

## ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ЛИГАНДОМ НА ОСНОВЕ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ ЭТИХ КОМПЛЕКСОВ В ОРГАНИЗМ КРЫС

© 2024 г. А.А. Тимошин\*, #, К.Б. Шумаев\*, \*\*, В.Л. Лакомкин\*, А.А. Абрамов\*, Э.К. Рууге\*, \*\*\*

\*Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова Минздрава России, ул. Акад. Е.И. Чазова, 15А, Москва, 121552, Россия

\*\*Институт биохимии имени А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Ленинский просп., 33/2, Москва, 119071, Россия

\*\*\*Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/2, Москва, 119991, Россия

#E-mail: timoshin\_a\_a@mail.ru

Поступила в редакцию 21.08.2024 г.

После доработки 21.08.2024 г.

Принята к публикации 18.09.2024 г.

Целью работы являлось исследование действия динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с лигандом на основе N-ацетил-L-цистеина при его длительном введении в организм крыс путем ингаляции. Установлено, что в результате этого происходит эффективный перенос стабилизированных форм NO через стенку альвеолы в ткань легких. В результате этого регистрируется накопление динитрозильных комплексов железа с белковыми лигандами в легких и в других органах, увеличение в них общего уровня NO, а также существенный и продолжительный гипотензивный эффект.

**Ключевые слова:** N-ацетил-L-цистеин, динитрозильные комплексы железа, оксид азота, спиновая ловушка, ингаляционное введение, электронный парамагнитный резонанс.

**DOI:** 10.31857/S0006302924060181, **EDN:** NJUWPO

Известно, что динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами (ДНКЖ) являются одной из основных природных форм депонирования NO в биосистемах [1–7]. Такие стабилизированные формы NO осуществляют перенос и накопление NO в организме, обеспечивают его гипотензивное, эндокринное и паракринное действия, а также обладают антиоксидантными и цитопротекторными свойствами, и многими другими биологическими активностями [2, 6, 8–13].

Такие комплексы с низкомолекулярными тиол-содержащими лигандами (глутатион, цистеин, N-ацетил-L-цистеин и др.) могут быть легко синтезированы в лабораторных или промышленных условиях для их дальнейшего введения в организм. В организме происходит их быстрый

переход с низкомолекулярных на белковые лиганды с их дальнейшим медленным распадом и высвобождением NO, S-нитрозотиолов и ионов двухвалентного железа [6, 7].

В данной работе предпринята попытка анализа биологической активности препарата ДНКЖ, в котором тиол-содержащим лигандом является N-ацетил-L-цистеин (ДНКЖ-Ацц). Известно, что данное соединение является нетоксичным и широко используется как муколитическое лекарственное средство, которое легко проникает через клеточные мембрany. Можно предположить, что аналогичными свойствами будет обладать и ДНКЖ-Ацц.

Ранее нами уже было показано, что данные комплексы и/или продукты их полураспада проникают в организм в результате трансдермального [14] или сублингвального введения [15] и выступают, как источники NO в органах и тканях. Кроме того, в работе [16] нами было показано, что в результате ингаляции крыс раствором ДНКЖ-Ацц происходит накопление ДНКЖ с белковыми лигандами в ткани легких животных.

**Сокращения:** ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа, ДНКЖ-Ацц – динитрозильные комплексы железа с лигандом N-ацетил-L-цистеином, ЭПР – электронный парамагнитный резонанс, САД – среднее артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений, Fe-DETC<sub>2</sub> – комплексы ионов железа и диэтилдитиокарбамата.

Целью данной работы являлось комплексное исследование действия ДНКЖ-Ацц при его длительном ингаляционном введении в организм крыс.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Синтез ДНКЖ-Ацц проводили в соответствии с методикой, описанной нами ранее [14]. Формирование данных комплексов контролировали методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [14]. Далее полученный водный раствор ДНКЖ-Ацц замораживали и хранили в жидким азоте, а размораживали непосредственно перед началом экспериментов. После размораживания в него добавляли глицерин (1 : 1 по объему), и после этого в полученный препарат добавляли физиологический раствор в соотношении 1 : 5.

Другие реагенты, использованные в работе, были получены от фирмы Sigma-Aldrich (США).

