

УДК 577.3

АВТОВОЛНОВОЙ РЕЖИМ РЕАКЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ТИОЛСОДЕРЖАЩИМИ ЛИГАНДАМИ

© 2021 г. А.Ф. Ванин*, **, Д.А. Горенберг*, В.Д. Микоян*

*Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

**Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова МЗ РФ, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2

E-mail: vanin@polymer.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 01.10.2020 г.

После доработки 01.10.2020 г.

Принята к публикации 16.10.2020 г.

При нанесении 20 мкл смеси 1 мМ Fe^{2+} и 0.5 М глутатиона на поверхность 0.5 М раствора S-нитро-зоглутатиона, что приводит к образованию динитрозильных комплексов глутатиона, обнаружено краковременное (в течение 0.2 с) появление концентрических кольцевых структур, число которых существенно превосходит количество аналогичных колец, обусловленных механическими волнами, возникающими в результате погружения капли в водный раствор. Не исключено, что обнаруженные в растворе S-нитрозоглутатиона концентрические кольцевые структуры обусловлены авто-волновым распределением продуктов, возникающих в ходе образования динитрозильных комплексов глутатиона.

Ключевые слова: динитрозильные комплексы железа, тиолсодержащие лиганды, S-нитрозотиолы, автоволны.

DOI: 10.31857/S0006302921010014

К настоящему времени накоплены данные, позволяющие утверждать, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиолсодержащими лигандами, возникающие в живых организмах как в мономерной, так и в биядерной форме (М- и Б-ДНКЖ, формула соответственно $[(\text{RS})_2\text{Fe}(\text{NO})_2]$ и $\{(\text{RS})_2\text{Fe}_2(\text{NO})_4\}$) могут выступать в этих организмах в качестве «рабочей формы» монооксида азота (или как сейчас принято говорить – оксида азота (NO) – одного из универсальных эндогенных регуляторов разнообразных метаболических процессов [1, 2]. Поскольку генерация в клетках и тканях NO стимулирует образование в них S-нитрозотиолов [3–5], органических и неорганических нитритов и нитратов [6, 7], а также М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами [1, 2, 8–12], в настоящее время уместно говорить о системе эндогенного монооксида азота, включающей в себя наряду с NO все перечисленные соединения. В итоге именно эту систему следует рассматривать в качестве одного из

универсальных регуляторов биологических процессов. При этом в качестве «рабочей формы» этой системы выступают М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами. Включение в эти комплексы молекул NO обеспечивает стабилизацию этих молекул и их перенос в клетках и тканях к биологическим мишеням – гемсодержащим белкам с последующим связыванием NO с гемовыми группами этих белков. Кроме того, включение NO в М- и Б-ДНКЖ сопровождается превращением половины молекул NO в катионы нитрозония (NO^+). Включение NO^+ в состав М- и Б-ДНКЖ предотвращает гидролиз этих катионов и обеспечивает их перенос на их биологические мишени – тиолсодержащие белки, образующие с катионами нитрозония соответствующие S-нитрозотиолы [13–18].

Представление ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами в качестве «рабочей формы» системы оксида азота в живых организмах основывается на трех группах экспериментальных фактов [1, 2]. Первая группа этих фактов – установлено, что по своей биологической активности синтезированные химическим путем М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами имитируют систему эндогенного оксида азота. Речь идет о способности

Сокращения: ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа, М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ – мономерные и биядерные формы ДНКЖ, RS-NO – S-нитрозотиолы, GS-NO – S-нитрозоглутатион.

ДНКЖ и этой системы вызывать релаксацию кровеносных сосудов и тем самым снижение артериального давления, подавлять агрегацию тромбоцитов, ускорять заживление ран, вызывать эрекцию пениса и т.п. Вторая группа фактов — установлено, что подавляющая часть оксида азота, появляющегося в клетках и тканях, включается в М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами. Третья группа фактов — установлено, что эти комплексы способны инициировать S-нитрозирование тиолов. Последнее означает, что ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами способны выступать в каче-

стве не только доноров нейтральных молекул NO, но и катионов нитрозония (NO^+), реакция которых с тиолами, как уже говорилось выше, приводит к образованию S-нитрозотиолов.

