

● ISSN 2072-8158 ●



ВОДА:

ХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ

НАУЧНО – ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№2-2022



г. Москва



Всероссийский научно-практический журнал «Вода: Химия и Экология» публикует оригинальные научные статьи и обзоры теоретического и практического характера, посвященные:

- ✓ органической химии;
- ✓ биорганической химии;
- ✓ неорганической химии;
- ✓ процессов химической, мембранной технологии
- ✓ экологии;
- ✓ гидробиологии;
- ✓ исследованию новых перспективных материалов для химической и микробиологической очистки воды;
- ✓ технологическим инновациям в сфере промышленной и бытовой очистки вод;
- ✓ исследованиям в области гидробиологии;
- ✓ мониторингу водных объектов, экономике водной отрасли;
- ✓ обзору передовых российских и зарубежных разработок, существующих патентов и нормативной документации;
- ✓ чрезвычайным экологическим ситуациям;
- ✓ совершенствованию и разработке аналитических приборов;
- ✓ методическому и математическому обеспечению образования в области химии и экологии воды;

Миссия журнала: развитие фундаментальных и прикладных исследований в области химических, биологических наук и экологии, а также распространение оригинальных исследований в этих областях наук.

К публикации принимаются оригинальные исследования российских и зарубежных ученых, преподавателей, научных работников, аспирантов высших учебных заведений и научных организаций Российской Федерации, стран СНГ и дальнего зарубежья, ранее не опубликованные.

Настоящее издание включено в Перечень ведущих научных изданий, реферируемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Согласно паспорту Высшей аттестационной комиссии (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, журнал рекомендован для публикации результатов научных исследований, выполняющихся в рамках подготовки диссертационных работ по следующим специальностям:

- ✓ 1.4.3. Органическая химия (химические науки),
- ✓ 2.6.13. Процессы и аппараты химических технологий (химические науки),
- ✓ 2.6.15. Мембраны и мембранная технология (химические науки)
- ✓ 1.4.9. Биорганическая химия (химические науки),

Редакция журнала ВОДА: ХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ в том числе принимает оригинальные научные труды, касающиеся сферы биологических наук и экологии.

Язык: Русский, английский **Количество статей в журнале:** до 15.

Количество выпусков в год: 12, Журналу присвоен ISSN, 2072-8158

Регистрация СМИ: серия ПИ № ФС 77 - 31640 10.04.2008

Ссылка РИНЦ - https://www.elibrary.ru/title_about.asp?id=28251

Журнал печатается в г. Москве

Учредитель журнала: Мельников Игорь Олегович, кандидат химических наук

Адрес: 127473, Москва г., 3-й Самотечный пер., д. 23, кв. 48, **E-mail:** VAK-info@yandex.ru

Типография и издательство: Общество с ограниченной ответственностью "Издательство "Манускрипт" (ОГРН 1226100004679)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Каленский Александр Васильевич: Доктор физико-математических наук, профессор, заведующего кафедрой химии твердого тела и химического материаловедения, член-корреспондент РАН, один из ведущих преподавателей Кемеровского Государственного Университета

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Баренбойм Григорий Матвеевич: Д-р физ.-мат. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт водных проблем Российской академии наук» (Москва)

Данилов-Данильян Виктор Иванович: Доктор экономических наук, Российский учёный, экономист, эколог, гидролог, член-корреспондент РАН. Специалист в области экономики природопользования, экономико-математического моделирования, теории устойчивого развития, Институт водных проблем РАН (Москва)

Еременко Игорь Леонидович: Советский и Российский химик, доктор химических наук член-корреспондент РАН с 1997 года, академик РАН с 2006 года, лауреат Государственной премии Российской Федерации, институт общей и неорганической химии им. н.с. курнакова РАН (Москва)

Койфман Оскар Иосифович, Доктор химических наук, Российский химик, специалист в области синтеза, изучения физико-химических свойств и практического использования порфиринов, металлопорфиринов, их структурных аналогов и жидкокристаллических соединений, ректор Ивановского государственного химико-технологического университета, Ивановский государственный химико-технологический университет (Иваново)

Колесников Владимир Александрович: Доктор технических наук, Российский учёный в области промышленной электрохимии, безопасности и ресурсосбережения применительно к процессам обработки современных материалов, создания экологически безопасных, ресурсосберегающих процессов в гальванотехнике, переработке жидких техногенных отходов и водообработке, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева (Москва)

Мухин Виктор Михайлович: АО «Электростальское НПО «Неорганика» Ростеха; начальник лаборатории активных углей, эластичных сорбентов и катализаторов; доктор технических наук, профессор по специальности «Экология», лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники; заслуженный изобретатель РФ; почетный эколог, СВЕРДЛОВСКОЕ РЕГИОНАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ ОБЩЕСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ - МЕЖДУНАРОДНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК ЭКОЛОГИИ, БЕЗОПАСНОСТИ ЧЕЛОВЕКА И ПРИРОДЫ; Почетный профессор Санкт-Петербургского государственного технологического института (Санкт-Петербург)

Новоторцев Владимир Михайлович: Доктор химических наук, Советский и российский химик. Академик РАН. Научный руководитель и заведующий лабораторией магнитных материалов, Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН (Москва)

Фролова Алла Константиновна, Советский и российский химик, доктор технических наук, МИРЭА-Российский технологический университет (Москва)

EDITOR-IN-CHIEF:

Kalensky Alexander Vasilyevich: Doctor of Physico-Mathematical Sciences, Professor, Head of the Department of Solid State Chemistry and Chemical Materials Science, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, one of the leading teachers of Kemerovo State University

EDITORIAL BOARD:

Barenboim Grigory Matveyevich: Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Professor, Chief Researcher, Institute of Water Problems of the Russian Academy of Sciences (Moscow)

Danilov-Danilyan Viktor Ivanovich: Doctor of Economics, Russian scientist, economist, ecologist, hydrologist, corresponding Member of the Russian Academy of Sciences. Specialist in the field of environmental economics, economic and mathematical modeling, theory of Sustainable Development, Institute of Water Problems of the Russian Academy of Sciences (Moscow)

Eremenko Igor Leonidovich: Soviet and Russian chemist, Doctor of Chemical Sciences Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences since 1997, Academician of the Russian Academy of Sciences since 2006, laureate of the State Prize of the Russian Federation, N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Moscow)

