

© Т. Н. Богатыренко, Н. П. Коновалова, А. М. Сипягин, Т. Е. Сащенкова,
Б. С. Федоров, В. Р. Богатыренко, З. В. Куроптева, Л. М. Байдер

УДК 616-085. 2/3

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ХИМИОТЕРАПИИ
ЦИТОСТАТИКАМИ С ПОМОЩЬЮ ГИБРИДНОГО НЕСТЕРОИДНОГО
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СОЕДИНЕНИЯ – АЗОТНОКИСЛОЙ СОЛИ
ДИКЛОФЕНАКГИДРОКСАМОВОЙ КИСЛОТЫ** Т. Н. Богатыренко, Н. П. Коновалова, А. М.

Сипягин, Т. Е. Сащенкова, Б. С. Федоров,
В. Р. Богатыренко (Черноголовка, Россия), З. В. Куроптева, Л. М. Байдер (Москва, Россия)

В статье исследуются возможности повышения противоопухолевого действия цитостатика циклофосфана (ЦФ). В комплексной терапии опухолевых заболеваний наряду с основными противоопухолевыми препаратами часто используют нестероидные противовоспалительные соединения (НСПВС) в качестве ингибиторов циклооксигеназ (COX-1 и COX-2), являющихся двумя изоформами фермента простагландин-Н синтазы (PGHS). Они вовлечены во все основные события канцерогенеза. Гем-содержащий фермент PGHS обладает двумя активностями: циклооксигеназной (COX) и пероксидазной (PO). Большинство НСПВС являются ингибиторами COX-активности и не влияют на PO-активность, вызывая при их длительном использовании побочные эффекты. В работе исследуется синтезированное в ИПХФ РАН гибридное НСПВС – азотнокислая соль диклофенакгидроксиамовой кислоты (ДГК·HNO₃). Соединение сочетает в своей структуре типичный НСПВС – диклофенак (ингибитор COX-активности), гидроксиаматную группировку, хелатирующую металлы (ингибитор PO-активности) и за счет солевой формы с азотной кислотой, являющееся донором оксида азота. Исходя из проведенных ранее экспериментов (7), была поставлена задача – исследовать влияние на противоопухолевую активность комбинации ЦФ с ДГК·HNO₃.

Было показано, что при использовании терапевтической дозы ЦФ хемосенсибилизирующий эффект комбинации ЦФ с ДГК·HNO₃ приводит к 100% излечиванию животных с лейкемией P-388. Методом ЭПР исследованы изменения сигнала ЭПР активной формы цитохрома P-450 в образцах печени после введения животным ДГК·HNO₃. Показано, что введение ДГК·HNO₃ приводит к образованию неактивных нитрозольных комплексов цитохрома P-450-NO и снижению сигнала ЭПР цитохрома P-450 в течение 5 часов после введения препарата. Появление комплексов P-450-NO связывают с образующимся при восстановлении азотной кислоты оксидом азота. Высказывается предположение, что вызываемое образующимся оксидом азота пролонгированное ингибирование цитохрома P-450 в первые часы после введения препарата ответственно за усиление химиотерапевтического действия ЦФ. В заключении делается вывод, что использование гибридного НСПВС, обладающего разными типами активности, может приводить к значительному усилению противоопухолевого действия цитостатиков, вплоть до 100% излечения животных.

Ключевые слова: циклофосфан, нестероидные противовоспалительные соединения, гидроксиамовые кислоты, оксид азота, цитохром P-450, лимфолейкоз P-388, ЭПР-спектроскопия.

В последнее время в качестве важного звена в противоопухолевой терапии рассматривают ингибиторы циклооксигеназ (COX-1 и COX-2), являющихся двумя изоформами одного из ключевых ферментов метаболизма арахидоновой кислоты (АК) – простагландин-Н-синтазы (PGHS). Внимание к ингибиторам COX обусловлено вовлечением этих ферментов во все основные события канцерогенеза, начиная от метаболической активности химических канцерогенов, эффекта промоторов, экспрессии онкогенов, иммуносупрессии, до способности протанои-

дов влиять на пролиферацию, апоптоз, дифференцировку и метастазирование опухолевых клеток (1). Гем-содержащий фермент PGHS является скоростью лимитирующим ферментом при синтезе простагландинов, тромбоксанов, простацклинов. Он обладает двумя различными активностями: циклооксигеназной (COX) и пероксидазной (PO). COX-активность конвертирует АК в гидропероксид (простагландин G_2 -PGG₂). PO-активность восстанавливает PGG₂ в спирт PGH₂ в результате двухэлектронного переноса, осуществляемого с участием гема (2).