Появление в составе ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами катионов нитрозония следует из предложенного нами ранее механизма образования этих комплексов в реакции газообразного NO, двухвалентного железа и тиолов, приведенного на схеме 1.

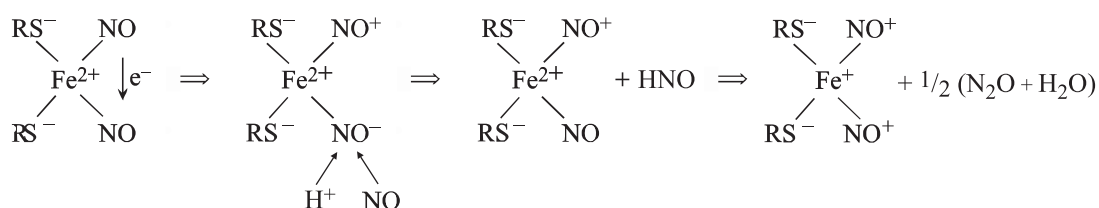


Схема 1. Предполагаемый механизм образования М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами в реакции двухвалентного железа, тиолов и газообразного NO [1, 2, 10, 12, 15–17, 19].

В основе этого механизма лежит способность молекул NO как свободно-радикальных молекул включаться в реакцию диспропорционирования:



в ходе которой осуществляется одноэлектронное окисление-восстановление молекул NO с соответствующим их превращением в катион нитрозония и анион нитроксила (NO^-) [2]

При концентрациях газообразного NO, соответствующих или меньших одной атмосферы, т.е. при концентрациях NO, синтезируемого в живых организмах, эта реакция практически не имеет места. Но она может реализоваться при тех же концентрациях при наличии в клетках и тканях слабосвязанных ионов Fe^{2+} , входящих в пул свободного железа, характеризующихся высоким сродством к молекулам NO [20]. Связывание последних с ионами Fe^{2+} (попарно на один ион Fe^{2+}) приводит к образованию железо-динитрозильной $[(\text{Fe}(\text{NO})_2)]$ -группы. Включение в ее молекулярные орбитали π -орбиталей NO и d -орбиталей железа обеспечивает перенос электрона в этой группе с одной молекулы NO на другую (схема 1). Последующее протонирование появляющегося при этом аниона нитроксила (его гидролиз) приводит к его выходу в форме молекулы нитроксила (HNO) из лигандного окружения железа с последующим диспропорционированием двух молекул HNO с образованием из них закиси

азота и воды. Вместо HNO в лигандное окружение железа внедряется третья молекула NO; в результате железо в железо-динитрозильной группе из-за переноса на него электрона с молекулы NO приобретает d^7 -электронную конфигурацию с соответствующей резонансной структурой группы — $[\text{Fe}^+(\text{NO}^+)_2]$ [1, 2, 17, 19, 21].

Что касается ионов катиона в составе этой группы, их гидролиз (связывание с ними анионов гидроксидов) должен делать эту группу неустойчивой. Последнее устраняется включением в лигандное окружение железа двух тиолсодержащих молекул, высокая π -донорная активность которых обеспечивает повышение электронной плотности на нитрозильных лигандах, т.е. нейтрализацию положительного заряда на этих лигандах, что и предотвращает их гидролиз [14–16, 19]. В результате в соответствии со схемой 1 образуются парамагнитные моноядерные М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, одна из резонансных структур которых описывается как $[(\text{RS}^-)_2\text{Fe}^+(\text{NO}^+)_2]^+$.

М-ДНКЖ существуют в растворе при избытке тиолсодержащих соединений, ионизованных по тиоловой группе. Как правило, такая ситуация реализуется при щелочных значениях pH. При нейтральных, «физиологических» значениях pH и при низком содержании такого рода тиолсодержащих соединений (а именно такая ситуация характерна для клеток и тканей) ДНКЖ представ-

лены в основном их биядерной формой. При повышении уровня тиолсодержащих соединений

Б-ДНКЖ обратимо (в соответствии со схемой 2) переходят в М-ДНКЖ.

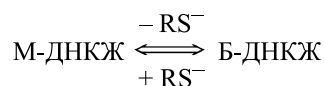


Схема 2. Обратимое взаимопревращение М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами [22].

