

УДК 573.6

Химическое полисиалирование и *in vivo* тетрамеризация улучшают фармакокинетические характеристики биологических антидотов на основе рекомбинантной бутирилхолинэстеразы человека

С. С. Терехов^{1*}, И. В. Смирнов^{1,3}, О. Г. Шамборант¹, Т. В. Бобик¹, Д. Г. Илюшин¹, А. Н. Мурашев², И. А. Дьяченко², В. А. Паликов², В. Д. Кнорре¹, А. А. Белогуров^{1,3,4}, Н. А. Пономаренко¹, Е. С. Кузина¹, Д. Д. Генкин⁵, Р. Masson³, А. Г. Габибов^{1,3,4}

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, Пушкино Московской обл.

³Казанский федеральный университет, 420000, Казань, ул. Кремлевская, 18

⁴Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 34/5

⁵ОАО «Фармсинтез», 197110, Санкт-Петербург, ул. Красного Курсанта, 25ж

*E-mail: sterekhoff@gmail.com

Поступила в редакцию 01.09.2015

РЕФЕРАТ Фосфорорганические токсины (ФОТ), благодаря их направленному действию на нервную систему, входят в число наиболее токсичных низкомолекулярных соединений. Бутирилхолинэстераза человека (чБуХЭ) является естественным биологическим антидотом широкого спектра ФОТ, что делает ее перспективной для разработки ДНК-кодируемых биологических антидотов. Высокие значения защитного индекса, полученные при использовании в терапии рекомбинантной чБуХЭ (рчБуХЭ), характерны для отравлений высокотоксичными боевыми ФОТ. В то же время широкомасштабное применение препаратов чБуХЭ ограничено из-за их высокой стоимости и экстремально быстрого выведения рчБуХЭ из кровотока. В представленной работе проанализированы два подхода к увеличению продолжительности циркуляции рчБуХЭ: I) химическое полисиалирование и II) *in vivo* тетрамеризация. При помощи обоих подходов удается значительно (более чем в 5 и 10 раз соответственно) повысить фармакокинетические характеристики рчБуХЭ, что позволяет использовать препараты на основе конъюгатов с полисиаловыми кислотами (рчБуХЭ-ПСА) и тетрамерной рчБуХЭ (4рчБуХЭ) в терапии отравлений ФОТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА биологический антидот, биологический препарат, биораспределение, бутирилхолинэстераза, полисиалирование, фармакокинетика, *in vivo* тетрамеризация.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ФОТ – фосфорорганические токсины; чАцХЭ – ацетилхолинэстераза человека; 4рчБуХЭ – тетрамерная рекомбинантная бутирилхолинэстераза человека; 4рчБуХЭ-ПСА – химически полисиалированная 4рчБуХЭ; MRT – Mean Residence Time (среднее время удержания); PRAD – Proline-Rich Attachment Domain (пролинбогатый домен связывания); ПСА – полисиаловые кислоты; cpm – counts per minute (распады в минуту).

ВВЕДЕНИЕ

Фосфорорганические токсины (ФОТ), несмотря на их более чем 150-летнюю историю, остаются одними из наиболее актуальных объектов современной токсикологии. ФОТ являются представителями нескольких классов фосфорорганических

соединений, необратимо ингибирующих ацетилхолинэстеразу человека (чАцХЭ). Ингибирование ацетилхолинэстеразы, в свою очередь, приводит к развитию синдрома SLUDGE(M) (Salivation Lacrimation Urination Diaphoresis Gastrointestinal upset Emesis (Miosis) – Слюноотделение Слезотечение