* Статья подготовлена по результатам работы Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (1-4 октября 2013 г.) в рамках реализации Программы стратегического развития ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет» на 2012–2016 гг.

Богатыренко Татьяна Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной химиотерапии опухолей, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Коновалова Нина Петровна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальной химиотерапии опухолей, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: ninap@icp.ac.ru

Сипягин Алексей Михайлович – старший научный сотрудник лаборатории биологически активных веществ, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Богатыренко Виктор Родионович – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории спектроскопии, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: bvr@icp.ac.ru

Куроптева Зоя Вениаминовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории спектроскопии, Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН.

E-mail: zvkh@sky.chph.ras.ru

Байдер Лариса Михайловна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории спектроскопии, Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН.

E-mail: bay42@mail.ru

Сашенкова Татьяна Евгеньевна – старший инженер лаборатории экспериментальной химиотерапии опухолей, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Федоров Борис Сергеевич – доктор технических наук, заведующий лабораторией биологически активных веществ, Институт проблем химической физики РАН.

E-mail: boris-45@inbox.ru

Взаимосвязь между этими активностями представляет собой интерес в виду важности этого фермента в регуляции биосинтеза эйкозаноидов. Известно, что обе активности (COX и PO) расположены в различных, хотя и взаимодействующих сайтах на мембрансвязанной молекуле PGHS (3). Использование селективных ингибиторов для одной или обеих каталитических активностей PGHS способствует пониманию взаимосвязи между этими двумя активностями и созданию более совершенных лекарств. Большинство нестероидных противовоспалительных препаратов (аспирин, индометацин, ибупрофен) являются ингибиторами COX-активности. Они конкурируют с АК за связывание с ферментом PGHS. Ингибирование обеих изоформ COX НСПВС носит различный характер – от конкурентного, время зависимого до необратимо ковалентного. Последнее характерно для аспирина, обладающего уникальными особенностями среди всех известных НСПВС. Он необратимо ингибирует COX-1, ацетилируя сериновый остаток в субстратном канале и конвертирует COX-2 в 15-липоксигеназу, предотвращая тем самым генерацию простагландинов (4). В то же время эти препараты не влияют на PO-активность PGHS, вызывая при их длительном использовании побочный, так называемый, язвенно-эрозивный эффект.

Известны два направления модификации НСПВС. Первое – это создание NO-донорных НСПВС. Это известные НСПВС, в боковую цепь которых введена группировка, содержащая нитратную функцию, вследствие чего они способны проявлять NO-донорную активность, которая нивелирует язвенно-эрозивный эффект (5). Второе направление – это создание селективных ингибиторов COX -активностей.

Интересные подходы для создания подобного рода соединений были предложены в работе (6). Присоединение гидроксаматной группировки к известному ингибитору циклооксигеназной активности – напроксену превращало его в активный PO-ингибитор при сохранении циклооксигеназной активности.

Механизм многофакторного противоопухолевого действия НСПВС до конца не ясен. На сегодняшний день можно говорить о том, что сами по себе НСПВС не являются эффективными средствами для лечения онкологических заболеваний. Однако применение соединений этого типа в комплексном подходе к лечению онкологических заболеваний для оптимизации действия химиотерапевтических препаратов может привести к интересным результатам. В ИПХФ РАН было синтезировано гибридное НСПВС – диклофенакгидроксамовая кислота, солевая форма. Соединение сочетает в своей структуре типичный противовоспалительный агент – диклофенак (ингибитор COX-активности), гидроксаматную группировку, хелатирующую металлы (ингибитор PO-активности) и за счет солевой формы с азотной кислотой являющееся донором оксида азота.

Исходя из проведенных ранее экспериментов по усилению цитотоксического действия противоопухолевых препаратов при использовании гидроксамовых кислот и нитрата натрия (7,8) была поставлена задача – изучить влияние на противоопухолевую активность комбинации циклофосфана (ЦФ) с азотнокислой солью диклофенакгидроксамовой кислоты (ДГК · HNO₃).