В отличие от парамагнитных М-ДНКЖ, характеризующихся сигналом ЭПР с $g_{\text{ср}} = 2.03$ (сигналом 2.03), Б-ДНКЖ диамагнитны. Основная их характеристика — спектр оптического поглощения, характеризующийся двумя интенсивными полосами на 310 и 360 нм [2, 22].

При распаде обеих форм ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, например при установлении хи-

мического равновесия между этими комплексами и составляющими их компонентами или распаде, вызванном, действием на эти комплексы сильных хелаторов железа, нитрозильные лиганды высвобождаются из комплексов в форме нейтральных молекул NO и катионов нитрозония, причем, как это показано для схемы химического равновесия для М-ДНКЖ (схема 3), в равном количестве.

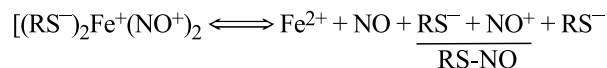


Схема 3. Химическое равновесие между М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами и компонентами этих комплексов [1, 2, 10, 15, 16].

При наличии в растворе тиолсодержащих соединений, сродство которых к катионам нитрозония на три-четыре порядка выше сродства последних к анионам гидроксила [23, 24], катионы нитрозония связываются с тиолами, что приводит к появлению в растворе соответству-

ющих S-нитрозотиолов (RS-NO). При блокаде тиолов или их окислении вместо RS-NO в растворе (при нейтральных значениях pH) появляются анионы нитрита в количестве, равном количеству высвободившихся из ДНКЖ молекул NO (схема 4).

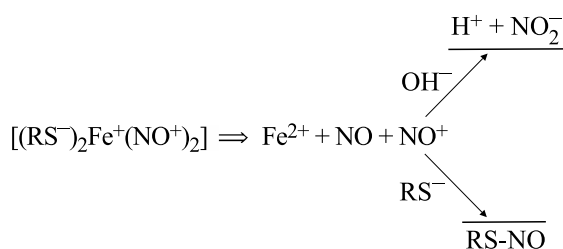


Схема 4. Предполагаемый механизм распада М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, приводящий в присутствии или блокаде тиолов к накоплению соответственно S-нитрозотиолов или нитрита [14–16].

Отличительной чертой ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами является то, что они могут возникать не только в соответствии со схемой 1, т.е. в

реакции газообразного NO, двухвалентного железа и тиолов, но и в соответствии со схемой 5 в реакции Fe^{2+} , тиолов и RS-NO.

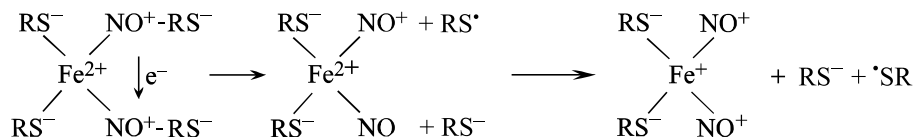


Схема 5. Предполагаемый механизм образования М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами в реакции Fe^{2+} , тиолов и RS-NO [17, 25].

В этой реакции сами молекулы RS-NO , а не высвобождающиеся из них молекулы NO реагируют непосредственно с ионами железа (попарно на один ион), что и приводит сразу в результате диспропорционирования молекул RS-NO к образованию М-ДНКЖ. Наличие

этого пути образования ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, наряду с возможностью их образования при участии молекул NO , делает возможным приведенный на схеме 6 «двухтактный» механизм образования этих комплексов:

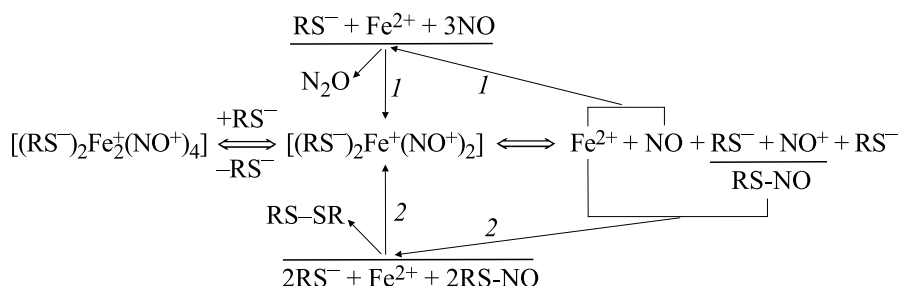


Схема 6. Механизмы образования М- и Б-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами и высвобождения из них молекул NO и катионов NO^+ , а также соотношение между М- и Б-ДНКЖ и составляющими их компонентами [2, 26, 27].