Мочеиспускание Потоотделение Расстройство кишечника Рвота (Миоз)). В случае тяжелых отравлений развиваются судороги, наблюдается необратимое повреждение мозга, остановка дыхания и наступает смерть. В настоящее время жертвами ФОТ (порядка 260000 в год) становятся главным образом самоубийцы. Особенно это актуально для западной части тихоокеанского региона, где составляет приблизительно 50% от общего числа попыток суицида [1]. Также случаи отравления фосфорорганическими пестицидами нередки среди фермеров. Кроме этого, существует потенциальная угроза военного применения боевых отравляющих веществ нервно-паралитического действия или использование их в террористических атаках. Общепринятая схема терапии отравлений ФОТ [2] включает комбинированную терапию антагонистами мускаринового рецептора (обычно атропином) и реактиваторами ацетилхолинэстеразы (пралидоксимом или обидоксимом). К сожалению, данная терапия не универсальна, она не приводит к увеличению выживаемости при отравлении фосфорорганическими пестицидами [3], а также не позволяет избежать необратимого повреждения мозга.

Альтернативным подходом в терапии отравлений ФОТ является использование биологических антидотов – биомолекул, связывающих и инактивирующих ФОТ [4–7]. Бутирилхолинэстераза человека – естественный биологический антидот (суицидальный инактиватор) человека при отравлении ФОТ [8]. Благодаря уникальному сходству с чАцХЭ и большому объему полости активного центра чБуХЭ инактивирует широчайший спектр ФОТ зачастую эффективнее чАцХЭ [9]. Использование чБуХЭ в терапии отравлений ФОТ позволяет не только повысить выживаемость, но и избежать долговременных побочных эффектов отравления ФОТ, в том числе и необратимого повреждения мозга [10]. Несмотря на очевидные преимущества, применение чБуХЭ в терапии отравлений ФОТ крайне ограничено высокой стоимостью препаратов чБуХЭ и экстремально быстрым выведением ($\tau_{1/2} \approx 2$ мин) мономерной и димерной рекомбинантной чБуХЭ (рчБуХЭ) из кровотока [11]. Таким образом, основные усилия в разработке эффективного терапевтического препарата были сосредоточены на повышении продукции рчБуХЭ [12] и улучшении фармакокинетики препаратов на ее основе за счет химической конъюгации с полиэтиленгликолем [13–16], полисиаловыми кислотами (ПСА) [17] или продукцией в виде рчБуХЭ, слитой с сывороточным альбумином человека [18]. Недавно мы показали [19], что высокого уровня продукции и одновременно более значительного увеличения фармакокинетических характеристик рчБуХЭ можно добиться за счет *in vivo* тетра-

меризации рчБуХЭ. Нами показано, что, имитируя естественный процесс тетрамеризации рчБуХЭ [20] в общепринятой экспрессионной системе клеток линии CHO, можно добиться эффективной биотехнологической продукции фармакологического препарата на основе тетрамерной рчБуХЭ (4рчБуХЭ). 4рчБуХЭ, полученная в результате *in vivo* тетрамеризации, обладала фармакокинетическими характеристиками ($\tau_{1/2} 32 \pm 1.2$ ч, MRT 43 ± 2 ч), сходными с препаратом тетрамерной чБуХЭ из плазмы крови человека [21].

Цель данной работы состояла в изучении возможности дальнейшего увеличения фармакокинетических характеристик препарата 4рчБуХЭ за счет химического полисиалирования, определении влияния полисиалирования на профиль биораспределения препаратов рчБуХЭ в мышинных моделях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Биологические препараты рчБуХЭ, использованные в работе

4рчБуХЭ была получена в трансфицированных конструкцией pFUSE PRAD-F2A-BChE клетках линии CHO-K1, в которых одновременно экспрессируется ген пептида тетрамеризации (PRAD-пептид) и бутирилхолинэстеразы человека [19]. рчБуХЭ получена в виде смеси олигомеров [17] с преимущественным содержанием димерной формы. БуХЭ последовательно очищена методами аффинной хроматографии с использованием сорбента прокаинамид-сефарозы на колонке XK10/50 (GE Healthcare, США) и ионообменной хроматографии на колонке MonoQ 5/50 (GE Healthcare, США). По данным электрофореза в полиакриламидном геле с окрашиванием Кумасси и окрашиванием на наличие специфической бутирилхолинэстеразной активности по методу Karnovsky и Roots [22] чистота белка превышала 95%.