Koifman Oskar Iosifovich, Doctor of Chemical Sciences, Russian chemist, specialist in the field of synthesis, study of physico-chemical properties and practical use of porphyrins, metalloporphyrins, their structural analogues and liquid crystal compounds, Rector of Ivanovo State University of Chemical Technology, Ivanovo State University of Chemical Technology (Ivanovo)

Kolesnikov Vladimir Aleksandrovich: Doctor of Technical Sciences, Russian scientist in the field of industrial electrochemistry, safety and resource conservation in relation to the processes of processing modern materials, creating environmentally safe, resource-saving processes in electroplating, processing of liquid technogenic waste and water treatment, D.I. Mendeleev Russian University of Chemical Technology (Moscow)

Mukhin Viktor Mikhailovich: ELEKTROSTAL SCIENTIFIC AND PRODUCTION ASSOCIATION "INORGANIC" Company; Head of the Laboratory of active coals, elastic sorbents and catalysts; Doctor of Technical Sciences, Professor in the specialty "Ecology", laureate of the prize of the Government of the Russian Federation in the field of science and technology; Honored Inventor of the Russian Federation. Honorary Ecologist, SVERDLOVSK REGIONAL BRANCH OF THE PUBLIC ORGANIZATION - INTERNATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF ECOLOGY, HUMAN SAFETY AND NATURE; Honorary Professor of the St. Petersburg State Technological Institute (St. Petersburg)

Novotortsev Vladimir Mikhailovich: *Doctor of Chemical Sciences, Soviet and Russian chemist. Academician of the Russian Academy of Sciences. Scientific Supervisor and Head of the Laboratory of Magnetic Materials, N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Moscow)*

Frolova Alla Konstantinovna, *Soviet and Russian chemist, Doctor of Technical Sciences, MIREA-Russian Technological University (Moscow)*

СОДЕРЖАНИЕ НОМЕРА

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Владимиров Юрий Андреевич, Владимир Георгиевич Константинович, Володяев Илья Владимирович, Левченко Ирина Николаевна. МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНОМ C-314 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИОМ 9

Владимиров Юрий Андреевич, Владимир Георгиевич Константинович, Володяев Илья Владимирович, Левченко Ирина Николаевна. МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНОМ C-525 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИОМ 14

CONTENTS

PHYSICAL CHEMISTRY

Vladimirov Yuri Andreevich, Vladimirov Georgy Konstantinovich, Volodyaev Ilya Vladimirovich, Levchenko Irina Nikolaevna. MODELING OF THE STRUCTURE AND FUNCTION OF COUMARIN-ACTIVATED C-314 CHEMILUMINESCENCE UNDER THE ACTION OF CYTOCHROME C COMPLEX WITH CARDIOLIPIOME 9

Vladimirov Yuri Andreevich, Vladimirov Georgy Konstantinovich, Volodyaev Ilya Vladimirovich, Levchenko Irina Nikolaevna. MODELING OF THE STRUCTURE AND FUNCTION OF COUMARIN-ACTIVATED C-525 CHEMILUMINESCENCE UNDER THE ACTION OF CYTOCHROME C COMPLEX WITH CARDIOLIPIOME 14

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 57.017

DOI 10.58551/20728158_2022_2_9

МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНОМ С-314 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИОМ

Владимиров Ю. А., Владимиров Г. К., Володяев И. В.,
Левченко И. Н.

Изучение структуры, функции комплекса цитохрома С с кардиолипином и физического активатора С-314. Получены квантовые выходы и точки пероксидазой активности активированной хемилюминесценции процессов перекисного окисления липидов в водной среде и в неполярном окружении. Показано: 1) квантовые выходы во много раз выше с участием природного красителя С-314, чем в случае свободного сверхтонкого свечения; 2) пероксидазная активность характеризуется как прямопропорциональной зависимостью нативной и частично денатурированной формы, так и насыщенностью цитохрома С в комплексе.

Ключевые слова: Сенсibilизаторы, цитохром С, кардиолипин, хемилюминесценция, структура, квантовые выходы, пероксидазная активность.

Цитохром С – один из основных составляющих дыхательной цепи митохондрий. К функциям которого относятся такие важные процессы как перенос электронов с комплекса 3 на комплекс 4. Является хорошим антиоксидантом [16], катализатором и биорегулятором апоптоза по митохондриальному пути [17]. Участвует в ниже перечисленной системе:

Формирование комплекса цитохрома С с кардиолипином внутренних мембран митохондрий; насыщение им пероксидазной активности [13];

Инициирование процессов перекисного окисления липидов митохондриальных мембран за счет пероксидазной активности катализатора;

Видоизменения состояния и проницаемости митохондриальных мембран за счет процессов перекисного окисления липидов; появление расширенных пор; набухание матрикса митохондрий [15];

Переход комплекса катализатора в цитоплазму, что приводит к активации каскада пероксидазных реакций и заканчивается апоптозом [10, 11].

Комплекс цитохром С с кардиолипином образует наночастицы диаметром 8-11 нм и является гетерогенным катализатором.

В последних работах представлено:

образование гидрофобных нанокристаллов определенного размера с установленным соотношением количества молекул цитохрома С и кардиолипина, показывающее образование данного комплекса со строго определенной структурой [5];

изменение конформации цитохрома С по отношению к нативному состоянию, т.е. увеличение размера его глобулы внутри комплекса цитохрома С и кардиолипина, отдаление тирозиновых и триптофановых остатков от гема, разрыв связи $Fe(heme) \cdots S(Met80)$; повышение досягаемости гема для малых молекул, необходимое для протекания исследуемых липопероксидазной и липоксигеназной реакций [17].

Исследование посвящено составлению модели взаимодействия процессов перекисного окисления липидов и природного красителя С-314. Рассмотрены точки пероксидазной активности, структура, функция, квантовые выходы цитохрома С с кардиолипином, физического активатора С-314

и сопровождающей их хемилюминесценции, запускаемых данным комплексом в митохондриальной мембране. Составление правильной, проверенной модели позволяет использовать методы хемилюминесценции, как инструмент точной оценки структуры, пероксидазной активности комплекса и изучать его функции в различных условиях.

Спонтанная хемилюминесценция сопровождается реакции рекомбинации перекисных радикалов и другие процессы с их участием. Использование физических активаторов, таких как кумарин С-314 позволяет усилить это свечение на 2–3 порядка без изменения химических процессов, протекающих в системе.