Методика исследования.

Препараты. Был использован цитостатик циклофосфан (ЦФ, ОАО “Биохимик”). ЦФ применяли в субтерапевтической дозе – 60 мг/кг и

терапевтической дозе – 120 мг/кг. Вводили внутривенно, двукратно на 1-е и 6-е сутки после перевивки опухоли.

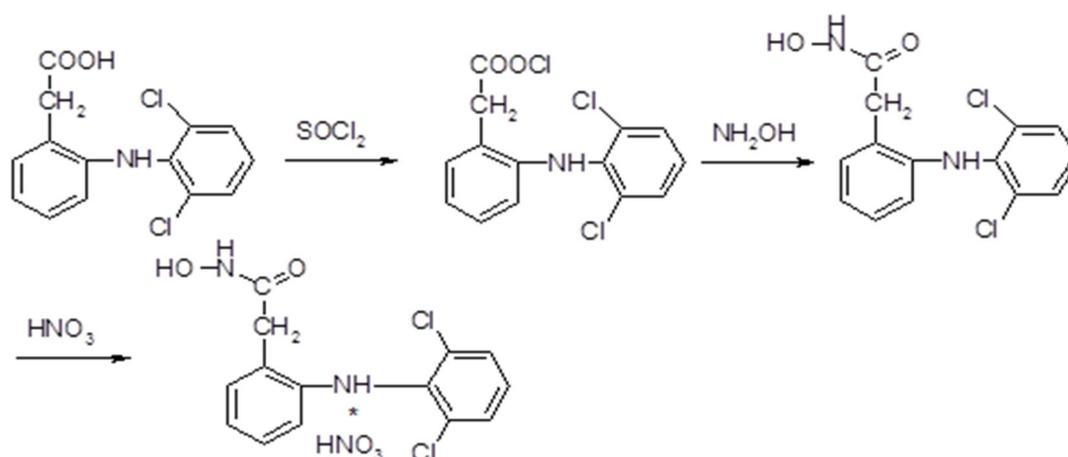
Для усиления противоопухолевой активности ЦФ было использовано гибридное НСПВС – азотнокислая соль диклофенакгидроксамовой кислоты (ДГК·HNO₃), синтезированная ИПХФ РАН (рис. 1). Исследуемое соединение вводили внутривенно, 6-тикратно, в дозе 40мг/кг. Режим введения и дозы были

выбраны исходя из ранее проведенных экспериментов. Экспериментально определенная доза токсичности ДГК·HNO₃ превышала 1000мг/кг. В таких случаях при дальнейших исследованиях противоопухолевой активности обычно берут дозу равную 1/3 или 1/4 от токсической, т.е. в нашем случае 300-400 мг/кг. Мы намеренно брали дозы и цитостатика и ДГК·HNO₃ в 2-10 раз меньшие (т. е. субтоксические) 60–40 мг/кг соответственно.

Рисунок 1.

Получение азотнокислой соли оксиамида 2-[(2,6 – дихлорфенил) амино] бензолуксусной кислоты (ДГК·HNO₃).

Вещество идентифицировано с помощью элементного анализа, ИК-спектра, спектра ПМР на приборе Bruker-200



Экспериментальные опухоли и животные. Содержание животных и исследования проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе мышей Р-388. Перевивку опухоли проводили внутривенно мышам-гибридам ВDF1 по стандартной методике (9). Оценку эффективности исследуемых композиций

проводили также по стандартной методике (10). В качестве критериев эффективности терапии были использованы: индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS %) в сравнении со средней продолжительностью жизни нелеченых мышей-опухоленосителей (контроль) и в сравнении со средней продолжительностью жизни, леченных одним ЦФ (монотерапия), а также число излеченных животных (проживших 60 суток и более) и при

определении ILS продолжительность их жизни принималась равной 60 суткам.

Для исследования изменений метаболических парамагнитных центров в тканях животных под действием ДГК·HNO₃ использовали изолированную печень мышей линии BDF1. После декапитации животных выделяли печень, измельчали ее в физиологическом растворе, добавляли исследуемое соединение в концентрации 10⁻³М и инкубировали при комнатной температуре. Параллельно при тех же условиях инкубировали контрольные образцы тканей печени в физиологическом растворе без добавок препарата. Через определенные промежутки времени отбирали пробы и готовили образцы по стандартной методике. Спектры ЭПР приготовленных образцов измеряли на радиоспектрометре X-диапазона ER-300D фирмы «Bruker» (Германия). Условия регистрации спектров: мощность СВЧ – излучения 20мВт, амплитуда модуляции магнитного поля 5 Гс, температура – 77К.

Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены результаты, полученные при лечении животных с лимфолейкозом Р-388 с использованием одного цитостатика ЦФ и его комбинации с ДГК·HNO₃. Как видно из представленных данных, при введении одного ЦФ в дозе 60 мг/кг средняя продолжительность жизни животных увеличивалась в 3 раза по сравнению с нелечеными контрольными животными, показатель ILS % составлял 190 %. Выживших животных не было (рис. 2, кривая 3). При увеличении дозы ЦФ до терапевтической – 120 мг/кг средняя продолжительность жизни увеличивалась в 4,5 раза, показатель ILS% составлял 350 % и появлялось 50 % излеченных животных

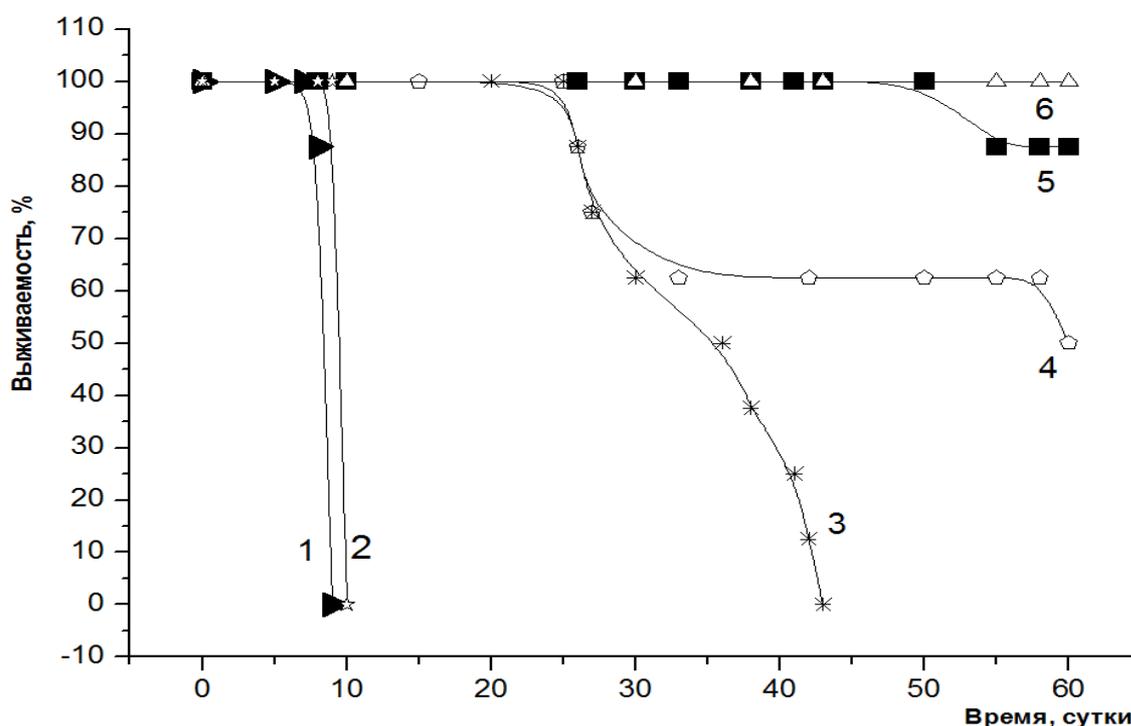
(рис. 2, кривая 4). ДГК·HNO₃ в исследуемой концентрации не обладала антилейкемической активностью (рис. 2, кривая 1). Все животные погибли одновременно с контролем. Хемосенсибилизирующий эффект комбинации ЦФ с ДГК·HNO₃ при дозе ЦФ 60 мг/кг увеличивал среднюю продолжительность жизни в 6 раз, показатель ILS % увеличивался до 480 % при излечивании 88 % животных (рис.2, кривая 5), а при дозе ЦФ 120 мг/кг наблюдалось 100 % излечение животных, при увеличении ILS % до 500 % (рис. 2, кривая 6).

