

**РЕГУЛЯЦИЯ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ФЕНОЛЬНЫМИ АНТИОКСИДАНТАМИ**Мартинович Г.Г.<sup>1</sup>, Мартинович И.В.<sup>1</sup>, Вчерашняя А.В.<sup>1</sup>, Зенков Н.К.<sup>2</sup>, Меньщикова Е.Б.<sup>2</sup>, Черенкевич С.Н.<sup>1</sup><sup>1</sup>Белорусский государственный университет,  
*пр. Независимости, 4, г. Минск, 220030, РБ*  
*e-mail: martinovichgg@bsu.by*<sup>2</sup>НИИ экспериментальной и клинической медицины,  
*ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630117, РФ*  
*e-mail: lemen@centercem.ru*

**Аннотация.** Исследовано влияние новых водорастворимых серосодержащих фенольных антиоксидантов 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфата натрия (ТС-13) и 3,5-диметил-4-гидроксибензилтиоэтаната калия (БЭК-11-К) на химиорезистентность клеток карциномы гортани человека линии НЕР-2. Обнаружено, что исследуемые фенольные антиоксиданты вызывают противоположно направленные изменения редокс-свойств и химиорезистентности опухолевых клеток. Установлено, что БЭК-11-К увеличивает редокс-буферную емкость и резистентность опухолевых клеток к доxorубину. При действии ТС-13 наблюдается уменьшение редокс-буферной емкости, что приводит к снижению химиорезистентности опухолевых клеток. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли изменений редокс-свойств клеток в механизме формирования устойчивости опухолевых клеток к действию противоопухолевых соединений.

**Ключевые слова:** химиорезистентность, серосодержащие фенольные антиоксиданты, активные формы кислорода, опухолевые клетки, редокс-состояние.

**REGULATION OF TUMOR CELLS CHEMORESISTANCE BY PHENOLIC ANTIOXIDANTS**Martinovich G.G.<sup>1</sup>, Martinovich I.V.<sup>1</sup>, Vcherashniaya A.V.<sup>1</sup>, Zenkov N.K.<sup>2</sup>, Menshchikova E.B.<sup>2</sup>, Cherenkevich S.N.<sup>1</sup><sup>1</sup>Belarusian State University,  
*ul. Nezavisimosti 4, Minsk, 220030, Republic of Belarus*  
*e-mail: martinovichgg@bsu.by*<sup>2</sup>Research Institute of Experimental and Clinical Medicine,  
*ul. Timakova 2, Novosibirsk, 630117, Russia*  
*e-mail: lemen@centercem.ru*

**Abstract.** Effects of water-soluble sulfur-containing phenolic antioxidants sodium 3-(3'-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl)propyl thiosulfonate (TS-13) and potassium 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl thioetanoate (BEP-11-K) on chemoresistance in tumor cells were studied. Explored phenolic antioxidants were found to cause oppositely directed changes in the redox properties and chemoresistance in tumor cells. It was established that BEP-11-K increases the redox buffer capacity and tumor cells resistance to doxorubicin. TS-13 reduces the redox buffer capacity, which leads to a decrease in the chemoresistance in tumor cells. The obtained results indicate the crucial role of cell redox properties changes in the development of tumor cell drug resistance.

**Key words:** chemoresistance, sulfur-containing phenolic antioxidants, reactive oxygen species, tumor cells, redox state.

В настоящее время ведутся интенсивные исследования, направленные на поиск и разработку новых технологий противоопухолевой терапии, задачей которых является регуляция окислительно-восстановительных процессов в клетках [1,2]. Поскольку в качестве ключевых характеристик трансформированных тканей выделяют нарушения клеточного и тканевого редокс-гомеостаза, в таких технологиях предлагается использовать различные редокс-активные соединения, включая фенолы [2,3].