Химическое полисиалирование препаратов рчБуХЭ

Препараты рчБуХЭ были химически конъюгированы с окисленными полисиаловыми кислотами со средней молекулярной массой 24 кДа (Xenetic Biosciences) по реакции восстановительного аминирования согласно [17, 23]. Конъюгацию проводили в 0.1 М калий-фосфатном буфере pH 6.9, молярное соотношение рчБуХЭ : ПСА составляло 1 : 50 в расчете на мономер рчБуХЭ. Конечная концентрация NaN_3CN – 3 мг/мл. Реакцию проводили в течение 48 ч при 25°C. Полученный в результате конъюгат рчБуХЭ-ПСА очищали от побочных продуктов реакции многократным диализом с использованием концентраторов Amicon Ultra-15 30K (Millipore, США).

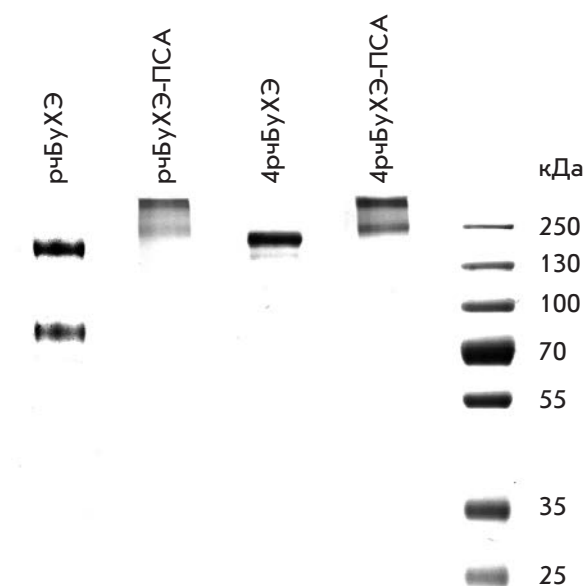


Рис. 1. Электрофоретический анализ препаратов белков и их конъюгатов с полисиаловыми кислотами (ПСА), использованных в работе. Разделение проводили в 8% ПААГ в не восстанавливающих условиях с последующей окраской Кумасси R-250. Препарат рчБуХЭ присутствует в виде смеси мономерной, димерной и тетрамерной формы; препарат 4рчБуХЭ присутствует исключительно в форме тетрамера. Препараты полисиалированной бутирилхолинэстеразы имеют очевидно более высокую молекулярную массу, однако не фокусируются, этот эффект описан для химически полисиалированных препаратов [17]

Эффективность модификации определяли с помощью электрофореза в 8% полиакриламидном геле (с SDS, но без β -меркаптоэтанола). Концентрацию активной рчБуХЭ определяли по методу Элмана [24] с использованием 1 мМ бутирилтиохолин йодида (Sigma) и 0.5 мМ 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной кислоты) (Sigma) в 0.1 М калий-фосфатном буфере pH 7.0, при 25°C. Образование продукта реакции, 5-тио-2-нитробензойной кислоты, регистрировали спектрофотометрически при длине волны 412 нм, исходя из коэффициента молярного поглощения продукта $13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Концентрацию БуХЭ оценивали исходя из удельной активности 720 единиц активности на 1 мг чистой БуХЭ.

Определение фармакокинетических параметров препаратов рчБуХЭ и конъюгатов рчБуХЭ-ПСА

Концентрацию препаратов рчБуХЭ, рчБуХЭ-ПСА, 4рчБуХЭ и 4рчБуХЭ-ПСА в плазме крови определяли с использованием четырех групп мышей линии BALB/c по 18 животных в каждой. Каждая группа состояла из трех подгрупп по шесть животных в каждой для временных интервалов 2 мин–3 ч (под-

группа I), 1 ч–3 дня (подгруппа II) и 1–8 дней (подгруппа III). Препараты БуХЭ вводили внутривенно в дозе 200 мкг/мышь (подгруппы I и II) и 500 мкг/мышь (подгруппа III). Образцы крови были отобраны из глазного синуса через 2, 5, 10, 15, 30 мин, 1, 2, 3, 6, 9, 24 ч, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 дней после введения. Концентрацию БуХЭ в сыворотке крови мышей определяли исходя из ее активности по методу Элмана [24]. Фармакокинетические характеристики препаратов получены исходя из аппроксимации кривой выведения БуХЭ в рамках двухкамерной модели [17] с использованием программного обеспечения SigmaPlot 12.5 (Systat software).

