

УДК 543.94+543.95+543.645.2+544.473:577.15:543.426+543.544.122

Я. В. ФАЛЕТРОВ, Е. В. РУДАЯ, Н. С. ФРОЛОВА,  
А. В. ГЛУШКО, В. М. ШКУМАТОВ

## КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ АНАЛОГОВ СУБСТРАТОВ СО СТЕРОИД- ПРЕВРАЩАЮЩИМИ ФЕРМЕНТАМИ

*НИИ физико-химических проблем  
Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь*

В работе обобщены данные, полученные в лаборатории биохимии лекарственных препаратов НИИ ФХП БГУ в 2010–2013 годы, о взаимодействии трех флуоресцирующих веществ (22-*NBD*-холестерина, 25-*NBD*-холестерина и Нильского красного) со стероид-превращающими оксидоредуктазами (бактериальными холестериноксидазой и холестериндегидрогеназой (ХДГ), а также цитохромами *P450 CYP17* и *CYP11A1* млекопитающих). Полученные данные открывают перспективы для ферментативного получения новых флуоресцирующих 3-кето-4-еновых стероидов, разработки способов обнаружения холестерин-превращающих микроорганизмов, определения особенностей строения активных центров ХДГ и 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназ, а также выяснения механизма расщепления C20-C22 связи цитохромом *CYP11A1*.

In this work, the data, which were obtained in the laboratory of biochemistry of medical drugs of the Research Institute for Physical-Chemical Problems during 2010–2013, concerning interactions of three fluorescent compounds (22-NBD-cholesterol, 25-NBD-cholesterol and Nile Red) with steroid-converting oxidoreductases (microbial cholesterol oxidase and cholesterol dehydrogenase (CHDH) as well as mammalian cytochromes *P450 CYP11A1* and *CYP17*) is summarized. The data obtained provide new perspectives for enzymatic synthesis of new fluorescent 3-keto-4-en steroids, development of methods of cholesterol-converting microbes detection, determination of structural features of active centers in CHDH and 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases as well as revealing of mechanism of C20-C22 bond cleavage by cytochrome *CYP11A1*.

*Ключевые слова:* флуоресцирующие соединения, Нильский красный, 22-*NBD*-холестерин, 25-*NBD*-холестерин, цитохромы *CYP11A1* и *CYP17*, холестерин-оксидаза, холестериндегидрогеназа.

*Keywords:* fluorescent compounds, Nile Red, 22-NBD-cholesterol, 25-NBD-cholesterol, cytochromes *CYP11A1* and *CYP17*, cholesterol oxidase, cholesterol dehydrogenase.

Стероидные гормоны млекопитающих являются важными липофильными биорегуляторами жизненно важных процессов и функций организма: водно-со-

левого, белкового, углеводного и липидного обменов веществ, иммунных и воспалительных реакций, половой дифференцировки и т. д. Биосинтез стероидных гормонов осуществляется путем серии окислительно-восстановительных модификаций холестерина цитохромами P450 (CYP; катализируют реакции гидроксилирования и окислительного расщепления С–С-связей), гидроксистероид-дегидрогеназами (ГСД; катализируют взаимопревращение гидроксильных и кетогрупп) [1, 2]. Первой стадией этого процесса является превращение холестерина в прегненолон, катализируемое цитохромом CYP11A1. На следующем этапе прегненолон превращается CYP17 в 17 $\alpha$ -гидроксипрегненолон и затем далее в дегидроэпиандростерон – предшественник половых стероидных гормонов классов андрогенов и эстрогенов. Параллельно, 3 $\beta$ -гидрокси-5-еновые предшественники гормонов (прегненолон, 17 $\alpha$ -гидроксипрегненолон и дегидроэпи-андростерон) превращаются в свои активные 3-кето-4-еновые производные (прогестерон, 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерон, андрост-4-ен-3,17-дион соответственно) ферментом 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа (3 $\beta$ -ГСД) [1–3]. Данные оксидоредуктазы млекопитающих рассматриваются как молекулярные мишени лекарств для лечения заболеваний, связанных с нарушениями стероидогенеза. С другой стороны, стероид-превращающие оксидоредуктазы играют важную роль в ассимиляции холестерина *Mycobacterium tuberculosis* (возбудителя туберкулеза, вызывающего около 2000000 смертей в год по всему миру), а также бактериями родов *Pseudomonas*, *Nocardia* и т. п. Необходимо отметить, что начальная стадия микробиологической деградации холестерина и других 3 $\beta$ -гидрокси-5-ен-стероидов (в том числе прегненолона, дегидроэпиандростерона) заключается в их превращении в 3-кето-4-еновые производные, которые катализируют или внеклеточные холестериноксидазы (ХОКС), или микробные аналоги 3 $\beta$ -ГСД – холестериндегидрогеназы (ХДГ). Цитохромы P450 CYP125 и CYP142 катализируют первую стадию деградации боковой цепи холестерина у микобактерий [4–6].

