

Фармакоэкономика

Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология



FARMAKOEKONOMIKA

Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology

2025 Vol. 18 No. 4

№4
2025

Том 18

Биосенсоры для измерений уровней оксида азота NO в биосубстратах: систематический анализ

И.Ю. Торшин¹, О.А. Громова¹, Л.А. Майорова^{1,2}, А.Н. Громов¹

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва 119333, Российская Федерация)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет» (Шереметевский пр-т, д. 7, Иваново 153000, Российская Федерация)

Для контактов: Ольга Алексеевна Громова, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Оксид азота NO – сигнальная молекула, участвующая в многочисленных физических и патологических процессах в биологических системах. Высокочувствительные сенсорные материалы для измерения количеств NO *in vivo* в выдыхаемом воздухе и жидких средах организма (слюна, кровь, моча) могут быть полезным инструментом в диагностике и ведении пациентов с бронхолегочными, сердечно-сосудистыми, неврологическими и опухолевыми заболеваниями. Разработано несколько подходов к измерению NO в биосубстратах (включая выдыхаемый воздух) – флуоресценция/хемилюминесценция, электронный спиновый резонанс, электрохимические/амперометрические (органические и неорганические) и ферментативные/белковые сенсоры. Материалами для NO-сенсоров могут быть полупроводники, нитриды переходных металлов, комплексы фталоцианинов, производных порфирина и кобаламина с металлами. Создание сенсорных материалов на основе производных витамина B12 представляет собой актуальную исследовательскую задачу биомедицины. В статье систематизирована информация об использовании различных соединений в качестве материалов для NO-чувствительных и селективных сенсоров для измерения/оценки уровней NO в различных биосубстратах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

метаболиты оксида азота, диагностика, тест-полоски, сенсоры

Для цитирования

Торшин И.Ю., Громова О.А., Майорова Л.А., Громов А.Н. Биосенсоры для измерений уровней оксида азота NO в биосубстратах: систематический анализ. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2025; 18 (4): 560–570. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2024.278>.

Biosensors for measuring nitric oxide NO levels in biosubstrates: a systematic analysis

I.Yu. Torshin¹, O.A. Gromova¹, L.A. Maiorova^{1,2}, A.N. Gromov¹

¹ Federal Research Center “Computer Science and Control”, Russian Academy of Sciences (44 corp. 2 Vavilov Str., Moscow 119333, Russian Federation)

² Ivanovo State University of Chemistry and Technology (7 Sheremetevsky Ave., Ivanovo 153000, Russian Federation)

Corresponding author: Olga A. Gromova, e-mail: unesco.gromova@gmail.com

ABSTRACT

Nitric oxide NO is a signaling molecule involved in numerous physical and pathological processes in biological systems. Highly sensitive sensor materials for measuring NO amounts *in vivo* in exhaled air and in body fluids (saliva, blood, urine) can be a useful tool for diagnostics and management of patients with bronchopulmonary, cardiovascular, neurological and tumor diseases. Several approaches to measuring NO in biosubstrates (including exhaled air) have been developed: fluorescence/chemiluminescence, electron spin resonance, electrochemical/amperometric (organic and inorganic) and enzymatic/protein sensors. Semiconductors, transition metal nitrides, phthalocyanine complexes, porphyrin and cobalamin derivatives with metals can serve as materials for NO sensors. Creating sensor materials based on vitamin B12 derivatives is an urgent research task in biomedicine. The article systematizes information on using various compounds as materials for NO-sensitive and selective sensors to measure/evaluate NO levels in various biosubstrates.

KEYWORDS

nitric oxide metabolites, diagnostics, test strips, sensors

For citation

Torshin I.Yu., Gromova O.A., Maiorova L.A., Gromov A.N. Biosensors for measuring nitric oxide NO levels in biosubstrates: a systematic analysis. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2025; 18 (4): 560–570 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2024.278>.

Основные моменты**Что уже известно об этой теме?**

- Широко применяются тест-полоски для выявления алкоголя в слюне, кетонов, глюкозы, котинина, белка, билирубина, уробилиногена, лейкоцитов, аскорбата и нитритов в моче, а также веществ, вызывающих химическую зависимость, ряда лекарственных средств (метамфетамин, барбитураты) и патогенов (антигенов/антител вирусов гепатита, гриппа, COVID-19 и др.)
- Разработаны отдельные тест-системы для оценки содержания NO в слюне, которые схожи с лакмусовой бумагой и позволяют определять pH по цвету полоски с использованием специальной цветовой шкалы в течение 0,5–1 мин
- Совершенствование технологии производства тест-полосок позволяет достигать высокой точности показателей, особенно при использовании дополнительного полуавтоматического прибора-анализатора

Что нового дает статья?

- Систематизирована информация об использовании различных соединений в качестве материалов для NO-чувствительных и селективных сенсоров для измерения/оценки уровней NO в различных биосубстратах
- Методами топологического анализа изучен массив из всех имеющихся к настоящему времени публикаций по данному вопросу (n=1683)
- Валидированы аккуратность (чувствительность и селективность) различных NO-сенсорных систем

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- Разработка надежного метода обнаружения NO, который одновременно характеризовался бы высокой чувствительностью и селективностью, биосовместимостью, стабильностью и воспроизводимостью результатов в различных биосубстратах, все еще остается сложной научно-технической задачей
- Материалы на основе фталоцианинов и порфиринов могут быть использованы для разработки сенсоров NO в водных растворах и биологических субстратах
- Возможно применение производных витамина B12 в качестве чувствительного материала NO сенсоров

Highlights**What is already known about the subject?**

- Test strips are widely used to detect alcohol in saliva, ketones, glucose, cotinine, protein, bilirubin, urobilinogen, leukocytes, ascorbate and nitrates in urine, as well as substances that cause chemical dependence, a number of drugs (methamphetamine, barbiturates) and pathogens (antigens/antibodies of hepatitis viruses, influenza, COVID-19, etc.)
- Separate test systems have been developed to assess NO content in saliva, which are similar to litmus paper and allow determining pH by the color of the strip using a special color scale within 0.5–1 min
- Improvements in test strip production technology make it possible to achieve high accuracy of readings, especially when using an additional semi-automatic analyzer

What are the new findings?

- Information on using various compounds as materials for NO-sensitive and selective sensors for measuring/evaluating NO levels in various bio-substrates was systematized
- Using topological data analysis methods, an array of all currently available publications on this issue (n=1683) was studied
- The accuracy (sensitivity and selectivity) of different NO sensor systems was validated

How might it impact the clinical practice in the foreseeable future?

- The development of a reliable method for detecting NO, which would simultaneously be characterized by high sensitivity and selectivity, biocompatibility, stability and reproducibility of results in various biosubstrates, still remains a complex scientific and technical problem
- Phthalocyanine and porphyrin-based materials can be used to develop NO sensors in aqueous solutions and biological substrates
- It is possible to use vitamin B12 derivatives as a sensitive material for NO sensors

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Молекула оксида азота NO является эндотелиальным фактором релаксации сосудов, участвует в иммунном ответе, заживлении ран, нейротрансмиссии и других процессах. Биологические функции NO тесно взаимосвязаны с концентрациями молекул в соответствующих тканях. Например, в иммунной системе низкие уровни NO проявляют противовоспалительные эффекты (подавляя пролиферацию Т-хелперных клеток), а высокие ассоциированы с выраженной провоспалительной реакцией в ответ на бактериальные патогены. При повреждениях кожи высокий уровень NO стимулирует развитие длительного окислительного и нитрозативного стресса и приводит к затяжному заживлению раны, тогда как низкие концентрации, наоборот, способствуют ангиогенезу и регрануляции тканей при ранозаживлении [1]. Увеличение концентрации NO более 10 мкг/кг в выдыхаемом воздухе указывает на обострение воспалительных процессов в дыхательных путях. Повышенный уровень фракционного выдыхаемого NO также является био-

маркером астмы, аллергии, хронического бронхита и COVID-19 [2]. Данные примеры указывают на необходимость проведения точных измерений содержания NO в различных биосубстратах.

