

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)
УДК 615.31



Оригинальная статья / Research article

Сравнительная оценка антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола

С. С. Зыкова¹✉, М. В. Шустов¹, В. С. Талисманов²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», 141701, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

✉ Контактное лицо: Зыкова Светлана Сергеевна. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

ORCID: С. С. Зыкова – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>; М. В. Шустов – <https://orcid.org/0000-0002-3379-3065>;
В. С. Талисманов – <https://orcid.org/0000-0003-0511-9943>.

Статья поступила: 17.11.2023

Статья принята в печать: 18.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Современная химиотерапия широко рассматривает роль активных форм кислорода (АФК) в лечении онкологических заболеваний. Использование средств, вызывающих повышение АФК является актуальным способом уничтожения опухолей. При этом имеются данные о возможности некоторых антиоксидантов приводить к гибели раковых клеток путем генерации свободнорадикальных форм кислорода вследствие нарушения клеточного гомеостаза. Используемая в исследовании комбинация методики применения биосенсора «Эколюм», данных антирадикальной активности и сведений о цитотоксичности соединений позволяет последовательно провести бюджетный скрининг антиоксидантной и антирадикальной активности и потенциально снизить необходимое количество дорогостоящих определений цитотоксичности с использованием опухолевых клеток.

Цель. Целью приведенного исследования является антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 1,3-диоксолановых производных имидазола с использованием антиоксидантного, антирадикального и цитотоксического тестов *in vitro*.

Материалы и методы. Для проведения тестов были синтезированы 1,3-диоксолановые производные имидазола. Оценка антирадикальной проводилась посредством теста ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Тестирование антиоксидантной активности проводилось с применением биосенсора «Эколюм» в рамках модели окислительного стресса. Цитотоксическая активность исследовалась на культуре клеток GIST-T1 при помощи МТТ-теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид).

Результаты и обсуждение. Данные исследования антиоксидантной активности веществ с применением биосенсора «Эколюм» показали различную степень повреждения биосенсора при отсутствии антиоксидантного действия. В то же время, антирадикальный потенциал, изначально используемый для раскрытия возможного механизма антиоксидантного действия, фактически продемонстрировал возможный механизм токсического действия вещества 2с, поскольку оно, имея сравнимое с эталоном (тролокс) антирадикальное действие, обладает наиболее выраженной цитотоксичностью. Тем не менее, свойства вещества 2а показывают, что прямая корреляция, рассмотренная ранее, обнаруживается не во всех случаях.

Заключение. Исследование антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 1,3-диоксолановых производных имидазола продемонстрировало актуальность дальнейшего поиска связей между результатами взаимодействия веществ с биосенсором «Эколюм» в условиях окислительного стресса, их антирадикальным потенциалом и цитотоксическими свойствами. Приведенная комбинация тестов потенциально позволит снизить стоимость скрининга, за счет применения доступного биосенсора, установить возможный механизм действия, направленный на окислительно-восстановительный баланс и подтвердить ранее полученные данные путем применения культуры опухолевых клеток.

Ключевые слова: антиоксиданты, культура клеток, *Escherichia coli*, окислительный стресс, химиотерапия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. С. Талисманов занимался синтезом исследуемых веществ. С. С. Зыкова обеспечивала исследование как антирадикальной, так и цитотоксической активностей. М. В. Шустов оценивал активность веществ с применением биосенсора «Эколюм».

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2023 год.

Для цитирования: Зыкова С. С., Шустов М. В., Талисманов В. С. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):134–138. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)

Evaluation of the Antioxidant Properties and Cytotoxic Activity of 1,3-dioxolane Derivatives Imidazole

Svetlana S. Zykova¹✉, Maxim V. Shustov¹, Vladimir S. Talismanov²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

² Moscow Institute of Physics and Technology, 9, Institutskiy lane, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia

✉ Corresponding author: Svetlana S. Zykova. E-mail: zykova.sv@rambler.ru

© Зыкова С. С., Шустов М. В., Талисманов В. С., 2023

© Zykova S. S., Shustov M. V., Talismanov V. S., 2023

ORCID: Svetlana S. Zykova – <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>; Maxim V. Shustov – <https://orcid.org/0000-0002-3379-3065>;
Vladimir S. Talismanov – <https://orcid.org/0000-0003-0511-9943>.