Важно отметить, что ингибирование ферментов стероидогенеза млекопитающих является механизмом действия некоторых лекарств для терапии ряда опухолевых заболеваний, однако также может быть и нежелательным, побочным действием лекарств [2]. Аналогично, данные литературы о взаимосвязи биодеградации холестерина микобактериями с их вирулентностью или выживаемостью [4–6] указывают на важность изучения взаимодействия новых потенциальных противотуберкулезных лекарств со стероид-превращающими ферментами этих микроорганизмов. Следовательно, при разработке новых лекарственных соединений требуется учитывать взаимодействия веществ с вышеуказанными ферментами при прогнозе и интерпретации их фармакодинамических (терапевтических и побочных) и фармакокинетических (биотрансформация) свойств.

Для экспрессной и/или предварительной оценки таких взаимодействий используются компьютерное моделирование белок-лигандных взаимодействий и различные экспериментальные тест-системы. Использование флуоресци-

рующих веществ, способных взаимодействовать со стероид-превращающими ферментами, будет значительно увеличивать их чувствительность и селективность определения параметров взаимодействия белков-мишеней с лекарствами при помощи таких тест-систем. В данном аспекте используются, например, 22-(*N*-(7-нитробенз-2-окса-1,3-диазол-4-ил)амино)-23,24-биснор-5-холен-3 $\beta$ -ол (22-*NBD*-холестерин, 22НБДХ), 25-[*N*-[(7-нитробенз-2-окса-1,3-диазол-4-ил)-метил]амино]-27-нор-холестерин (25-*NBD*-холестерин, 25НБДХ) и 9-(диэтиламино)-5Н-бензо[а]феноксазин-5-он (Нильский красный, НК) [7, 8].

В данной работе обобщены полученные в лаборатории биохимии лекарственных препаратов НИИ ФХП БГУ в 2010–2013 гг. результаты в области исследования биотрансформации флуоресцирующих веществ стероид-превращающими ферментами с использованием компьютерного моделирования (молекулярный докинг) и экспериментальных подходов.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали флуоресцирующие вещества 25НБДХ («*Avanti*»), 22НБДХ и НК («*Sigma*»), трансгенные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* *YE-p5117 $\alpha$* , экспрессирующих «встроенный» генно-инженерными методами *CYP17* под контролем промотора *GAL10* (индукция галактозой), и *Yarrowia lipolytica*, экспрессирующие различные комбинации *CYP11A1*, *CYP17*, адренодоксинредуктазы (*AdR*), адренодоксина (*Ad*), НАДФН: цитохром Р450 редуказы (*CPR*) под контролем промотора *ICL1* (индукция этанолом) [2]. Спектрофотометрические и спектрофлуориметрические измерения проводили с использованием приборов *UV-1202* («*Shimadzu*») и *SM2303* («Солар») соответственно. Реконструкцию активности стероид-трансформирующих систем осуществляли с помощью очищенных препаратов *CYP11A1*, *CYP17*, *AdR*, *Ad*, *CPR*, а также ХОКС из бактерии *Brevibacterium sterolicum* и ХДГ из бактерии *Nocardia sp.* («*Sigma*»). Для анализа и выделения продуктов превращения флуоресцирующих веществ применяли тонкослойную хроматографию (ТСХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) со спектрофото- и флуориметрическим детектированием (хроматографы «*Shimadzu*» с детекторами *SPD-M10A* и *RF-10Ax1*), ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС) системы *LCMS 2020* («*Shimadzu*»), а также масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом (ЭУ-МС) системы *QP2010 +* («*Shimadzu*»). Для исследований *in silico* применяли следующие программы: *BLAST* (поиск гомологичных белков), *Autodock* (белок-лигандный докинг), а также *ChemOffice* и *HyperChem* (квантово-химические расчеты).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Взаимодействие 22НБДХ со стероид-превращающими оксидо-редуктазами ХОКС, ХДГ и CYP11A1.** 22НБДХ и 25НБДХ являются флуоресцирующими аналогами холестерина, широко применяемыми в биохимических и