Определение профиля биораспределения препарата рчБуХЭ и конъюгата рчБуХЭ-ПСА

Радиоактивную метку ^{125}I в препараты рчБуХЭ и рчБуХЭ-ПСА вводили с использованием хлорамина Т в дозе 10^6 срм/мг. Препараты меченой рчБуХЭ и рчБуХЭ-ПСА внутривенно вводили мышам линии BALB/c (три группы по шесть животных для каждого препарата) в дозе 10^5 срм/мышь. Мышей умерщвляли спустя 0.5, 3 и 48 ч, образцы их крови и тканей отбирали и взвешивали. Отобранные образцы измеряли с использованием автоматического гамма-счетчика WIZARD (PerkinElmer). Накопление в ткани определяли как отношение удельной радиоактивности органа (срм/г) к удельной радиоактивности крови (срм/мл) в данный момент времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные успехи, связанные с терапевтическим применением препаратов рчБуХЭ, достигнуты при использовании рчБуХЭ, химически модифицированной полиэтиленгликолем. Ранее нами было показано [17], что химическое полисиалирование можно использовать в качестве альтернативной модификации, позволяющей многократно улучшить фармакокинетические характеристики рчБуХЭ. Конъюгаты рчБуХЭ с полисиаловыми кислотами (рчБуХЭ-ПСА) по своим фармакокинетическим характеристикам уступают конъюгатам с полиэтиленгликолем [12, 13, 15], однако имеют значительное преимущество перед ними в биоразлагаемости. В данной работе мы сравнили фармакокинетические характеристики препаратов рчБуХЭ-ПСА и 4рчБуХЭ без химической модификации [19], а также оценили влияние химического полисиалирования на фармакокинетику конъюгата 4рчБуХЭ-ПСА.

Полисиалирование рчБуХЭ и 4рчБуХЭ протекает с эффективностью более 95% и приводит к образованию высокомолекулярных продуктов со степенью модификации порядка шести молекул ПСА в расчете на мономер БуХЭ (рис. 1). Полученные в результате

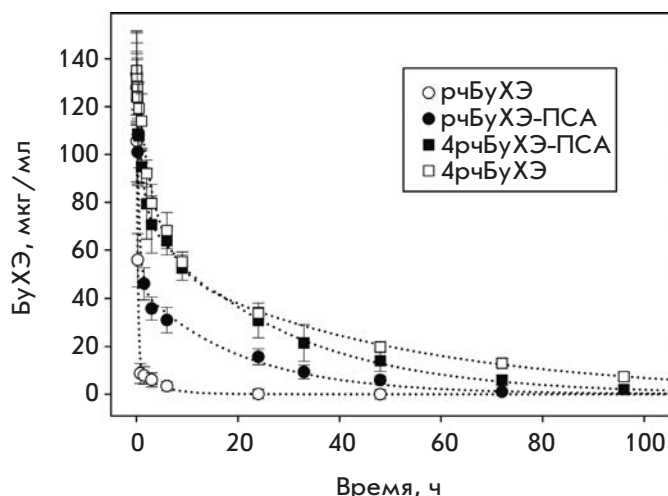


Рис. 2. Фармакокинетика выведения препаратов БухЭ из крови после внутривенного введения. Для оценки концентрации препаратов бутирилхолинэстеразы в плазме крови были использованы 4 группы мышей линии BALB/c по 18 животных в каждой, которым внутривенно были введены препараты рчБухЭ, рчБухЭ-ПСА, 4рчБухЭ и 4рчБухЭ-ПСА в дозе 200 и 500 мкг/мышь. Концентрация БухЭ в сыворотке крови мышей была определена исходя из ее активности по методу Элплмана. Фармакокинетические характеристики препаратов были получены исходя из аппроксимации кривой выведения фермента в рамках двухкамерной модели