Received: 17.11.2023 Revised: 18.12.2023 Published: 27.12.2023

Abstract

Introduction. Modern chemotherapy widely considers the role of antioxidant and pro-oxidant methods in the treatment of oncologic pathologies. The use of agents that cause an increase of ROS is a relevant way to destroy tumors. At the same time, there is evidence of the ability of some antioxidants to lead to the cancer cells apoptosis through the generation of free radical forms of oxygen due to disruption of cellular homeostasis. The combination of the «Ecolum» biosensor using technique, antiradical activity data, and information about the cytotoxicity of compounds used in the study allows us to consistently conduct low-cost screening of as antioxidant, as antiradical activities and potentially reduce the required number of expensive cytotoxicity determinations using tumor cells.

Aim. The main target of our work is the evaluation of antioxidant and cytotoxic activities of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole using antioxidant, antiradical and cytotoxicity tests *in vitro*.

Materials and methods. To carry out this study, 1,3-dioxolane derivatives of imidazole were obtained. The antiradical tests was performed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Antioxidant properties were assessed within the Ecolum biosensor in the state of oxidative stress. Cytotoxic activity was assessed in GIST-T1 cell culture using the MTT test (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide).

Results and discussion. Data from studies of the antioxidant activity of substances using the «Ecolum» biosensor showed varying degrees of damage to the biosensor in the absence of antioxidant action. The antiradical potential, initially used to reveal a possible mechanism of antioxidant action, actually demonstrated a possible mechanism of toxic action of substance 2c due to its antiradical effect comparable to the standard (Trolox), but the substance has the highest cytotoxicity. However, the properties of substance 2a shows that the direct correlation discussed earlier is not found in all cases.

Conclusion. The assessment of the antioxidant properties and cytotoxic activity of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole demonstrated the relevance of further searching for connections between the results of substances binding with the Ecolum biosensor under conditions of oxidative stress, their antiradical potential and cytotoxic properties. This combination of tests will potentially reduce the cost of screening through the use of an available biosensor, establish a possible mechanism of action aimed at redox balance, and confirm previously obtained data through the use of tumor cell culture.

Keywords: antioxidants, cells, cultured, computer simulation, *Escherichia coli*, oxidative stress, chemotherapy

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Vladimir S. Talismanov synthesized compounds. Svetlana S. Zykova studied the antiradical and cytotoxic activity of compounds. Maxim V. Shustov studied the activity of compounds using the «Ecolum» biosensor

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2023.

For citation: Zykova S. S., Shustov M. V., Talismanov V. S. Evaluation of the antioxidant properties and cytotoxic activity of 1,3-dioxolane derivatives imidazole. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):134–138. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1655](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655)

ВВЕДЕНИЕ

Современная химиотерапия широко рассматривает роль активных форм кислорода (АФК) в лечении онкологических заболеваний. Использование средств, вызывающих повышение АФК является актуальным способом уничтожения опухолей [1, 2]. Применение подобных средств, к сожалению, также приводит к окислительным повреждениям нормальных тканей [3]. При этом имеются данные о возможности некоторых антиоксидантов приводить к гибели раковых клеток путем генерации свободнорадикальных форм кислорода вследствие нарушения клеточного гомеостаза [4–6]. Передовые исследования в области поиска противоопухолевых средств показывают, что ранее рассматриваемые лишь как антиоксиданты, флавоноиды также обладают значительным противоопухолевым потенциалом [7–9]. Используемая в исследовании комбинация методики применения биосенсора «Эколюм», данных антирадикальной ак-

тивности и сведений о цитотоксичности соединений позволяет последовательно провести бюджетный скрининг антиоксидантной и антирадикальной активности [10, 11] и потенциально снизить необходимое количество дорогостоящих определений цитотоксичности с использованием опухолевых клеток [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтетическая часть

Перед началом исследования были получены 1,3-диоксолановые производные имидазола.

Синтез 1,3-диоксолановых производных имидазола (рисунки 1, таблица 1) проводили в две стадии [11].

На первой стадии синтезировали 2,2-дизамещенные 4-хлорметил-1,3-диоксоланы конденсацией 3-хлор-1,2-пропандиола с кетонами.