биофизических исследованиях по изучению транспорта и превращения этого важного природного липида, а также его взаимодействия с различными белками [7, 9]. Авторами данной статьи было проведено компьютерное моделирование белок-лигандного взаимодействия (докинг), показавшее, что 22НБДХ и 25НБДХ способны связываться в активном центре ХОКС бактерии *Brevibacterium sterolicum* так, что их 3β-гидроксильные группы располагаются в пределах 0,4 нм от редокс-активного изоаллоксазинового фрагмента *FAD* этого фермента и его каталитически важных остатков *His447* и *Glu361* [9–12]. Далее экспериментально с использованием ВЭЖХ-МС было доказано, что ХОКС *B. sterolicum* катализируют превращение 22НБДХ и 25НБДХ в соответствующие 3-кето-4-еновые производные – 22НБДХ-4-ен-3-он (ионы  $[M - H]^-$  с  $m/z$  491 для продукта против 493 для субстрата) и 25НБДХ-4-ен-3-он (ионы  $[M + K]^+$  с  $m/z$  601 для продукта против 603 для субстрата) соответственно. Следовательно, ферментативное превращение этих стероидов посредством ХОКС происходит таким же образом, как для холестерина и других 3β-гидрокси-5-ен стероидов – природных субстратов ХОКС [11–14].

Аналогично авторы данной статьи установили, что при совместной инкубации 22НБДХ или 25НБДХ с ХДГ *Nocardia sp.* и  $НАД^+$  происходит образование восстановленной формы никотинамидаденин динуклеотидного кофактора ( $НАДН$ ), что регистрируется по увеличению интенсивности флуоресценции при  $\lambda$  470 нм в условиях возбуждения светом при 340 нм. ВЭЖХ-МС анализ позволил установить, что в данном случае 22НБДХ окисляется с образованием 22НБДХ-4-ен-3-она (основной продукт) и изомерного ему 3-кето-5-енового производного – 22НБДХ-5-ен-3-она (минорный продукт). Аналогичный путь превращений был доказан и для 25НБДХ. Обобщенная схема биотрансформации данных флуоресцирующих стероидов ферментами ХОКС и ХДГ бактерий показана на рис. 1 [11–15].