конъюгаты рчБухЭ-ПСА и 4рчБухЭ-ПСА обладали низкой токсичностью и не вызывали гибель подопытных животных после внутривенного введения вплоть до дозы 1500 мг/кг, что, в свою очередь, может свидетельствовать о потенциальной возможности увеличения защитного индекса более чем на порядок относительно данных, полученных ранее для боевого отравляющего вещества VR [17].

Для оценки фармакокинетических характеристик полученных препаратов БухЭ использовали мышиную модель внутривенного введения препаратов и определение остаточной бутирилхолинэстеразной активности в сыворотке крови. Уровень эндогенной активности БухЭ в сыворотке крови мыши составлял 2.0 ± 0.5 мкг/мл, что позволило с высокой точностью оценивать концентрацию введенных препаратов. На рис. 2 представлены кривые выведения исследуемых препаратов. Очевидно, что практическое применение рчБухЭ без модификации в значительной степени затруднено ввиду ее крайне быстрой элиминации из кровотока. Модификация полисиаловыми кислотами позволяет более чем в 5 раз повысить фармакокинетические характеристики рчБухЭ (таблица), что значительно увеличивает об-

Фармакокинетические характеристики препаратов БухЭ

Препарат	Фармакокинетические характеристики		
	$\tau_{1/2распр.}$, ч	$\tau_{1/2вывед.}$, ч	MRT, ч
рчБухЭ	0.2 ± 0.1	3 ± 1	3 ± 1.6
рчБухЭ-ПСА	0.3 ± 0.1	14 ± 2	19 ± 3
4рчБухЭ	2.4 ± 0.3	33 ± 2	43 ± 4
4рчБухЭ-ПСА	0.8 ± 0.2	19 ± 2	27 ± 3

ласть ее терапевтического применения и позволяет использовать в качестве профилактики отравления ФОТ. В то же время 4рчБухЭ обладает характеристиками более чем в 2 раза лучшими по сравнению с конъюгатом рчБухЭ-ПСА, что делает ее лидером среди исследованных препаратов по продолжительности циркуляции. Биотехнологическое получение 4рчБухЭ аналогично рчБухЭ и значительно более целесообразно экономически, чем получение конъюгата рчБухЭ-ПСА, поскольку отсутствуют стадии модификации (где используется 50-кратный избыток ПСА) и очистки. В то же время можно было ожидать, что полисиалирование 4рчБухЭ приведет к еще большему увеличению фармакокинетических характеристик 4рчБухЭ, однако этого не происходит. Фармакокинетика выведения 4рчБухЭ-ПСА и 4рчБухЭ в первые сутки практически идентична, в дальнейшем 4рчБухЭ-ПСА выводится быстрее, чем немодифицированная 4рчБухЭ. Таким образом, химическое полисиалирование позволяет многократно повысить фармакокинетические характеристики мономерной и димерной рчБухЭ, но не улучшает фармакокинетику 4рчБухЭ. Так как рчБухЭ присутствует в плазме крови человека исключительно в тетрамерной форме, что обеспечивает ее продолжительную циркуляцию, а химическое полисиалирование 4рчБухЭ не приводит к улучшению фармакокинетических характеристик 4рчБухЭ-ПСА по сравнению с 4рчБухЭ, мы можем предположить, что увеличение продолжительности циркуляции препаратов 4рчБухЭ связано, в первую очередь, не с увеличением гидродинамического радиуса 4рчБухЭ. По-видимому, образование комплекса 4рчБухЭ приводит к маскировке доменов белка, ответственных за быструю элиминацию рчБухЭ.

