

УДК 547.563;379.3.057

©Коллектив авторов

## ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ГИДРОФИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2,4,6-ТРИАЛКИЛФЕНОЛОВ В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

У.Н. Роцкая<sup>1</sup>, Л.П. Овчинникова<sup>1</sup>, Е.А. Васюнина<sup>1</sup>, О.И. Сеницина<sup>1</sup>,  
Н.В. Кандалицева<sup>2</sup>, Е.А. Просенко<sup>2</sup>, Г.А. Невинский<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук

<sup>2</sup>Новосибирский государственный педагогический университет

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского  
отделения Российской академии наук, ул. Лаврентьева, 8, 630090 Новосибирск;  
тел.: 007-383-3356226; факс: (3832) 333-677; эл. почта: Nevinsky@niboch.nsc.ru

Исследованы эффекты пяти новых производных 2,6-диалкил-4-пропилфенолов, содержащих в *пара*-заместителе различные ионогенные группы ( $-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}-(\text{NH}_2)_2\text{Cl}$ ) в присутствии и отсутствии пероксида водорода на выживаемость клеток *E. coli* AB1157 и его изогенного штамма, дефектного по генам ферментов репарации. Выживаемость клеток, обработанных пероксидом водорода, заметно увеличивалась в присутствии (3-(3,5-диметил-4-гидроксифенил)пропил)-1-сульфоната натрия (C1). Замена метильных *орто*-заместителей в структуре C1 на *трет*-бутильные или циклогексильные понизила способность соединений защищать клетки от действия экзогенного пероксида водорода. В ряду производных 2,6-ди-*трет*-бутилфенола соединение с тиосульфатной группой было близко по свойствам к своему сульфонатному аналогу, а хлорид изотиурония в концентрации 3 мМ полностью подавлял рост клеток, как в присутствии, так и в отсутствие  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Из исследованных соединений наиболее перспективным для более детального анализа в плане применения в качестве антиоксиданта является соединение C1.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, фенольные серосодержащие антиоксиданты, гидрофильные антиоксиданты, 2,4,6-тризамещенные фенолы.

**ВВЕДЕНИЕ.** Одной из основных причин развития в организме окислительного стресса является накопление активных форм кислорода (АФК), включая  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{HO}^{\bullet}$ , которые появляются в результате нарушения баланса между процессами генерации свободных радикалов и механизмами их утилизации [1–4]. АФК окисляют липиды биологических мембран [5], повреждают белки и ферменты [6–7], клеточные ДНК и РНК [8] и другие компоненты живых клеток.

Считается, что постепенное накопление окислительных повреждений в геноме соматических клеток является одной из основных причин мутагенеза, канцерогенеза, преждевременного старения людей и развития большого числа патологий пожилого возраста: паркинсонизм, латеральный амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, и ряда других патологических состояний [7–12].

В защите клеток от АФК участвуют как ферментные системы, так и многие низкомолекулярные соединения с антиокислительными свойствами. Ферменты-антиоксиданты важны, в первую очередь, для внутриклеточной защиты

---

Принятые сокращения: АО – антиоксидант; АФК – активные формы кислорода; КОЕ – колониеобразующая единица.

\* - адресат для переписки

от АФК [2, 13–16]. Однако радикальные окислительные процессы могут протекать также в водной и липидной фазах, где основную роль в защите от АФК играют свободно мигрирующие эндогенные и экзогенные низкомолекулярные антиоксиданты [17]. В настоящее время получено большое количество природных и синтетических соединений, обладающих антирадикальными и антиокислительными свойствами, с антимуtagenной и антиканцерогенной активностью [18, 19]. Эффективными перехватчиками радикалов служат фенольные антиокислители [18, 20], включая пространственно затруднённые фенолы [20].

В исследованиях последних лет показана специфичность защитного действия антиоксидантов по отношению к различным органам, тканям и клеткам человека, а также различие в механизмах их функционирования, синергизм или антагонизм их действия [2, 13, 21–23]. Селективность действия антиоксидантов может быть связана с различиями в их структуре и способности проникать в митохондрии, ядра и другие компартменты живых клеток. Учитывая это, представляется перспективным поиск новых антиоксидантов, сочетающих в своих молекулах несколько активных фрагментов, различающихся структурно и по механизму антиокислительного действия.