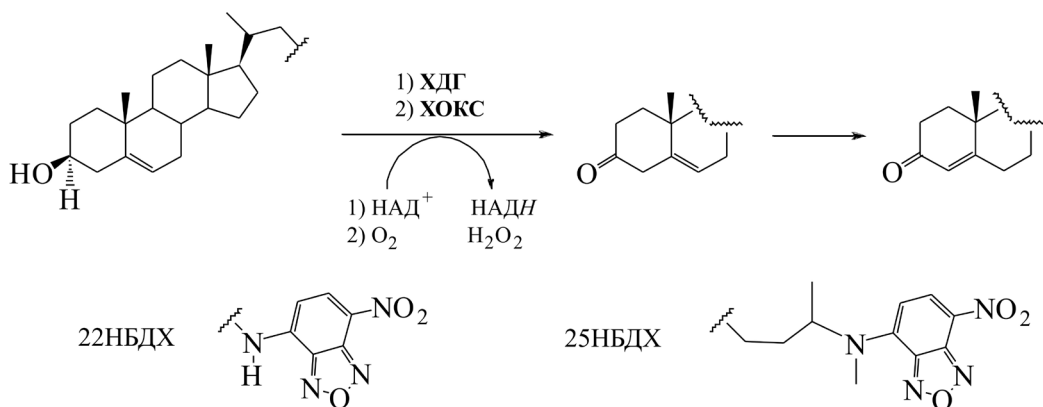


Рис. 1. Обобщенная схема превращения 22НБДХ и 25НБДХ под действием ХОКС (1) или ХДГ (2) микроорганизмов [11–15]

Аналогичные превращения были зарегистрированы при инкубации 22НБДХ или 25НБДХ с клетками патогенных бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойной палочки), анализ базы данных генома которой показал наличие у этого микроорганизма ХОКС и ХДГ. Данное обстоятельство может быть использовано как основа способа обнаружения микроорганизмов, экспрессирующих такие ферменты [12, 14]. Необходимо отметить значительное структурно-функциональное сходство ХДГ микроорганизмов и  $3\beta$ -ГСД млекопитающих, что позволяет предположить, что 22НБДХ и 25НБДХ могут превращаться также и под действием  $3\beta$ -ГСД. Эти обстоятельства интересны для выявления особенностей строения активных центров данных оксидоредуктаз, трехмерная структура которых окончательно не определена [14].

22НБДХ-4-ен-3-он был выделен и очищен при помощи экстракции, ТСХ и ВЭЖХ. Структура этого соединения была доказана при помощи ЭУ-МС и спектроскопии протонного магнитного резонанса [10, 14]. 22НБДХ-4-ен-3-он является 3-кето-4-ен стероидом, как и тестостерон – основной андроген млекопитающих. Было проведено моделирование взаимодействия андрогенового рецептора (код *PDB*: 1z95) с 22НБДХ-4-ен-3-он и бикалутамидом (сильным селективным антагонистом андрогеновых рецепторов – лекарством для терапии рака предстательной железы). Рассчитанные константы взаимодействия составили 21 и 93 нмоль/дм<sup>3</sup> соответственно. Это указывает на возможность использования 22НБДХ-4-ен-3-она в качестве аффинного флуоресцирующего лиганда андрогеновых рецепторов.

Далее было проведено исследование взаимодействия 22НБДХ с *CYP11A1* (цитохромом *P450sc*), катализирующим первую стадию биосинтеза стероидных гормонов у млекопитающих. Докинг 22НБДХ в активный центр *CYP11A1* быка (код *PDB*: 3MZS) продемонстрировал большую вероятность высокоаффинного связывания этого стероида вблизи гема данного фермента. Согласно рассчитанной геометрии фермент-лигандного комплекса флуоресцирующая *NBD*-группа 22НБДХ располагается в окружении гидрофобных остатков аминокислот (*Trp88*, *Leu102*, *Phe203*), что является предпосылкой для флуориметрического контроля взаимодействия этого стероида с *CYP11A1*. Полярные группы остатков *Gln377* и *Thr354* расположены вблизи  $3\beta$ -гидроксильной группы, указывая на возможность образования важной водородной связи. С использованием ВЭЖХ-МС анализа установлено, что 22НБДХ способен подвергаться *CYP11A1*-зависимому превращению в реконструированной системе *CYP11A1-Ad-AdR-НАДФН* с образованием 7-нитробенз[с][1,2,5]оксадиазол-4-амин (*NBD-NH<sub>2</sub>*) в качестве основного флуоресцентного продукта (рис. 2) [10, 14-17].