Важно отметить, что эффект действия редокс-активных соединений определяется не конкретной молекулой, а группой взаимодействующих участников, образующих электрон-транспортные цепи (редокс-цепи), и зависит от величин параметров редокс-гомеостаза [4,5]. Близкие по структуре эндогенные и экзогенные антиоксиданты могут выступать участниками разных электрон-транспортных цепей, запуская при этом различные клеточные ответы. Так, нами показано, что водорастворимые фенольные серосодержащие антиоксиданты 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия (ТС-13) и 3,5-диметил-4-гидроксибензилтиоэтанат калия (БЭК-11-К) вызывают в опухолевых клетках регуляторные эффекты противоположно направленного действия [6]. Обнаружено, что ТС-13 индуцирует гибель опухолевых клеток через митохондриально-опосредованный путь, а БЭК-11-К стимулирует пролиферацию опухолевых клеток в культуре.

Предполагается, что чрезмерное накопление внутриклеточных антиоксидантов в тканях ответственно за возникновение и развитие химиорезистентности опухолевых клеток [2,7]. Однако роль синтетических фенольных соединений в формировании устойчивости опухолевых клеток к химиотерапевтическому воздействию до сих пор не изучалась. В настоящем исследовании изучено действие водорастворимых фенольных антиоксидантов ТС-13 и БЭК-11-К на химиорезистентность опухолевых клеток, а также исследована роль внутриклеточного редокс-состояния в механизмах действия на опухолевые клетки указанных антиоксидантов и противоопухолевых агентов.

**Материалы и методы.** В работе использовали водорастворимые серосодержащие фенольные антиоксиданты 3,5-диметил-4-гидроксibenзилтиоэтанат калия и 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия, синтезированные в НИИ химии антиоксидантов (г. Новосибирск, Россия), а также серосодержащий антиоксидант N-ацетил-L-цистеин (Sigma-Aldrich, США) (см. рис. 1).

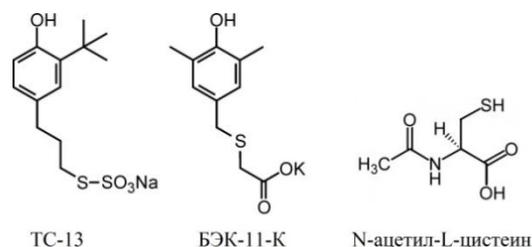


Рисунок 1 – Структурные формулы антиоксидантов

Клетки карциномы гортани человека линии Нер-2 культивировали в среде DMEM (Sigma-Aldrich, США) с добавлением 8-10 % эмбриональной бычьей сыворотки и гентамицина (0,08 мг/мл) при температуре 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>. Для определения влияния препаратов на пролиферативную активность опухолевых клеток исследуемое соединение добавляли в чашки Петри через 24 ч после пересева клеток. Подсчет клеток проводили через 72 ч культивирования. Пролиферативную активность оценивали по индексу пролиферации, равному отношению количества клеток в среде после 96 ч культивирования к количеству клеток при посеве. Чувствительность модифицированных клеток к действию противоопухолевых агентов оценивали при их культивировании во втором пассаже без антиоксидантов, определяя долю выживших клеток по отношению к контролю. В качестве противоопухолевых соединений использовали доксорубин (Белмедпрепараты, Беларусь) и 2-изопропил-5-метил-1,4-бензохинон (тимохинон) (Sigma-Aldrich, США).

Значения параметров внутриклеточного редокс-состояния клеток определяли путем редокс-титрования на основе анализа скорости окисления 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина (H<sub>2</sub>DCF) пероксидом водорода, вводимым в систему [8,9]. Параметры  $E^{\text{эфф}}$  и  $r$  характеризуют стационарное редокс-состояние в клетках. Добавление окислителя вызывает переход клеток из одного стационарного состояния в другое. Новое стационарное состояние характеризуется величиной  $E^{\text{эфф}} = E_0^{\text{эфф}} + \Delta E^{\text{эфф}}$ . Зависимость  $\Delta E^{\text{эфф}}$  от концентрации введенного в систему окислителя ( $c_{\text{ок}}$ ) в двойных обратных координатах описывается уравнением прямой с наклоном  $r = k_{\text{ем}} / \Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}$  и пересечениями: по оси ординат в точке  $1/\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}$  и по оси абсцисс в точке  $-1/k_{\text{ем}}$  [8]:

