. et al., *International Immunopharmacology*, 2016, Vol. 34, pp. 44-52. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.02.003.
2. Yang B.Y., Zhang X.Y., Guan S.W., Hua Z.C., *Molecules*, 2015, Vol. 20, No 7, pp. 12250-12265. DOI: 10.3390/molecules 200712250.
3. Sun H., Chen L., Zhou W., Hu L. et al. *Journal of Hepatology*, 2011, Vol. 54, No 3, pp. 471-480. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.08.011.
4. Berasain C., Castillo J., Perugorria M. J., Latasa M.U. et al., *Annals of the New York Academy of Science*, 2009, Vol. 1155, pp. 206-221. Doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.03704.x.
5. Zou J., Qi F., Ye L., Yao S., *Medical Science Monitor*, 2016, Vol. 22, pp. 880-889.
6. Safonova O.A., Popova T.N., Saidi L., *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2008, No 2, pp. 112-116.
7. Sun J., Wen X., Liu J., Kan J. et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 2018117, pp. 659-664. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.203.
8. Bailey C.A., Srinivasan L.J., McGeachin R.B., *Poultry Science*, 1996, Vol. 75, pp. 1109-1112. DOI: 10.3382/ps.0751109.
9. Popova T.N., Shul'gin K.K., Shikhaliev Kh.S., Kryl'skii E.D. et al., Patent RF, no RU 2 677 883 C1, 2017.
10. Andreevshcheva E.M., Popova T.N., Artyukhov V.G., Matasova L.V., *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2004, No 4, pp. 399-402.
11. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika. M., Praktika, 1999, 459 p.
12. Lee Y.S., Cho I.J., Kim J.W., Lee M.K. et al., *Food Sci. Nutr.*, 2018, Vol. 7, No 1, pp. 322-338. DOI: 10.1002/fsn3.893.
13. Kasaikina O.T., Lobanova T.V., Fentsov D.V., Ivanov Yu.A., *News of the Academy of Sciences of the USSR. Chemistry series*, 1983, No10, pp. 2214-2218.
14. Feher J., Bar-Pollak Z., Sreter L., Feher E. et al., *Br. J. Exp. Pathol.*, 1982, Vol. 63, No 4, pp. 394-400.
15. Zhu J., Carozzi V.A., Reed N., Mi R. et al., *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, No 28861. DOI: 10.1038/srep28861.
16. Safonova O.A., Shul'gin K.K., Agarkov A.A., Popova T.N. et al., *Sorbtsionnye i*

*khromatograficheskie protsessy*, 2011, Vol. 11, No 6, pp. 934-941.

17. Shul'gin K.K. Diss. kand. biol. nauk. Voronezh, 2008, 173 p.

**Бражникова Дарья Андреевна** - магистрант, Воронежский государственный университет, Воронеж

**Крыльский Евгений Дмитриевич** – ассистент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

**Матасова Лариса Владимировна** – доцент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

**Шульгин Константин Константинович** – доцент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

**Веревкин Алексей Николаевич** – ассистент кафедры медицинской биохимии и микробиологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

**Попов Сергей Сергеевич** – профессор кафедры госпитальной терапии и эндокринологии, д.м.н., Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж

**Попова Татьяна Николаевна** – профессор кафедры медицинской биохимии и микробиологии, д.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

18. Shul'gin K.K., Popov S.S., Rakhmanova T.I., Popova T.N et al., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2016, Vol. 16, No 6, pp. 916-923.

**Brazhnikova Darya A.** – the student, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [dasha.brazhnikowa@yandex.ru](mailto:dasha.brazhnikowa@yandex.ru) (correspondence writer)

**Kryl'skii Evgenii D.** – Ph.D. (biology), assistant, department of medical biochemistry and microbiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [evgenij.krylsky@yandex.ru](mailto:evgenij.krylsky@yandex.ru)

**Matasova Larisa V.** – Ph.D. (biology), associate prof., department of medical biochemistry and microbiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [larissamatasova@bio.vsu.ru](mailto:larissamatasova@bio.vsu.ru)

**Shulgin Konstantin K.** – Ph.D. (biology), associate prof., department of medical biochemistry and microbiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [kkshulgin@mail.ru](mailto:kkshulgin@mail.ru)

**Verevkin Aleksei N.** – Ph.D. (biology), assistant, department of medical biochemistry and microbiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [wer.all@mail.ru](mailto:wer.all@mail.ru)

**Popov Sergei S.** – grand Ph.D (medicine, MD), prof., department of hospital therapy and endocrinology, Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, e-mail: [popov-endo@mail.ru](mailto:popov-endo@mail.ru)

**Popova Tatyana N.** – prof., grand Ph.D (biology), department of medical biochemistry and microbiology, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: [biomed-popova@yandex.ru](mailto:biomed-popova@yandex.ru)