Еще один пример: в слезной жидкости NO регулирует многочисленные процессы на поверхности глаза (образование слез, заживление ран роговицы, тонус сосудов конъюнктивы и др.). Любое отклонение уровней NO от нормальных значений связано с различными глазными синдромами, включая микробный кератит, конъюнктивит, птеригиум, сухость глаз, ретинит, глаукому и т.д. Поэтому точный мониторинг NO может стать важным офтальмологическим инструментом [3].

Необходимость создания надежных тестовых систем для быстрой оценки уровня NO в течение нескольких минут имеет огромное практическое значение. Резкое падение выработки NO сопровождает угрожающие жизни критические состояния – прединфарктные и предынсультные состояния, перетренировку у спортсменов (вплоть до остановки сердца), шоковые состояния различного генеза, сепсис и т.д. Для мониторинга клеточных уровней NO (как непрерывного, так и при регуляр-

ных осмотрах пациентов) необходимы датчики (сенсоры) NO с достаточной чувствительностью, биосовместимостью и приемлемым временем измерений (секунды). Точные сенсоры NO в биосубстратах, включая выдыхаемый воздух, необходимы для проведения эффективной и безопасной терапии оксидом азота NO при индивидуальном титровании дозы у пациентов с гиперкапнической формой дыхательной недостаточности и признаками вторичной легочной артериальной гипертензии¹.

Следует подчеркнуть необходимость определения в биосубстратах уровней не только NO, но и его метаболитов (нитритов, нитратов, 3-нитротирозина). По этой причине точное обнаружение и количественное определение NO как в газовой фазе, так и в водной среде являются важными задачами для понимания патофизиологии многих заболеваний [2].

Приоритетным направлением создания NO-сенсоров является разработка таких сенсорных материалов, которые бы позволяли создавать дешевые системы экспресс-тестов для повсеместного применения и врачами, и самими пациентами. Как известно, для быстрого тестирования биосубстратов на предмет той или иной патологии или состояний используются визуальные тест-полоски, позволяющие оценить различные показатели (рН, уровни глюкозы, холестерина и др.).

Широко применяются тест-полоски для выявления алкоголя в слюне, кетонов, глюкозы, котинина (производное никотина), белка, билирубина, уробилиногена, лейкоцитов, аскорбата и нитритов в моче. Существуют тест-полоски для выявления определенных веществ, вызывающих химическую зависимость, лекарственных средств в моче (метамфетамин, барбитураты) и ряда патогенов (антигенов/антител вирусов гепатита, гриппа, COVID-19 и др.). Совершенствование технологии производства тест-полосок позволяет достигать высокой точности показателей, особенно при использовании дополнительного полуавтоматического прибора-анализатора.

Разработаны отдельные тест-системы для оценки содержания NO в слюне. Они схожи с лакмусовой бумагой, позволяющей определять pH по цвету полоски с использованием специальной цветовой шкалы в течение 0,5–1 мин. Слюна собирается утром после пробуждения или через 1–2 ч после еды, полоска погружается в слюну, выдерживается 10–20 с, после чего цвет полоски сравнивается с таблицей цветов. Несколько производителей уже освоили данную технологию контроля NO и заявляют аккуратность теста выше 90%². К сожалению, в научной литературе полностью отсутствует информация о NO-сенсорных материалах, входящих в состав этих полосок, и о реально валидированной аккуратности (чувствительности и селективности) данных тест-систем.

Цель – систематизация информации об использовании различных соединений в качестве материалов для NO-чувствительных и селективных сенсоров для измерения/оценки уровней NO в различных биосубстратах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

Поиск публикаций / Publications search

По запросу «nitric oxide» в базе биомедицинских публикаций PubMed/MEDLINE найдено 198 480 статей, а по запросу «“nitric oxide” AND sensor» – 1683. После загрузки данной выборки

проведен анализ этих 1683 публикаций по фундаментальным и клиническим исследованиям влияния микронутриентов на уровне NO. Для нахождения наиболее информативных ключевых слов выполнено сравнение с контрольной выборкой из 1683 текстов, случайно отобранных из 22 961 публикации, найденной по запросу «(Animals [MeSH Terms] OR Humans [MeSH Terms]) AND Oxidation-Reduction [MeSH Terms] AND Cells, Cultured [MeSH Terms] NOT nitric oxide NOT sensor».

Методы анализа / Analysis methods

Системный компьютерный анализ массива публикаций с использованием методов топологического и метрического анализа больших данных, разрабатываемых в научной школе академика РАН Ю.И. Журавлева [4–7], основан на нахождении наиболее информативных терминов (ключевых слов, их сочетаний, рубрик Международной классификации болезней 10-го пересмотра, разделов международной номенклатуры Gene Ontology и др.) при сравнении выборки литературы с контрольной выборкой публикаций по биомедицине. Все возможные ключевые слова сортировались по эмпирическим функционалам информативности Рудакова–Торшина в контексте комбинаторной теории разрешимости [8], затем проводилось комбинаторное тестирование условия разрешимости, чтобы из списка терминов выделить только те, которые обладают наибольшей информативностью и принципиально необходимы для выполнимости условия разрешимости (наиболее информативные термины). На основании данного списка терминов осуществлялся дальнейший поиск и отбор источников для обзора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ / RESULTS AND DISCUSSION

Метрическая диаграмма / Metric diagram

В результате проведенного анализа выделено 48 информативных биомедицинских терминов, отличающих публикации по сенсорным материалам для NO от публикаций в контроле (рис. 1).

Анализ метрических сгущений точек на диаграмме позволил выделить два кластера терминов: кластер 1 «Сенсорные материалы для датчиков NO», термины в котором, собственно, и описывают основную тему настоящего исследования, и кластер 2 «Взаимодействия сенсоров с живыми системами», который соответствует особенностям взаимодействия имеющихся сенсоров с клетками и тканями организма.

Термины кластера 1 соответствуют ряду важных аспектов механизмов действия и технологии производства сенсоров (датчиков) NO, включая чувствительность и селективность NO-сенсоров и их разновидности (электрохимический/электрокаталитический, газовый). Центральным моментом являются NO-чувствительные материалы, используемые для производства сенсоров на основе белков (гуанилаткиназа, гемопротеины, сенсор на основе гема), окислительно-восстановительных систем (редокс-сенсор).

Наиболее распространенным способом придания селективности электрохимическому датчику является химическая модификация поверхности сенсора/датчика. Эти модификации обычно используют физические характеристики NO (малый

¹ Патент RU2806575C1 «Способ лечения гиперкапнической дыхательной недостаточности с признаками вторичной легочной артериальной гипертензии».

² <https://berkeleylife.com/products/nitric-oxide-test-strips/>; <https://aliexpress.ru/item/1005005968674251.html>.



