

УДК 615.31

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ОКИСЛЕННОГО И ВОССТАНОВЛЕННОГО КОЭНЗИМА Q₁₀ В БИОМАТЕРИАЛЕ (ОБЗОР)

В.И. Зозина^{1*}, О.А. Горошко², Л.М. Красных², В.Г. Кукес^{1,2}

Резюме. В организме человека коэнзим Q₁₀ находится в окисленной и восстановленной формах и обнаруживается во всех органах. В обзоре рассмотрены современные методики ВЭЖХ-анализа коэнзима Q₁₀ с использованием электрохимического, спектрофотометрического и масс-спектрометрического детекторов. В статье представлены данные по отбору проб, подготовке биоматериала к анализу и обеспечению стабильности коэнзима Q₁₀ в биоматериале. Проведен сравнительный анализ используемых методик определения для окисленной и восстановленной формы коэнзима Q₁₀ по чувствительности и селективности методов.

Ключевые слова: коэнзим Q₁₀, убиноин, убиноинол, ВЭЖХ.

THE MODERN METHODS OF ANALYSIS OF OXIDIZED AND REDUCED FORMS OF COENZYME Q₁₀ IN BIOMATERIAL (REVIEW)

V.I. Zozina^{1*}, O.A. Goroshko², L.M. Krasnykh², V.G. Kukes^{1,2}

Abstract. In the human body, coenzyme Q₁₀ is in the oxidized and reduced forms and can be found in every organ. The review describes modern HPLC methods of coenzyme Q₁₀ analysis using electrochemical, spectrophotometric and mass spectrometric detectors. In the article we present information on sampling, preparation of biomaterial for analysis and preservation of coenzyme Q₁₀ stability in biomaterial. It is carried out a comparative analysis of the determination methodologies for the oxidized and reduced forms of coenzyme Q₁₀ by its sensitivity and selectivity.

Keywords: coenzyme Q₁₀, ubiquinone, ubiquinol, HPLC.

1 – ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубевская д. 8, стр. 2

2 – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Scientific Centre for Expert Evaluation of Medical Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2, Petrovsky blv., Moscow, 127051, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: jana26@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Коэнзим Q₁₀ (синоним – убиноин, кофермент Q₁₀, CoQ₁₀) представляет собой жирорастворимое соединение из класса бензохинонов – 2,3-диметокси-5-метил-6-декапренил-1,4-бензохинон [1]. Кофермент Q₁₀ обладает несколькими биохимическими функциями. Хорошо известны такие его функции, как сопряжение энергетических процессов в митохондриях и действие в качестве главного регенерирующего антиоксиданта [2]. Кофермент Q₁₀ является существенной частью клеточного механизма, производящего АТФ, которая обеспечивает энергией сокращение мышц и другие жизненно важные клеточные функции. Основная часть процесса производства АТФ происходит во внутренней мембране мито-

хондрий, где обнаруживается кофермент Q₁₀. Гораздо менее изучены такие функции, как окислительное действие при генерации сигналов и контроль окислительно-восстановительного состояния клетки [3].

Коэнзим Q₁₀ играет важную роль в окислительном стрессе, который может быть определен как нарушение проокислительно-антиокислительного баланса и считается основной причиной старения и появления многих дегенеративных заболеваний.

Коэнзим Q₁₀ в организме человека находится в двух формах: окисленной – убиноин – CoQ₁₀ (рисунок 1А) и восстановленной – убиноинол – CoQ₁₀H₂ (рисунок 1Б).