Хемилюминесценция, активированная природным красителем кумарином С-314 имеет интенсивность выше, чем спонтанная хемилюминесценция липидов, схожа по кинетическим кривым и константам скорости, соответственно, может быть использована при моделировании структуры, функций активированной природным красителем С-314 хемилюминесценции под действием комплекса цитохрома С и кардиолипина. Надежность решения определялась наличием кардиолипина для стабилизации рН, тушением Fe^{2+} и присутствием кумарина С-314. Среди факторов, которые могут исказить значение, можно выделить не достаточное добавление пероксида водорода [3], избыточное количество азота (II) [7], метанола, денатурация белка [9,11], изменение конформации цитохрома С в комплексе [8].

На основании анализа параметров катализатора, физического активатора С-314, пероксидазы хрена и люминола, проведены исследования сенсibiliзирующей способности красителя С-314, как физического активатора [1, 5], с целью уточнения величины квантового выхода С-314* и пероксидазной активности комплекса. Полученные результаты представляют практический интерес для изучения сенсibiliзирующей активности природных красителей кумаринов и структуры, функций пероксидазной активности комплекса.

Экспериментальная часть.

Использованные реактивы: KH_2PO_4 , 20 мМ буферный раствор (рН 7,4); пероксид водорода (Sigma-Aldrich, США); кумарин С-314 (Sigma-Aldrich, США); цитохром С (Sigma-Aldrich, США); кардиолипин из сердца быка (Avanti Polar Lipids, США) [9, 16];

Хемилюминесценцию измеряли на хемилюминометрах Lum-100 (Россия). Спектры поглощения регистрировали с использованием двухлучевого спектрофотометра Analytic Jena SPECORD 200 (Германия). Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре RF-5301 (Shimadzu Corporation, Япония). Измерения динамического светорассеяния проводились на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания). Данные, полученные хемилюминесцентными и спектроскопическими методами, обрабатывали в Microsoft Office Excel. Данные по динамическому светорассеянию обрабатывали с помощью официального программного обеспечения Malvern «Zetasizer Software».

Объектами исследования выступили известный флуоресцентный краситель С-314, пероксидаза хрена, люминол и комплекс цитохрома С с кардиолипином. Работа проводилась на кафедре Медицинской Биофизики Факультета Фундаментальной медицины МГУ.

Результаты и их обсуждение.

При составлении точной модели структуры и функций активированной природным красителем С-314 хемилюминесценции под действием катализатора были детализированы результаты, полученные ранее в экспериментах по запуску апоптоза [5]. Основываясь на известных фактах, таких как: (1) природные соединения имеют стандартную полосу поглощения интенсивностей с максимумом 699 нм [2]; (2) в кинетических экспериментах свет является распространенным источником возбуждения [4].

При построении зависимости поглощения флуоресценции от длинна волны по которой можно определить максимальную амплитуду поглощения флуоресценции тирозиновых остатков, входящую в диапазон значений 307-310 нм при длине волны 268-275 нм, так же как максимальную амплитуду поглощения триптофановых остатков, равную 330 нм [12, 16].

Проанализированы системы липопероксидазной и липоксигеназной реакций.

В ходе анализа установлено, что флуоресценция тирозина и триптофана в молекуле цитохрома С зависит, как от насыщенности, так и от конформации молекул цитохрома С в растворе. При частичной денатурации фермента наблюдается увеличение расстояния остатков тирозина и триптофана и атома Fe. Происходит перемещение энергии на сопряженные связи гема. При облучении УФ, нативный цитохром С практически не флуоресцирует. Частичная или полная денатурация молекулы нарушает краевые условия переноса энергии с тирозинов и триптофанов на гем и способствует к появлению

флуоресценции. Из этих данных можно сделать вывод, что квантовые выходы и точки пероксидазной активности в денатурированной форме выше, чем в нативной.

Для оценки расчетов квантового выхода использовались данные проведенных пяти последовательных измерений степени разрушения кумарина в течение 8 мин. Опыты подтверждают, что в случае применения сенсбилизатора кумарина С-314 наблюдается максимальный спектр поглощения при максимальном значении квантового выхода и он устойчив к прямому окислению.

Проверена серия спектров поглощения реакционной смеси для более полной оценки происходящих в изучаемой системе процессов Рис.1.

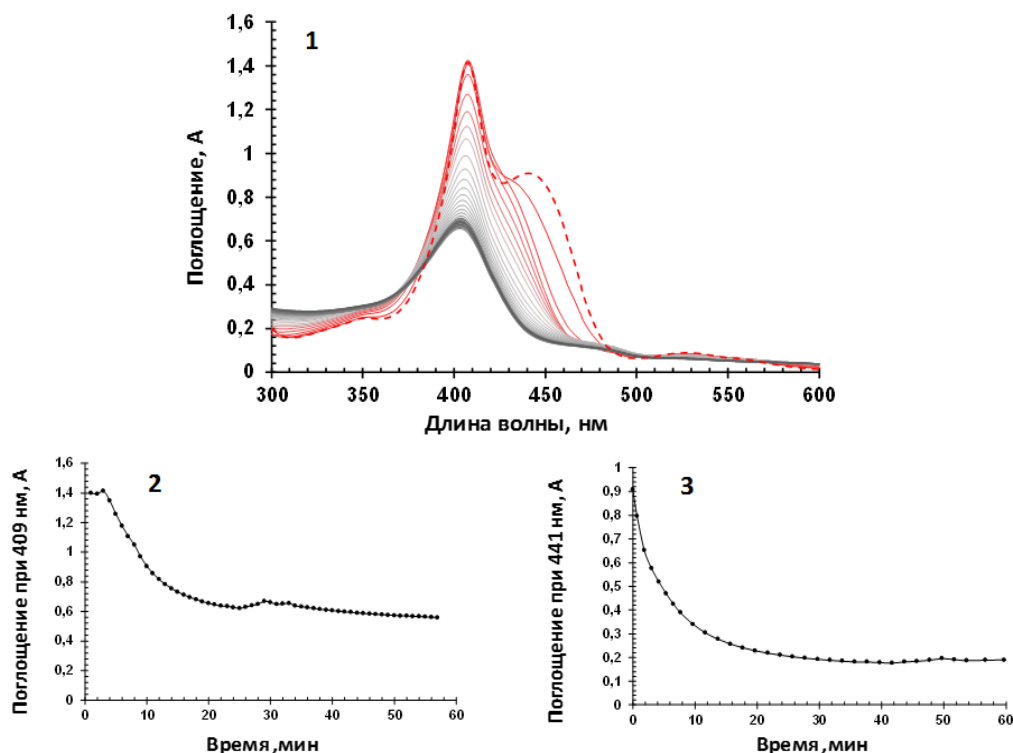


Рисунок 1. Результаты измерения серии спектров поглощения смеси, в которой протекает катализируемая комплексом пероксидазная реакция в присутствии С-314. Красная кривая – первое измерение, чёрная – последнее, промежуточные цвета (через серый) – промежуточные измерения.