Для первичного скрининга защитных свойств антиоксидантов часто используют бактериальные тесты, тест Эймса [24] и SOS-хромотест [25], которые позволяют проводить оценку антиоксидантной защиты по снижению мутагенного и ДНК повреждающего действия оксидативного стресса [26–27]. Известно также, что влияние пероксидов на гибель клеток *Escherichia coli* обусловлено в основном повреждениями ДНК [28–29], поэтому первичный адекватный ответ об эффективности антиокислительной защиты может быть получен с помощью подхода, основанного на оценке выживаемости клеток штаммов *E. coli* дикого типа или дефектных по ферментам репарации оксидативных повреждений ДНК в отсутствие или в присутствии окислителей и антиоксидантов [30].

Недавно нами описан синтез трех новых производных 2,6-диметилфенола, содержащих в 4-ом положении тиоалкильные заместители [31]. Показано, что эти соединения проявляют выраженный антиокислительный эффект и не обладают генотоксичными и мутагенными свойствами. При этом 4-(3-додецилтиопропил)-2,6-диметилфенол увеличивал выживаемость бактериальных клеток, обработанных пероксидом водорода, как исходного штамма *E. coli* AB1157, так и его производных штаммов, дефектных по генам ферментов репарации, и имел более выраженный антиокислительный эффект по сравнению с классическими антиоксидантами  $\alpha$ -токоферолом и тролоксом, увеличивая выживаемость клеток, лишённых ферментов репарации.

В данной работе исследованы пять новых аналогов 4-(3-додецилтиопропил)-2,6-диметилфенола, содержащих в 2,6-положениях различные алкильные, а в 4-ом положении – различные гидрофильные серусодержащие группы. Проверено влияние структуры этих соединений на их бактериальную цитотоксичность и защитные антиокислительные свойства.

**МЕТОДИКА.** В работе использовали триптон, ДМСО, (“Amresco”, США); агар (Bacto™ Agar, “BD”, Франция);  $H_2O_2$ , тролокс (“Sigma”, США), дрожжевой экстракт, хлорид натрия (“Helicon”, Россия). Бактериальные штаммы *E. coli*: AB1157, BN910 исходно получены из лаборатории доктора Laval (Франция). Эти штаммы перед использованием были протестированы на наличие основных генетических маркеров.

Синтез соединений C1–C4 был описан ранее в работе [32], а C5 – в работе [33].

Анализ антиокислительной активности различных соединений проводили с использованием штаммов *E. coli* AB1157 и BN910 согласно [29]. Клетки наращивали в течение ночи со встряхиванием при 37°C в LB богатой среде [34], без добавок антибиотика для штамма AB1157 и содержащей канамицин (30 мг/л)

для штамма ВН910. Инокулят ночной культуры разводили в 100 раз и наращивали в LB богатой среде до середины экспоненциальной фазы роста ( $1-2 \times 10^8$  клеток бактерий/мл). Количество жизнеспособных клеток (КОЕ - колониеобразующая единица) определяли по их способности к образованию колоний по стандартной методике последовательных разведений [34]. К аликвотам культуры клеток (0,9 мл) в середине экспоненциальной фазы роста добавляли 10 мкл раствора антиоксиданта в различной концентрации в ДМСО и инкубировали 20 мин в LB богатой среде при  $37^\circ\text{C}$  со встряхиванием. Затем к клеткам добавляли 25 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  до конечной концентрации 3 мМ и инкубировали еще 20 мин в тех же условиях. После этого к клеткам добавляли раствор каталазы для удаления остатков пероксида водорода, делали пять разведений культуры клеток и 100 мкл из каждого разведения высевали на чашки с LB-агаром (2%) для определения колониеобразующей способности клеток по 3 чашки на каждую из исследуемых концентраций использованных соединений. Подсчет образовавшихся колоний производился через 24 часа инкубации при температуре  $37^\circ\text{C}$  [34].

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Было исследовано влияние пяти новых производных 2,6-диалкил-4-пропилфенолов, содержащих в *para*-заместителе различные ионогенные группы ( $-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}-(\text{NH}_2)_2\text{Cl}$ ) в присутствии и отсутствии пероксида водорода на выживаемость клеток *E. coli*. Структурные формулы исследованных соединений приведены на рисунке.