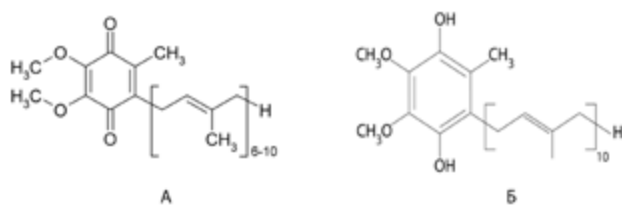


Рисунок 1. Структура убихинола (А) и убихинона (Б)

Соотношение убихинол/убихинон в крови является достоверным маркером окислительного стресса [4]. Интересным фактом является то, что при некоторых болезнях (респираторный дистресс-синдром у взрослых) сообщается об уменьшении соотношения убихинол/убихинон в плазме крови, которое сопровождается уменьшением концентрации аскорбата в плазме, а также появлением липидных гидропероксидов [5]. Этот факт позволяет сделать выводы о центральной роли убихинона в окислительно-восстановительной системе организма. Именно убихинол и проявляет эффект антиоксиданта, ингибируя супероксидный анион-радикал, гидроксильный радикал, алкоксильные радикалы, а также восстанавливает α-токоферол из токофероксильных радикалов [6]. В организме CoQ₁₀ обнаруживается во всех органах. На протяжении всей жизни содержание коэнзима Q₁₀ в тканях и органах колеблется: достигает максимального значения к 20 годам, а затем с возрастом снижается: к 40 годам на 25%, к 75 – до 52% [7]. Содержание CoQ₁₀ и CoQ₁₀H₂ в различных органах и плазме крови человека представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Содержание убихинона и убихинола в органах и плазме крови здорового человека

Биологический материал	CoQ ₁₀	CoQ ₁₀ H ₂	Литературный источник
Печень	54,9 мкг/г	52,1 мкг/г	[8]
Сердце	114, мкг/г	69,5 мкг/г	
Мозг	13,4 мкг/г	3,1 мкг/г	
Мышцы	39,7 мкг/г	25,8 мкг/г	
Плазма крови	0,12 мкг/мл	1,6 мкг/мл	[7, 9]

Было установлено, что соотношение убихинол/убихинон составляет 95/5, что указывает на существование CoQ₁₀ в плазме в основном в восстановленной форме [10].

Кофермент Q₁₀ обнаруживается в высоких концентрациях в клетках сердечной мышцы в связи с высокой потребностью этого типа клеток в энергии [11]. Нормальный уровень в крови составляет около 0,8–1,2 мкг/мл [3]. Чтобы значительно увеличить концентрацию кофермента, его требуется принимать в количестве по меньшей мере 100 мг/день, что приводит к увеличению уровня кофермента в крови приблизительно до 2 мг/мл. Высокая концентрация в крови необходима, чтобы кофермент Q₁₀ поступил в ткани, испытывающие в нем недостаток. Снижение концент-

рации Q₁₀ в плазме крови человека отмечается при ряде патологических состояний, преимущественно при сахарном диабете, онкологических заболеваниях, кардиомиопатиях, сердечной недостаточности [2]. Уменьшить концентрацию CoQ₁₀ в плазме способен ряд лекарственных препаратов.

Уровень коэнзима Q₁₀ в плазме крови уменьшается примерно на треть у лиц, принимающих статины, поскольку при приеме статинов блокируется фермент ГМГ-КоА-редуктаза, являющийся ключевым не только в синтезе холестерина, но и коэнзима Q₁₀. Считается, что уменьшение плазматического уровня коэнзима Q₁₀ вследствие приёма статинов провоцирует появление миопатии и рабдомиолиза [12].

Все вышесказанное приводит к необходимости диагностики и изучения способов коррекции вышеописанных патологий, для чего разрабатываются методы определения окисленной и восстановленной формы коэнзима Q₁₀ в организме человека. На сегодняшний день самым распространенным методом определения коэнзима Q₁₀ является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

ОТБОР И СТАБИЛЬНОСТЬ БИОПРОБ, СОДЕРЖАЩИХ УБИХИНОН И УБИХИНОЛ

В основном пробы крови отбирали в вакуумные пробирки с гепарином, цитратом натрия или ЭДТА, затем центрифугировали при 3000 г 10 мин и сразу же анализировали или хранили плазму до анализа при –80 °С. Скорость окисления убихинола в убихинон увеличивалась с увеличением температуры хранения [10, 13].