Известно, что ЦФ подвергается первоначальной биотрансформации в печени под действием микросомальных оксигеназ. Гидроксилирование в системе эндоплазматического ретикулума происходит с участием оксигеназной системы цитохрома Р-450, в результате образуются активные метоболиты, которые, попадая в ткани, проявляют алкилирующее действие (11). Существует определенная селективность действия ЦФ на опухолевые ткани, что частично объясняется способностью печени защищаться от цитотоксичности индуцированной ЦФ, путем дальнейшей деградации активных промежуточных продуктов метаболизма ЦФ. Однако проблема цитотоксичности ЦФ остается острой. Одним из механизмов снятия токсичности при рациональной комплексной лекарственной терапии может стать NO-опосредованное угнетение метаболизма ЦФ. Для частичного ингибирования системы гидроксилирования и был использован оксид азота, образующийся при превращениях ДГК·HNO₃. Исследовались изменения метаболических парамагнитных центров в тканях печени и крови животных после введения ДГК·HNO₃ (рис.3).

Рисунок 2.

Усиление противоопухолевого действия циклофосфана (ЦФ) при сочетанном введении с ДГК·HNO₃ на мышях с лейкемией P-388.

1. ДГК·HNO₃ (40 мг/кг);
2. Контроль;
3. ЦФ(60 мг/кг);
4. ЦФ(120 мг/кг);
5. ЦФ(60мг/кг) + ДГК·HNO₃ (40 мг/кг);
6. ЦФ(120 мг/кг) + ДГК·HNO₃ (40 мг/кг).



Было показано снижение сигнала ЭПР активной формы цитохрома P-450 уже через 15 мин после введения ДГК·HNO₃ и образование неактивного комплекса цитохром P-450-NO, появление которого обусловлено образующимся при восстановлении азотной кислоты оксидом азота. Динамика изменения сигналов цитохрома P-450 в печени прослеживалась в течение 5-ти часов после введения препарата. Максимальное ингибирование сигнала цитохрома P-450 наблюдалось через 2 часа после введения ДГК·HNO₃. Мы предпо-

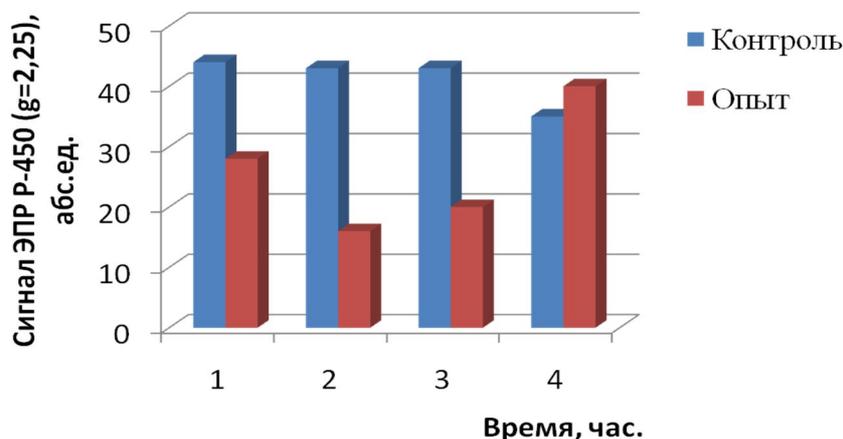
лагаем, что вызываемое образующимся оксидом азота пролонгированное ингибирование цитохрома P-450 в первые часы после введения препарата, приводит к усилению химиотерапевтического действия ЦФ.

Таким образом, показана возможность повышения эффективности химиотерапии цитостатиками при использовании оригинальных гибридных НСПВС, обладающих разными типами активности, что позволяет получить 100% излечение животных.

Рисунок 3.

Динамика изменения интенсивности сигнала цитохрома P-450 в тканях печени животных под влиянием ДГК·HNO₃.