Структура продукта превращения 22НБДХ посредством полной ферментной системы *CYP11A1* была подтверждена масс-спектрометрическими методами ВЭЖХ-МС (ион  $[M - H]^-$  с  $m/z$  179) и ЭУ-МС (ион  $M^+$  с  $m/z$  180; совпадение со спектром *NBD-NH<sub>2</sub>* в библиотеке масс-спектров Wiley8). Предположено, что катализируемый разрыв C22-N23 связи протекает через пере-

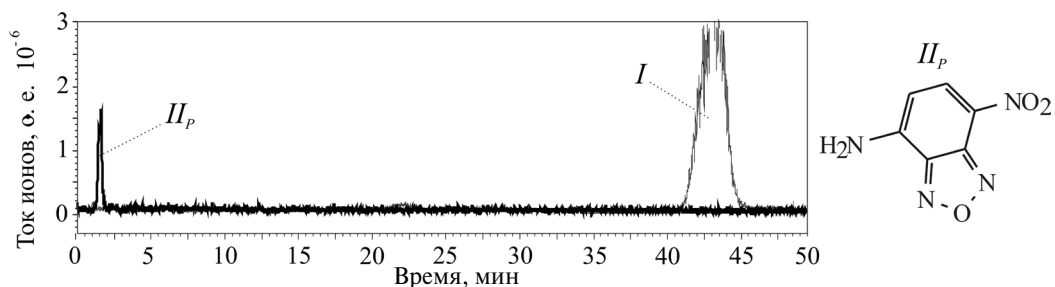


Рис. 2. Данные ВЭЖХ-МС анализа превращения 22НБДХ ферментом CYP11A1:  
а – хроматографическая кривая, показывающая разделение субстрата (I, 22НБДХ)  
и образующегося при его превращении продукта с  $m/z$  179 (II<sub>p</sub>) (показаны  
40-кратно мультиплицированные сигналы анионов с  $m/z$  179 и 493);  
б – установленная структура продукта II<sub>p</sub> (NBD-NH<sub>2</sub>)

группировку 22-гидроксилированного интермедиата по схеме «классического» цитохром P450-опосредованного N-деалкилирования [14].

Альтернативные пути образования NBD-NH<sub>2</sub> возможны через окисление вероятного 20α-гидроксилированного интермедиата по 20-ОН-группе или N23 молекулы субстрата.

**Синтез аналога 22НБДХ на основе прегненолона.** С целью получения аналогов 22НБДХ с более короткой боковой цепью была проведена химическая модификация доступного природного стероида прегненолона согласно схеме на рис. 3.

Полученный таким образом продукт III (20НБДП) был выделен из реакционной среды (экстракция хлороформом, очистка колоночной хроматографией на силикагеле) и представлял собой сухой коричнево-красный порошок, образующий при растворении в хлороформе или этаноле желтые растворы с

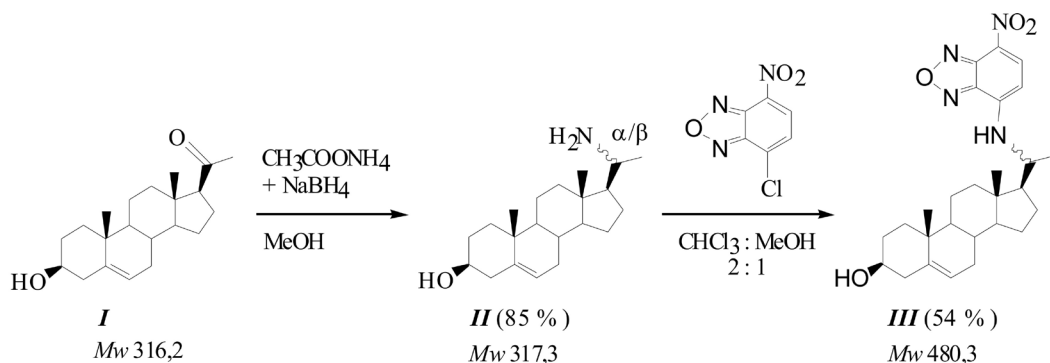


Рис. 3. Схема синтеза 20-((7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол)-4-амино)-  
прегн-5-ен-3β-ола (20НБДП) I – прегненолон, II – 20-амино-прегн-5-ен-3β-ол,  
III – 20НБДП; под структурами веществ указаны их молекулярные массы (Mw)  
и достигнутые величины выходов (в скобках)