1. Серия спектров поглощения смеси: 10 мкМ цитохром С, 300 мкМ 1,1',2,2'-тетраолеилкардиолипид, 25 мкМ С-314, 215 мкМ H₂O₂, пунктирная красная кривая – спектр смеси без H₂O₂. 2. Изменения значения оптической плотности в полосе Soret. 3. Изменения значения оптической плотности в примерном пике поглощения С-314.

На Рис.1 показано изменение последовательно регистрируемых в течение 60 мин спектров поглощения смеси цитохрома с, кумарина С-314, 1,1',2,2'-тетраолеилкардиолипидина и H₂O₂. Видно довольно быстрое разрушение цитохрома С (поглощение при 409 нм) и С-314 (поглощение при 441 нм).

Красной пунктирной линией обозначен спектр поглощения смеси в отсутствии H₂O₂, первый измеренный спектр поглощения обозначен красной линией, последний – чёрной, результаты измерений между линий обозначены цветовым градиентным переходом из красного цвета через серый в чёрный; первая регистрация проходила через 15 секунд после добавления H₂O₂.

Кроме того, при частичной денатурации цитохрома С происходит разрыв связи Fe(heme)···S(Met80) и цитохром С приобретает пероксидазную активность.

Таким образом, комплекс цитохрома С с кардиолипидом отличается от нативного цитохрома С по следующим свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков; (2) теряет поглощение в полосе Soret (405-410 нм), отражающей существование связи Fe(heme)···S(Met80); (3) обладает пероксидазной активностью и, таким образом, катализирует образование липидных радикалов в митохондриальной мембране. Образующиеся радикалы запускают цепной процесс перекисного окисления липидов, который можно наблюдать по

хемилюминесценции, как нативной (при рекомбинации перекисных радикалов), так и активированной (при добавлении активаторов хемилюминесценции липидов, типа кумаринов).

Для того чтобы сделать правильный анализ квантовых выходов нужно учесть, что: (1) пероксидазная активность зависит не только от концентрации цитохрома С, но и от соотношения количества денатурированной формы; (2) механизм усиления интенсивности хемилюминесценции – перенос энергии от молекулы кетона в электронно-возбужденном состоянии на флуоресцентный уровень кумарина С-314 [13].

Вывод.

Так как комплекс цитохрома С с кардиолипином отличается от нативного цитохрома С по следующим свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков ; (2) теряет поглощение в полосе Core (405-410 нм), отражающей существование связи Fe(heme)···S(Met80); (3) обладает пероксидазной активностью и, таким образом, катализирует образование липидных радикалов в мембране, при этом определяются максимумы; (4) С-314 физический активатор хемилюминесценции окисляется цитохромом С с кардиолипином, при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома С, который тоже разрушается в составе комплекса под действием пероксида водорода.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Владимиров Ю. А., Демин Е. М., Проскурнина Е. В., Осипов А. Н. Образование липо-пероксидных радикалов при окислении кардиопипина в комплексе с цитохромом С // Биологические Мембраны. – 2009. – Т. 26. – № 6. – С. 493-504.
2. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю. Хемилюминесценция как метод обнаружения и исследования свободных радикалов в биологических системах // БЭБиМ. – 2007. – Т. 144. – № 3. – С.390-396.
3. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю., Новиков А. А., Брусничкин А. А., Осипов А. Н., Каган В. Е. Механизм активации пероксидазной активности цитохрома с кардиолипином // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 9. – С. 1215-1224.
4. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю., Новиков А. А., Брусничкин А. В., Осипов А. Н., Каган В. Е. Кардиолипин активрует пероксидазную активность цитохрома с, потому что увеличивает доступность железа гема для H₂O₂, // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 9. – С. 1225-1233.
5. Владимиров Г.К. Диссертация кандидата биологических наук, Москва: Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова; Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома с с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении. 2018.
6. Владимиров Ю. А., Гутенев П. И., Кузнецов П. И. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов биомембран в присутствии ионов Fe²⁺ // Биофизика. – 1973. – Т. XVIII. – № 6. – С. 1024-1029.
7. Осипов А. Н., Степанов Г. О., Владимиров Ю. А., Козлов А. В., Каган В. Е. Регуляция пероксидазной активности цитохрома с с помощью оксида азота и лазерного излучения // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 10. – С. 1392 - 1398.
8. Belikova N. A., Vladimirov Y. A., Osipov A. N., Kapralov A. A., Tyurin V. A., Potapovich M. V., Basova L. V., Peterson J., Kurnikov I. V., Kagan V. E. Peroxidase activity and structural transitions of cytochrome c bound to cardiolipin-containing membranes // Biochemistry. – 2006. – V. 45. – № 15. – P. 4998-5009.
9. Jiang J., Bakan A., Kapralov A. A., Silva K. I., Huang Z., Amoscato A. A., Peterson J., Garapati V. K., Saxena S., Bayir H., Atkinson J., Bahar I., Kagan V. E. Designing inhibitors of cytochrome c/cardiolipin peroxidase complexes: mitochondria-targeted imidazole-substituted fatty acids // Free radical biology & medicine. – 2014. – V. 71. – P. 221-230.
10. Kapralov A. A., Yanamala N., Tyurina Y. Y., Castro L., Samhan-Arias A., Vladimirov Y. A., Maeda A., Weitz A. A., Peterson J., Mylnikov D., Demicheli V., Tortora V., Klein-Seetharaman J., Radi R., Kagan V. E. Topography of tyrosine residues and their involvement in peroxidation of polyunsaturated cardiolipin in cytochrome c/cardiolipin peroxidase complexes // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – V. 1808. – № 9. – P. 2147-2155.
11. Sharov V. S., Dremina E. S., Vladimirov Iu A. [Activation of Fe²⁺-induced chemiluminescence in human blood low density lipoproteins by the fluorescent dye C-525] // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 428-433.

12. Vasiljeva O. V., Lyubitsky O. B., Klebanov G. I., Vladimirov Yu A. Effect of antioxidants on the kinetics of chain lipid peroxidation in liposomes // Membrane & cell biology. – 1998. – V. 12. – № 2. – P. 223-231.