Рисунок 1. Метрическая диаграмма, отражающая взаимосвязи между терминами, которые описывают разнообразные аспекты разработки и применения NO-сенсоров. Диаграмма получена в результате систематического компьютерного анализа 1683 публикаций как оптимальная проекция многомерной метрической конфигурации на плоскость. Расстояние между парой любых точек, соответствующих паре терминов, обратно пропорционально «взаимодействию» терминов, т.е. их совместной встречаемости в исследованной выборке публикаций (чем ближе две произвольные точки, тем чаще встречается совместное употребление термина). Биологические активности по международной номенклатуре Gene Ontology приведены на рисунке без кодов

Figure 1. Metric diagram reflecting the map of relationships between terms describing various aspects of NO sensor development and application. The diagram was obtained as a result of systematic computer analysis of 1683 publications as an optimal projection of a multidimensional metric configuration onto a plane. The distance between any pair of points corresponding to a pair of terms is inversely proportional to the “interaction” of the terms, i.e. their joint occurrence in the studied sample of publications (the closer two arbitrary points, the more often the joint use of terms occurs). Biological activities according to the international nomenclature Gene Ontology are shown in the figure without codes

размер, нейтральный заряд, липофильность), чтобы обеспечить селективный доступ NO к электроактивной поверхности, одновременно блокируя или отклоняя интерферирующие виды. Известны следующие модификаторы электродов: фторированый ксерогель, оксид индия и олова, восстановленный оксид графена, 3-аминофенилбороновая кислота, ортофенилендиамин, политетрафторэтилен, 3-аминопропил-триэтоксисилан, сален (бис-2-гидроксибензальдегид-этилендиамин), углеродные нанотрубки, мелдолинский синий, соединения железа (гексацианоферрат, железо(III) тетра-4-карбоксифенил-порфирина) [1]. NO-чувствительные материалы для изготовления NO-сенсоров включают ряд белков (гемосодержащие миоглобин, гемоглобин, цитохром С, гуанилатцилаза, а также микропероксидаза, супероксиддисмутазы, каталаза), металлопорфирины и металлофталоцианины, нафталин-1-илметилфосфоновую кислоту, гексадецилтрииметиламмоний бромид, 5-амино-1-нафтол и др. [1].

Кластер 2 сформирован терминами, описывающими взаимодействия сенсоров с клетками, тканями и другими биосубстратами, в которых измеряются уровни NO, и подчеркивает важные аспекты биосовместимости разрабатываемых сенсоров. Сенсоры оксида азота и их отдельные компоненты не должны провоцировать воспаление (GO:0004052 Арахидонат 12-липоксигеназа, GO:0008392 Арахидонат эпоксигеназа, GO:0050051 Лейкотриен-B4 20-монооксигеназа, GO:0050720 Биосинтез интерлейкина-1-бета, GO:0052598 Гистаминоксидаза), нарушать работу кальциевых каналов (GO:0032237 Кальциевые каналы, GO:1903170 Ионные каналы кальция, GO:0035585 Кальций-опосредованный сигнал, GO:0031856 Рецептор паратиреоидного гормона) и ферментов гомеостаза оксида азота (GO:0050421 Нитритредуктаза).

Виды сенсоров / Sensor types

В целом информацию о материалах, исследуемых при разработке биосенсоров оксида азота, мы распределили по пяти рубрикам:

- электрохимические сенсоры (отличающиеся самой высокой чувствительностью);
- сенсоры на основе композитных наноматериалов (допускающих регулировки селективности посредством специальных материалов);
- спектроскопические (флуоресцентные, хемилюминесцентные) сенсоры;
- сенсорные материалы на основе белков;
- NO-сенсоры на основе порфиринов и фталоцианинов и производных витамина B12.

Электрохимические сенсоры

Электрохимическое определение NO основано на электроокислении NO до иона NO^+ на электроде датчика с последующим образованием нитрит-аниона NO_2^- . Анион NO_2^- электрохимически активен и может подвергаться последующему электрохимическому окислению на электроде сенсора (датчика) до нитрат-аниона. Регистрируемый сигнал при обнаружении NO электрохимическим методом представляет собой ток, генерируемый на поверхности электрода в результате окисления NO. Количество окисленного NO пропорционально току, протекающему между электродами в электрохимической ячейке, и начальной концентрации NO в биосубстрате [2].

С фундаментальной точки зрения электрохимические методы отличаются наибольшей точностью и могут быть приме-

нены для непрерывного мониторинга NO в реальном времени. Сравнение методов клинического мониторинга выдыхаемого NO хемилюминесцентными анализаторами, электрохимическими датчиками и масс-спектрометрии показало, что хемилюминесцентные NO-сенсоры несколько занижают уровни NO_2 в среде с высоким содержанием кислорода [9]. Тем не менее разработка соответствующих модификаций электрохимических NO-сенсоров для обеспечения адекватного уровня селективности, чувствительности и биосовместимости представляет собой актуальнейшую научно-техническую проблему [1].

Электрохимические сенсоры включают три поколения [1]:

- обнаружение электроактивных побочных продуктов;
- искусственные окислительно-восстановительные медиаторы для перемещения электронов к электроду;
- прямой перенос электронов между молекулой NO, окислительно-восстановительным центром и собственно электродом.

Электрохимические методы можно настраивать на селективность, чувствительность и биосовместимость в сложных биологических средах, они подходят для мониторинга высвобождения NO и ONOO^- в реальном времени.

Обнаружение NO, выделяемого живыми клетками, может быть достигнуто с помощью электрохимического сенсора на основе металлоорганического каркаса и пептида аргинин-глицин-аспартат (RGD) с пределом обнаружения 12 нМ и временем отклика 1 с, что подходит для практического применения при изучении биологических процессов и в клинической диагностике [10].

Для выявления NO в жидкой среде разработаны бумажные электрохимические датчики, интегрированные с золотыми наночастицами и углеродной тканью с низким пределом обнаружения (2,35 нМ), широким линейным диапазоном (10 – 400 000 нМ), быстрым временем отклика (0,35 с) [3]. Такой подход может быть использован и в разработке тест-полосок для NO (при условии применения дополнительного внешнего прибора, подобного глюкометру).

NO-сенсоры на основе композитных наноматериалов

Электрохимические сенсоры (датчики) NO на основе композитов представляют наиболее перспективное направление исследований, т.к. предполагают таргетную регулировку селективности сенсора для заданной биосреды (выдыхаемый воздух, слюна, кровь, моча). Для устранения помех от анионов NO_2 , NO_3^- и других мешающих соединений (дофамин, ацетаминофен, мочевая и аскорбиновая кислоты и др.), присутствующих в биологических средах наряду с молекулами NO, используются полимерные мембранны, позволяющие отделять эффекты NO от эффектов всех остальных молекул. Нанесение мембран из нафиона (перфторированная полимерная сетка, содержащая сульфокислотные группы), поликарбазола, графена, металлоорганических каркасов, пористых наноуглеродных материалов, полистирола, фторированного ксерогеля и других веществ позволяет существенно увеличить чувствительность и селективность получаемых таким образом «композитных» NO-сенсоров [2].

В качестве материалов таких NO-сенсоров исследуются нанокристаллы ванадата висмута BiVO_4 , встроенные в нановолокна SnO_2 (предел обнаружения 50 мкг/кг) [11], нанопроволоки нитрида галлия (предел обнаружения 180 нМ) [12], платинированный нафлон [13], поли-п-фениленвинилен (предел обнаружения 23 нМ) [14], пирохлорат нафиона/рутената свинца с двойной сенсорной активностью для NO и NO_2^- (предел

обнаружения 4,8 нМ для NO^{2-} и 15,6 нМ для NO) [15], сверхтонкие нанопористые пленки поли-3-гексилтиофена (предел обнаружения 33 нМ для NO) [16].

В частности, для скрининга воспаления дыхательных путей могут потребоваться специальные датчики NOx на основе нанокомпозитных материалов. Например, такой газовый датчик был сконструирован из проводящего металлоорганического каркаса (cobальт-2,3,6,7,10,11-гексааминонитрофенилен с хлоридом полидиметилдиаллиламмония) и оксида графена. По сравнению с простыми датчиками на основе оксида графена этот нанокомпозит показывает значительно улучшенную чувствительность и селективность к NOx среди различных газовых анализаторов благодаря своей складчатой и пористой структуре, а также многочисленным активным центрам. Предел обнаружения для NO – 11 мкг/кг, для NO_2 – 7 мкг/кг при комнатной температуре. При клиническом использовании данные, полученные от такого сенсора, могут позволить дифференцировать пациентов с острым воспалением дыхательных путей от пациентов с хроническим воспалением [17].