1. 0,5 час;
2. 2 час;
3. 5 час;
4. 24 час.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. **Кудрявцев И. А., Мясищева Н. В.** Циклооксигеназа-1 и -2 как мишени в химиотерапии и химиопрофилактике опухолей животных и человека. // Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – Т. 7. – № 3. – С. 48–56.
2. **Chubb A. J., Fitzgerald D. J., Nolan K. B., Moman E.** // J. Biochemistry. – 2006. – Vol. 45. – p. 811–820.
3. **Ruba S. Deeb, Cynthia Cheung, Tal Nuriel, Brian D. Lamon, Rita K. Upmacis, Steven S. Gross and David P. Hajjar.** Physical Evidence for Substrate Binding in Preventing Cyclooxygenase Inactivation under Nitraive Stress // J. Am. Chem.Soc. – 2010. – Vol. 132. – № 11. – p. 3914–3922.
4. **Rowlison S. W., Grews B. C., Godwin D. C. et. al.** Spatial requirements for 15-(R)-hydroxy-5Z, 8Z, 11Z, 13E- eicosatetraenoic acid synthesis within the cyclooxygenase active site of murine COX-2. Why acetylated COX-1 does not synthesire 15-(R)- HETE. // J. Biol. Chem. – 2000. – 275., Issue 9. – p. 6589–6591.
5. **Граник В. Г., Григорьев Н. Б.** Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. – М. : Вузовская книга. – 2004. – с. 357.
6. **Susanna S. C. Tam, Daniel H. S. Lee, Elizabeth Y. Wang, Donald G. Munree and Catherine Y. Lay.** Teroxalin a Novel Dual Inhibiter of the Prostaglandin – H Synthase Cyclooxygenase and Peroxidaze Activitess // J. of Biological Chemistry. – 1995. – Vol. 270. – N 23. – p. 13948–13955.
7. **Богатыренко Т. Н., Куроптева З. В., Сашенкова Т. Е., Байдер Л. М., Коновалова Н. П.** Использование гидроксамовых кислот и нитрата натрия для усиления противоопухолевого действия циклофосфана // Вопросы онкологии. – 2013. – Т. 59. – № 1. – с. 94–98.
8. Богатыренко Т.Н., Куроптева З.В., Байдер Л.М. и др. О возможности образования оксида азота при биотрансформации гидроксамовых кислот // Изв. РАН, Сер. Химическая. – 2011, – № 6. – с. 137–140.

9. **Руководство** по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ / сост. Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К. и др., 2000. – М., – с. 319–325.
10. **Экспериментальная** оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / под ред. Софриной З. П., Сыркина А. Б., Голдина А., Клейна А., 2008. – М. – с. 503.
11. **Корман Д. Б.** Основы противоопухолевой химиотерапии. – М. : Практическая медицина. – 2008. – с. 503.

© T. N. Bogatyrenko, N. P. Konovalova, A. M. Sipjagin, V. R. Bogatyrenko,
T. E. Sashenkova, B. S. Vedorov, Z. V. Kuroptrva, L. M. Baider

UDC 616-085. 2/3

INTENSIFICATION OF ANTI-CANCER CHEMO-THERAPY EFFECT OF CYCLOPHOSPHAMID BY USING A HYBRID ANTI-INFLAMMATORY DRUG – NITRATE SALT OF DICLOFENAC HYDROXAMIC ACID

T. N. Bogatyrenko, N. P. Konovalova, A. M. Sipjagin, V. R. Bogatyrenko, T. E. Sashenkova,
B. S. Vedorov (Chernogolovka Russia), Z. V. Kuroptrva, L. M. Baider (Moscow, Russia)

We investigate hybrid non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), nitrate salt of diclofenac hydroxamic acid (DHA HNO₃), synthesized at the Institute of Problems of Chemical Physics (IPCP), Russian Academy of Sciences. The compound contains a typical anti-inflammatory drug NSAID, an inhibitor of cyclooxygenase (COX) activity, the hydroxamic group, an inhibitor of peroxidase (PO) activity, and is a donor of the nitric oxide (NO) formed in the process of HNO₃ reduction. In the present study we suggest to investigate a combined action of cytostatic cyclophosphamid (CP) and DHA HNO₃ on anti-cancer activity. We show that chemosensibilization effect of combined PC and DHA HNO₃, with therapeutic doses of PC, leads to 100 % healing of animals with leukemia P-388. Using ESR technique, we investigate the ESR signal of the active form of cyt P-450 in mouse liver samples after application of DHA HNO₃. We find that application of DHA HNO₃ leads to formation of nitrosyl cyt P-450-NO complexes, resulting in a decrease in the ESR signal of cyt P-450 within the five hours after application. The formation of P-450-NO complexes is related to nitric oxide formation in the process of HNO₃ reduction. We suggest that due to the formation of NO, the prolonged inhibition effect of cyt P-450 results in the enforced chemo-therapeutic activity of CP within the first few hours of application. We conclude that the application of the hybrid nitrate salt of diclofenac hydroxamic acid DHA HNO₃ can lead to the enforced chemo-therapeutic effect of CP and 100 % healing of animals.