Эксперименты проводили на нормотензивных крысах линии Wistar (самцы массой 350–450 г). Животных содержали в биоклинике НМИЦ кардиологии имени академика Е.И.Чазова Минздрава России в клетках по 5 особей со свободным доступом к сухим кормам и воде. Световой режим контролировался (12 : 12 ч свет : темнота) при достаточной смене объемов воздуха и температуре 19–23°C.

В начале опыта животных анестезировали препаратом Золетил-100 (5 мг/кг массы тела). Далее для регистрации среднего артериального давления (САД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) в левую сонную артерию вводили полиэтиленовый катетер PE-50, который подключали к манометрическому датчику P23 Db (Gould Statham, США). Полученный сигнал артериального давления через усилитель Biograph-4 (СПбГУ аэрокосмического приборостроения, Россия) подавали на АЦП NI-USB 6210 (National Instruments, США) и обрабатывали на компьютере с помощью специальных программ записи и обработки сигналов физиологических параметров работы сердца (разработка д.б.н. Е.В. Лукошковой). Через тот же катетер проводили забор образцов цельной крови после ингаляции крыс препаратором ДНКЖ-Ацц. Кроме того, животным ставили трахеотомическую трубку.

Далее всех животных произвольным образом делили на 3 экспериментальные группы по 4–5 особей в каждой. Животным из первой группы после установки артериального катетера и трахеотомической трубы регистрировали исходные значения САД и ЧСС. Далее крысам через трубку проводили 30-минутную ингаляцию раствором ДНКЖ-Ацц, в ходе которой проводили мониторинг параметров общей гемодинамики организма. Дозировка препарата ДНКЖ-Ацц,

применяемая для всего периода ингаляции, составляла 2.5 мкмоля.

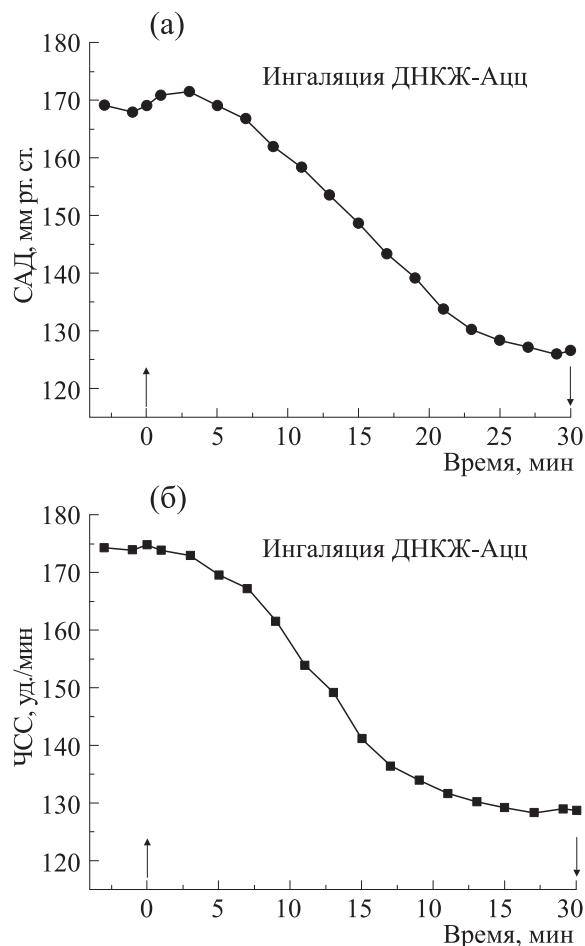
После этого всех животных из этой группы забивали передозировкой уретана, потом у них забирали образцы ткани органов (сердце, легкое, печень, почка), а также цельной крови. Пробы ткани измельчали механически и промывали в физиологическом растворе. После этого полученные образцы помещали в пластиковые трубы диаметром 5.0 мм, которые сразу же замораживали и хранили в жидким азоте. Далее регистрировали их спектры ЭПР.

В других экспериментальных группах методом ЭПР проводили исследование общего уровня NO в ткани органов. Для этого применяли липофильные спиновые ловушки оксида азота, такие как комплексы ионов железа и диэтилдитиокарбамата ( $\text{Fe-DETC}_2$ ), с регистрацией образующихся спиновых аддуктов  $\text{NO-Fe-DETC}_2$  методом ЭПР. При этом животным из второй экспериментальной группы после установки артериального катетера и трахеотомической трубы с последующей регистрацией исходных значений САД и ЧСС также проводили 30-минутную ингаляцию раствором ДНКЖ-Ацц. В то же время животным из этой группы через 10 мин после начала ингаляционного введения ДНКЖ-Ацц путем инъекций вводили компоненты спиновой ловушки NO: диэтилдитиокарбамат (620 мг/кг массы тела в 1.0 мл физиологического раствора, внутрибрюшинно) и  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  с цитратом натрия (25 и 125 мг/кг массы тела соответственно в 1.0 мл физиологического раствора, подкожно в область левого плеча).