$$\frac{1}{\Delta E^{\text{эфф}}} = \frac{1}{\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}} + \frac{k_{\text{ем}}}{\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}}} \frac{1}{c_{\text{ок}}}, \quad \text{где } k_{\text{ем}} = \frac{\sum_{i=1}^n c_i z_i}{z_{\text{ок}}}. \quad (1)$$

$\Delta E_{\text{max}}^{\text{эфф}} = E_{\text{ок}}^0 - E_0^{\text{эфф}}$  – максимальное изменение величины эффективного редокс-потенциала, возможное при условии  $c_{\text{ок}} \gg c_{\text{вос}}$ ,  $z_{\text{ок}}$  – число электронов, которые присоединяет молекула окислителя, переходя в восстановленную форму;  $c_i$  – концентрация  $i$ -ой редокс-активной молекулы в биологической жидкости;  $z_i$  – число электронов, которые присоединяет молекула окисленной формы вещества, переходя в восстановленную форму;  $n$  – число различных типов редокс-пар, участвующих в формировании редокс-состояния,  $E_{\text{ок}}^0$  – редокс-потенциал окислителя при pH 7,0. Константа  $k_{\text{ем}}$  имеет размерность концентрации и численно равна концентрации окислителя, при которой изменение величины эффективного редокс-потенциала составляет половину своего максимального значения.

В основе данного метода использована экспериментально и теоретически обоснованная зависимость между величиной индуцированного увеличением концентрации окислителей изменения  $E^{\text{эфф}}$  и скоростью окисления H<sub>2</sub>DCF ( $V_{\text{ф}}$ ) [9]

$$V_{\text{ф}} = k_0 \Delta E^{\text{эфф}}. \quad (2)$$

Согласно (2) скорость изменения интенсивности флуоресценции DCF пропорциональна величине изменения эффективного редокс-потенциала, поэтому  $r$  и  $E^{\text{эфф}}$  определяются при анализе построенной на основании экспериментальных исследований зависимости  $V_{\text{ф}}$  от  $c_{\text{ок}}$ . В соответствии с (1) и (2) при повышении начального значения эффективного редокс-потенциала  $E_0^{\text{эфф}}$  величина максимального значения  $V_{\text{ф}}^{\text{max}}$  снижается.

Измерения проводили при температуре 37 °С в Нерес-буфере следующего состава: NaCl – 131 мМ, KCl – 5 мМ, CaCl<sub>2</sub> – 1,3 мМ, MgSO<sub>4</sub> – 1,3 мМ, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,4 мМ, Нерес – 20 мМ, глюкоза – 6 мМ, pH 7,4. Суспензию клеток нагружали H<sub>2</sub>DCF-DA (Sigma-Aldrich, США), инкубируя с 10 мкМ зонда в течение 45 мин при температуре 37 °С в Нерес-буфере. Интенсивность флуоресценции 2',7'-дихлорофлуоресцеина (DCF), образующегося при окислении H<sub>2</sub>DCF, измеряли при длине волны возбуждения 488 нм и длине волны испускания 530 нм. Результаты представлены как средние значения плюс-минус стандартное отклонение

среднего для трех-пяти независимых экспериментов. Достоверность значений определяли с помощью t-критерия Стьюдента, принимая различия достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что величина и направление изменения пролиферативной активности при действии антиоксидантов зависит от их типа (рис. 2). Введение в культуру клеток БЭК-11-К в концентрации 60 мкМ вызвало увеличение пролиферативной активности на 60 %. При действии ТС-13 в такой же концентрации наблюдалось снижение пролиферативной активности на 50 %. N-ацетил-L-цистеин (НАС) в низких (60 мкМ) и высоких (1 мМ) концентрациях не вызывал изменения скорости роста опухолевых клеток в культуре.