Нанокомпозитные материалы также позволяют увеличивать чувствительность сенсора к оксиду азота. Например, датчик NO в газовой фазе при комнатной температуре, разработанный на основе нанокомпозита полианилина и оксида вольфрама, легированного ионами меди, крайне чувствителен к NO в газообразной среде при комнатной температуре в сухом азоте. Низкий предел обнаружения NO – менее 0,01 нМ. При содержании NO в газовой фазе всего в количестве 1 мкг/кг отношение «сигнал/шум» равно 17 с высокой селективностью к NO без существенной реакции на молекулы O_2 , NH_3 или CO_2 [18].

Флуоресцентные, хемилюминесцентные и другие спектроскопические сенсоры

Традиционно спектроскопия и электрохимия являются единственными методами, которые позволяют напрямую обнаруживать NO. В хемилюминесцентных методах реакция NO с озоном производит диоксид азота в возбужденном состоянии, который испускает детектируемый фотон при релаксации в основное состояние. С помощью аддуктов NO, образованных со специализированными красителями или спиновыми ловушками, проводится флуоресцентное и электронно-парамагнитное резонансное обнаружение. Спектроскопические методы обеспечивают высокую чувствительность (предел обнаружения – пикомоли) и присущую им селективность, но они в значительной степени ограничены необходимостью использования сложной аппаратуры и дополнительных реагентов, вводимых в среду образца. Более того, не обратимое образование аддуктов в некоторых случаях препятствует мониторингу колебаний NO в реальном времени [1].

Наиболее распространенный подход к обнаружению NO включает использование о-диаминоароматических соединений в аэробных условиях (рис. 2а). Эти соединения реагируют с NO^+ или N_2O_3 , образуя флуоресцентные производные триазола. Включение сигналов флуоресценции достигается путем ингибирования фотоиндуцированного переноса электронов, в т.ч. с флуорофорами на основе родамина, где флуоресценция восстанавливается при открытии кольца в присутствии NO (рис. 2б). Также сообщалось о другом подходе включения флуоресцентного сенсора для NO посредством окислительно-дезаминирования ароматического первичногоmonoамина (рис. 2с) или с реакцией N-нитрозирования, приводящей к образованию диазорного кольца (рис. 2д) [19].

Флуоресцентный NO-сенсор на основе родамина-В и 2-пирдин-2-илметоксибензальдегида может функционировать в водной среде и использоваться как внутриклеточный NO-сенсор. Реакция материала сенсора с NO приводит к образованию нитрозогидроксиламина с селективным открытием спиро-лактамного кольца, вызывая заметное усиление поглощения и испускания. Самый низкий предел обнаружения составил 83 нМ. Сенсор обладает низкой цитотоксичностью [19].

Флуоресцентный наносенсор для обнаружения NO в живых клетках в процессе состоит из NO-распознающего фрагмента (адамантил-о-фенилендиамина), флуорофора (родамин-В, детекция связывания NO) и биосовместимого полимера циклодекстринина (несущая структура материала сенсора). Молекула о-фенилендиамина реагирует с NO (при pH<7,0), что сопровождается изменением цвета флуоресценции с фуксии на розовый. Предел обнаружения NO составил 22,3 нМ (0,7 мг/кг). Этот наносенсор успешно использовался для визуализации NO в живых макрофагах при изучении NO-опосредованного воспаления [20].

Адекватный подход к молекулярной инженерии позволил разработать двухчувствительный флуоресцентный сенсор для обнаружения как NO, так и диоксида серы. Флуоресцентный сенсор был создан на основании молекулы CGT (производное 4-бром-нафталинового ангидрида, 4-диэтиламиносалицилолового альдегида и 4-1-пiperазинил ацетофенона) с двумя различными излучающими флуорофорами (нафталимид и ксантин). Когда сенсор инкубировался с HSO_3^- , цвет тестового раствора изменялся на темно-желтый, без флуоресценции. После добавления NO^{2-} цвет раствора менялся на желтый с ярко-голубой эмиссией. Если сначала добавляли NO^{2-} , цвет изменялся на темно-фиолетовый с белой эмиссией, а при дальнейшем добавлении HSO_3^- – на желтый с ярко-голубой эмиссией. Сенсор на основе CGT показал высокую чувствительность и селективность по отношению к $\text{SO}_2/\text{HSO}_3^-$ (предел обнаружения 20,2 нМ) и NO/NO^{2-} (предел обнаружения 4,1 нМ) [21].

Для разработки флуоресцентных NO-сенсоров также исследуются комплексы полипиридиндиамина рения (I) [22]. Комплексы меди (II) с дансил-3-диметиламино-пропиламино или дансил-дипропилентриамино функционируют в нейтральном водном растворе (pH 7,2) [23]. Наносферы, наполненные флуорофором дансил-пиперазином (Ds-pip) и солью родия, флуоресцируют, когда комплекс «флуорофор – родий» разрушается при связывании NO [24].

Белковые сенсоры

Внутри клетки представлены особые гемосодержащие белки, специфически взаимодействующие с NO и участвующие в реализации его биологической активности. Известно, что гемоглобин, миоглобин, цитохром C и растворимая гуанилатцилаза специфично связывают молекулу NO посредством окислительно-восстановительного центра (железо II/III в составе гема) [1]. Растворимая гуанилатцилаза – природный белок-сенсор NO, участвующий в реализации биологических эффектов NO на вазодилатацию и заживление ран. Железосодержащий гем b-типа находится в N-концевом NO-связывающем домене гуанилатцилазы и координируется через остаток гистидина His-105 (рис. 3) [25].

Газосвязывающие гемосодержащие белки (гемоглобин, цитохромы P450, гуанилатцилаза и др.) специфично взаимодействуют с NO, и это может быть использовано для создания NO-сенсоров. Наличие в гемосвязывающем кармане такого