Смесь 0,18 моль кетона, 0,36 моль 3-хлор-1,2-пропандиола, 0,009 моль моногидрата п-толуолсульфокислоты кипятили в 200 мл бензола до отделения в

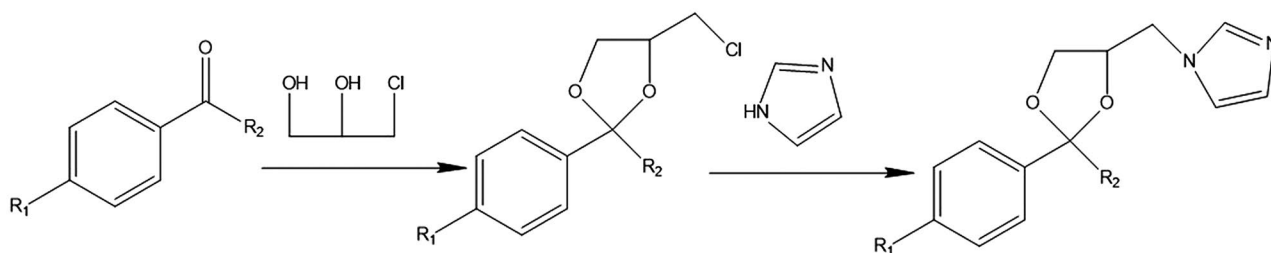


Рисунок 1. Общая схема синтеза 1,3-диоксолановых производных имидазола

Figure 1. General scheme for the synthesis of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole

насадке Дина-Старка 3,5 мл воды (~8 ч.). Полученная смесь после охлаждения промывалась 2%-м раствором натрия гидроксида объемом 200 мл, после чего промывка повторялась 200 мл воды. Далее проводилась сушка над безводным магния сульфатом, упаривание бензола. Полученный маслянистый остаток фракционировался в вакууме. Получали продукты с выходами 80–95 %.

Таблица 1. Радикалы соединений 2a–2c

Table 1. Radicals of compounds 2a–2c

Вещество Compound	R ₁	R ₂
2a	Cl	4-хлорбензил 4-chlorobenzyl
2b	Cl	2,4-дихлорфенил 2,4-dichlorophenyl
2c	Br	4-бромфенил 4-bromophenyl

На второй стадии полученными 2,2-дизамещенными 4-хлорметил-1,3-диоксоланами алкилировали натриевые соли имидазола.

Смесь 0,03 моль 2,2-дизамещенного 4-хлорметил-1,3-диоксолана и 0,03 моль натриевой соли имидазола кипятили в 50 мл диметилформамида 16 часов, охлаждали, фильтровали, фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 50 мл хлороформа и промывали водой (2 × 25 мл), сушили над сульфатом натрия, хлороформ упаривали. Получали 60–80 % технического продукта, содержащего побочные продукты алкилирования азолов. Технический продукт очищали с помощью градиентной флеш-хроматографии на силикагеле, элюент – смесь гексана и ацетона от 10:1 до 5:2. После элюирования элюаты упаривали. Получали 1,3-диоксолановые производные имидазола с выходами 35–60 % в виде некристаллизующихся масел. При необходимости целевые продукты переводили в кристаллические оксалаты, используя растворы щавелевой кислоты в ацетоне.

Фармакологическая часть

Определение антирадикального потенциала проводилось при помощи спектрофотометрического метода определения – ДФПГ (DPPH, 2,2-дифенилпи-

крил-1-гидразил). Определяемая смесь состояла из 10 микролитров раствора соединения 2a–2c, либо тролокса в диметилсульфоксиде из расчета 1 миллимоль в 1 мл, 1 мл ТРИС-буфера и 1 мл этанола 95%-го. После определения оптической плотности смеси в приборе СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия) при длине волны 517 нанометров происходило добавление 1 мл раствора DPPH концентрации $6,5 \times 10^{-5}$ М. Данная смесь экспонировалась в условиях низкой освещенности и комнатной температуры в течение получаса перед измерением. Ингибирующий эффект рассчитывали по формуле:

$$Q = 100 (D_0 - D_x) / D_0, \quad (1)$$

где D_0 – оптическая плотность контрольного раствора ДФПГ; D_x – оптическая плотность раствора ДФПГ в присутствии исследуемого вещества либо раствора эталона сравнения за вычетом оптической плотности раствора, измеренной до добавления ДФПГ. В качестве эталона сравнения использовался тролокс (Trolox) – водорастворимая форма витамина E (Sigma-Aldrich, США).

Ингибирование флуоресцентной активности при окислительном стрессе биосенсора «Эколюм» в присутствии перекиси водорода проводилось с использованием ридера для микропланшет Synergy H1 (BioTek, США).