13. Vladimirov Y. A., Sharov V. S., Driomina E. S., Reznitchenko A. V., Gashev S. B. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation // Free radical biology & medicine. – 1995. – V. 18. – № 4. – P. 739-745.

14. Vladimirov I. A., Sherstnev M. P., Azimbaev T. K. Chemiluminescence of low density lipoproteins activated by coumarin in the presence of divalent iron ions // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 323-327.

15. Skulachev, V.P., Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell. FEBS Lett, 1996. 397(1): p. 7-10.

16. Skulachev, V.P., Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. FEBS Lett, 1998. 423(3): p. 275-280.

17. Vladimirov I. A., Sherstnev M. P., Azimbaev T. K. Chemiluminescence of low density lipoproteins activated by coumarin in the presence of divalent iron ions // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 323-327.

MODELING OF THE STRUCTURE AND FUNCTION OF COUMARIN-ACTIVATED C-314 CHEMILUMINESCENCE UNDER THE ACTION OF CYTOCHROME C COMPLEX WITH CARDIOLIPIOME

Vladimirov Y.A., Vladimirov G. K., Volodyaev I. V., Levchenko I. N.

Study of the structure and function of the cytochrome C complex with cardiolipin and the physical activator C-314. Quantum yields and points of peroxidase activity of activated chemiluminescence of lipid peroxidation processes in an aqueous medium and in a nonpolar environment are obtained. Shown: 1) quantum yields are many times higher with the participation of the natural dye C-314 than in the case of free hyperfine illumination; 2) peroxidase activity is characterized by both a direct proportional dependence of the native and partially denatured forms, and the saturation of cytochrome C in the complex.

Keywords: Sensitizers, cytochrome C, cardiolipin, chemiluminescence, structure, quantum yields, peroxidase activity.

Сведения об авторах:

Владимиров Юрий Андреевич

Доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биофизики,
Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

E-mail: yuvlad@mail.ru

Владимиров Георгий Константинович

Кандидат биологических наук; Первый Московский Государственный
Медицинский Университет им. И.М. Сеченова

E-mail: uravladimirov1992@gmail.com

Володяев Илья Владимирович

Кандидат биологических наук, кафедры эмбриологии, Московский
Государственный Университет им. М. В. Ломоносова;

E-mail: ivolodyaev@gmail.com

Левченко Ирина Николаевна

Ассистент, кафедры биоинформатики МБФ, Российский Национальный
Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова,
Аспирант кафедры биофизики, физического факультета, Московский
Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

E-mail: irnlevchenko@yandex.ru

УДК 57.017

DOI 10.58551/20728158_2022_2_14

МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ АКТИВИРОВАННОЙ КУМАРИНОМ С-525 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КОМПЛЕКСА ЦИТОХРОМА С С КАРДИОЛИПИОМ.

**Владимиров Ю. А., Владимиров Г. К., Володяев И. В.,
Левченко И. Н.**

Исследование структуры, функции цитохрома С с кардиолипином и физического активатора флуоресцентного кумарина С-525. Получены квантовые выходы и точки пероксидазой активности активированной хемилюминесценции в водной среде и в неполярном окружении. Показано: 1) квантовые выходы во много раз выше с участием флуоресцентного кумарина С-525, чем в случае свободного свечения; 2) пероксидазная активность описывается как зависимость нативной и частично денатурированной формы, так и плотностью насыщения цитохрома С в комплексе.

Ключевые слова: *Сенсибилизаторы, цитохром С, кардиолипин, хемилюминесценция, структура, квантовые выходы, пероксидазная активность.*

Цитохром С – гем-содержащий белок, один из основных составляющих дыхательной цепи митохондрий. Реализовывает в клетке две функции. Первая функция дыхания, перенос электронов с комплекса 3 на комплекс 4. Вторая функция окисления и восстановления, в процессе не связывается кислород. Является хорошим антиоксидантом [16], гетерогенным катализатором и биорегулятором апоптоза по митохондриальному пути [17]. Вносит свой вклад в ниже процессы в системе:

Скопление комплекса цитохрома с с кардиолипином внутренних митохондриальных мембран; сосредоточение плотности пероксидазной активности [13];

Возбуждение процессов перекисного окисления липидов митохондриальных мембран за счет пероксидазной активности комплекса;

Трансформация состояния и светопроницаемости митохондриальных мембран за счет процессов перекисного окисления липидов; возникновение увеличенных пор; разбухание митохондриальной матрицы [15];

Перемещение цитохрома С с кардиолипином в цитозоль, что приводит к активации каскада пероксидазных реакций и заканчивается апоптозом [10, 11].

Комплекс цитохром С с кардиолипином образует наночастицы диаметром 8-11 нм и является гетерогенным катализатором.

В работах выносилось на обсуждение:

образование гидрофобных нанокристаллов определенного размера с установленным соотношением количества молекул цитохрома С и кардиолипина, показывающее образование данного комплекса со строго определенной структурой [5];

изменение конформации цитохрома С по отношению к нативному состоянию, т.е. увеличение параметров его глобулы внутри комплекса цитохрома С и кардиолипина, отдаление тирозиновых и триптофановых остатков от гема, разрыв связи Fe(heme)···S(Met80); повышение досягаемости гема для молекул малых размеров, необходимое для протекания исследуемых липопероксидазной и липоксигеназной реакций [17].

Исследование посвящено составлению модели взаимодействия процессов перекисного окисления липидов и флуоресцентного кумарина С-525. Рассмотрены точки пероксидазной активности, структура, функция, квантовые выходы цитохрома С с кардиолипином, флуоресцентного

кумарина C-525 и сопровождающей их хемилюминесценции, запускаемых данным комплексом в митохондриальной мембране. Составление оригинальной, актуальной модели дает право использовать хемилюминесценцию, как инструмент точной оценки структуры, пероксидазной активности комплекса цитохрома С с кардиолипином и изучать его функции.

Спонтанная хемилюминесценция сопровождается реакции рекомбинации перекисных радикалов и другие процессы с их участием. Использование физических активаторов, таких как флуоресцентный кумарин C-525 позволяет усилить это свечение на 2–3 порядка без изменения химических процессов, протекающих в системе.

Хемилюминесценция, активированная природным красителем кумарином C-525 имеет интенсивность выше, чем спонтанная хемилюминесценция липидов, схожа по кинетическим кривым и константам скорости, соответственно, может быть использована при моделировании структуры, функций активированной флуоресцентный кумарин C-525 хемилюминесценции под действием комплекса цитохрома С с кардиолипином. Надежность решения определялась наличием кардиолипина для стабилизации рН, тушением Fe²⁺ и присутствием флуоресцентного кумарина C-525. Среди факторов, которые могут исказить значение, можно выделить не достаточное добавление пероксида водорода [3], избыточное количество азота (II) [7], метанола, денатурация белка [9,11], изменение конформации цитохрома С в комплексе [8].