Далее через 20 мин после этих инъекций животных из этой группы забивали, изолировали их сердце, легкие, печень и почки. Далее по стандартной методике приготовляли образцы размельченной ткани этих органов, которые также сразу же замораживали, хранили в жидким азоте и использовали далее для регистрации их спектров ЭПР.

Животным из третьей группы (контроль) ингаляцию не проводили, им только по стандартной методике путем инъекций вводили компоненты спиновой ловушки  $\text{Fe-DETC}_2$ , через 20 мин после этого их также забивали и получали образцы ткани органов (сердце, легкие, печень и почки), как было описано выше.

Спектры ЭПР всех полученных образцов ткани органов регистрировали на ЭПР-спектрометре X-диапазона E-109E (Varian, США) при температуре жидкого азота. Амплитуда высокочастотной модуляции магнитного поля составляла 0.4 мТл (при регистрации образцов тканей органов и крови без  $\text{Fe-DETC}_2$ ) или 0.2 мТл (при регистрации сигналов спиновых аддуктов в ткани



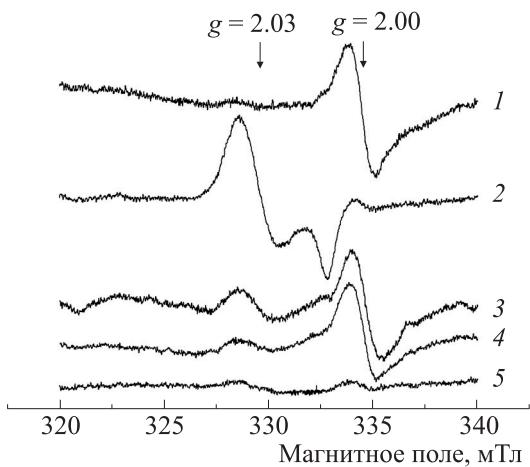
**Рис. 1.** Характерные кинетики САД (а) и ЧСС (б), соответствующие животным, получавшим ингаляцию ДНКЖ-Ацц. Ингаляцию проводили в период 0–30 мин.

органов) при частоте 100 кГц. Мощность сверхвысокочастотного поля спектрометра устанавливали на уровне 10 мВт, его частота составляла 9.33 ГГц. Сканирование магнитного поля при записи сигналов ЭПР таких образцов осуществляли с центром при  $g = 2.03$ . После записи сигналов все образцы размораживали и определяли их массу в активной зоне резонатора спектрометра.

Статистическую обработку данных и построение графиков проводили с использованием пакета программ Origin 8 (OriginLab Corp., США). Все данные в статье представлены как среднее значение  $\pm$  ошибка среднего. Кратность повторения опытов составляла не менее 5–6 экспериментов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе проводили комплексное исследование действия длительной ингаляции препарата ДНКЖ-Ацц на организм, в ходе которого регистрировали влияние этого соединения на па-



**Рис. 2.** Спектры ЭПР образцов ткани органов и цельной крови крыс, полученных после 30-минутной ингаляции ДНКЖ-Ацц: 1 – сердце, 2 – легкое, 3 – печень, 4 – почка, 5 – кровь. Спектры сняты при температуре жидкого азота.

раметры общей гемодинамики организма, а также проводили анализ тканей органов животных методом ЭПР.

Установлено, что в начале опыта у животных регистрировались следующие усредненные значения параметров общей гемодинамики: САД =  $163 \pm 10$  мм рт.ст. и ЧСС =  $438 \pm 15$  уд/мин. При этом не наблюдалось достоверных различий значений этих параметров между разными экспериментальными группами крыс, и такие значения соответствовали результатам, полученным другими авторами в аналогичных экспериментальных условиях.