ярко-зеленой флуоресценцией. ВЭЖХ-МС анализ подтвердил наличие в образце двух изомеров в соотношении примерно 1 : 1 с одинаковой молекулярной массой (480 а. е. м.; детектируются ионы  $[M + H]^+$  с  $m/z$  481 и ионы  $[M - H]^-$  с  $m/z$  479). Совокупность данных о белок-лигандных взаимодействиях 22НБДХ позволяют предполагать, что 20НБДП будет способен связываться и подвергаться биотрансформации стероид-превращающими ферментами надсемейств CYP, дегидрогеназ/редуктаз, альдо-кеторедуктаз и т. п.

**Взаимодействие НК со стероид-превращающим CYP17.** Ранее [18] было установлено, что флуоресцентный нестероидный краситель НК, широко используемый для обнаружения внутриклеточных «капель» нейтральных липидов, является субстратом для основного фермента, метаболизирующего лекарства – цитохрома *P450 CYP3A4*. Известно, что субстратами *CYP3A4* также являются стероиды (тестостерон, прогестерон и некоторые другие) [19]. Нами было предположено, что *CYP17*, субстратом которого является прогестерон, потенциально может взаимодействовать с НК. Далее было проведено компьютерное моделирование взаимодействия НК с данным ферментом. Результаты докинга НК в активный центр 3D-структуры *CYP17* (код *PBD: 3RUK*) подтвердили возможность связывания этого красителя в активном центре данного фермента. Были получены две близкие по величинам энергий связывания [12] конформации белок-лигандного взаимодействия, одна из которых позволяет протекание *N*-деэтилирования НК цитохромом *CYP17* вследствие локализации диэтиламино-группы НК в пределах 0,4 нм от гема этого фермента. Согласно полученным результатам аминокислотные остатки *Arg239* и *Asn202* могут образовывать водородные связи с полярными фрагментами НК.

Проведенный авторами ВЭЖХ-МС анализ позволил установить, что трансгенные дрожжи *Yarrowia lipolytica*, экспрессирующие *CYP17*, способны осуществлять *N*-деалкилирование НК: молекулярные массы метаболитов НК *M1* и *M2* были определены как 290 и 262 а. е. м. (по  $m/z$  доминантных катионов  $[M + H]^+$ ) в соответствии с данными на рис. 4 [12, 15, 17, 20].

Для дальнейшего доказательства участия *CYP17* в процессе *N*-деэтилирования НК трансгенными дрожжами были проведены 24 ч превращения данного красителя с клетками с использованием следующих штаммов: *S. cerevisiae* *YEp5117a*, экспрессирующего *CYP17*, природного контрольного штамма *S. cerevisiae*, штамма *Y. lipolytica* *DE8-84*, экспрессирующего *CYP17*, *Ad* и *AdR*, и штамма *Y. lipolytica* *DE7-74*, экспрессирующего *Ad* и *AdR* (без *CYP17*). Было установлено, что за 24 ч степень превращения НК клетками *Y. lipolytica* *DE8-84* и *S. cerevisiae* *YEp5117a* составила  $79 \pm 2\%$  и  $16 \pm 3\%$  соответственно, тогда как в случае штаммов, не синтезирующих *CYP17*, эта величина не превышала 3% [12]. Большая степень биотрансформации НК штаммом *Y. lipolytica* *DE8-84* по сравнению с таковой для *S. cerevisiae* *YEp5117a* может быть обусловлена рядом причин. Среди них: 1) секреция клетками *Y. lipolytica* во внеклеточную среду белкового эмульгатора, 2) большое количество у *Y. lipolytica* внутриклеточных липидных капель (мест накопления НК) и 3) стимулирующий эффект