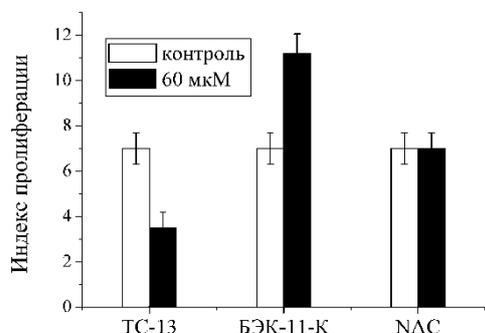


Рисунок 2 – Изменение пролиферативной активности клеток линии HEp-2 при культивировании с БЭК-11-К, ТС-13 и НАС. Концентрация антиоксидантов – 60 мкМ

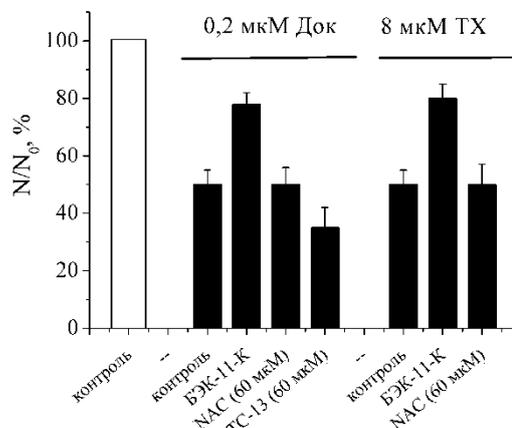


Рисунок 3 – Изменение числа клеток линии HEp-2 при культивировании с доксорубицином (Док) и тимохиноном (ТХ). Клетки до пересева культивировали с антиоксидантами в концентрации 60 мкМ

Известно, что опухолевые клетки, характеризующиеся более высокой скоростью пролиферации, обладают также повышенной устойчивостью к действию противоопухолевых агентов в сравнении с клетками, растущими медленнее. Нами показано, что изменение функционального состояния опухолевых клеток, приводящее к увеличению их пролиферативной активности, сопровождается также усилением резистентности к противоопухолевым агентам. В культуре клеток, модифицированных БЭК-11-К, количество выживших при действии доксорубицина клеток было в 1,5 раз выше, чем в культуре немодифицированных клеток (см. рис. 3). В свою очередь, культивирование с антиоксидантом НАС в низких (60 мкМ) и высоких (1 мМ) концентрациях не влияло на резистентность клеток к доксорубицину. Следует также отметить, что модифицированные при культивировании с БЭК-11-К клетки проявляют резистентность и к другим агентам, индуцирующим их гибель. Ранее нами было показано, что при действии тимохинона – биологически активного компонента *Nigella sativa*, – в результате локального повышения продукции активных форм кислорода в клетках линии HEp-2 индуцируется митохондриально-опосредованный апоптоз [10]. Токсическое действие тимохинона на клетки, до пересева культивируемые в присутствии 60 мкМ БЭК-11-К, было менее выраженным, чем на клетки в контроле (см. рис. 3).

Как следует из представленных данных, культивирование клеток с БЭК-11-К индуцирует повышение их резистентности к доксорубицину и к тимохинону на одинаковую величину, что обусловлено сходством механизма действия данных противоопухолевых агентов. Важными участниками в процессах гибели клеток при действии доксорубицина и тимохинона являются активные формы кислорода. При индуцированном БЭК-11-К изменении клеточного метаболизма, вероятно, повышается содержание внутриклеточных антиоксидантов, в результате которого уменьшается токсическое действие активных форм кислорода, продуцируемых с участием противоопухолевых агентов, и, как следствие, снижается количество повреждаемых клеток.