На рис. 1а, б представлены характерные кинетики САД и ЧСС, полученные у животных, принадлежащих к первой экспериментальной группе. Из этого рисунка видно, что в результате ингаляции ДНКЖ-Ацц регистрировалось снижение САД, величина которого в среднем по группе составляла  $25 \pm 4\%$ , а ЧСС снижалась на  $20 \pm 5\%$ . Следовательно, в результате введения данного препарата происходил эффективный перенос NO в депонированной и/или свободной форме через стенку альвеол легких в кровоток животного, что далее инициировало активацию гуанилаткиназы, и, как следствие, вазодилататорное действие в организме. В результате этого происходило снижение САД, начиная с 4–5 до 25–30 мин от начала ингаляции ДНКЖ-Ацц.

Для регистрации формирования и накопления в органах животных парамагнитных стабилизованных форм NO через 30 мин ингаляции ДНКЖ-Ацц проводили формирование образцов замороженной ткани органов для их дальнейшего анализа методом ЭПР. Характерные спектры ЭПР исследуемых образцов, записанные при  $-196^{\circ}\text{C}$ , представлены на рис. 2. Из этого рисунка

видно, что в образцах ткани органов в высокопольной части спектров при  $g = 2.00$  регистрировались свободнорадикальные сигналы, которые представляют собой суперпозицию спектров убисемихиона и флавосемихинонов [17]. Кроме того, в спектрах ткани органов и цельной крови при  $g = 2.03$  наблюдались уширенные сигналы, принадлежащие парамагнитным моноядерным ДНКЖ с белковыми лигандами [2]. Из этого рисунка видно, что наиболее интенсивные сигналы при  $g = 2.03$  наблюдались в легких животного, а самые слабые регистрировались в образцах миокарда и цельной крови.

Из рис. 2 также видно, что в спектре цельной крови после ингаляции не регистрировался сигнал от комплексов NO с железом гемовой группы гемоглобина [2, 18]. Это могло свидетельствовать об отсутствии избытка свободного NO в кровотоке после введения ДНКЖ-Ацц.

Исходя из спектров ЭПР парамагнитных ДНКЖ с белковыми лигандами, определяли содержание этих комплексов в образцах ткани органов и крови животного. Для этого проводили двойное интегрирование их сигналов с нормировкой на массу ткани в активной зоне резонатора спектрометра и последующее сравнение полученных значений с аналогичными величинами, полученными для стандартных образцов с известной концентрацией спинов. Полученные в результате этого результаты представлены в табл. 1. Видно, что наиболее интенсивное накопление связанных с белками ДНКЖ регистрировалось в легких и печени животных, причем в ткани легких его содержание было почти в 10 раз выше, чем в печени.

Следует отметить, что низкие значения содержания связанных с белками моноядерных ДНКЖ в образцах ткани сердца и цельной крови не могут служить доказательством того, что в них низкий общий уровень оксида азота, так как NO в этих случаях мог присутствовать также в форме парамагнитных биядерных ДНКЖ, S-нитрозотиолов и других метаболитов NO [7, 19–21].

В другой части работы в обеих экспериментальных группах проводили оценку общего уровня NO с применением метода ЭПР и использованием спиновой ловушки Fe-DETC<sub>2</sub>. Как известно [22], эта ловушка обладает гидрофобными свойствами и способна эффективно взаимодействовать как со свободным NO, так и с его депонированными формами, с образованием стабильных парамагнитных спиновых аддуктов NO-Fe-DETC<sub>2</sub>, регистрируемых методом ЭПР.

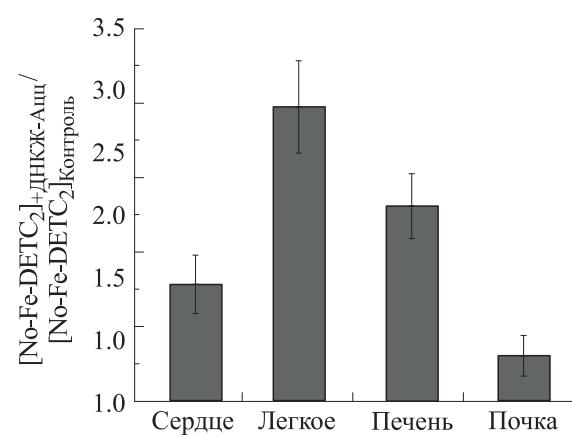
Как и ранее [14, 15, 22], для определения содержания NO-Fe-DETC<sub>2</sub> регистрировали сигналы ЭПР образцов ткани животных, получавших компоненты спиновой ловушки Fe-DETC<sub>2</sub>, и