Проведенный эксперимент показал, что физиологический уровень эндогенного убихинола в плазме крови снижался уже в первые сутки хранения при –20 °С и его полное окисление происходило к 4-м суткам хранения. При этом общее содержание CoQ₁₀ оставалось неизменным. Однако образцы плазмы крови, содержащей фармакологические концентрации убихинона, после приема препарата CoQ₁₀ хранились в течение 14 дней при –20 °С без значительного изменения концентрации восстановленной формы убихинона [7].

Другие авторы показали, что содержание убихинола не менялось при хранении плазмы крови при 4 °С в течение 8 ч [14].

Существуют исследования, где показано, что убихинол нестабилен в крови, плазме и экстракте изопропанола, а соотношение убихинон/убихинол менялось уже в течение 1 ч после отбора образцов крови [15].

Для предотвращения окисления убихинола в сыворотку крови добавляли натрия аскорбат (5 мМ в 5 мМ фосфатном буферном растворе, pH 7,4) [16], бен-

зохинон [17], бутилгидрокситолуол (ВНТ) [18], а также смесь лимонной кислоты, цитрата натрия и декстрозы [13]. Среди различных изученных антиоксидантов смесь аскорбиновой кислоты (5%) и ЭДТА (0,1%) показала лучшую защиту, чем такие фенольные антиоксиданты, как бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол или пропилгаллат [18].

Для стабилизации проб тканей их диспергировали на холоде в темноте с добавлением бутилгидрокситолуола для предотвращения окисления коэнзима Q_{10} [6, 16, 19, 20].

ПОДГОТОВКА БИОПРОБ К АНАЛИЗУ

Пробоподготовка является важным фактором получения адекватного результата анализа. Коэнзим Q_{10} и в окисленной, и в восстановленной форме – вещество нестойкое и фотолabile, при анализе необходимо сохранить соотношение окисленной и восстановленной форм коэнзима, поэтому извлечение из биоматериала и приготовление стандартных растворов проводили на холоде, в посуде темного стекла и затемненном помещении или при тусклом свете.

Убихинон и убихинол хорошо растворяются в гексане, диэтиловом эфире, в смеси этанол : диэтиловый эфир, хуже в пропанол, этаноле, этилацетате. Раствор убихинона в гексане стабилен не менее 1 мес при хранении при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [10].

Извлечение коэнзима Q_{10} из биологических жидкостей проводили методом жидкостной экстракции [15, 21] или методом осаждения белков различными растворителями: гексаном, с выпариванием в атмосфере азота и последующим суспендированием в смеси хлороформ : метанол 1:3 [6] либо охлажденным изопропанолом на ультразвуковой бане [20, 22], н-пропанолом [23], анализируя непосредственно экстракт.

Другие авторы [7, 13] проводили многократную обработку проб плазмы крови, органов смесью этанол (метанол) и н-гексан (1:2:5) [13] с упариванием гексанового слоя в атмосфере инертного газа и растворением в аликвоте этанола [21, 24] либо непосредственным анализом гексанового слоя, поскольку было показано снижение содержания убихинола и увеличение содержания убихинона после сушки гексанового экстракта в токе азота, хотя на эти процедуры потребовалось всего несколько минут [10]. Следует учесть, что жидкостная экстракция с использованием гексана, за которой следует выпаривание, приводит к значительному окислению убихинола. Значительно более быстрым и точным в определении соотношения убихинол/убихинон является метод одношаговой экстракции. Высокая липофильность пропанола, а также смешиваемость с водой приводила к более полной экстракции, нежели использование изопропанола или другого короткоцепочечного спирта [15].