На основании анализа параметров комплекса, флуоресцентного кумарина C-525, пероксидазы хрена и люминола, проведены исследования сенсibiliзирующей способности флуоресцентного кумарина C-525, как физического активатора [1, 5], с целью уточнения величины квантового выхода C-525* и пероксидазной активности комплекса. Полученные результаты представляют практический интерес для изучения сенсibiliзирующей активности природных красителей кумаринов и структуры, функций пероксидазной активности комплекса.

Экспериментальная часть.

Использованные реактивы: KH₂PO₄, 20 мМ буферный раствор (рН 7,4); пероксид водорода (Sigma-Aldrich, США); кумарин C-525 (Sigma-Aldrich, США); цитохром С (Sigma-Aldrich, США); кардиолипин из сердца быка (Avanti Polar Lipids, США) [9, 16];

Хемилюминесценцию измеряли на хемилюминометрах Lum-100 (Россия). Спектры поглощения регистрировали с использованием двухлучевого спектрофотометра Analytic Jena SPECORD 200 (Германия). Флуоресценцию измеряли на спектрофлуориметре RF-5301 (Shimadzu Corporation, Япония). Измерения динамического светорассеяния проводились на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания). Данные, полученные хемилюминесцентными и спектроскопическими методами, обрабатывали в Microsoft Office Excel. Данные по динамическому светорассеянию обрабатывали с помощью официального программного обеспечения Malvern «Zetasizer Software».

Объектами исследования выступили известный флуоресцентного кумарина C-525, пероксидаза хрена, люминол и комплекс цитохрома С с кардиолипином. Работа проводилась на кафедре Медицинской Биофизики Факультета Фундаментальной медицины МГУ.

Результаты и их обсуждение.

При составлении точной модели структуры и функций активированной флуоресцентного кумарина C-525 хемилюминесценции под действием катализатора были детализированы результаты, полученные ранее в экспериментах по запуску апостола [5]. Основываясь на известных фактах, таких как: (1) природные соединения имеют стандартную полосу поглощения интенсивностей с максимумом 699 нм [2]; (2) в кинетических экспериментах свет является распространенным источником возбуждения [4].

При построении зависимости поглощения флуоресценции от длины волны, по которой можно определить максимальную амплитуду поглощения флуоресценции тирозиновых остатков, входящую в диапазон значений 307-310 нм при длине волны 268-275 нм, так же как максимальную амплитуду поглощения триптофановых остатков, равную 330 нм [12, 16].

Проанализированы системы липопероксидазной и липоксигеназной реакций.

В ходе анализа установлено, что флуоресценция тирозина и триптофана в молекуле цитохрома С зависит, как от насыщенности, так и от конформации молекул цитохрома С в растворе. При частичной денатурации фермента наблюдается увеличение расстояния остатков тирозина и триптофана и атома Fe. Происходит перемещение энергии на сопряженные связи гема. При облучении УФ, нативный цитохром С практически не флуоресцирует. Частичная или полная денатурация молекулы нарушает краевые условия переноса энергии с тирозинов и триптофанов на гем и способствует к появлению

флуоресценции. Из этих данных можно сделать вывод, что квантовые выходы и точки пероксидазной активности в денатурированной форме выше, чем в нативной.

Для оценки расчетов квантового выхода использовались данные проведенных пяти последовательных измерений степени разрушения кумарина в течение 8 мин. Опыты подтверждают, что в случае применения флуоресцентного кумарина C-525 наблюдается максимальный спектр поглощения при максимальном значении квантового выхода и он устойчив к прямому окислению.

Промоделированы данные по разрушению цитохрома С и C-525 в липопероксидазной реакции, катализируемой комплексом цитохром С с кардиолипином, приведённые на Рис.1. «Классический» физический активатор хемилюминесценции активно окисляется комплексом цитохром С и кардиолипином, при этом скорость окисления зависит от концентрации самого цитохрома С. В свою очередь цитохром С разрушается в составе комплекса цитохром С с кардиолипином под действием пероксида водорода (Рис.1, кривые 1,2 и 3).

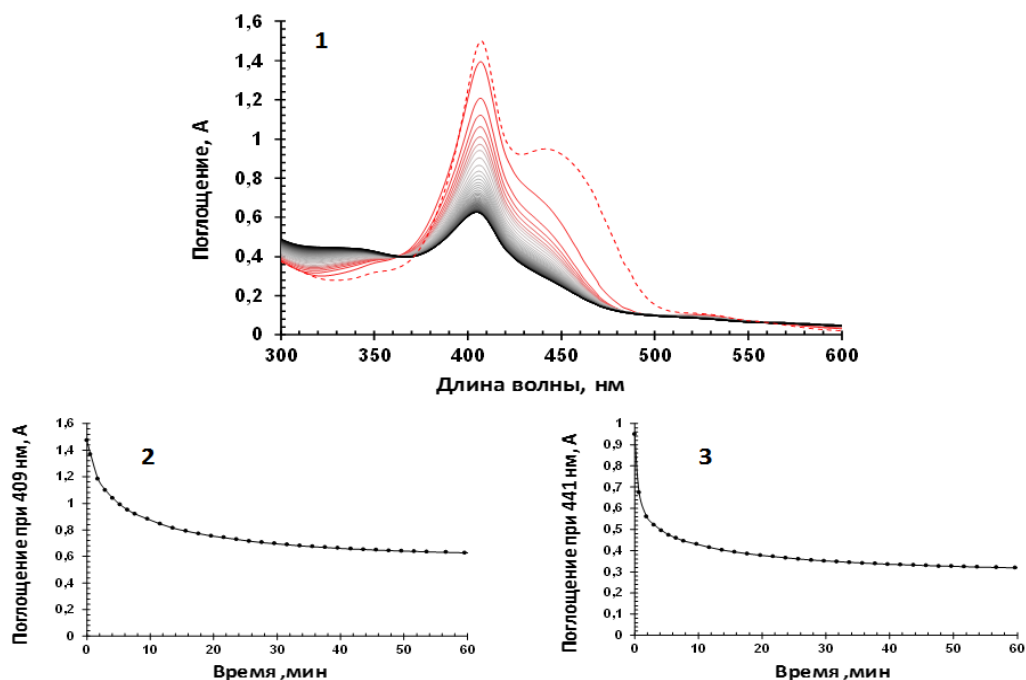


Рисунок 1. Результаты измерения серии спектров поглощения смеси, в которой протекает катализируемая комплексом пероксидазная реакция в присутствии C-525. Красная кривая – первое измерение, чёрная – последнее, промежуточные цвета (через серый) – промежуточные измерения. 1. Серия спектров поглощения смеси: 10 мкМ цитохром С, 300 мкМ 1,1',2,2'-тетраолеилкардиолипин, 25 мкМ C-525, 215 мкМ H₂O₂, пунктирная красная кривая – спектр смеси без H₂O₂. 2. Изменения значения оптической плотности в полосе Soret. 3. Изменения значения оптической плотности в примерном пике поглощения C-525