**Таблица 1.** Содержание ДНКЖ с белковыми лигандами в ткани органов и крови после ингаляции ДНКЖ-Ацц

Тип образца	Содержание ДНКЖ, нмоль/г
Сердце	0.11 ± 0.07
Легкие	8.57 ± 0.82
Печень	0.89 ± 0.11
Почки	0.35 ± 0.10
Кровь	0.13 ± 0.08

принадлежащих к двум экспериментальным группам, – получавшим ингаляцию ДНКЖ-Ацц, а также контрольным. Во всех случаях в полученных спектрах присутствовали узкие эквидистантные тройственные сигналы, принадлежащие спиновым аддуктам NO-Fe-DETC<sub>2</sub> ( $g = 2.036$ ) [14, 15]. Содержание этих мононитрозильных комплексов, как отмечалось выше, отражало общий уровень NO, включая его депонированные формы.

Исходя из этих сигналов, также определяли содержание NO-Fe-DETC<sub>2</sub> во всех образцах ткани органов. Для оценки эффекта вводимого ингаляционно ДНКЖ-Ацц на общий уровень NO в ткани органов на рис. 3 представлены усредненные значения содержания NO-Fe-DETC<sub>2</sub>, соответствующие животным, получавшим ДНКЖ-Ацц (параметр  $N_{+ДНКЖ-Ацц}$ ) с нормировкой на



**Рис. 3.** Усредненные значения содержания NO-Fe-DETC<sub>2</sub> в ткани органов животных, получавших ДНКЖ-Ацц (параметр  $N_{+ДНКЖ-Ацц}$ ), с нормировкой на аналогичные параметры, соответствующие контрольной группе ( $N_{\text{Контроль}}$ ).

аналогичные параметры, соответствующие контрольной группе ( $N_{\text{Контроль}}$ ). Из этого рисунка видно, что в результате действия ДНКЖ-Ацц в ткани всех органов увеличивался общий уровень NO, причем наиболее существенный эффект был получен в образцах легких животного. Этот факт согласуется с интенсивным накоплением в легких парамагнитных ДНКЖ, связанных с белками (см. рис. 2 и табл. 1).

Вместе с тем из представленных на рис. 3 данных видно, что в ткани сердца в результате ингаляции ДНКЖ-Ацц также регистрировался 1.78-кратный рост общего уровня NO, несмотря на то, что в этом органе наблюдалось лишь очень слабое формирование и накопление ДНКЖ с белковыми лигандами (см. рис. 2 и табл. 1). Вероятно, рост общего уровня NO в сердце происходил в результате накопления в ткани этого органа при ингаляции не только парамагнитных ДНКЖ с белковыми лигандами, но также S-нитрозотиолов и диамагнитных биядерных ДНКЖ, что вносило вклад в общий уровень NO в миокарде.

Из рис. 2 и табл. 1 также видно, что в цельной крови регистрировалось относительно слабое накопление моноядерных ДНКЖ, в то время как во время ингаляции наблюдался существенный и пролонгированный гипотензивный эффект. Это также заставляло думать о том, что в крови кроме парамагнитных ДНКЖ, регистрируемых методом ЭПР, могли присутствовать непарамагнитные метаболиты NO, в том числе биядерные динитрозильные комплексы железа, а также S-нитрозотиолы. Нужно отметить, что ДНКЖ участвуют в образовании S-нитрозотиолов и находятся с ними в динамическом равновесии [7, 20–23].