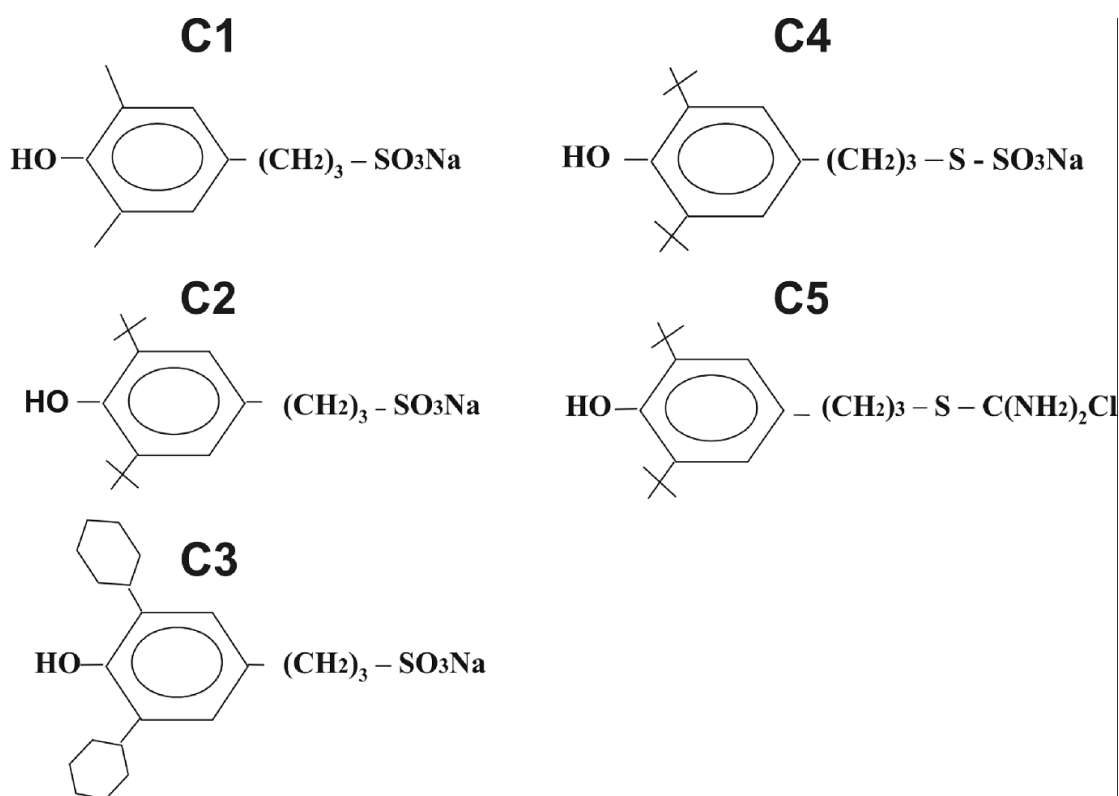


Рисунок.

Структурные формулы исследованных соединений.

В работе были использованы *E. coli* AB1157 [35] и его изогенный мутант, дефектный по системе репарации окислительных повреждений, - штамм ВН910. Основные мутации, которые содержат эти штаммы, описаны в таблице 1.

# ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛОВ

Таблица 1. Характеристики использованных в работе штаммов *Escherichia coli*.

Штамм	Мутации по системе репарации	Мутации по основному генотипу	Недостаточные ферменты репарации
AB1157	Дикий тип	<i>thr-1, ara-11, leuB6, del(gpt-proA)62, lacY1, tsx-33, supE11, galK2, hisG1, rpsL31, kdsK51, xyl-5 ml-1, argE3 thi-1</i>	Нет
ВН910	<i>mutT fpg-Kn<sup>R</sup> uvrA-Tc<sup>R</sup></i>	Те же, что и для AB1157	8-охоГТРаза 8-оксогуанин-ДНК-гликозидаза <del>uvrABC-экзонуклеаза</del>

Штамм ВН910 несет мутации по гену *mutT*, кодирующему 8-охоГТРаза, гену *fpg*, кодирующему 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазу и гену *uvrABC* нуклеазы [36, 37]. 8-охоГТРаза, продукт гена *mutT*, гидролизует 8-оходГТР до 8-оходГМР и пирофосфата; Fpg белок или 8-оксогуанин-ДНК-гликозидаза выщепляет из ДНК 8-оксогуанин и затем расщепляет ДНК по образовавшемуся апуриновому сайту [34]. *uvrABC* нуклеаза удаляет из ДНК некоторые формы оксидативных повреждений, такие как АР-сайты и тиминовые гликоли [34]. Инактивация этих ферментов репарации приводит к накоплению окислительных повреждений в ДНК и, как следствие, к более высокой чувствительности штамма к пероксиду водорода по сравнению с диким штаммом *E. coli* [28, 29].