Для улучшения экстракции CoQ_{10} из биологической матрицы, а именно отделения CoQ_{10} от липопротеинов, к плазме крови добавляли поверхностно-активные вещества, такие как додецилсульфат натрия, или Тритон X-100, или твин-20, а также изучали влияние температуры экстракции ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $19\text{ }^{\circ}\text{C}$) и типы пробирок (стекло и полипропилен) [13]. Было показано, что экстракция CoQ_{10} в полипропиленовой пробирке с твином-20 с концентрацией 3% при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ смесью метанол : гексан по сравнению с экстракцией пропанолом обеспечила лучшую сохранность CoQ_{10} в пробе, а также хорошую воспроизводимость между повторами с коэффициентом вариации 4,3% и улучшение эффективности хроматографического разделения на 51,2% с УФ-детектированием [13, 16].

Для выделения убихинола и убихинона из тканей ткани гомогенизировали с физраствором или пропанолом, лиофилизировали, экстрагировали этанолом, н-гексаном [16, 24].

МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Для измерения уровня эндогенного CoQ_{10} существует много различных хроматографических методов, хемилюминесценция, спектрофлуориметрия [17], вольтамперометрия [24], однако наиболее часто используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с различными детекторами: ультрафиолетовым [7, 13, 22–27], электрохимическим [4, 6, 7, 14, 21, 28, 29] или масс-спектрометрическим [1, 9, 15, 19, 20, 30–32]. Во многих методах избегают проводить разделение убихинола и убихинона, вместо этого химически окисляют убихинол и измеряют общий CoQ_{10} [23, 31].

ВЭЖХ с электрохимическим детектированием

При использовании электрохимического детектора (ЭХ) на жидкостном хроматографе для анализа окисленного и восстановленного CoQ_{10} перед внесением на колонку окисленную форму в экстракте плазмы восстанавливали до $CoQ_{10}H_2$ добавлением раствора натрия тетрагидробората в этаноле либо боргидрида натрия. Концентрацию окисленного CoQ_{10} вычисляли по разнице общего CoQ_{10} до восстановления и после восстановления [7]. Такой подход делает возможным окисление восстановленного убихинола на электрохимическом электроде. Разделение изучаемых веществ осуществлялось на обратимых фазах Phenomenex, Luna C18 [7], ОФ-Supelco-LC8 [10]. При этом использовались подвижные фазы: 0,3% NaCl в смеси этанол – метанол – 7% $HClO_4$ (975:15:10) [7], 50 Мм перхлорат натрия в смеси метанол – трет-бутанол (85:15) [10].

Предел обнаружения в плазме составил 0,005 мкг/мл [21]. Однако увеличение времени подготовки образца делает этот метод весьма трудоемким.

ВЭЖХ со спектрофотометрическим УФ-детектированием

В некоторых исследованиях для определения общего CoQ₁₀ использовали метод ВЭЖХ с УФ-детектором. Хотя данный метод является недорогим и доступным, он недостаточно чувствителен для одновременного определения убихинона и убихинола в образце [33]. Поскольку CoQ₁₀ является липофильным соединением, то для разделения применяли в основном обращенно-фазовые варианты хроматографии.

Авторы статьи [23] провели хроматографический анализ образцов плазмы крови на колонке Supelcosil LC18 при элюировании смесью этанол : метанол (65:35) с целью определения общего убихинона в концентрации 0,29 мкг/мл. В работе [22] описано определение общего убихинона в плазме крови путём разделения на хроматографической колонке Hypersil C18 при элюировании 10% изопропанолом в метаноле и обнаружении при помощи УФ-детектора с $\lambda=275$ нм. В этих исследованиях использовались предколонки [22, 23].

Подобные исследования проводились на обращенно-фазовых колонках C18 с различным составом и соотношением подвижных фаз: этанол [7], смесь метанол : гексан (85:15) [13], метанол-н-гексан (72:28) [26], изопропанол : метанол (60:40) [25], ацетонитрил : тетрагидрофуран : вода (55:40:5) [24].