Таким образом, в результате длительной ингаляции животных ДНКЖ-Ацц происходит эффективный перенос стабилизованных форм NO через стенку альвеолы в ткань легких. В результате этого регистрируется накопление ДНКЖ с белковыми лигандами в легких и в других органах, увеличение в них общего уровня NO, а также существенный и продолжительный гипотензивный эффект.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность проф. А.Ф. Ванину (Институт химической физики РАН, Москва) за ценные советы.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования выполняли в соответствии с директивой 2010/63/eu Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, и принципами национального стандарта ГОСТ Р 53434-2009. Экспериментальный протокол исследования был одобрен комиссией по биоэтике НМИЦ кардиологии имени академика Е.И. Чазова Минздрава России (регистрационный номер протокола заседания № ЛЭПС/18.07.23 от 18 июля 2023 г.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ke C.-H., Chen C.-H., Tsai M.-L., Wang H.-C., Tsai F.-T., Chiang Y.-W., Shih W.-C., Bohle D. S., and Liaw W.-F. {Fe(NO)<sub>2</sub>}<sup>9</sup> dinitrosyl iron complex acting as a vehicle for the NO radical. *J. Am. Chem. Soc.*, **139** (1), 67–70 (2017). DOI: 10.1021/jacs.6b11454
- Shumaev K. B., Kosmachevskaya O. V., Timoshin A. A., Vanin A. F., and Topunov A. F. Dinitrosyl iron complexes bind with hemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods Enzymol.*, **436**, 445–461 (2008). DOI: 10.1016/S0076-6879(08)36025-X
- Suryo Rahmanto Y., Kalinowski D. S., Lane D. J., Lok H. C., Richardson V., and Richardson D. R. Nitrogen monoxide (NO) storage and transport by dinitrosyl-dithiol-iron complexes: long-lived NO that is trafficked by interacting proteins. *J. Biol. Chem.*, **287** (10), 6960–6968 (2012). DOI: 10.1074/jbc.R111.329847
- Tsai M.-L., Tsou C.-C., and Liaw W.-F. Dinitrosyl iron complexes (DNICs): From biomimetic synthesis and spectroscopic characterization toward unveiling the biological and catalytic roles of DNICs. *Acc. Chem. Res.*, **48**, 1184–1193 (2015). DOI: 10.1021/ar500459j
- Vanin A. F., Poltorakov A. P., Mikoyan V. D., Kubrina L. N., and Burbayev D. C. Polynuclear water-soluble Dinitrosyl Iron Complexes with cysteine and glutathione ligands: electron paramagnetic resonance and optical studies. *Nitric Oxide*, **23** (2), 136–149 (2010). DOI: 10.1016/j.niox.2010.05.285
- Vanin A. F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working form” of endogenous nitric oxide. *Nitric Oxide*, **54**, 15–29 (2016). DOI: 10.1016/j.niox.2016.01.006
- Vanin A. F. Physico-chemistry of dinitrosyl iron complexes as a determinant of their biological activity. *Int. J. Mol. Sci.*, **22** (19), 10356 (2021). DOI: 10.3390/ijms221910356
- Dungel P., Perlinger M., Weidinger A., Redl H., and Kozlov A. V. Cytoprotective effect of nitrite is based on the formation of dinitrosyl iron complexes. *Free Radic. Biol. Med.*, **89**, 300–310 (2015). DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.012
- Shumaev K. B., Dudylina A. L., Ivanova M. V., Pugachenko I. S., and Ruge E. K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria. *BioFactors*, **44** (3), 237–244 (2018). DOI: 10.1002/biof.1418
- Shumaev K. B., Gorudko I. V., Kosmachevskaya O. V., Grigoryeva D. V., Panasenko O. M., Vanin A. F., Topun-