На Рис.1 показано изменение последовательно регистрируемых в течение 60 мин спектров поглощения смеси цитохрома С, кумарина C-525, 1,1',2,2'-тетраолеилкардиолипина и H₂O₂. Видно довольно быстрое разрушение цитохрома С (поглощение при 411 нм) и C-525 (поглощение при 450 нм).

Красной пунктирной линией обозначен спектр поглощения смеси в отсутствие H₂O₂, первый измеренный спектр поглощения обозначен красной линией, последний – чёрной, результаты измерений между линиями обозначены цветовым градиентным переходом из красного цвета через серый в чёрный; первая регистрация проходила через 15 секунд после добавления H₂O₂.

Кроме того, при частичной денатурации и цитохрома С происходит разрыв связи Fe(heme)·S(Met80) и цитохром С приобретает пероксидазную активность.

Таким образом, комплекс цитохрома С с кардиолипином отличается от нативного цитохрома С по следующим свойствам: (1) имеет флуоресценцию тирозиновых и триптофановых остатков; (2) ослабевает поглощение в полосе Soret (405-410 нм), отражающей существование связи Fe(heme)···S(Met80), которая при определенных условиях является не стабильной и разрушается; (3)

обладает пероксидазную активность, катализирует образование липидных радикалов в митохондриальной мембране. Образующиеся радикалы запускают цепной процесс перекисного окисления липидов, который можно наблюдать по хемилюминесценции, как нативной (при рекомбинации перекисных радикалов), так и активированной (при добавлении активаторов хемилюминесценции липидов, типа кумаринов).

Для того чтобы сделать правильный анализ структуры, функции, квантовых выходов цитохрома С с кардиолипином нужно учесть, что: (1) пероксидазная активность зависит не только от концентрации цитохрома С, но и от соотношения количества процентного содержания денатурированной формы; (2) механизм усиления интенсивности хемилюминесценции – перенос энергии от молекулы кетона в электронно-возбужденном состоянии на флуоресцентный уровень кумарина С-525[13].

Вывод.

Комплекс отличается от нативного по следующим свойствам: (1) обладает флуоресценцией тирозиновых и триптофановых остатков ; (2) теряет поглощение в полосе Core (405-410 нм), отражающей существование связи Fe(heme)···S(Met80); (3) обладает пероксидазной активностью и, таким образом, катализирует образование липидных радикалов в мембране, при этом определяются максимумы; (4) флуоресцентный кумарин С-525 физический активатор хемилюминесценции окисляется цитохромом С с кардиолипином, при этом скорость этого окисления ограничивается лишь концентрацией самого цитохрома С, который тоже разрушается в составе комплекса под действием пероксида водорода в полосе Core.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Владимиров Ю. А., Демин Е. М., Проскурнина Е. В., Осипов А. Н. Образование липо-пероксидных радикалов при окислении кардиопипина в комплексе с цитохромом С // Биологические Мембраны. – 2009. – Т. 26. – № 6. – С. 493-504.
2. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю. Хемилюминесценция как метод обнаружения и исследования свободных радикалов в биологических системах // БЭБиМ. – 2007. – Т. 144. – № 3. – С.390-396.
3. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю., Новиков А. А., Брусничкин А. А., Осипов А. Н., Каган В. Е. Механизм активации пероксидазной активности цитохрома с кардиолипином // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 9. – С. 1215-1224.
4. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В., Измайлов Д. Ю., Новиков А. А., Брусничкин А. В., Осипов А. Н., Каган В. Е. Кардиолипин активировывает пероксидазную активность цитохрома с, потому что увеличивает доступность железа гема для H₂O₂, // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 9. – С. 1225-1233.
5. Владимиров Г.К. Диссертация кандидата биологических наук, Москва: Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова; Структура и пероксидазная функция комплекса цитохрома с с кардиолипином в водной среде и в неполярном окружении. 2018.
6. Владимиров Ю. А., Гутенев П. И., Кузнецов П. И. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов биомембран в присутствии ионов Fe²⁺ // Биофизика. – 1973. – Т. XVIII. – № 6. – С. 1024-1029.
7. Осипов А. Н., Степанов Г. О., Владимиров Ю. А., Козлов А. В., Каган В. Е. Регуляция пероксидазной активности цитохрома с с помощью оксида азота и лазерного излучения // Биохимия. – 2006. – Т. 71. – № 10. – С. 1392 - 1398.
8. Belikova N. A., Vladimirov Y. A., Osipov A. N., Kapralov A. A., Tyurin V. A., Potapovich M. V., Basova L. V., Peterson J., Kurnikov I. V., Kagan V. E. Peroxidase activity and structural transitions of cytochrome c bound to cardiolipin-containing membranes // Biochemistry. – 2006. – V. 45. – № 15. – P. 4998-5009.
9. Jiang J., Bakan A., Kapralov A. A., Silva K. I., Huang Z., Amoscato A. A., Peterson J., Garapati V. K., Saxena S., Bayir H., Atkinson J., Bahar I., Kagan V. E. Designing inhibitors of cytochrome c/cardiolipin peroxidase complexes: mitochondria-targeted imidazole-substituted fatty acids // Free radical biology & medicine. – 2014. – V. 71. – P. 221-230.
10. Kapralov A. A., Yanamala N., Tyurina Y. Y., Castro L., Samhan-Arias A., Vladimirov Y. A., Maeda A., Weitz A. A., Peterson J., Mylnikov D., Demicheli V., Tortora V., Klein-Seetharaman J., Radi R., Kagan V. E. Topography of tyrosine residues and their involvement in peroxidation of polyunsaturated cardiolipin in cytochrome c/cardiolipin peroxidase complexes // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – V. 1808. – № 9. – P. 2147-2155.