Таким образом, определение CoQ₁₀ возможно при использовании спектрофотометрического детектора при длине волны $\lambda=275$ нм для CoQ₁₀ и $\lambda=290$ нм для CoQ₁₀H₂, однако этот детектор обладает более низкой чувствительностью, чем электрохимический детектор.

Возможно совместное применение УФ- и ЭХ-детекторов для улучшения селективности разделения. Некоторые исследователи использовали комбинацию ВЭЖХ с УФ- и ЭХ-детекторами для одновременного измерения убихинона и токоферолов [30].

Недавним открытием является использование микроэмульсионной жидкостной хроматографии. Хроматографическое определение проводилось при помощи колонки Synergi Gemini (4,6×250 мм). Поскольку CoQ₁₀ является липофильным соединением, был применен метод микроэмульсионной жидкостной хроматографии, где в качестве подвижной фазы использовалась микроэмульсия типа «вода в масле». Положительной чертой микроэмульсии является более низкое давление в системе по сравнению с другими подвижными фазами. Предел обнаружения убихинона и убихинола при этом типе анализа более высокий по сравнению с обычной обращенно-фазовой хроматографией: 20 нг/мл и 100 нг/мл соответственно [9].

ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием

В настоящее время метод ВЭЖХ-МС/МС является одним из наиболее высокоселективных и чувствительных, что требуется для измерения низких concentra-

ций эндогенного убихинона и убихинола в плазме крови для диагностики патологий.

При обнаружении убихинона методом масс-спектрометрии использовались обращенно-фазовые колонки C18 при элюировании смесью метанол : изопропанол : муравьиная кислота в соотношении 45:55:0,05 [2], или смесью изопропанола и метанола (1:4) [31], или смесью метанола с 5 мМ формиатом аммония [1, 15]. Соотношение m/z для убихинона составляло 880,7, а для убихинола – 882,7 m/z [1]. Продемонстрирована возможность одновременного определения окисленных и восстановленных форм коэнзима Q₁₀ методом ВЭЖХ-МС без протекания каких-либо вторичных процессов во время детектирования в отличие от электрохимического (восстановительные процессы) или других видов детектирования (окисление убихинола во время анализа) [1].

В отличие от использования электрохимического детектора масс-спектрометр обладает более высокой чувствительностью. Авторы [20] провели анализ на колонке Synergi Hydro RP при элюировании подвижной фазы, в состав которой входило 60% изопропанола и 40% ацетонитрила. Использовали режим химической ионизации при атмосферном давлении с регистрацией отрицательных ионов (напряжение коронного разряда – 3 кВ, скорость подачи газа – 2,5 л/мин, температура источника – 275°C). Достигнуты пределы обнаружения Q₁₀H₂ и Q₁₀, составившие 30 и 5 нг/мл соответственно [20]. В других исследованиях при применении электрораспылительной ионизации предел обнаружения убихинола составил 15,8 нг/мл [1].

Другими авторами [32] предложен метод одновременного определения убихинона и убихинола с помощью усиленной ионизации раствором хлорида лития (LiCl) в режиме селективного мониторинга множественных реакций (MRM). Ионизация раствором LiCl и использование режима MRM открыли новую страницу в количественном определении CoQ₁₀. Разработанный метод является простым, быстрым, универсальным и чувствительным. Чувствительность данного метода возросла в 50 раз [32].

Кроме того, в современном анализе использует метод сверхпроизводительной жидкостной хроматографии (UPLC) в тандеме с масс-спектрометрией и одношаговой экстракцией пропанолом. Несмотря на то, что стабильность убихинола в пропаноле ограничена, упрощенный процесс экстрагирования и скорость хроматографирования (4,2 мин) позволяет сделать большое количество анализов [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при помощи метода ВЭЖХ с УФ-детектором не представляется возможным определить соотношение убихинол/убихинон в плазме крови человека по причине его низкой чувствительности. В случае определения соотношения убихинол/убихинон методом ВЭЖХ с электрохимическим детек-