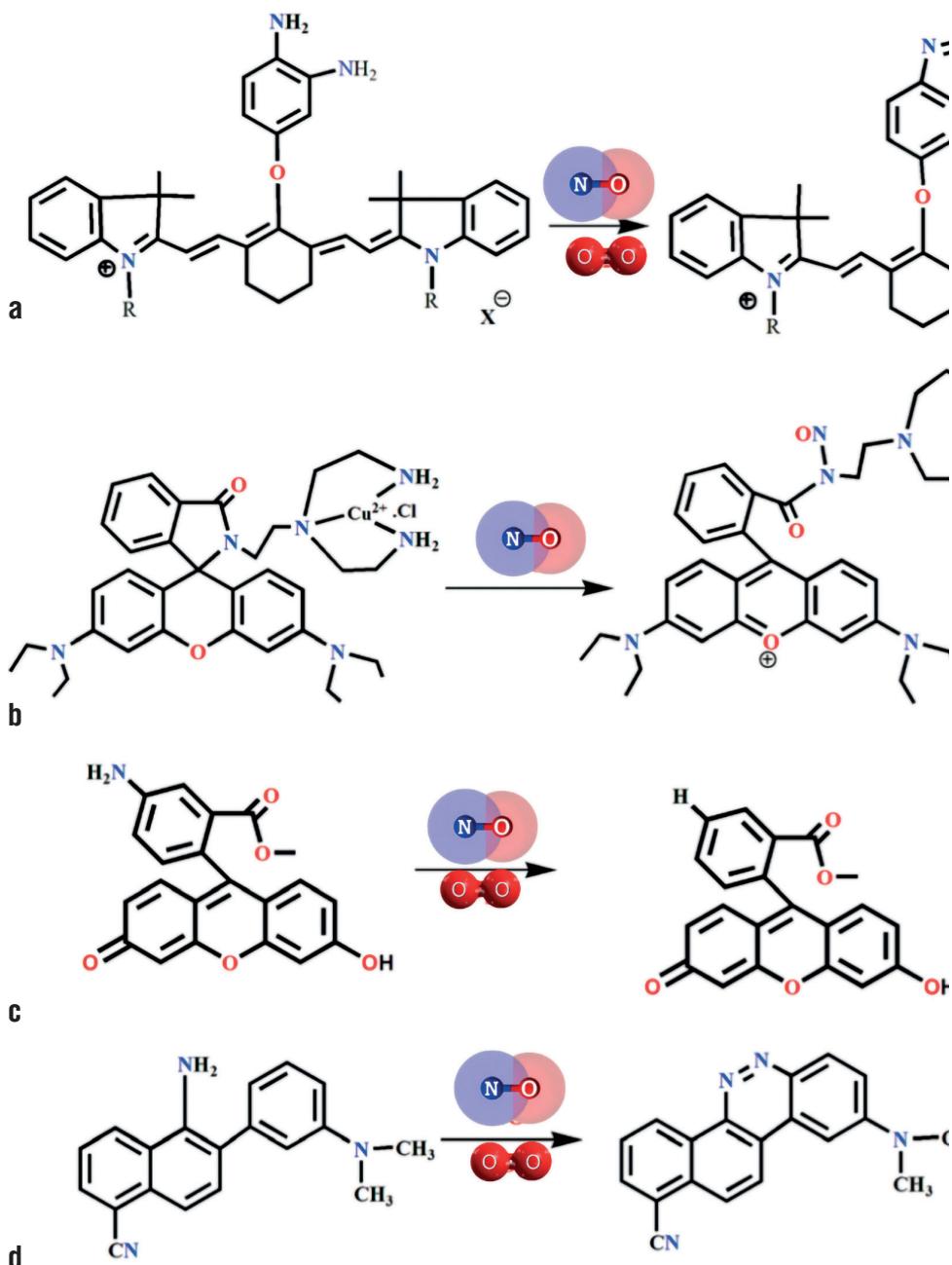


Рисунок 2. Типичные механизмы обнаружения NO с помощью флуорофоров (а-д) (адаптировано из [19])

Figure 2. Typical mechanisms of NO detection using fluorophores (a-d) (adapted from [19])

белка двух остатков фенилаланина, расположенных вблизи дистального газосвязывающего сайта, способствует специфичности взаимодействия белка с NO. Конформационное изменение структуры белка при связывании молекулы NO можно применить для создания более чувствительных сенсоров [26].

Действительно, разработан электрохимический биосенсор на основе цитохрома CYP55B1 для измерения уровней внеклеточного NO посредством иммобилизации CYP55B1 на поверхности пиролитического графитового электрода за счет сшивания с бычьим сывороточным альбумином. Средство белка к NO составило 12 нМ, предел обнаружения – 0,5 нМ (для отношения «сигнал/шум» 3) при линейном диапазоне 5–50 нМ [27]. NO-сенсор на основе нанопленок гемоглобина/полиэтиленимина на поверхности графитового электрода характеризовался пределом обнаружения NO 40 нМ [28]. Простой и доста-

точно чувствительный электрокаталитический NO-биосенсор разработан на основе пероксидазы хрена, зафиксированной на наночастицах золота в металлоорганическом многослойном каркасе (широкий линейный диапазон 33 – 5 370 000 нМ, нижний предел обнаружения NO 10 нМ) [29]. Недостатком содержащих белок сенсорных материалов является сложность изготовления, дороговизна и невысокая стабильность (что делает необходимой частую замену сенсоров).

Сенсоры на основе порфиринов, фталоцианинов и производных витамина B12

Производные порфирина и фталоцианина в связи с их свойствами образовывать комплексы с большинством ионов металлов и разнообразной координационной химией часто используются для разработки селективных NO-сенсоров [2].

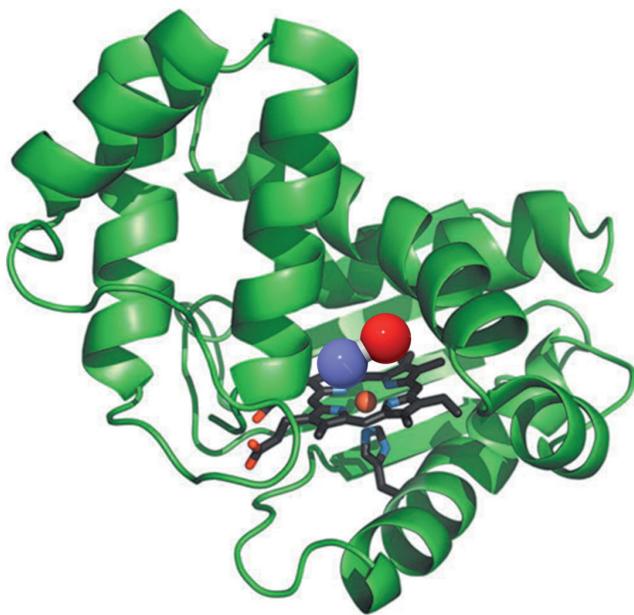


Рисунок 3. Структура NO-связывающего домена гуанилилцилазы. Гем и аминокислотный остаток His-105 показаны в виде решетчатой модели. Спираль, являющаяся частью механизма передачи сигнала при связывании NO, содержит His-105 и находится в нижней части рисунка (адаптировано из [25])

Figure 3. Structure of the NO-binding domain of guanylyl cyclase. The heme and the amino acid residue His-105 are shown as a lattice model. The helix that is part of signal transduction mechanism upon NO binding contains His-105 and is located at the bottom of the figure (adapted from [25])

Металлопорфириновые наносенсоры (диаметром 200–300 нм) можно точно позиционировать в клеточной мембране и использовать для мониторинга NO и пероксинитрита в отдельных клетках. Время отклика таких сенсоров меньше миллисекунды, а пределы обнаружения для NO и ONOO⁻ составляют 1 и 3 нМ соответственно [30].

Материалы на основе фталоцианинов и порфиринов могут быть использованы для разработки сенсоров NO в водных растворах и биологических субстратах [2]. Молекулярный биосенсор на базе координированного комплекса железа с порфириновым ядром, встроенным в структуру растворимого фермента гуанилатцилазы, позволяет отличать связывание CO от NO вследствие различия в спектрах кругового дихроизма (в отличие от CO, молекула NO изгибаются при взаимодействии с железом порфирина, что видно при получении полного спектра) [31].

Перспективным направлением разработки сенсорных материалов для NO является использование химических производных витамина B12. Структура корринов (соединений, схожих по строению с витамином B12) представляет собой своего рода универсальный химический шаблон для таргетной доставки лекарств, разработки химических сенсоров и антидотов. Свойства производных витамина B12 могут регулироваться путем введения специфических замещений групп в различных позициях корринового кольца [32].

Кобинамид связывает NO с высокой аффинностью [33]. NO имеет высокое сродство к кобаламину Cbl(II) но не реагирует с Cbl(III) при нейтральном pH. Кобинамид характеризуется в 100 раз большим сродством к NO, чем Cbl(II) [34]. Комплекс Cbl(III)-NO стабилен. Аденозилкобаламин и метилкобаламин восприимчивы к фотолизу, а цианокобаламин и аквакобаламин – нет. Cbl(II)-нитрозил медленно окисляется с обра-

зованием Cbl(III)-NO. Образование нитрозилкобаламинового комплекса Cbl(III)-NO снижает коферментную активность кобаламина в составе фермента метионинсинтазы, что позволяет количественно характеризовать NO, связанный с кобаламином, посредством спектрофотометрии [35].