В соответствии со схемой 6 при избытке NO или RS-NO в растворе, содержащем двухвалентное железо и тиолы, синтез ДНКЖ осуществляется либо по реакции 1, либо по реакции 2.

В ходе этих автокаталитических реакций происходит взаимопревращение соответственно NO в RS-NO или RS-NO в NO . В результате реакция 1 из-за накопления RS-NO сменяется на реакцию 2 и, наоборот, реакция 2 в результате накопления NO сменяется на реакцию 1. При поддержке в этой системе достаточно высокого уровня NO и тиолов, убывающих в результате превращения NO в этой системе в закись азота, а тиолов — в дисульфиды, приведенная на схеме 6 система химических процессов может сохраняться в самоподдерживающемся режиме сравнительно длительное время. Что касается живых организмов, такая система может самопроизвольно возникать в клеточных компартментах, содержащих слабосвязанное (свободное) железо и тиолы, при появлении в этих компартментах оксида азота. Более того, при непрерывном воспроизводстве в клетках и тканях оксида азота и тиолов, выступающих в качестве «топливных» компонентов химической системы, приведенной на схеме 6,

эта система может поддерживаться в клетках и тканях в течение соответствующего длительного времени. Фактически сохранение этой системы обеспечивается энергией реакции происходящего в этой системе окисления тиолов монооксидом азота, приводящего к накоплению соответственно дисульфидов (RS-SR) и закиси азота (N_2O).

Приводимый на схеме 6 автокаталитический «двухтактный» механизм образования М-ДНКЖ по неравновесным реакциям 1 и 2 с разными константами скоростей этих реакций [26], может, в соответствии с развивавшимися И. Пригожиным представлениями о роли автокатализа в установлении колебательного и автоволнового режима химических реакций [28], говорить о такой возможности для системы 6. Возможность функционирования этой системы в колебательном режиме была подтверждена результатами компьютерного анализа системы кинетических уравнений, описывающих схему 6, и ЭПР-измерений уровня М-ДНКЖ с цистеином, возникавших при смешивании в плоской кварцевой кювете растворов S-нитрозоцистеина и смеси «цистеин + Fe^{2+} » [26]. Более того, при нанесении капли раствора (20 мкл) смеси 1 мМ FeSO_4 и 0.5 М глутатиона в

15 мМ НЕРЕС-буфере (рН 7.5–8.0) на слой толщиной 0.3 мм 0.5 М раствора S-нитрозоглутатиона (GS-NO) в таком же НЕРЕС-буфере при тех же нейтральных значениях рН в этой системе возникло множество концентрических колец с диаметром от 0.1 до 1 см, которые могли свидетельствовать об автоволновом распространении в растворе образующихся нем М-ДНКЖ и Б-ДНКЖ с глутатионом [27]. Речь идет об автоволнах (или Z-волнах), впервые обнаруженных для химических систем А. Жаботинским и А. Заикиным [29]. Вместе с тем появление такой кольцевой структуры могло быть обусловлено тривиальной причиной – образованием волн не химического, а механического происхождения в результате погружения в раствор GS-NO капли раствора смеси FeSO_4 и глутатиона, как это имеет место, например, при погружении в воду твердого предмета сферической формы. Отличие могло состоять лишь в том, что в наших опытах капля раствора соли железа и глутатиона погружалась в раствор в результате слияния (а не падения) капли с раствором GS-NO с последующим быстрым «растворением» капли в этом растворе. Поэтому в настоящей работе мы проделали те же опыты, как и в работе [27], проведя сравнение полученной кольцевой структуры в этих опытах и в опытах, в которых капля 0.5 М раствора нитрита наносилась на тонкий слой (толщиной в 0.3 мм) 0.5 М раствора GS-NO при нейтральных значениях рН. Очевидно, что система концентрических колец в растворе могла появиться только в результате механического взаимодействия погружаемой капли нитрита с окрашенным в розовый цвет раствором GS-NO.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В экспериментах использовали ферросульфат ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Fluka, Швейцария), восстановленный глутатион (GSH) и нитрит нитрия – все от Sigma (США). 0.5 М раствор S-нитрозоглутатиона (GS-NO) получали смешиванием 1 М растворов глутатиона при рН 1–2 и 1 М раствора нитрита в дистиллированной воде. В кислой среде нитрит превращался в азотистую кислоту, способную S-нитрозировать глутатион [30], после чего рН раствора полученного GS-NO повышали до нейтральных значений. Концентрацию GS-NO оценивали по интенсивности полосы поглощения на 334 нм с коэффициентом экстинкции $0.94 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [30].