С целью изучения влияния химического полисиалирования на профиль биораспределения и накопления препаратов 4рчБухЭ провели эксперименты с использованием препаратов, меченных радиоизотопом ^{125}I . Препараты 4рчБухЭ и 4рчБухЭ-ПСА вво-

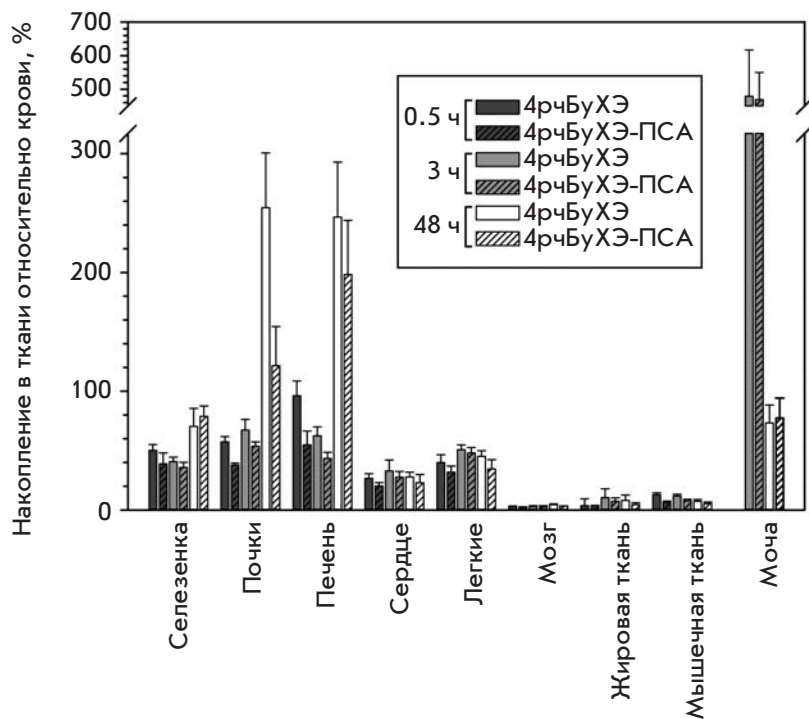


Рис. 3. Профили распределения препаратов 4rчБуХЭ и 4rчБуХЭ-ПСА, меченных ¹²⁵I, по органам, полученные через 0.5, 3 и 48 ч после внутривенного введения.

Препараты, меченные радиоактивным изотопом ¹²⁵I, были получены по стандартной методике с использованием хлорамина Т и очищены гель-фильтрацией. Для эксперимента использовали мышей линии BALB/c (3 группы по 6 животных для каждого препарата). Образцы вводились в хвостовую вену в дозировке 10⁵ cpm /мышь. Через 0.5, 3 или 48 ч животные подвергались эвтаназии. Выделяли соответствующие органы, взвешивали их и использовали для радиологического анализа с использованием прибора WIZARD Automatic Gamma Counter (PerkinElmer). Накопление в ткани определяли как отношение удельной радиоактивности органа (cpm/г) к удельной радиоактивности крови (cpm/мл) в данный момент времени

дили внутривенно, и анализировали их накопление в различных компартментах через 0.5, 3 и 48 ч относительно соответствующей радиоактивности образцов крови (рис. 3). Показано, что в течение первых 3 ч не наблюдается специфического накопления препаратов 4rчБуХЭ и 4rчБуХЭ-ПСА в органах, однако происходит ярко выраженное выведение с мочой, по-видимому, связанное с продуктами биodeградации препаратов. Накопление препаратов в почках и печени происходит спустя 48 ч и значительно более выражено у 4rчБуХЭ. Как уже отмечено ранее, фармакокинетика выведения 4rчБуХЭ и 4rчБуХЭ-ПСА крайне сходна в течение первых 24 ч, что проявляется также сходством профилей биораспределения. В то же время спустя 48 ч фармакокинетические свойства 4rчБуХЭ лучше по сравнению с 4rчБуХЭ-ПСА. По-видимому, это связано с более ярко выраженным накоплением 4rчБуХЭ в почках, что приводит к уменьшению скорости ее выведения. Наряду с этим можно отметить крайне низкую концентрацию препаратов rчБуХЭ в мозге, а также в жировой и мышечной ткани. Остаточная радиоактивность в этих компартментах, по-видимому, связана с наличием кровеносных сосудов, что говорит об ограниченной способности к проникновению, характерной для препаратов rчБуХЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью данной работы было изучение влияния альтернативных подходов к увеличению продолжитель-