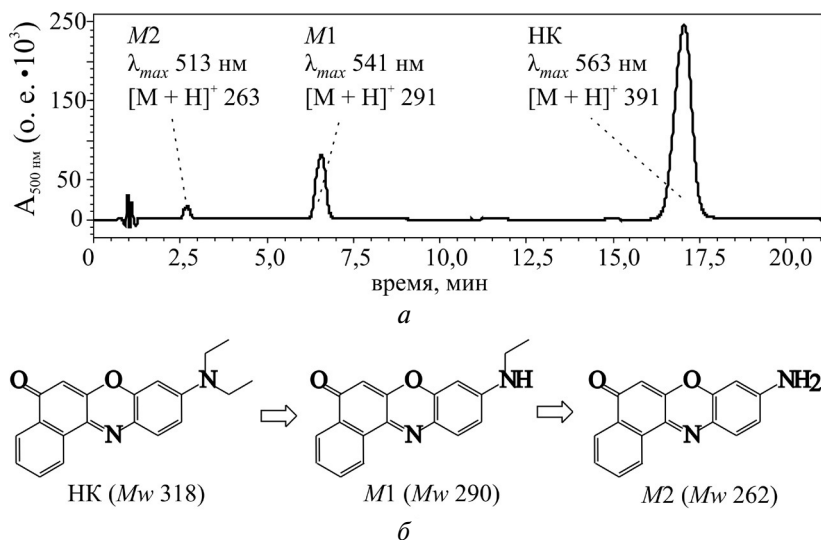


Рис. 4. Данные ВЭЖХ-МС анализа превращения НК ферментом *CYP17*:  
а – хроматографическая кривая, показывающая разделение НК и образующегося  
при его превращении продуктов *M1* и *M2*; б – схема *N*-деалкилирования НК  
под действием *CYP17*

системы *Ad + AdR* на активность *CYP17* [12, 15]. Моделирование взаимодействия НК с *CYP11A1* (другим важным цитохромом *P450* стероидогенеза млекопитающих) также показало высокую вероятность их взаимодействия как субстрата и фермента (энергия связывания  $-38,81$  кДж/моль, причем диэтиламино-группа НК локализована в пределах  $0,4$  нм от гема этого фермента).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены новые экспериментальные данные о взаимодействии трех флуоресцирующих веществ (22-NBD-холестерина (22НБДХ), 25-NBD-холестерина (25НБДХ), Нильского красного (НК)) со стероид-превращающими оксидоредуктазами микроорганизмов (бактериальными холестериноксидазой (ХОКС) и холестериндегидрогеназой (ХДГ)), а также млекопитающих (цитохромы *P450 CYP17* и *CYP11A1*). Установлено, что 22НБДХ и 25НБДХ превращаются ХОКС и ХДГ с образованием 3-кето-4-еновых производных этих соединений в качестве основных продуктов. Выделен и очищен соответствующий продукт превращения 22НБДХ – 22НБДХ-4-ен-3-он. Определено, что 22НБДХ превращается *CYP11A1*-зависимой монооксигеназной системой с образованием 7-нитробенз[с][1,2,5]оксадиазол-4-амин (*NBD-NH<sub>2</sub>*) в качестве основного флуоресцирующего продукта. Предложена и апробирована схема химического синтеза аналога 22НБДХ, а именно 20-((7-нитробензо[с][1,2,5]оксадиазол)-4-амино)-прегн-5-ен-3β-ола, из прегненолона. Результаты докинга показы-



вают, что НК способен связываться с *CYP17*, а также *CYP11A1* так, что диэтиламино-группа этого красителя располагается в непосредственной близости от редокс-активных гемовых коферментов этих цитохромов *P450*. Экспериментально доказано, что НК превращается клетками трансгенных дрожжей, экспрессирующими *CYP17*, с образованием моно- и ди-*N*-деалкилированных производных.