Keywords: cyclophosphamid, non-steroidal anti-inflammatory drugs, hydroxamic acids, nitric oxide, cyt P-450, leukemia P-388, ESR spectroscopy.

REFERENCES

1. **Kudryavtsev I. A., Myasishceva N. V.** Tsiklooksigenaza-1 and-2 as targets in chemotherapy both to preventive maintenance of tumours of animals and the person // The Russian Biotherapeutic journal. – 2008. – Vol. 7. – N 3. – pp. 48–56.
2. **Chubb A. J., Fitzgerald D. J., Nolan K. B., Moman E.** // J. Biochemistry. – 2006. – Vol. 45. – p. 811–820.
3. **Ruba S. Deeb, Cynthia Cheung, Tal Nuriel, Brian D. Lamon, Rita K. Upmacis, Steven S. Gross and David P. Hajjar.** Physical Evidence for Substrate Binding in Preventing Cyclooxygenase Inactivation under Nitraive Stress // J. Am. Chem.Soc. – 2010. – Vol. 132. – № 11. – p. 3914–3922.

4. **Rowlison S. W., Grews B. C., Godwin D. C. et. al.** Spatial requirements for 15-(R)-hydroxy-5Z, 8Z, 11Z, 13E- eicosatetraenoic acid synthesis within the cyclooxygenase active site of murine COX-2. Why acetylated COX-1 does not synthesise 15-(R)- HETE. // J. Biol. Chem. – 2000. – 275., Issue 9. – p. 6589–6591.
5. **Granik V. G., Grigoriev N. B.** Oksid of nitrogen (NO). A new way to search of medicines. – M. : The High school book. – 2004. – p. 357.
6. **Susanna S. C. Tam, Daniel H. S. Lee, Elizabeth Y. Wang, Donald G. Munree and Catherine Y. Lay.** Tepoxalin a Novel Dual Inhibiter of the Prostaglandin – H Synthase Cyclooxygenase and Peroxidase Activitess // J. of Biological Chemistry. – 1995. – Vol. 270. – N 23. – p. 13948–13955.
7. **Bogatyrenko T. N., Kuropteva Z. V., Bajder L. M., etc.** Use of gidrosamov acids and nitrate of sodium for strengthening antineoplastic action of ciklfosfan // Questions of oncology. – 2013. – vol. 59. – N 1. – pp. 94–98.
8. **Bogatyrenko T. N., Kuropteva Z.V., Bajder L.M., etc.** About an opportunity of formation oxid nitrogen at biotransformation gidrosamov acids // News of Russian Academy of Science, Sulfurs / Chemical, 2011. – 6. – pp. 137–140.
9. **The Management** on experimental studying of new pharmacological substances: Methodical instructions on studying antineoplastic activity of pharmacological substances / Composers: Treshchalina E. M., Zhukova O. S., Gerasimova G. K., etc. – M., 2000. – pp. 319–325.
10. **An experimental** estimation of antineoplastic preparations to the USSR and the USA / eds. Sofrina Z. P., Syrkina A. B., Goldina A., Klein A., M. – 2008. – p. 503.
11. **Korman D. B.** Bases of antineoplastic chemotherapy. – M. : Applied medicine, 2008. – p. 503.

Bogatyrenko T. N. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Konovalova N. P. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: ninap@icp.ac.ru

Sipjagin A. M. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Bogatyrenko V. R. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: bvr@icp.ac.ru

Kuropteva Z. V. – N. M. Emanuel Institute of biochemical physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: zvkh@sky.chph.ras.ru

Bajder L. M. – N. M. Emanuel Institute of biochemical physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: bay42@mail.ru

Sachenkova T. E. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: btn@icp.ac.ru

Vedorov B. S. – Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences.

E-mail: boris-45@inbox.ru