тором процесс пробоподготовки слишком трудоемок. Метод ВЭЖХ с МС-детектированием обладает высокой чувствительностью и селективностью, что позволяет широко его использовать в диагностических целях для определения соотношения убихинона и убихинола в качестве маркера окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

- J. Ruiz-Jimenez, F. Priego-Capote, J.M. Mata-Granados et al. Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q₁₀) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress // *J Chromatogr A*. 2007. V. 1175(2). P. 242–248.
- U. Singh, S. Devaraj, I. Jialal. Coenzyme Q₁₀ supplementation and heart failure // *Nutr Rev*. 2007. V. 65. P. 286–293.
- A. Mancini, R. Festa, R. Sebastiano et al. Hormonal influence on coenzyme Q(10) levels in blood plasma // *Int J Mol Sci*. 2011. V. 12(12). P. 9216–25.
- L. Miles, M.V. Miles, P.H. Tang et al. Ubiquinol: a potential biomarker for tissue energy requirements and oxidative stress // *Clin Chim Acta*. 2005. V. 360(1-2). P. 87–96.
- S. Yamashita, Y. Yamamoto. Simultaneous Detection of Ubiquinol and Ubiquinone in Human Plasma as a Marker of Oxidative Stress // *Anal. Biochem*. 1997. V. 250. P. 66–73.
- C. Leray, M.D. Andriamampandry, M. Freund et al. Simultaneous determination of homologues of vitamin E and coenzyme Q and products of alpha-tocopherol oxidation // *J Lipid Res*. 1998. V. 39(10). P. 2099–2105.
- Е.И. Каленикова, Е.В. Харитоновна, Е.А. Городецкая и др. Редокс-статус и фармакокинетика коэнзима Q₁₀ в плазме крови крысы после его однократного внутривенного введения // *Биомедицинская химия*. 2015. Т. 61(1). С. 125–131.
- F. Aberg et al. Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues // *Arch Biochem Biophys*. 1992. V. 295(2). P. 230–234.
- А.В. Пирогов, Е.Б. Попов, М.В. Попик и др. Одновременное определение окисленной и восстановленной форм коэнзима Q₁₀ в плазме крови методом микроэмульсионной жидкостной хроматографии // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2013. № 5. С. 86–91.
- D. Armstrong. Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols // *Methods in Molecular Biology*. 2002. V. 186. P. 319.
- R. Saini. Coenzyme Q₁₀: The essential nutrient // *J Pharm Bioallied Sci*. 2011. V. 3(3). P. 466–467.
- H. Mabuchi, T. Hagashikata, M. Kawashiri et al. Reduction of serum ubiquinol-10 and ubiquinone-10 levels by atorvastatin in hypercholesterolemic patients // *J Atheroscler Thromb*. 2005. V. 12(2). P. 111–119.
- C.C. Ferreira-Barros, E.K. Sugawara, L.R. Sanches. Determination of a method for extraction of coenzyme Q₁₀ in human plasma: optimization of the use of surfactants and other variables // *Einstein (Sao Paulo)*. 2012. V. 10(2). P. 203–238.
- P.H. Tang, M.V. Miles, L. Miles et al. HPLC analysis of reduced and oxidized coenzyme Q(10) in human plasma // *Clin Chem*. 2001. V. 47(2). P. 256–265.
- A.J. Claessens, C.K. Yeung, L.J. Risler et al. Rapid and sensitive analysis of reduced and oxidized coenzyme Q₁₀ in human plasma by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and application to studies in healthy human subjects // *Ann Clin Biochem*. 2016. V. 53(2). P. 265–73.
- G.M. Abdallah, S.M. El-Sayed, O.M. Abo-Salem. Effect of lead toxicity on coenzyme Q levels in rat tissues // *Food Chem Toxicol*. 2010. V. 48(6). P. 1753–1756.