ности циркуляции rчБуХЭ на фармакокинетику препаратов на ее основе. Улучшение фармакокинетических характеристик rчБуХЭ-ПСА по сравнению с rчБуХЭ, по-видимому, связано в первую очередь с увеличением гидродинамического радиуса rчБуХЭ-ПСА и маскировкой доменов rчБуХЭ (в частности, С-концевой домен чБуХЭ), ответственных за тетрамеризацию молекулами ПСА. Аналогичного эффекта можно добиться благодаря продукции 4rчБуХЭ. Использование 4rчБуХЭ представляет экономически привлекательную альтернативу препаратам на основе модифицированной rчБуХЭ, так как позволяет добиться более высоких фармакокинетических показателей, чем rчБуХЭ и rчБуХЭ-ПСА. Химическая модификация 4rчБуХЭ полисиаловыми кислотами в свою очередь не приводит к дальнейшему улучшению фармакокинетики 4rчБуХЭ-ПСА, что может свидетельствовать о существовании дополнительных естественных механизмов стабилизации 4rчБуХЭ. Вместе с тем, необходимо признать, что дальнейшая оптимизация реакции полисиалирования, полная стандартизация процесса химической модификации, а также использование предложенных недавно генетических конструкций для экспрессии [19] может вновь вывести rчБуХЭ-ПСА в лидеры среди потенциальных антидотов к ФОТ.

Низкая токсичность препаратов на основе 4rчБуХЭ позволяет расширить возможности применения биологических антидотов в терапии отрав-

лений ФОТ. В то же время стоит отметить, что использование препаратов 4рчБуХЭ ограничено необходимостью введения стехиометрических количеств фермента по отношению к ФОТ. Этот факт, в свою очередь, приводит к тому, что защитный индекс терапии 4рчБуХЭ (отношение LD_{50} животных после терапии к LD_{50} без терапии) может быть высоким лишь в случае боевых отравляющих веществ (т.е. высокотоксичных агентов с низкими значениями LD_{50}). Дальнейшее улучшение препаратов на основе 4рчБуХЭ, по-видимому, должно быть связано с созданием каталитических антидотов – ферментов, каталитически инактивирующих ФОТ. Это позволит многократно понизить терапевтическую дозу и расширить возможности данной терапии на случаи отравления пестицидами, так как в этом случае высокое значение LD_{50} приводит к необходимости введения чрезмерно высокого количества препарата

4рчБуХЭ. В то же время при переходе к каталитическим антидотам необходимо добиться быстрой и эффективной ($k_2/K_m \approx 10^7 \text{ M}^{-1}\text{мин}^{-1}$) элиминации ФОТ [13], что особенно актуально для терапии отравлений ФОТ [25, 26]. Немаловажное значение в случае разработки каталитического антидота будет иметь вопрос стандартизации клона с высокой продукцией, экономически оправданной для развертывания производства, а также его возможной сертификацией по требованиям FDA. В случае препаратов стехиометрических антидотов на основе рчБуХЭ, рассматриваемых в данной статье, последнее условие абсолютно выполнимо. ●