11. Sharov V. S., Dremina E. S., Vladimirov Iu A. [Activation of Fe²⁺-induced chemiluminescence in human blood low density lipoproteins by the fluorescent dye C-525] // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 428-433.

12. Vasiljeva O. V., Lyubitsky O. B., Klebanov G. I., Vladimirov Yu A. Effect of antioxidants on the kinetics of chain lipid peroxidation in liposomes // Membrane & cell biology. – 1998. – V. 12. – № 2. – P. 223-231.

13. Vladimirov Y. A., Sharov V. S., Driomina E. S., Reznitchenko A. V., Gashev S. B. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation // Free radical biology & medicine. – 1995. – V. 18. – № 4. – P. 739-745.

14. Vladimirov I. A., Sherstnev M. P., Azimbaev T. K. Chemiluminescence of low density lipoproteins activated by coumarin in the presence of divalent iron ions // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 323-327.

15. Skulachev, V.P., Why are mitochondria involved in apoptosis? Permeability transition pores and apoptosis as selective mechanisms to eliminate superoxide-producing mitochondria and cell. FEBS Lett, 1996. 397(1): p. 7-10.

16. Skulachev, V.P., Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. FEBS Lett, 1998. 423(3): p. 275-280.

17. Vladimirov I. A., Sherstnev M. P., Azimbaev T. K. Chemiluminescence of low density lipoproteins activated by coumarin in the presence of divalent iron ions // Biofizika. – 1995. – V. 40. – № 2. – P. 323-327.

MODELING OF THE STRUCTURE AND FUNCTION OF COUMARIN-ACTIVATED C-525 CHEMILUMINESCENCE UNDER THE ACTION OF CYTOCHROME C COMPLEX WITH CARDIOLIPOME.

Vladimirov Y.A., Vladimirov G. K., Volodyaev I. V., Levchenko I. N.

Investigation of the structure and function of cytochrome C with cardiolipin and the physical activator of fluorescent coumarin C-525. Quantum yields and points of peroxidase activity of activated chemiluminescence in an aqueous medium and in a nonpolar environment are obtained. Shown: 1) quantum yields are many times higher with the participation of fluorescent coumarin C-525 than in the case of free luminescence; 2) peroxidase activity is described both by the dependence of the native and partially denatured form and by the saturation density of cytochrome C in the complex.

Keywords: Sensitizers, cytochrome C, cardiolipin, chemiluminescence, structure, quantum yields, peroxidase activity.

Сведения об авторах:

Владимиров Юрий Андреевич

Доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биофизики,
Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

E-mail: yuvlad@mail.ru

Владимиров Георгий Константинович

Кандидат биологических наук; Первый Московский Государственный
Медицинский Университет им. И.М. Сеченова

E-mail: uravladimirov1992@gmail.com

Володяев Илья Владимирович

Кандидат биологических наук, кафедры эмбриологии, Московский
Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

E-mail: ivolodyaev@gmail.com

Левченко Ирина Николаевна

Ассистент, кафедры биоинформатики МБФ, Российский Национальный
Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова,
Аспирант кафедры биофизики, физического факультета, Московский
Государственный Университет им. М. В. Ломоносова

E-mail: irnlevchenko@yandex.ru

Учредитель журнала: Мельников Игорь Олегович, кандидат химических наук

Издатель: Общество с ограниченной ответственностью
"Издательство "Манускрипт" (ОГРН 1226100004679)

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), Свидетельство серия серия ПИ № ФС 77 - 31640 10.04.2008, **Адрес:** 127473, Москва г., 3-й Самотечный пер., д. 23, кв. 48

Тел. +7 951 528 22 82 **E-mail:** VAK-info@yandex.ru

Отпечатано в типографии ООО «Издательство «Манускрипт»

Подписано в печать 10.10.2022. Выход в свет 15.10. 2022г.

Тираж 150 экз. Заказ № 02-22/11 РСТ-22. Цена свободная

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ

Статья, направляемая в журнал «ВОДА: ХИМИЯ И ЭКОЛОГИЯ», предоставляется в электронном виде в текстовом редакторе Microsoft Word по e-mail: VAK-info@yandex.ru

Файл с текстом статьи должен иметь расширение *.doc или *.docx. Разметка страницы: поля со всех сторон 2 см, ориентация книжная, формат А4. Текст набирается шрифтом Times New Roman, размер (кегель) 14, абзацный отступ 1,25 см, межстрочный интервал полуторный с использованием автоматической расстановки переносов. Аннотация (от 100 до 150 слов); ключевые слова на русском языке (5-8 слов). Название статьи, аннотация, ключевые слова, сведения об авторах должны быть переведены на английский язык.

Исключить громоздкие цифровые и формульные таблицы, а также рисунки, более, чем на 0,5 страницы. Все таблицы и рисунки должны быть в тексте, подписаны, ссылки на них по тексту обязательны.

Список использованной литературы составляется по алфавиту в конце статьи в соответствии с ГОСТ. Ссылки на литературу в тексте отмечаются арабскими цифрами в квадратных скобках.

В статье должны быть указаны следующие сведения о каждом авторе: фамилия, имя, отчество (полностью); место работы и должность; ученая степень; домашний адрес (если необходимо почтовый экземпляр); контактный телефон; адрес электронной почты. Название ВУЗов полностью, без сокращений.

Таким образом, файл должен содержать:

- ✓ индекс УДК
- ✓ аннотацию – 100-150 слов
- ✓ ключевые слова (не более 5-8 на русском и английском языках)
- ✓ название
- ✓ основной текст статьи
- ✓ список литературы

Основной текст рукописи экспериментальной статьи рекомендуется излагать в следующей последовательности:

- **введение** с четким и кратким изложением состояния рассматриваемого вопроса и анализом литературных данных, постановкой цели и задач данного исследования;
- **экспериментальная часть** (применяемые аппаратура, материалы, химические реактивы и методика проведения эксперимента в кратком изложении);
- **результаты** проведенных исследований и их обсуждение;

Все статьи проверяются на ПЛАГИАТ. Процент авторского текста должен составлять не менее 75%. Цитирования не более 25%.

Все поступающие в редакцию материалы должны быть проверены на наличие заимствований из открытых источников (попросту – плагиат), проверка выполняется с помощью системы AntiPlagiat.ru.

Контактные лица:

Ответственный редактор: Жанна Сергеевна, тел., воцап +7951 528 22 82

E-mail: VAK-info@yandex.ru