- M. Contin, M. Martinfeski, S. Lucangioli et al. New analytical strategies applied to the determination of Coenzyme Q₁₀ in biological matrix // *Methods Mol Biol*. 2015. V. 1208. P. 409–420.
- T.R. Kommuru, M. Ashraf, M.A. Khan et al. Stability and bioequivalence studies of two marketed formulations of coenzyme Q₁₀ in beagle dogs // *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1999. V. 47(7). P. 1024–1028.
- K. Teshima, T. Kondo. Analytical method for ubiquinone-9 and ubiquinone-10 in rat tissues by liquid chromatography / turbo ion spray tandem mass spectrometry with 1-alkylamine as an additive to the mobile phase // *Anal Biochem*. 2005. V. 338(1). P. 12–19.
- А.А. Бендрышев. Определение витаминов и коэнзимов Q₉ и Q₁₀ в объектах со сложной матрицей методом жидкостной хроматографии: дисс. ... к.х.н. –М. 2012.
- Е.В. Харитоновна. Биофармацевтический анализ и фармакокинетика убидекаренона: дисс. ... к.фарм.н. –М. 2014.
- P. Jiang, M. Wu, Y. Zheng, et al. Analysis of coenzyme Q(10) in human plasma by column-switching liquid chromatography // *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2004. V. 805(2). P. 297–301.
- F. Mosca, D. Fattorini, S. Bompadre et al. Assay of coenzyme Q(10) in plasma by a single dilution step // *Anal Biochem*. 2002. V. 305(1). P. 49–54.
- S.C. Andrade, R.P.F. Guine, L.C.P. Roseiro. Determination of the content of coenzymes Q₉ and Q₁₀ in pork meat from different breeds // *Foodbalt*. 2014. P. 51–54.
- O.F. Abdul-Rasheed, Y.Y. Farid. Development of a new high performance liquid chromatography method for measurement of coenzyme Q₁₀ in healthy blood plasma // *Saudi Med J*. 2009. V.30(9). P. 1138–1143.
- J. Karpinska, B. Micoluk, R. Motkowski et al. HPLC method for simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and coenzyme Q₁₀ in human plasma // *J Pharm Biomed Anal*. 2006. V. 42(2). P. 232–236.
- M.T. Rodriguez-Estrada, A. Poerio, M. Mandrioli et al. Determination of coenzyme Q₁₀ in functional and neoplastic human renal tissues // *Anal Biochem*. 2006. V. 357(1). P. 150–152.
- I.N. Acworth, P.A. Ullucci, P.H. Gamache. Determination of oxidized and reduced CoQ₁₀ and CoQ₉ in human plasma/serum using HPLC-ECD // *Methods Mol Biol*. 2008. V. 477. P. 245–258.
- M. Battino, L. Leone, S. Bompadre. High-performance liquid chromatography EC assay of mitochondrial coenzyme Q₉, coenzyme Q₉H₂, coenzyme Q₁₀, coenzyme Q₁₀H₂, and vitamin E with a simplified on-line solid-phase extraction // *Methods Enzymol*. 2004. V. 378. P. 156–162.
- A.A. Franke, C.M. Morrison, J.L. Bakke et al. Coenzyme Q₁₀ in human blood: native levels and determinants of oxidation during processing and storage // *Free Radic Biol Med*. 2010. V. 48(12). P. 1610–1617.
- G. Hansen, P. Christensen, E. Tuchsén et al. Sensitive and selective analysis of coenzyme Q₁₀ in human serum by negative APCI LC-MS // *Analyst*. 2004. V. 129(1). P. 45–50.
- D. Kotnik, P. Jazbek-Krizman, M. Krizman et al. Rapid and Sensitive HPLC-MS/MS Method for Quantitative Determination of CoQ₁₀ // *Research on Precision Instrument and Machinery (RPIM)*. 2013. V. 2(1). P. 6–13.
- A. Hirayama, H. Kubo, M. Mita et al. High-sensitivity simultaneous analysis of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in human plasma // *J Chromatogr Sci*. 2008. V. 46(8). P. 717–721.