Работа поддержана грантом по контракту с Минобрнаукой России RFMEFI60414X0069 и частично (проведение радиологического анализа) грантом РФФИ № 14-04-00647.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gunnell D., Eddleston M., Phillips M.R., Konradsen F. // BMC Public Health. 2007. V. 7. P. 357.
- Eddleston M., Buckley N.A., Eyer P., Dawson A.H. // Lancet. 2008. V. 371. P. 597–607.
- Eddleston M., Eyer P., Worek F., Juszczak E., Alder N., Mohamed F., Senarathna L., Hittarage A., Azher S., Jeganathan K., et al. // PLoS Med. 2009. V. 6. e1000104.
- Nachon F., Brazzotto X., Trovaslet M., Masson P. // Chem. Biol. Interact. 2013. V. 206. P. 536–544.
- Masson P., Lockridge O. // Arch. Biochem. Biophys. 2010. V. 494. P. 107–120.
- Masson P., Rochu D. // Acta Naturae. 2009. V. 1. № 1. P. 68–79.
- Radic Z., Dale T., Kovarik Z., Berend S., Garcia E., Zhang L., Amitai G., Green C., Radic B., Duggan B.M., et al. // Biochem. J. 2013. V. 450. P. 231–242.
- Wille T., Thiermann H., Worek F. // Arch. Toxicol. 2014. V. 88. P. 301–307.
- Shenouda J., Green P., Sultatos L. // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2009. V. 241. P. 135–142.
- Sun W., Doctor B.P., Lenz D.E., Saxena A. // Chem. Biol. Interact. 2008. V. 175. P. 428–430.
- Duysen E.G., Bartels C.F., Lockridge O. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002. V. 302. P. 751–758.
- Huang Y.J., Huang Y., Baldassarre H., Wang B., Lazaris A., Leduc M., Bilodeau A.S., Bellemare A., Cote M., Herskovits P., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 13603–13608.
- Geyer B.C., Kannan L., Garnaud P.-E., Broomfield C.A., Cadieux C.L., Cherni I., Hodgins S.M., Kasten S.A., Kelley K., Kilbourne J., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 20251–20256.
- Rosenberg Y.J., Gearhart J., Mao L., Jiang X., Hernandez-Abanto S. // Chem. Biol. Interact. 2014. V. 210. P. 20–25.
- Sun W., Luo C., Tipparaju P., Doctor B.P., Saxena A. // Chem. Biol. Interact. 2013. V. 203. P. 172–176.
- Chilukuri N., Sun W., Naik R.S., Parikh K., Tang L., Doctor B.P., Saxena A. // Chem. Biol. Interact. 2008. V. 175. P. 255–260.
- Ilyushin D.G., Smirnov I.V., Belogurov A.A., Jr., Dyachenko I.A., Zharmukhamedova T., Novozhilova T.I., Bychikhin E.A., Serebryakova M.V., Kharybin O.N., Murashev A.N., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 1243–1248.
- Huang Y.J., Lundy P.M., Lazaris A., Huang Y., Baldassarre H., Wang B., Turcotte C., Cote M., Bellemare A., Bilodeau A.S., et al. // BMC Biotechnol. 2008. V. 8. P. 50.
- Terekhov S., Smirnov I., Bobik T., Shamborant O., Zenkova M., Chernolovskaya E., Gladkikh D., Murashev A., Dyachenko I., Palikov V., et al. // Biochimie. 2015. V. 118. P. 51–59.
- Li H., Schopfer L.M., Masson P., Lockridge O. // Biochem. J. 2008. V. 411. P. 425–432.
- Saxena A., Ashani Y., Raveh L., Stevenson D., Patel T., Doctor B.P. // Mol. Pharmacol. 1998. V. 53. P. 112–122.
- Karnovsky M.J., Roots L. // J. Histochem. Cytochem. 1964. V. 12. P. 219–221.
- Smirnov I.V., Vorobiev I.I., Belogurov A.A., Genkin D.D., Deyev S.M., Gabibov A.G. // Methods in Molecular Biology. 2015. V. 1321. P. 389–404.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. // Biochem. Pharmacol. 1961. V. 7. P. 88–95.
- Worek F., Seeger T., Reiter G., Goldsmith M., Ashani Y., Leader H., Sussman J.L., Aggarwal N., Thiermann H., Tawfik D.S. // Toxicol. Lett. 2014. V. 231. P. 45–54.
- Worek F., Seeger T., Goldsmith M., Ashani Y., Leader H., Sussman J.S., Tawfik D., Thiermann H., Wille T. // Arch. Toxicol. 2014. V. 88. P. 1257–1266.