В лунку 96-луночного планшета помещались 100 мкл. бульона LB по Ленноксу (ООО «Диаэм», Россия), 50 мкл. культуры клеток биосенсора «Эколюм», 25 мкл раствора исследуемого вещества в диметилсульфоксиде (5 мг вещества растворялось в 1 мл растворителя), либо контрольный объем растворителя, а также 25 мкл 3%-го раствора перекиси водорода. Флуориметрия производилась после 40 минут выдержки смеси при температуре 37 °С при длине волны возбуждения 490 нм и длине волны флуоресценции 585 нм. Полученные значения использовались в формуле:

$$\text{ИФА} = (X_1 - X_2) / X_1 \times 100 \%, \quad (2)$$

где X_1 – флуоресценция лунки контроля ДМСО; X_2 – флуоресценция лунки с исследуемым веществом.

Цитотоксическая активность соединений *in vitro* проводилась спектрофотометрически посредством оценки жизнеспособности культуры клеток гастроинтестинальных стромальных опухолей линии GIST-T1 с помощью МТТ-теста (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид). Тест основан на способности жизнеспособных клеток восстанавливать тетразолиевые красители до нерастворимого формазана, обладающего специфичной детектируемой окраской.

Клеточная культура засеивалась в лунки плоскостонного 96-луночного культурального планшета (Costar, США), в которые также были добавлены среда RPMI-1640 (ООО «ПанЭКО», Россия) с добавлением L-глутамин (Gibco), 1%-ая смесь пенициллина и стрептомицина (ООО «ПанЭКО», Россия) и 10 %-й эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США).

После достижения плотности покрытия поверхности лунок клетками более 70 % в смесь вводили исследуемые соединения и препарат сравнения (Гефитиниб, Sigma-Aldrich, США) в различных концентрациях.

Клетки инкубировали 1–2 суток при 37 градусах Цельсия, во влажной атмосфере, содержащей 5%-го углекислого газа.

МТТ-тест проводили с использованием реагента Cell Titer 96® AQueous MTS Reagent (Promega, США) и ридера для микропланшет SpectraFluor Plus (Tecan, Швейцария).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакологическая часть

Как видно из таблицы 1, вещества проявили антирадикальное, а также цитотоксическое действие, которое выражается как соответствующим тестом, так и ослаблением флуоресценции биосенсора. Также, кроме 2b, соединения показали наличие антирадикального потенциала. Цитотоксическое действие соединений выражено на уровне препарата сравнения гефитиниба (таблица 2).

Обсуждение

Таким образом, данные теста антиоксидантной активности с применением биосенсора «Эколюм» показали различную степень повреждения биосенсора.

В то же время, антирадикальный потенциал, изначально используемый для раскрытия возможного механизма антиоксидантного действия, фактически продемонстрировал возможный механизм токсического действия вещества 2c, поскольку оно, имея сравнимое с эталоном (тролокс) антирадикальное действие, обладает наиболее выраженной цитотоксичностью.

Тем не менее, свойства вещества 2a показывают, что прямая корреляция, рассмотренная ранее, обнаруживается не во всех случаях, что может быть

обусловлено различиями сайтов связывания клеток *E. coli* штамма «Эколюм» и культуры GIST-T1, а также различными активными центрами молекул, действующими как во взаимодействии с клетками, так и при оценке антирадикального потенциала.

Таблица 2. Результаты антиоксидантной, антирадикальной активности и цитотоксичность производных 1,3-диоксолановых производных имидазола

Table 2. Results of antioxidant, antiradical activity and cytotoxicity of 1,3-dioxolane derivatives of imidazole

№	Соединения Compounds	Ингибирование флуоресцентной активности, % Fluorescent activity inhibition, %	Убыль радикалов, % Loss of radicals, %	IC ₅₀ , nM
1	2a	11,14	19,5	40735
2	2b	6,77	7,1	47535
3	2c	4,20	21,6	29053
5	Тролокс Trolox	–2,11	43,65	–
6	Гефитиниб Gefitinib	–	–	20611

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование антиоксидантных свойств и цитотоксической активности 2,2-дизамещенных 1,3-диоксолановых производных имидазола продемонстрировало актуальность дальнейшего поиска связей между результатами взаимодействия веществ с биосенсором «Эколюм» в условиях окислительного стресса, их антирадикальным потенциалом и цитотоксическими свойствами. Приведенная комбинация тестов потенциально позволит снизить стоимость скрининга, за счет применения доступного биосенсора, установить возможный механизм действия, направленный на окислительно-восстановительный баланс и подтвердить ранее полученные данные путем применения культуры опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sahoo B. M., Banik B. K., Borah P., Jain A. Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies. *Anticancer Agents Med Chem.* 2022;22(2):215–222. DOI: 10.2174/1871520621666210608095512.
2. Nakamura H., Takada K. Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions. *Cancer Sci.* 2021; 112(10):3945–3952. DOI: 10.1111/cas.15068.
3. Perillo B., Di Donato M., Pezone A., Di Zazzo E., Giovannelli P., Galasso G., Castoria G., Migliaccio A. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med.* 2020;52(2):192–203. DOI: 10.1038/s12276-020-0384-2.
4. Вострикова С. М., Гринев А. Б., Гогвадзе В. Г. Активные формы кислорода и антиоксиданты в канцерогенезе и терапии опухолей. *Биохимия.* 2020;85(10):1474–1488.
5. Cheung E. C., Vousden K. H. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer.* 2022;22(5):280–297. DOI: 10.1038/s41568-021-00435-0.