- ov A. F., Terekhova M. S., Sokolov A. V., Cherenkevich S. N., and Ruuge E.K. Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2019**, e2798154 (2019). DOI: 10.1155/2019/2798154
11. Timoshin A. A., Lakomkin V. L., Abramov A. A., Ruuge E. K., Kapel'ko V. I., Chazov E. I. and Vanin A. F. The hypotensive effect of the nitric monoxide donor Oxacom at different routes of its administration to experimental animals. *Eur. J. Pharmacol.*, **765**, 525–532 (2015). DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.09.011
  12. Шумаев К. Б., Петрова Н. Э., Заббарова И. В., Ванин А. Ф., Топунов А. Ф., Ланкин В. З. и Рууге Э. К. Взаимодействие оксоферрилмиоглобина и динитрозильных комплексов железа. *Биохимия*, **69** (5), 699–705 (2004). EDN: ORCNPN
  13. Шумаев К. Б., Космачевская О. В., Грачев Д. И., Тимошин А. А., Топунов А. Ф., Ланкин В. З. и Рууге Э. К. Возможный механизм антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа. *Биомед. химия*, **67** (2), 162–168 (2021). DOI: 10.18097/PBMC20216702162
  14. Тимошин А. А., Шумаев К. Б., Лакомкин В. Л., Абрамов А. А. и Рууге Э. К. Исследование методом электронного парамагнитного резонанса транслокации стабилизированных форм NO через кожный покров крыс. *Бiol. эксперим. биологии и медицины*, **170** (9), 290–295 (2020). DOI: 10.47056/0365-9615-2020-170-9-290-295
  15. Тимошин А. А., Шумаев К. Б., Лакомкин В. Л., Абрамов А. А. и Рууге Э. К. Действие динитрозильных комплексов железа с лигандом на основе N-ацетил-L-цистеина при сублингвальном введении этих комплексов в организм крыс. *Биофизика*, **67** (3), 581–586 (2022). DOI: 10.31857/S0006302922030188
  16. Ванин А. Ф., Пекшев А. В., Вагапов А. Б., Шарапов Н. А., Лакомкин В. Л., Абрамов А. А., Тимошин А. А. и Капелько В. И. Газообразный оксид азота и динитрозильные комплексы с тиолсодержащими лигандами как предполагаемые лекарствен-
  - ные средства, способные купировать COVID-19. *Биофизика*, **66** (1), 183–194 (2021). DOI: 10.31857/S0006302921010208
  17. Timoshin A. A., Pisarenko O. I., Lakomkin V. L., Studneva I. M., and Ruuge E. K. Free radical intermediates in isolated rat heart during perfusion, ischemia, and reperfusion: effect of ischemic preconditioning. *Exp. Clin. Cardiol.*, **5** (2), 59–64 (2000). EDN: LFYTAF
  18. Ванин А. Ф., Абрамов А. А., Вагапов А. Б., Тимошин А. А., Пекшев А. В., Лакомкин В. Л. и Рууге Э. К. Почему вдыхание газообразного оксида азота не влияет на системное артериальное давление у человека и животных? *Биофизика*, **68** (6), 1259–1264 (2023). DOI: 10.31857/S0006302923060170
  19. Freeman B. A., O'Donnell V. B., and Schopfer F. J. The discovery of nitro-fatty acids as products of metabolic and inflammatory reactions and mediators of adaptive cell signaling. *Nitric Oxide*, **77**, 106–111 (2018). DOI: 10.1016/j.niox.2018.05.002
  20. Vanin A. F. What is the mechanism of nitric oxide conversion into nitrosonium ions ensuring S-nitrosating processes in living organisms. *Cell Biochem. Biophys.*, **77** (4), 279–292 (2019). DOI: 10.1007/s12013-019-00886-1
  21. Massa C. M., Liu Z., Taylor S., Pettit A. P., Stakheyeva M. N., Korotkova E., Popova V., Atochina-Vasserman E. N., and Gow A. J. Biological Mechanisms of S-Nitrosothiol Formation and Degradation: How Is Specificity of S-Nitrosylation Achieved? *Antioxidants*, **10** (7), 1111 (2021). DOI: 10.3390/antiox10071111
  22. Vanin A. F. and Timoshin A. A. Determination of in vivo nitric oxide levels in animal tissues using a novel spin trapping technology. *Methods Mol. Biol.*, **704**, 135–149 (2011). DOI: 10.1007/978-1-61737-964-2\_11
  23. Bosworth C. A., Toledo J. C., Zmijewski J. W., Li Q., and Lancaster J. R. Dinitrosyliron complexes and the mechanism(s) of cellular protein nitrosothiol formation from nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106** (12), 4671–4676 (2009). DOI: 10.1073/pnas.0710416106

## The Action of Dinitrosyl Iron Complexes with a Ligand Based on N-acetyl-L-cysteine upon Inhalation Delivery of These Complexes to Rats

A.A. Timoshin\*, K.B. Shumaev\*\*, V.L Lakomkin\*, A.A. Abramov\*, and E.K. Ruuge\*, \*\*\*

\*National Medical Research Center of Cardiology named after academician E.I. Chazov, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Akademika E.I. Chazova 15A, Moscow, 121552 Russia

\*\*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp. 33/2, Moscow, 119071 Russia

\*\*\*Department of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow, 119991 Russia

The objective of the present research was to study the action of dinitrosyl iron complexes (DNIC) with a ligand based on N-acetyl-L-cysteine upon long-term inhalation exposure of rats to this substance. It has been shown that as a result, NO stabilized forms pass efficiently through the alveolar membrane into the lung tissue leading to the accumulation of dinitrosyl iron complexes with protein ligands and to an increase in the total NO level in the lungs and other organs thereby inducing a significant and long-lasting hypotensive effect.

**Keywords:** N-acetyl-L-cysteine, dinitrosyl iron complexes, nitric oxide, spin trap, inhalation exposure, electron paramagnetic resonance