Обработка 3 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> культуры клеток, находящейся в логарифмической фазе роста, приводила к понижению выживаемости клеток АВ1157 штамма по сравнению с контролем (100%) до 27,8%. Дефектный по ферментам репарации оксидативных повреждений ДНК штамм ВН910 был более чувствительным к пероксиду водорода, количество КОЕ снижалось до 0,35% (табл. 2).

Таблица. 2. Влияние пероксида водорода и ДМСО на выживаемость клеток разных штаммов *E. coli*.

Условия роста клеток	AB1157		ВН910	
	КОЕ / мл	%	КОЕ / мл	%
Клетки	(9,7±2,5)×10 <sup>7</sup>	100*	(1,5±0,15)×10 <sup>8</sup> *	100
Клетки + Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub>	(2,7±0,6)×10 <sup>7</sup>	27,8±6,0	(5,3±0,9)×10 <sup>5</sup>	0,35±0,06
Клетки + ДМСО	(1,3±0,3)×10 <sup>8</sup>	134,0±21,0	(1,7±0,15)×10 <sup>8</sup>	113,0±12,0
Клетки + ДМСО + Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub>	(4,8±1,1)×10 <sup>7</sup>	49,5±11,0	(3,45±0,45)×10 <sup>6</sup>	2,3±0,3

Примечание: \* - Относительное количество КОЕ/мл ничем не обработанных клеток принято за 100%.

ДМСО (1%) обладал слабым защитным эффектом и несколько повышал количество жизнеспособных клеток как в отсутствие, так и в присутствии Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>.

Антиокислительную активность синтезированных соединений оценивали по их способности защищать клетки от воздействия Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>. Все использованные нами соединения, за исключением соединения С-1 (рисунок), для которого удалось получить водный раствор в требуемой концентрации, были добавлены к клеткам *E. coli* в виде растворов в ДМСО. Стандартный антиокислитель тролокс, который является водорастворимым аналогом известного антиоксиданта α-токоферола, слабо влиял на выживаемость клеток использованных штаммов *E. coli*, не обработанных и обработанных Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> (табл. 3).

Таблица 3. Влияние различных потенциальных антиоксидантов на относительное количество колониеобразующих единиц (%) для различных штаммов *E. coli* в разных экспериментальных условиях.

Условия эксперимента	Количество КОЕ, %			
	AB1157		BH910	
Эксперименты без ДМСО (соединения растворены в воде)				
	3 мМ (0,3 мМ)	3 мМ (0,3 мМ) нормир. велич.*	3 мМ (0,3 мМ)	3 мМ (0,3 мМ)* нормир. велич.*
Клетки*	100**	100	100**	100
Клетки + тропикс	110±16 (105±21)**	110±16 (105±21)	101±19 (105±20)	101±19 (105±20)
Клетки + С-1	101±12	101±12	103±18	103±18
Клетки без ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + соединения в концентрации 3 мМ (0,3 мМ)				
Клетки + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100*	27,8±6,0	100*	0,35±0,06
Клетки + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + тропикс	114±15 (107±18)	31,7±2,0 (29,7±3,0)	105±9	0,37±0,03
Клетки + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + С-1	138±16	38,4±6,0	545±110	(1,9±0,38)
Эксперименты с ДМСО (соединения растворены в ДМСО, контроли содержат ДМСО)				
Клетки + ДМСО	100*	134±21	100*	113±10
Клетки + ДМСО + тропикс	115 ±10	154±13,4	105±8,8	119±10
Клетки + ДМСО + С-2	60±15	80,4±20,1	106±10 (96,4±10)	119,8±11 (108,9±33,5)
Клетки + ДМСО + С-3	130±20 (110±16)	174,2±26,8 (147,4±21,4)	124±25 (159±31)	140,1±28,3 (179,7±28,3)
Клетки + ДМСО + С-4	109±20 -	146±26,8 -	121±28 (98±10)	136,7±31,6 (110,7±11,3)
Клетки + ДМСО + С-5	0 -	0 -	0 (34,4±10)	0 (38,8±11,3)
Эксперименты с ДМСО и H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (соединения растворены в ДМСО, контроли содержат ДМСО)				
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100*	49,5±11,0	100*	2,3±0,3
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + тропикс	120±21	59,4±6,0	210±50	4,8±1,1
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + С-2	66±16 -	32,7±8,0 -	56±15 (65±15)	1,3±0,35 (1,5±0,35)
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + С-3	108±11 (110±16)	53,5±6,0 54,5±7,9	28,3±6,0 (77±19)	(0,65±0,14) (1,8±0,44)
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + С-4	130±31 -	(64,4±6,0) -	67±22 (53±5,0)	1,54±0,51 (1,2±0,11)
Клетки + ДМСО + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + С-5	0 -	0 -	0 (0,05±0,01)	0 (1,2±0,24)·10 <sup>3</sup>