Исследования взаимодействия NO с кобаламинами показали, что комплекс Cbl(III)-NO идентифицируется посредством спектроскопической технологии электронного парамагнитного резонанса [36]. Электрохимические и спектральные исследования реакций аквакобаламина с NO и нитрит-ионом продемонстрировали, что аквакобаламин AqCbl(III) восстанавливается NO с образованием AqCbl(II) [37]. Восстановленная форма аквакобаламина AqCbl(II) эффективно связывает NO с формированием нитрозильного аддукта AqCbl(II)-NO, который имеет уникальные спектральные характеристики [38].

Хемореактомный анализ различных форм витамина B12 (цианокобаламина, аквакобаламина, гептаметилового эфира цианоаквакобириновой кислоты, гептаметилового эфира дицианокобириновой кислоты и стабильного желтого корриноида) указал на хорошую биосовместимость, более того – на нейропротекторные свойства [39].

В наших работах было показано также, что полусинтетическое слегка гидрофобное производное витамина B12 (гептаметиловый эфир аквацианокобириновой кислоты) проявляет биологическую активность *in vivo*. Витамин B12 был успешно инкапсулирован в наноинженерные микронные полимерные капсулы [40]. Внутри капсул соединение существует в формеnanoструктур. Недавно нами был продемонстрирован первый пример формирования наночастиц безнуклеотидного аналога витамина B12 (ACmCby) в белковых наноносителях и показана нейропротекторная активность *in vivo* этой собственной наноформы препарата [41]. Изучено влияние инкапсулированных препаратов на характер и тяжесть первично-генерализованных судорог у крыс, вызванных фармакотоксикантом тиосемикарбазидом. Цианокобаламин и ACmCby проявили нейропротекторное действие. Наилучшее влияние инкапсуляции на эффективность препаратов достигнуто в случае ACmCby, биодоступность которого как нейропротектора не изменилась при введении в частицы бычьего сывороточного альбумина, т.е. при применении ACmCby в свободной форме и в инкапсулированном состоянии выжили 33% животных. Без введения препаратов выживших крыс не наблюдалось.

Формирование молекулярных сборок на интерфейсах является специфической чертой этого класса соединений [42–45]. Самосборка – ключевой процесс в формировании наночастиц, в т.ч. биоактивных соединений с улучшенными свойствами по сравнению с исходными молекулами [46–49]. Была продемонстрирована возможность самосборки соединений в 2D- и 3D-nanoструктуры, обладающие контролируемыми свойствами [50–55]. Получение подобных наночастиц лекарственных препаратов и исследование их свойств *in vitro* и *in vivo* – зарождающееся направление в наномедицине. Мы сообщили о полученных таким способом супермолекулярных наночастицах производного витамина B12 (а именно гептабутилового эфира аквацианокобириновой кислоты, ACBuCby) – уникальных, проявляющих сильные нековалентные межмолекулярные взаимодействия и обладающих интригующими свойствами [56]. Помимо воспроизведения функциональных свойств комплексов витамина B12 с белками в живых организмах наночастицы обладают важными преимуществами по сравнению с витамином B12. Они более эффективны в реак-

циях восстановления/выделения кислорода и превращениях в другие формы [55]. Показана быстрая реакция тонких пленок на основе этих наночастиц на газообразные токсины, особенно опасные для человека (цианистый водород, аммиак, диоксид серы и сероводород) [57]. Такие наночастицы могут стать альтернативной формой лекарственных средств, широко используемых в медицине (в частности, витамина B12) а также тонкопленочных тест-систем для медицинского применения.

Таким образом, имеющиеся данные открывают новое и практически не исследованное направление разработки наноматериалов для NO-сенсоров на основе наночастиц химических производных витамина B12.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

Для ранней диагностики и оценки эффектов лечения необходим новый биоаналитический метод мониторинга метаболита NO, связанного с воспалительными заболеваниями. Процесс

определения NO в биосубстратах подразумевает соблюдение ряда специальных требований к сенсорам (датчикам) – простая подготовка образцов, малые размеры, предел обнаружения не менее 10 мкг/кг, невысокая стоимость. Общими требованиями к сенсорным материалам являются высокая чувствительность к NO при очень низких концентрациях и селективность в присутствии факторов окружающей среды.

Несмотря на разнообразие NO-сенсоров, описанных в настоящей работе, разработка надежного метода обнаружения NO, который одновременно характеризовался бы высокой чувствительностью и селективностью, биосовместимостью, стабильностью и воспроизводимостью результатов в различных биосубстратах, все еще остается сложной научно-технической задачей. Новейшим направлением исследований в данной области является оценка возможностей применения новых производных витамина B12, в т.ч. тонкопленочных наноматериалов на их основе, в качестве чувствительного материала NO сенсоров.

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ	ARTICLE INFORMATION
Поступила: 18.10.2024 В доработанном виде: 11.11.2024 Принята к печати: 20.11.2024 Опубликована онлайн: 22.11.2024	Received: 18.10.2024 Revision received: 11.11.2024 Accepted: 20.11.2024 Published online: 22.11.2024
Вклад авторов	Authors' contribution
Все авторы принимали равное участие в сборе, анализе и интерпретации данных. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи	All authors participated equally in the collection, analysis and interpretation of the data. All authors have read and approved the final version of the manuscript
Конфликт интересов	Conflict of interests
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interests
Финансирование	Funding
Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-12-00175-п на базе ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет»	The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 20-12-00175-p on the basis of Ivanovo State University of Chemistry and Technology
Этические аспекты	Ethics declarations
Неприменимо	Not applicable
Комментарий издателя	Publisher's note
Содержащиеся в этой публикации утверждения, мнения и данные были созданы ее авторами, а не издательством ИРБИС (ООО «ИРБИС»). Издательство снимает с себя ответственность за любой ущерб, нанесенный людям или имуществу в результате использования любых идей, методов, инструкций или препаратов, упомянутых в публикации	The statements, opinions, and data contained in this publication were generated by the authors and not by IRBIS Publishing (IRBIS LLC). IRBIS LLC disclaims any responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred in the content
Права и полномочия	Rights and permissions
© 2025 Авторы; ООО «ИРБИС» Статья в открытом доступе по лицензии CC BY-NC-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)	© 2025 The Authors. Publishing services by IRBIS LLC This is an open access article under CC BY-NC-SA license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Brown M.D., Schoenfisch M.H. Electrochemical nitric oxide sensors: principles of design and characterization. *Chem Rev.* 2019; 119 (22): 11551–75. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00797>.
- Klyamer D., Shutilov R., Basova T. Recent advances in phthalocyanine and porphyrin-based materials as active layers for nitric oxide chemical sensors. *Sensors.* 2022; 22 (3): 895. <https://doi.org/10.3390/s22030895>.
- Patra D.C., Mondal S.P. Paper-based electrochemical sensor integrated with gold nanoparticle-decorated carbon cloth as a working electrode for nitric oxide detection in artificial tears. *ACS Appl Bio Mater.* 2024; 7 (8): 5247–57. <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c00425>.
- Torshin I.Yu. On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation. *Pattern Recognit Image Anal.* 2010; 20: 386–95. <https://doi.org/10.1134/S1054661810030156>.
- Торшин И.Ю. О задачах оптимизации, возникающих при применении топологического анализа данных к поиску алгоритмов прогнозирования с фиксированными корректорами. *Информатика и ее применения.* 2023; 17 (2): 2–10. <https://doi.org/10.14357/19922264230201>.
Torshin I.Yu. On optimization problems arising from the application of topological data analysis to the search for forecasting algorithms with fixed correctors. *Informatics and Applications.* 2023; 17 (2): 2–10 (in Russ.).
- Торшин И.Ю. О формировании множеств прецедентов на основе таблиц разнородных признаковых описаний методами топологической теории анализа данных. *Информатика и ее применения.* 2023, 17 (3): 2–7. <https://doi.org/10.14357/19922264230301>.
Torshin I.Yu. On the formation of sets of precedents based on tables of