Запуск реакции между Fe^{2+} , глутатионом и GS-NO и фотофиксирование образующейся в этой реакции кольцевой структуры. Запуск реакции между Fe^{2+} , глутатионом и GS-NO, приводящей к образованию кольцевой структуры, проводили в соответствии с условиями, указанными в

предыдущем параграфе (как это было предложено в работе [27]). Для фотосъемки этой структуры использовали закрепленный на штативе фотоаппарат Canon EOS 7D с объектив «Canon EF 100 f/2.8L Macro IS USM». Камера устанавливалась таким образом, чтобы съемка происходила вертикально сверху вниз. Параметры видеозаписи: ширина кадра – 1280 пикселей, высота кадра – 720 пикселей, частота кадров – 50 кадров в секунду, выдержка – $1/60$ с, диафрагма – f8.0, ISO – 400, фокусировка в ручном режиме (фокус на поверхности раствора глутатиона или GS-NO). Для анализа полученных материалов видеозапись реакции разбивали на кадры при помощи специализированной программы Canon ZoomBrowser EX. В качестве источника света использовали установленную сбоку и выше стола под углом приблизительно 45° обычную лампу накаливания, не дающую мерцания при съемке видео. Для эксперимента использовали чашку Петри, под которую подкладывали белый лист бумаги (в качестве фона, а также для упрощения последующей обработки фотоматериала – получения правильного баланса белого цвета).

Оптические и ЭПР-измерения. Оптические измерения проводили на спектрофотометре 2501PC (Shimadzu Europa GmbH, Германия) при комнатной температуре с использованием плоской кварцевой кюветы с длиной оптического пути 2 мм. ЭПР-измерения проводили на модифицированном радиоспектрометре X-диапазона RadioPan (Польша) при 77 К с использованием в качестве эталонного образца раствора М-ДНКЖ с цистеином с известной концентрацией.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На верхней и нижней части рис. 1 приводится фотоизображение кольцевых структур, возникавших с течением времени после нанесения капли смеси « FeSO_4 + глутатион» или нитрита на раствор GS-NO при нейтральных значениях рН. Как следует из сопоставления этих структур, основное различие между ними сводится, во-первых, к существенно большему числу колец, возникавших в растворе GS-NO после добавления к нему смеси « FeSO_4 + глутатион», и, во-вторых, к существенно более быстрому «смазыванию» кольцевой структуры в этом растворе по сравнению с кольцевой структурой, возникавшей в растворе «GS-NO + нитрит». При анализе фотоснимков выяснилось, что видоизменение возникающих кольцевых структур в первом случае завершалось к десятому-одиннадцатому кадру, то есть занимало около 0.2 с. Далее, очевидно, начинались обычные диффузионные процессы, которые вызывали «смазывание» кольцевой структуры (правый кадр в верхней части рис. 1). Через 5 с эта структура исчезала полностью (не показано).