6. Iman M., Taheri M., Bahari Z. The anti-cancer properties of neem (*Azadirachta indica*) through its antioxidant activity in the liver: its pharmaceuticals and toxic dosage forms. A literature review. *J Complement Integr Med.* 2021;19(2):203–211. DOI: 10.1515/jcim-2021-0009.
7. Slika H., Mansour H., Wehbe N., Nasser S. A., Iratni R., Nasrallah G., Shaito A., Ghaddar T., Kobeissy F., Eid A. H. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2022;146:112442. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112442.
8. Hazafa A., Rehman K. U., Jahan N., Jabeen Z. The Role of Polyphenol (Flavonoids) Compounds in the Treatment of Cancer Cells. *Nutr Cancer.* 2020;72(3):386–397. DOI: 10.1080/01635581.2019.1637006.
9. Tang S. M., Deng X. T., Zhou J., Li Q. P., Ge X. X., Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109604. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109604.
10. Munteanu, I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:3380. DOI: 10.3390/ijms22073380.
11. Talismanov V. S., Popkov. S. V. Synthesis and fungicidal activities of 1-[(2,2-diaryl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl]-1H-azoles. *Russian Chemical Bulletin.* 2007;56:975–979. DOI: 10.1007/s11172-007-0147-4.
12. Буйко Е. Е., Зыкова М. В., Иванов В. В. и др. Антиоксидантная активность серебросодержащих бионаноконпозиций на основе гуминовых веществ в культуре клеток. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):46–53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.
3. Perillo B., Di Donato M., Pezone A., Di Zazzo E., Giovannelli P., Galasso G., Castoria G., Migliaccio A. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med.* 2020;52(2):192–203. DOI: 10.1038/s12276-020-0384-2.
4. Vostrikova S. M., Grinev A. B., Gogvadze V. G. Reactive oxygen species and antioxidants in carcinogenesis and tumor therapy. *Biochemistry.* 2020;85(10):1474–1488. (In Russ.)
5. Cheung E. C., Vousden K. H. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer.* 2022;22(5):280–297. DOI: 10.1038/s41568-021-00435-0.
6. Iman M., Taheri M., Bahari Z. The anti-cancer properties of neem (*Azadirachta indica*) through its antioxidant activity in the liver: its pharmaceuticals and toxic dosage forms. A literature review. *J Complement Integr Med.* 2021;19(2):203–211. DOI: 10.1515/jcim-2021-0009.
7. Slika H., Mansour H., Wehbe N., Nasser S. A., Iratni R., Nasrallah G., Shaito A., Ghaddar T., Kobeissy F., Eid A. H. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomed Pharmacother.* 2022;146:112442. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112442.
8. Hazafa A., Rehman K. U., Jahan N., Jabeen Z. The Role of Polyphenol (Flavonoids) Compounds in the Treatment of Cancer Cells. *Nutr Cancer.* 2020;72(3):386–397. DOI: 10.1080/01635581.2019.1637006.
9. Tang S. M., Deng X. T., Zhou J., Li Q. P., Ge X. X., Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother.* 2020;121:109604. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109604.
10. Munteanu, I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:3380. DOI: 10.3390/ijms22073380.
11. Talismanov V. S., Popkov. S. V. Synthesis and fungicidal activities of 1-[(2,2-diaryl-1,3-dioxolan-4-yl) methyl]-1H-azoles. *Russian Chemical Bulletin.* 2007;56:975–979. DOI: 10.1007/s11172-007-0147-4.
12. Buyko E. E., Zykova M. V., Ivanov V. V., Bratishko K. A., Ufandeev A. A., Grigorieva I. O., Tsupko A. V., Mikhalyov D. A., Perminova I. V., Belousov M. V. Antioxidant activity of silver-containing biobionanocompositions based on humic substances in cell culture. *Drug development & registration.* 2021;10(4):46–53. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.

REFERENCES