- heterogeneous feature descriptions by methods of topological theory of data analysis. *Informatics and Applications.* 2023; 17 (3): 2–7 (in Russ.).
7. Торшин И.Ю., Громова О.А., Стакховская Л.В. и др. Анализ 19,9 млн публикаций базы данных PubMed/MEDLINE методами искусственного интеллекта: подходы к обобщению накопленных данных и феномен “fake news”. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13 (2): 146–63. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2020.021>.
- Torshin I.Yu., Gromova O.A., Stakhovskaya L.V., et al. Analysis of 19.9 million publications from the PubMed/MEDLINE database using artificial intelligence methods: approaches to the generalizations of accumulated data and the phenomenon of “fake news”. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoevidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2020; 13 (2): 146–63 (in Russ.).
8. Торшин И.Ю., Громова О.А. Проблемы использования фенола (гидроксибензола) и парабенов в качестве стабилизаторов фармацевтических средств: анализ с применением методов машинного обучения. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2025; 18 (1): 125–39. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2024.263>.
- Torshin I.Yu., Gromova O.A. Problems of using phenol (hydroxybenzene) and parabens as pharmaceutical stabilizers: analysis using machine learning methods. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoevidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2025; 18 (1): 125–39 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2024.263>.
9. Etches P.C., Harris M.L., McKinley R., Finer N.N. Clinical monitoring of inhaled nitric oxide: comparison of chemiluminescent and electrochemical sensors. *Biomed Instrum Technol.* 1995; 29 (2): 134–40.
10. Zhao T., Shu T., Lang J., et al. An Fe-organic framework/arginine-glycine-aspartate peptide-modified sensor for electrochemically detecting nitric oxide released from living cells. *Biomater Sci.* 2023; 11 (23): 7579–87. <https://doi.org/10.1039/d3bm00923h>.
11. Ma Z., Ma Z., Tang Z., et al. Construction of trace nitric oxide sensors at low temperature based on bulk embedded BiVO₄ in SnO₂(2) nanofibers with nano-heterointerfaces. *Talanta.* 2024; 281: 126814. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126814>.
12. Chandran B., Janakiraman K. New disposable nitric oxide sensor fabrication using GaN nanowires. *ACS Omega.* 2019; 4 (17): 17171–6. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01609>.
13. Zajda J., Schmidt N.J., et al. Performance of amperometric platinized-nafion based gas phase sensor for determining nitric oxide (NO) levels in exhaled human nasal breath. *Electroanalysis.* 2018; 30 (8): 1610–5. <https://doi.org/10.1002/elan.201800140>.
14. Wang Y., Hu S. Nitric oxide sensor based on poly (p-phenylenevinylene) derivative modified electrode and its application in rat heart. *Bioelectrochemistry.* 2009; 74 (2): 301–5. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2008.11.002>.
15. Zen J.M., Kumar A.S., Wang H.F. A dual electrochemical sensor for nitrite and nitric oxide. *Analyst.* 2000; 125 (12): 2169–72. <https://doi.org/10.1039/b008176k>.
16. Jeong G., Shin S.Y., Kyokunzire P., et al. High-performance nitric oxide gas sensors based on an ultrathin nanoporous poly(3-hexylthiophene) film. *Biosensors.* 2023; 13 (1): 132. <https://doi.org/10.3390/bios13010132>.
17. Xu S., Liu X., Wu J., Wu J. NO(x) sensor constructed from conductive metal-organic framework and graphene for airway inflammation screening. *ACS Sens.* 2023; 8 (6): 2348–58. <https://doi.org/10.1021/acssensors.3c00428>.
18. Wang S.H., Shen C.Y., Su J.M., Chang S.W. A room temperature nitric oxide gas sensor based on a copper-ion-doped polyaniline/tungsten oxide nanocomposite. *Sensors.* 2015; 15 (4): 7084–95. <https://doi.org/10.3390/s150407084>.
19. Alam R., Islam A.S.M., Sasmal M., et al. A rhodamine-based turn-on nitric oxide sensor in aqueous medium with endogenous cell imaging: an unusual formation of nitrosohydroxylamine. *Org Biomol Chem.* 2018; 16 (21): 3910–20. <https://doi.org/10.1039/c8ob00822a>.
20. Yang Q., Zhou Y., Tan L., et al. Rationally constructed de novo fluorescent nanosensor for nitric oxide detection and imaging in living cells and inflammatory mice models. *Anal Chem.* 2023; 95 (4): 2452–9. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04640>.
21. Tan L., Yang Q., Peng L., et al. Molecular engineering-based a dual-responsive fluorescent sensor for sulfur dioxide and nitric oxide detecting in acid rain and its imaging studies in biosystems. *J Hazard Mater.* 2022; 435: 128947. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128947>.
22. Choi A.W., Yim V.M., Liu H.W., Lo K.K. Rhenium(I) polypyridine diamine complexes as intracellular phosphorogenic sensors: synthesis, characterization, emissive behavior, biological properties, and nitric oxide sensing. *Chemistry.* 2014; 20 (31): 9633–42. <https://doi.org/10.1002/chem.201402502>.
23. Kumar P., Kalita A., Mondal B. Copper(II) complexes as turn on fluorescent sensors for nitric oxide. *Dalton Trans.* 2012; 41 (35): 10543–8. <https://doi.org/10.1039/c2dt31068f>.
24. Yang L.H., Ahn D.J., Koo E. A “turn-on” fluorescent microbead sensor for detecting nitric oxide. *Int J Nanomedicine.* 2014; 10: 115–23. <https://doi.org/10.2147/IJN.S74924>.
25. Montfort W.R., Wales J.A., Weichsel A. Structure and activation of soluble guanylyl cyclase, the nitric oxide sensor. *Antioxid Redox Signal.* 2017; 26 (3): 107–21. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6693>.
26. Adams H.R., Svistunenko D.A., Wilson MT., et al. A heme pocket aromatic quadrupole modulates gas binding to cytochrome c'-β: implications for NO sensors. *J Biol Chem.* 2023; 299 (6): 104742. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.104742>.
27. Wu Y., Jiang N., He Z., et al. Direct electrochemical detection of extracellular nitric oxide in *Arabidopsis* protoplast based on cytochrome P450 55B1 biosensor. *Nitric Oxide.* 2023; 132: 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2023.01.005>.
28. Liu X., Shang L., Pang J., Li G. A reagentless nitric oxide biosensor based on haemoglobin/polyethyleneimine film. *Biotechnol Appl Biochem.* 2003; 38 (Pt 2): 119–22. <https://doi.org/10.1042/BA20030056>.
29. Wang Y., Zhou Y., Chen Y., et al. Simple and sensitive nitric oxide biosensor based on the electrocatalysis of horseradish peroxidase on AuNPs@metal-organic framework composite-modified electrode. *Mikrochim Acta.* 2022; 189 (4): 162. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05268-8>.
30. Alsiraey N., Malinski T., Dewald H.D. Using metalloporphyrin nanosensors for in situ monitoring and measurement of nitric oxide and peroxynitrite in a single human neural progenitor cell. *ACS Sens.* 2024; 9 (6): 3037–47. <https://doi.org/10.1021/acssensors.4c00234>.
31. Salazar-Salinas K., Jauregui L.A., Kubli-Garfias C., Seminario J.M. Molecular biosensor based on a coordinated iron complex. *J Chem Phys.* 2009; 130 (10): 105101. <https://doi.org/10.1063/1.3070235>.
32. Торшин И.Ю., Громова О.А., Майорова Л.А. О перспективах применения производных витамина B12 в фармакологии. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2023; 16 (3): 501–11. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.198>.
- Torshin I.Yu., Gromova O.A., Maiorova L.A. The prospects for the use of vitamin B12 derivatives in pharmacology. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoevidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology.* 2023; 16 (3): 501–11 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.198>.
33. Broderick K.E., Singh V., Zhuang S., et al. Nitric oxide scavenging by the cobalamin precursor cobinamide. *J Biol Chem.* 2005; 280 (10): 8678–85. <https://doi.org/10.1074/jbc.M410498200>.
34. Sharma V.S., Pilz R.B., Boss G.R., Magde D. Reactions of nitric oxide with vitamin B12 and its precursor, cobinamide. *Biochemistry.* 2003; 42 (29): 8900–8. <https://doi.org/10.1021/bi0344697>.