Примечание: \* - Количество КОЕ/мл в контрольных экспериментах в случае каждой из линий: клетки, клетки + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, клетки + ДМСО, клетки + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + ДМСО принято за 100% (выделено жирным шрифтом). # - Во втором столбце для каждой из двух линий *E. coli* приведены величины, нормированные на КОЕ в контроле - клетки без дополнительных компонентов. \*\* - Все соединения использованы в концентрации 3 мМ, за исключением некоторых, которые использованы также и в концентрации 0,3 мМ, эти данные приведены в скобках.



## ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛОВ

Влияние соединений С1-С5 на жизнеспособность клеток в отсутствие и в присутствии пероксида водорода зависело от их структуры. Повышение жизнеспособности клеток в отсутствие  $H_2O_2$  в существенной степени связано с понижением под действием антиоксидантов уровня спонтанной генотоксичности, особенно в клетках лишённых ферментов репарации.

Для удобства анализа эффектов антиоксидантов в разных условиях в случае экспериментов, например с ВН910 клетками, без добавления  $H_2O_2$  (клетки; 100%) и с добавлением  $H_2O_2$  (клетки +  $H_2O_2$ ;  $0,35 \pm 0,06\%$ ), а также клетки + ДМСО ( $113 \pm 10\%$ ) и клетки + ДМСО +  $H_2O_2$  ( $2,3 \pm 0,3\%$ ), данные для которых приведены в таблице 2, каждая из этих величин в таблице 3, была принята за 100%. Кроме того, в таблице 3 отдельно приведены величины, нормированные на единый контроль, – количество КОЕ в первом контроле, соответствующем росту клеток в отсутствие дополнительных компонентов.

В отсутствие  $H_2O_2$  соединение С1 не проявляло заметного эффекта жизнеспособность клеток обоих штаммов. В присутствии пероксида водорода соединение С1 эффективно защищало клетки от окислительного стресса. При этом защитный эффект был более выраженным в штамме, дефицитном по ферментам репарации (табл. 3). Величина КОЕ в обработанных пероксидом водорода клетках штамма ВН910 в присутствии соединения С1 возрастала до  $545 \pm 110\%$  по сравнению с соответствующим контролем – клетки +  $H_2O_2$  (100 %) (табл. 3). Поскольку в присутствии  $H_2O_2$  количество клеток в среднем в  $\sim 285$  раз меньше, чем в контроле без  $H_2O_2$  (табл. 2), эта величина соответствует при нормировании на КОЕ для клеток в условиях без  $H_2O_2$   $1,9 \pm 0,38\%$ . Таким образом, с учётом ошибки эксперимента, можно полагать, что в присутствии пероксида водорода соединение С1 полностью или почти полностью защищает клетки как от индуцированного  $H_2O_2$ , так и спонтанного окислительного стресса.

Поскольку соединение С1 слабо защищает клетки от спонтанных повреждений в отсутствие  $H_2O_2$ , то нельзя исключить, что более мощным антиокислительным эффектом может обладать не само соединение С1, а продукт(ы) его окисления, образующиеся в клетках ВН910 либо под действием  $H_2O_2$ , либо при совместном действии  $H_2O_2$  с какими либо ферментами этих клеток. Нельзя исключить также, что соединение С1 может обладать слабым ростостимулирующим действием.

С учетом ошибки эксперимента в отсутствие  $H_2O_2$  соединения С2-С4 не проявляли заметного эффекта на жизнеспособность клеток обоих штаммов, за исключением явного понижения КОЕ клеток АВ1157 до  $60 \pm 10\%$  в присутствии С2 (табл. 3). В присутствии  $H_2O_2$  для соединений С2, С3 и С4 наблюдалось понижение количества КОЕ дефицитного по ферментам репарации штамма до 28,3-67%, в то время как соединения С3 и С4 слабо влияли на выживаемость клеток штамма АВ1157, а соединение С2 понижало КОЕ до 66% по сравнению с соответствующим контролем – клетки +  $H_2O_2$  + ДМСО (табл. 3). Самую высокую цитотоксичность демонстрировало соединение С5, которое при концентрации 3 мМ приводило к полной гибели клеток обоих штаммов, АВ1157 и ВН 910, как в присутствии, так и в отсутствие  $H_2O_2$ . Даже при более низкой концентрации (0,3 мМ) С5 значительно снижало выживаемость клеток штамма ВН 910 (до 34,4%) и не защищало клетки от действия  $H_2O_2$  (табл. 3).