Для выявления роли индуцированных фенолами изменений редокс-гомеостаза была проведена количественная оценка величин его параметров в клетках контрольной группы и в клетках, культивируемых в присутствии исследуемых антиоксидантов. Обнаружено, что изменения величин параметров редокс-гомеостаза при культивировании клеток с указанными антиоксидантами существенно различаются. Редокс-буферная емкость клеток при культивировании с БЭК-11-К в концентрации 60 мкМ увеличивается на 50 %, а при культивировании клеток с ТС-13 в концентрации 60 мкМ – уменьшается на 50 %. Величина редокс-буферной емкости клеток при культивировании с НАС в концентрации 60 мкМ не изменяется. В свою очередь, величина эффективного редокс-потенциала не изменяется при культивировании клеток линии HEp-2 с антиоксидантами БЭК-11-К и НАС, а при культивировании с ТС-13 – повышается. Таким образом, индуцированное изменение величин параметров редокс-гомеостаза выявлено только для фенольных соединений. В клетках линии HEp-2 при культивировании с ТС-13 в сравнении с клетками в контрольной культуре наблюдается усиление внутриклеточных окислительных процессов, что приводит к уменьшению величины редокс-буферной емкости и

повышению значения эффективного редокс-потенциала. При культивировании клеток с БЭК-11-К запускается адаптационный ответ клеток, приводящий к увеличению содержания внутриклеточных восстановителей, что отражается повышением величины редокс-буферной емкости. Поскольку концентрация добавляемых антиоксидантов значительно ниже, чем эндогенных антиоксидантов, то наблюдаемые изменения редокс-свойств клеток, очевидно, обусловлены активацией специфических редокс-сигнальных механизмов.

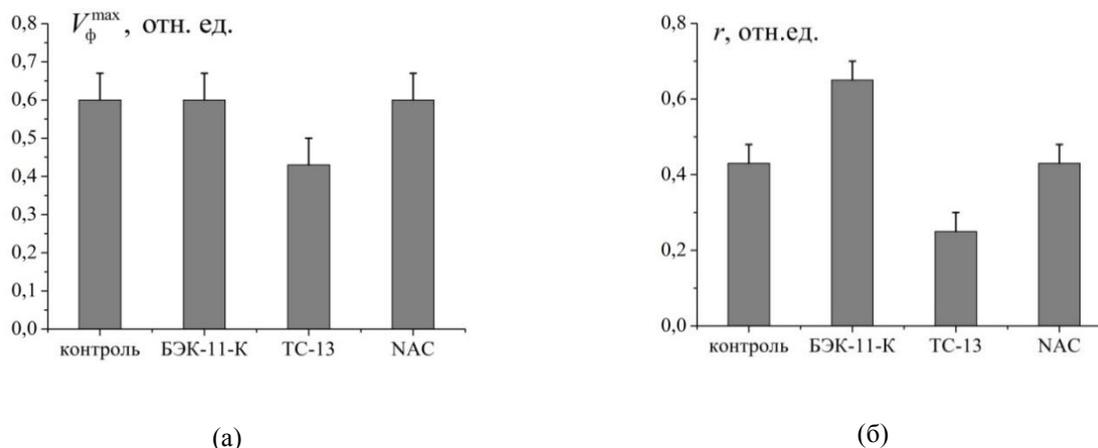


Рисунок 4 – Параметры редокс-гомеостаза клеток линии HEp-2 в контроле и при культивировании с антиоксидантами: (а) – эффективный редокс-потенциал, (б) – редокс-буферная емкость