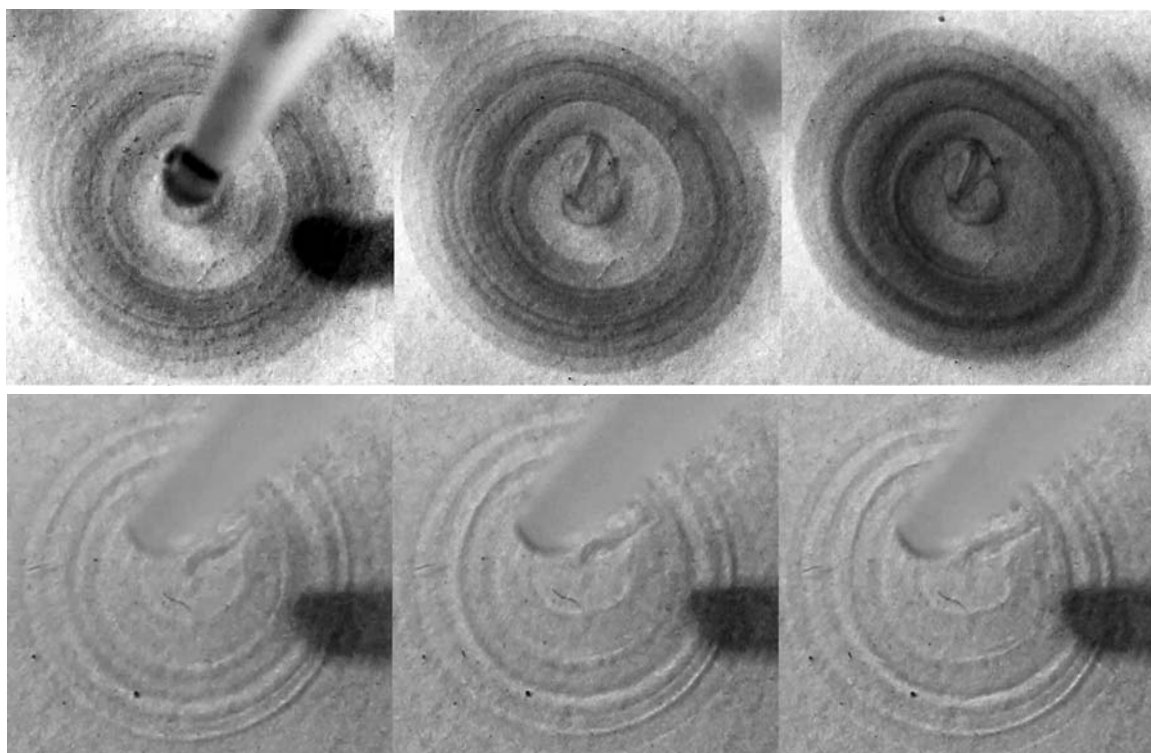


Рис. 1. Кольцевые структуры, возникавшие через 40, 80 и 200 мс в растворе GS-NO (вверху) после нанесения на него капли соответственно раствора смеси «FeSO₄ + глутатион» (вверху) или раствора нитрита (внизу). Максимальный радиус кольцевых структур составлял 10 мм.

Кольцевая структура на нижней части рис. 1 за это время практически не изменялась.

Оптический и ЭПР-анализ жидкой фазы, включавшей в себя приведенные на верхней части рис. 1 кольцевые структуры, соответственно показал, во-первых, сохранение в этих структурах GS-NO, и во-вторых — накопление в них М-ДНКЖ с глутатионом, возникавших, очевидно, в соответствии со схемой 5 в реакции между Fe²⁺, GS-NO и глутатионом. GS-NO обнаруживался по характерному для него спектру оптического поглощения с интенсивной полосой на 334 нм и слабой полосой на 543 нм, тогда как М-ДНКЖ — по характерному для него сигналу ЭПР с $g_{\text{ср}} = 2.03$ (сигналу 2.03) и значениями тензора g -фактора $g_{\perp} = 2.04$, $g_{\parallel} = 2.014$ (рис. 2). Судя по интенсивности этого сигнала в М-ДНКЖ включалось практически все железо, добавленное в раствор GS-NO. Что касается образования диамагнитных Б-ДНКЖ, которые можно было обнаружить только оптическим методом по полосам поглощения на 310 и 360 нм [22], последнее оказалось невозможным из-за наличия в спектре поглощения растворов интенсивной полосы поглощения GS-NO на 334 нм.

Следует отметить, что кольцевая структура, аналогичная приведенной на рис. 1 на нижней панели, обусловленная волнами механической природы, возникала и при добавлении капли чистой воды в воду. Однако из-за отсутствия окраски эта структура была слабо выраженной и с нее невозможно было снять фотокопию.