Полученные данные открывают возможности для: 1) ферментативного получения новых флуоресцирующих 3-кето-4-еновых производных стероидов — потенциальных «зондов» для изучения свойств ряда ферментов и рецепторов; 2) разработки способов обнаружения холестерина-превращающих микроорганизмов; 3) выявления особенностей строения активного центра ХДГ и близкой по структуре и функциям 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы; 4) выяснения механизма расщепления C20-C22 связи цитохромом *CYP11A1*.

Работа выполнена в рамках задания № 2.29 подпрограммы Химфармсинтез ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина».

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Miller W. L., Auchus R. J. // *Endocr. Rev.* 2011. Vol. 32. P. 81–151.
2. Новикова Л. А., Фалетров Я. В., Ковалева И. Е. [и др.] // *Успехи биол. хим.* 2009. Т. 49. С. 159–208.
3. Mauersberger S., Novikova L. A., Shkumatov V. M. In: *Yarrowia lipolytica* Microbiology Monograph / Ed. by G. Barth. Springer Verlag, 2013. P. 171–226.
4. Brzostek A., Dziadek B., Rumijowska-Galewicz A. [et al.] // *FEMS Microbiol. Lett.* 2007. Vol. 275. P. 106–112.
5. Thomas S. T., Yang X., Sampson N. S. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011. Vol. 21. P. 2216–2219.
6. McLean K. J., Dunford A. J., Neeli R. [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* 2007. Vol. 464. P. 228–240.
7. Scheidt H. A., Muller P., Herrmann A. [et al.] // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 45563–45569.
8. Kimura K., Yamaoka M., Kamisaka Y. // *J. Microbiol. Met.* 2004. Vol. 56. P. 331–338.
9. Фалетров Я. В., Казакевич Ю. К., Фролова Н. С. [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. конф., г. Минск, 23–25 июня 2010 г. Минск : Изд. центр БГУ, 2010. С. 145–147.
10. Фалетров Я. В., Фролова Н. С., Рудая Е. В. [и др.] // *Химия природ. соед.* 2012. № 1. С. 154–155.
11. Faletrov Y. V., Kazakevich Yu. K., Bialevich K. I. [et al.] // *FEBS J.* 2011. Vol. 278, Suppl. 1. P. 368.
12. Faletrov Y. V., Frolova N. S., Hlushko H. V. [et al.] // *FEBS J.* 2013. Vol. 280. P. 3109–3119.
13. Фалетров Я. В., Казакевич Ю. К., Фролова Н. С. [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. конф., г. Минск, 19–21 июня 2012 г. Минск : Изд. центр БГУ, 2012. С. 102–104.

14. *Faletrov Ya. V., Bialevich K. I., Edimecheva I. P.* [et al.] // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013. Vol. 134. P. 59–66.

15. *Faletrov Ya. V., Rudaya E. V., Sivoplyasova A. V.* [et. al.] // *Catalytic mechanisms by biological systems: materials of international conference – Groningen, The Netherlands, 7–10 October 2012.* P. 99–100

16. *Фалетров Я. В., Белевич Е. И., Стреха И. С.* [и др.] // *Вестн. БГУ. Сер. 2.* 2010. № 3. С. 39–42.

17. *Фалетров Я. В., Рудая Е. В., Сивоплясова А.В.* [и др.] // *Химия, структура и функция биомолекул : материалы IV Междунар. науч. конф., г. Минск, 17–19 окт. 2012 г. Минск, 2012.* С. 218–219.

18. *Lampe J. N., Fernandez C., Nath A.* [et al.] // *Biochemistry.* 2008. Vol. 47. P. 509–516.

19. *Yamazaki H., Shimada T.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1997. Vol. 346. P. 161-169.

20. *Фалетров Я. В., Сивоплясова А. В., Рудая Е. В.* [и др.] // *Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. конф., г. Минск, 19–21 июня 2012 г. Минск : Изд. центр БГУ, 2012.* С. 105–107.

Поступила в редакцию 01.11.2013.