Известно, что культивирование с химиотерапевтическими препаратами в низких нетоксических дозах индуцирует повышение устойчивости клеток к ним. Выявленное нами ранее ингибирование роста опухолевых клеток антиоксидантом ТС-13 также позволяет рассматривать его в качестве перспективного противоопухолевого агента [6]. В настоящем исследовании показано, что снижение редокс-буферной емкости при действии ТС-13 способствует уменьшению резистентности опухолевых клеток, что является важным преимуществом в сравнении с "классическими" химиотерапевтическими агентами. Как показано на рис. 3, в культуре клеток, модифицированных ТС-13, количество выживших при действии доксорубина клеток было ниже, чем в культуре немодифицированных клеток. Таким образом, полученные результаты указывают на то, что в опухолевых клетках при действии БЭК-11-К наблюдаются изменения редокс-гомеостаза, индуцирующие повышение резистентности опухолевых клеток к противоопухолевым агентам. С другой стороны, индуцируемые при действии ТС-13 изменения редокс-гомеостаза способствуют снижению резистентности опухолевых клеток к противоопухолевым агентам.

Первичная и приобретенная резистентность опухолевых клеток к цитостатическим и цитотоксическим препаратам – главная причина неудач химиотерапии при лечении большого числа злокачественных новообразований. В настоящее время широко обсуждаются и исследуются разнообразные факторы (фармакокинетические, метаболические, генетические, клеточные и др.), с которыми связывают первичную резистентность, колебания индивидуальной чувствительности опухолей или снижение их чувствительности к цитостатикам в процессе лечения при повторных курсах или циклах химиотерапии [11, 12]. В проведенном исследовании показано, что водорастворимые серосодержащие фенольные антиоксиданты являются важными регуляторами редокс-свойств и химиорезистентности опухолевых клеток. Выявленная способность антиоксидантов направлено регулировать химиорезистентность опухолевых клеток открывает новые возможности в разработке противоопухолевых технологий.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант № M16P-022) и РФФИ (грант № 16-54-00050).

#### Список литературы / References :

1. Trachootham D., Alexandre J., Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2009, vol. 8, pp. 579-591.
2. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Голубева Е.Н., Черенкевич С.Н., Демидчик Ю.Е., Гаин Ю.М., Владимирская Т.Э., Лущик М.Л. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии. *Известия НАН Беларуси. Серия медицинских наук*, 2012, № 2, с. 85-104. [Martinovich G.G., Martinovich I.V., Golubeva E.N., Cherenkevich S.N., Demidchik Y.D., Gain Y.M., Vladimirskaia T.E., Lushchyk M.L. Redox biotechnologies as basis for new strategy in anticancer therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series*, 2012, no. 2, pp. 85-104. (In Russ.)]
3. Wondrak G.T. Redox-directed cancer therapeutics: molecular mechanisms and opportunities. *Antioxid. Redox Signal.*, 2009, vol. 11, pp. 3013-3069.
4. Jones D.P. Redox sensing: orthogonal control in cell cycle and apoptosis signaling. *J. of Internal Medicine*, 2010, vol. 268, pp. 432-448.
5. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Cherenkevich S.N. Redox regulation of cellular processes: a biophysical model and experiment. *Biophysics*, 2011, vol. 56, pp. 444-451.

6. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Zenkov N.K., Menshchikova E.B., Kandalintseva N.V., Cherenkevich S.N. Phenolic antioxidant TS-13 regulating ARE-driven genes induces tumor cell death by a mitochondria-dependent pathway. *Biophysics*, 2015, vol. 60, pp. 94-100.
7. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. *Окислительно-восстановительные процессы в клетках*. Минск: БГУ, 2008, 159 с. [Martinovich G.G., Cherenkevich S.N. *Redox processes in cells*. Minsk, BSU, 2008, 159 p. (In Russ.)]
8. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Черенкевич С.Н. Количественная характеристика редокс-состояния эритроцитов. *Биофизика*, 2008, т. 53, с. 618-623. [Martinovich G.G., Martinovich I.V., Cherenkevich S.N. Quantitative characteristic of the redox state of erythrocytes. *Biophysika*, 2008, vol. 53, pp. 618-623. (In Russ.)]
9. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Cherenkevich S.N., Sauer H. Redox buffer capacity of the cell: theoretical and experimental approach. *Cell Biochem. Biophys.*, 2010, vol. 58, pp. 75-83.
10. Martinovich G.G., Martinovich I.V., Vcherashniaya A.V., Shadyro O.I., Cherenkevich S.N. Thymoquinone, a biologically active component of *Nigella sativa*, induces mitochondrial production of reactive oxygen species and programmed death of tumor cells. *Biophysics*, 2016, vol. 61, pp. 963-970.
11. Liberti M.V., Locasale J.W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem. Sci.*, 2016, vol. 41, pp. 211-218.
12. Milkovic L., Zarkovic N., Saso L. Controversy about pharmacological modulation of Nrf2 for cancer therapy. *Redox Biol.*, 2017, vol. 12, pp. 727-732.

### ВЛИЯНИЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И РАЗЛИЧНЫХ ОБРАБОТОК НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СВИНИНЫ

Плотникова Л.В., Нечипоренко У.Ю., Подшивалов А.В., Плотников П.П., Успенская М.В., Ишевский А.Л.  
Университет ИТМО  
пр. Кронверкский 49. г. Санкт-Петербург. 197101, РФ.  
e-mail: ljusja@mail.ru

**Аннотация.** Целью данной работы являлось сравнительное исследование влияния последовательных экстракций основных частей мышечной ткани животного происхождения и процесса лиофилизации на инфракрасный и электронный спектры отражения их поверхности. Объектом исследования являлись измельченная мышечная ткань свинины и ее основные составляющие – мышечное волокно, строма и белки стромы. Представленное исследование основано на способности составных частей мышечной ткани растворяться в «иерархической» последовательности и позволило отметить согласованность данных по изменению функционального состава используя метод ИК-НПВО спектроскопии поверхности исследуемых образцов и их компонентного состава с использованием метода электронной спектроскопии диффузного отражения (ЭСДО).

**Ключевые слова:** мышечная ткань, ИК-спектроскопия, электронная спектроскопия отражения

### THE EFFECT OF LYOPHILIZATION AND VARIOUS TRTATMENTS ON THE ON THE SPECTRAL CHARACTERISTICS OF PORK MUSCLE TISSUE

Plotnikova L.V., Nechiporenko U.Yu., Podshivalov A.V., Plotnikov P.P., Uspenskaya M.V., Ishevskiy A.L.  
ITMO University  
Kronverksky Ave. 49. St. Petersburg, 197101. Russia  
e-mail: ljusja@mail.ru

**Abstract.** The aim of this work was the comparative study of the effect of sequential extractions of the main parts of muscle tissue of animal origin and processes of lyophilization on infrared and electronic spectra of reflection of the tissue surface. The object of the study was to minced muscle tissue of pork and its main components - the muscle fiber, the stroma and the proteins of stroma. The study based on the ability of the constituent parts of muscle tissue to dissolve in a hierarchical sequence made it possible to note the consistency of the change in the functional composition using the method of ATR-FTIR spectroscopy of the samples surface and their component structure using the method of electronic spectroscopy of diffuse reflection (ESDR).

**Keywords:** muscle tissue of pork, infrared spectroscopy, electronic spectroscopy of diffuse reflection.

Классическая инфракрасная спектроскопия и ее современный вариант – ИКС нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) являются ведущими методами в аналитической практике научных и производственных лабораторий различных отраслей промышленности при исследовании твердофазных и жидких систем различного происхождения [1,2]. Физические особенности колебательной спектроскопии обеспечивают ей возможность проводить анализ состава широкого спектра функциональных группировок, одноименные из которых проявляются в одном и том же частотном интервале [3], независимо от того к какому классу веществ относятся компоненты. Существенную роль в ИК спектроскопии играет вода, маскирующая большую часть функционалов. Это вносит определенные сложности при расшифровке и интерпретации спектров биологических тканей. Устранению помех со стороны воды способствует лиофилизация исследуемых образцов.