Приведенные выше результаты позволяют предположить, что при смешивании капли, содержащей FeSO₄ + глутатион, с раствором GS-NO, приводившем к образованию М- и Б-ДНКЖ с глутатионом, могли возникать два типа волновых процессов: первый — механического происхождения, обусловленный погружением в раствор GS-NO сферической капли объемом 20 мкл капли смеси 1 мМ FeSO₄ + 0.5 М глутатиона в 15 мМ HEPES-буфера (pH 7.5–8.0), и второй — обусловленный автоволновым характером процесса образования указанных выше комплексов. Наложение автоволн на волны механического происхождения могло проявляться в резком увеличении количества кольцевых структур, быстро «смазывающихся» и исчезающих, очевидно, из-за броуновской (хаотической) диффузии образующихся окрашенных продуктов реакции — М- и Б-ДНКЖ, а также GS-NO.

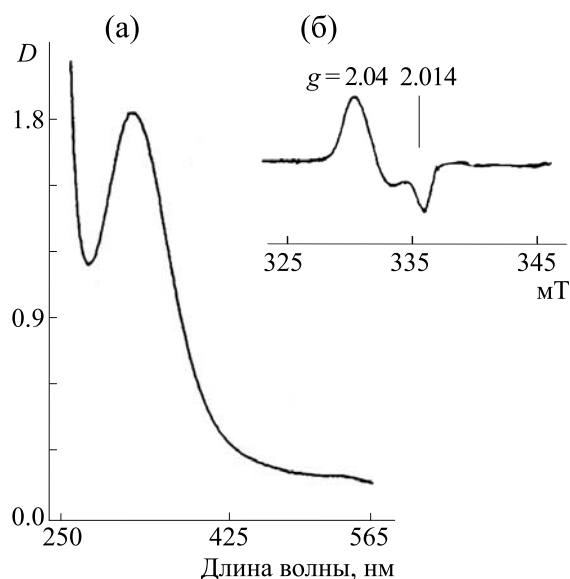


Рис. 2. Спектр оптического поглощения GS-NO (а), препарат разбавлен в 200 раз) и сигнал ЭПР М-ДНКЖ с глутатионом (б), зарегистрированные в жидкой фазе кольцевых структур, возникших в растворе GS-NO при нанесении на его поверхность в виде капли смеси « Fe^{2+} + глутатион».

Появление автоволновой картины в наших опытах инициировалось контактом раствора Fe^{2+} + глутатион с раствором GS-NO, приводившем к образованию М-ДНКЖ с глутатионом в показанной на схеме 6 неравновесной реакции 2. Последующее снижение уровня GS-NO в реакционной смеси, сопровождающееся накоплением в ней молекул NO, инициировало образование М-ДНКЖ по неравновесной реакции 1 и так далее с последующим затуханием этого процесса и установлением химического равновесия между М-ДНКЖ и составляющими их компонентами. Очевидно, что именно смена неравновесных реакций 1 и 2 могла определять появление автоволновых процессов в указанной на схеме 6 химической системе.