35. Brouwer M., Chamulirat W., Ferruzzi G., et al. Nitric oxide interactions with cobalamins: biochemical and functional consequences. *Blood*. 1996; 88 (5): 1857–64.
36. Kruszyna H., Magyar J.S., Rochelle L.G., et al. Spectroscopic studies of nitric oxide (NO) interactions with cobalamins: reaction of NO with superoxocobalamin(III) likely accounts for cobalamin reversal of the biological effects of NO. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998; 285 (2): 665–71.
37. Zheng D., Yan L., Birke R.L. Electrochemical and spectral studies of the reactions of aquocobalamin with nitric oxide and nitrite ion. *Inorg Chem*. 2002; 41 (9): 2548–55. <https://doi.org/10.1021/ic010802a>.
38. Wolak M., Zahl A., Schnepensieper T., et al. Kinetics and mechanism of the reversible binding of nitric oxide to reduced cobalamin B(12r) (Cob(II)alamin). *J Am Chem Soc*. 2001; 123 (40): 9780–91. <https://doi.org/10.1021/ja010530a>.
39. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Maiorova L.A., et al. Bioinformatic and chemoneurocytological analysis of the pharmacological properties of vitamin B12 and some of its derivatives. *J Porphyrins Phthalocyanines*. 2021; 25 (09): 835–42. <https://doi.org/10.1142/S1088424621500644>.
40. Maiorova L.A., Erokhina S.I., Pisani M., et al. Encapsulation of vitamin B12 into nanoengineered capsules and soft matter nanosystems for targeted delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019; 182: 110366. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110366>.
41. Maiorova L.A., Gromova O.A., Torshin I.Yu., et al. Nanoparticles of nucleotide-free analogue of vitamin B12 formed in protein nanocarriers and their neuroprotective activity in vivo. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2024; 244: 114165. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.114165>.
42. Vu T.T., Maiorova L.A., Berezin D.B., Koifman O.I. Formation and study of nanostructured M-monolayers and LS-films of triphenylcorrole. *Macroheterocycles*. 2016; 9: 73–9. <https://doi.org/10.6060/mhc151205m>.
43. Maiorova L.A., Kobayashi N., Zyablov S.V., et al. Magnesium porphine supermolecules and two-dimensional nanoaggregates formed using the Langmuir–Schaefer technique. *Langmuir*. 2018; 34: 9322–9. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00905>.
44. Valkova L.A., Shabyshov L.S., Borovkov N.Yu., et al. Supramolecular assembly formation in monolayers of tert-butyl substituted copper phthalocyanine and tetrabenzo[1,2,3,4]tetraazaphorphin. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*. 1999; 35: 243–9. <https://doi.org/10.1023/A:1008147031935>.
45. Maiorova–Valkova L.A., Koifman O.I., Burmistrov V.A., et al. 2D M-nanoaggregates in Langmuir layers of calamite mesogen. *Prot Mats Phys Chem Surf*. 2015; 51: 85–92. <https://doi.org/10.1134/S2070205115010074>.
46. Ariga K., Nishikawa M., Mori T., et al. Self-assembly as a key player for materials nanoarchitectonics. *Sci Technol Adv Mater*. 2019; 20 (1): 51–95. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1553108>.
47. Webre W.A., Gobeze H.B., Shao S., et al. Fluoride-ion binding promoted photoinduced charge separation in a self-assembled C60 alkyl cation bound bis-crown ether-oxoporphyrinogen supramolecule. *Chem Commun*. 2018; 54 (11): 1351–4. <https://doi.org/10.1039/c7cc09524d>.
48. Oldacre A.N., Friedman A.E., Cook T.R. A self-assembled cofacial cobalt porphyrin prism for oxygen reduction catalysis. *J Am Chem Soc*. 2017; 139 (4): 1424–7. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12404>.
49. Brenner W., Ronson T.K., Nitschke J.R. Separation and selective formation of fullerene adducts within an M(II)(8)L(6) cage. *J Am Chem Soc*. 2017; 139 (1): 75–8. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b11523>.
50. Valkova L., Borovkov N., Kopratenkov V., et al. Some features of the molecular assembly of copper porphyrazines. *Mat Sci Engin C*. 2002; 22 (2): 167–70. [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(02\)00166-2](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(02)00166-2).
51. Valkova L.A., Glibin A.S., Valli L. Quantitative analysis of compression isotherms of fullerene C60 Langmuir layers. *Colloid J*. 2008; 70: 6–11. <https://doi.org/10.1134/S1061933X0801002X>.
52. Valkova L., Menelle A., Borovkov N., et al. Small-angle X-ray scattering and neutron reflectivity studies of Langmuir–Blodgett films of copper tetra-tert-butyl-azaporphyrines. *J Appl Crystallogr*. 2003; 36: 758–62. <https://doi.org/10.1107/S0021889803004965>.
53. Valkova L., Betrenourt C., Hochapfel A., et al. Monolayer study of monensin and lasalocid in the gas state. *Mol Cryst Liq Cryst Sci Technol A*. 1996; 287 (1): 269–73. <https://doi.org/10.1080/10587259608038763>.
54. Karlyuk M.V., Krygin Yu.Yu., Maiorova–Valkova L.A., et al. Formation of two-dimensional (M) and three-dimensional (V) nanoaggregates of substituted cobalt porphyrin in the Langmuir layers and Langmuir–Schaefer films. *Russ Chem Bull*. 2013; 62: 471–9. <https://doi.org/10.1007/s11172-013-0066-5>.
55. Kharitonova N.V., Maiorova L.A., Koifman O.I. Aggregation behavior of unsubstituted magnesium porphyrazine in monolayers at air–water interface and in Langmuir–Schaefer films. *J Porphyr Phthalocyanines*. 2018; 22 (06): 509–20. <https://doi.org/10.1142/S1088424618500505>.
56. Maiorova L.A., Kobayashi N., Salnikov D.S., et al. Supermolecular nanoentities of vitamin B 12 derivative as a link in the evolution of the parent molecules during self-assembly at the air–water interface. *Langmuir*. 2023; 39: 3246–54. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02964>.
57. Dereven'kov I.A., Maiorova L.A., Koifman O.I., Salnikov D.S. High reactivity of supermolecular nanoentities of vitamin B12 derivative in Langmuir–Schaefer films toward gaseous toxins. *Langmuir*. 2023; 39 (48): 17240–50. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c02317>.

Сведения об авторах / About the authors

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.-м.н., к.х.н. / Ivan Yu. Torshin, PhD – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>. WoS ResearcherID: C-7683-2018. Scopus Author ID: 7003300274. eLibrary SPIN-code: 1375-1114.

Громова Ольга Алексеевна, д.м.н., проф. / Olga A. Gromova, Dr. Sci. Med., Prof. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>. WoS ResearcherID: J-4946-2017. Scopus Author ID: 7003589812. eLibrary SPIN-code: 6317-9833. E-mail: unesco.gromova@gmail.com.

Майорова Лариса Александровна, д.ф.-м.н. / Larissa A. Maiorova, Dr. Sci. Phys. Math. – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1541-9480>. WoS ResearcherID: B-6288-2016. Scopus Author ID: 58079684100. eLibrary SPIN-code: 7190-2147.

Громов Андрей Николаевич / Andrey N. Gromov – ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7507-191X>. Scopus Author ID: 7102053964. eLibrary SPIN-code: 8034-7910.