Если окажется, что химическая система, приведенная на схеме 6, способна в динамике функционировать в автоволновом режиме, то этот факт может иметь последствия фундаментального характера. Можно будет утверждать, что функционирование оксида азота и его эндогенных соединений — ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами и RS-NO — обеспечивается не свободной диффузией этих соединений в их низкомолекулярной форме во внутриклеточном пространстве, а организовано в форме автоволн. Другими словами, вместо хаотического броуновского перемещения этих агентов имеет место направленный более эффективный перенос этих агентов к биологическим мишеням их действия.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем благодарность д-ру К. Байбекову, принимавшему участие в работе на начальной ее стадии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-04-00059а).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. F. Vanin, Nitric Oxide Biol. Chem. **54**, 15 (2016).
2. A. F. Vanin, *Dinitrosyl Iron Complexes as a "Working Form" of Nitric Oxide in Living Organisms* (Cambridge Scholars Publishing, Cambridge, UK, 2019).
3. B. M. Gaston, J. Carver, A. Doctor, et al., Mol. Intervent. **3**, 253 (2003).
4. Y. Zhang and N. Hogg, Free Rad. Biol. Med. **38**, 831 (2005).
5. D. Seth, D. T. Hess, A. Hausladen, et al., Mol. Cell **69**, 451 (2018).
6. N. S. Bryan, T. Rassaf, R. E. Maloney, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **101**, 4308 (2004).
7. V. Titov, A. Osipov, and A. Vanin, Curr. Enz. Inhibition **15**, 1 (2020).
8. Р. М. Налбандян, А. Ф. Ванин и Л. А. Блюменфельд, в сб. тезисов конференции «Свободнорадикальные процессы в биологических системах» (Москва, 1964), с. 18.
9. А. Ф. Ванин и Р. М. Налбандян, Биофизика **10**, 167 (1965).
10. A. F. Vanin, Nitric Oxide Biol. Chem. **21**, 1 (2009).
11. J. R. Hickok, S. Sahni, H. Shen, et al., Free Rad. Biol. Chem. **51**, 1558 (2011).
12. V. D. Mikoyan, E. N. Burgova, R. R. Borodulin, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **62**, 1 (2017).
13. R. R. Borodulin, L. N. Kubrina, V. D. Mikoyan, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **29**, 4 (2013).
14. A. F. Vanin, Austin J. Analyt. Pharmac. Chem. **5**, 1109 (2018).
15. A. F. Vanin, Cell Biochem. Biophys. **77**, 279 (2019).
16. А. Ф. Ванин, Биофизика **65**, 353 (2020).
17. A. F. Vanin, I. V. Malenkova, and V. A. Serezhenkov, Nitric Oxide Biol. Chem. **1**, 191 (1997).
18. C. A. Bosworth, J. C. Toledo, J. W. Zmiewski, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **106**, 4671 (2009).
19. A. F. Vanin and D. Sh. Burbaev, Biophys. J. **14**, 818 (2011).
20. X. Xu and S. G. Chang, Chemisphere **67**, 1628 (2007).

21. C. C. McDonald, W. D. Philips, and H. W. Mower, J. Am. Chem. Soc. **87**, 3319 (1965).
22. A. F. Vanin, A. P. Poltorakov, V. D. Mikoyan, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **23**, 136 (2011).
23. D. A. Wink, R. W. Nims, J. F. Darbyshir, et al., Chem. Res. Toxicol. **7**, 519 (1994).
24. V. G. Kharitonov, A. R. Sandquist, and V. S. Sharma, J. Biol. Chem. **270**, 28158 (1995).
25. R. R. Borodulin, L. N. Kubrina, V. O. Shvydkiy, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **35**, 110 (2013).
26. A. F. Vanin, A. A. Papina, V. A. Serezhenkov, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **10**, 60 (2004).
27. A. F. Vanin, V. D. Mikoyan, N. M. Rubtsov, et al., Nitric Oxide Biol. Chem. **23**, 175 (2010).
28. I. Prigogine, *From Being to Becoming* (W.H. Freeman and Co, San Francisco, 1979).
29. A. N. Zaikin and A. M. Zhabotinsky, Nature **225**, 535 (1970).
30. D. L. H. Williams, *Nitrosation reactions and the chemistry of nitric oxide* (Elsevier, Amsterdam, 2004).

Autowave Mode of the Reaction of the Formation of Dinitrosyl Iron Complexes with Thiol-Containing Ligands

A.F. Vanin*, **, D.A. Gorenberg*, and V.D. Mikoyan*

*Semenov Federal Research Center of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**Institute of Regenerative Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Trubetskaya ul. 8/2, Moscow, 119991 Russia

Addition of 20 μ l mixture containing 1 mM Fe^{2+} + 0.5 M glutathione to the surface of 0.5 M S-nitrosoglutathione solution, that led to the formation of dinitrosyl iron complexes with glutathione, caused the transient short-lived (0.2 s) appearance of concentric ring-shaped structures in S-nitrosoglutathione solutions. The number of ring-like structures exceeds the number of concentric circles spread through the water (mechanical waves) when droplets of water fell into a body of an aqueous solution. Nevertheless, it seems likely that ring-shaped structures observed in a solution of S-nitrosoglutathione are associated with autowave distribution of products generated during the formation of dinitrosyl iron complexes with glutathione.

Keywords: dinitrosyl iron complexes, thiol-containing ligands, S-nitrosoglutathiols, autowaves