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.** Как было показано нами ранее, производные 2,6-диметилфенола, содержащие в 4-ом положении тиаалкильные радикалы и особенно 4-(3-додецилтиопропил)-2,6-диметилфенол, увеличивают выживаемость клеток как штамма *E. coli* дикого типа, так и клеток бактериальных штаммов, дефектных по генам ферментов репарации. Эти соединения имеют более выраженный антиокислительный эффект по сравнению с классическими антиоксидантами  $\alpha$ -токоферолом и тролоксом, увеличивая выживаемость клеток, лишённых ферментов репарации [24].

Производное 2,6-ди-*трет*-бутилфенола с изотиурониевым фрагментом в пара-заместителе проявляло высокую цитотоксичность по отношению ко всем клеткам *E. coli*, и, кроме того, усиливало токсический эффект пероксида водорода (табл. 3). По данным работы [38] соединение С5 является более токсичным, чем его аналоги С1-С4 и в отношении светящихся бактериальных культур *Photobacterium phosphoreum*, а также лабораторных животных (мыши).

Два других 2,6-ди-*трет*-бутилфенола – соединения С2 и С4 – оказывали сходное воздействие на клетки штамма, дефицитного по ферментам репарации, но, в отличие от тиосульфата С4, сульфонат С2 понижал количество жизнеспособных клеток при действии на растущую культуру штамма дикого типа как в отсутствие, так и при присутствии  $H_2O_2$  (табл. 3).

Сульфонаты С1 и С4 с различным орто-замещением были сопоставимы по свойствам во всех случаях, кроме того, что в отличие от диметилзамещённого С1, ди-*трет*-бутилфенол С4 не повышал, а понижал устойчивость клеток штамма дефицитного по ферментам репарации к действию  $H_2O_2$  (табл. 3).

Интересно, что дициклогексилфенол С3 в отличие от своего диметилзамещённого аналога С1 в отсутствие пероксида водорода способствовал росту клеток обоих штаммов, но менее эффективно, чем С1, защищал клетки штамма дефицитного по ферментам репарации в присутствии  $H_2O_2$  (табл. 3).

**ВЫВОДЫ.** В целом, в ряду исследованных соединений только сульфонат С1 лучше чем тролокс защищал клетки *E. coli* обоих штаммов от индуцированного  $H_2O_2$  окислительного стресса. В этой связи именно соединение С1 может рассматриваться как наиболее перспективное для более детального анализа в плане его применения в качестве антиоксиданта.

Работа поддержана интеграционным грантом СО РАН (грант № 98), программой фундаментальных исследований Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология” (грант № 22.7) и грантом РФФИ (грант № 07-04-00395).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sies H. (1985) Oxidative stress. London: Acad. Press, pp. 1–8.
2. Sies H. (1991) Amer. J. Med., **91**, 313–323.
3. Сейфулла Р.Д., Борисова И.Г. (1990) Фармакология и токсикология, **6**, 3-10.
4. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. Слово, М.
5. Вольский Н.Н., Кашлакова Н.В., Козлов В.А. (1988) Цитология, **30**, 895–902.
6. Richards D.M.S., Dean R.T., Jessup W. (1988) Biochim. Biophys. Acta, **946**, 281–288.
7. Drapier J.-C., Hibbs J.B. (1988) J. Immunol., **140**, 2829–2838.
8. Hoffman M.E., Mello-Filho A.C., Meneghini R. (1984) Biochim. Biophys. Acta, **781**, 234–238.
9. Harman D. (1992) Mutat. Res., **275**, 257–266.
10. Beckman K.B., Ames B.N. (1998) Physiol. Rev., **78**, 547–581.
11. Grollman A.P., Moriya M. (1993) Trends Genet., **9**, 246–249.
12. Halliwell B. (1994) Lancet, **344**, 721–724.
13. Журавлев А.И. (1982) Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. Наука, М., с. 3–37.
14. Bast A., Haenen G.R. (1990) Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine. N.-Y.: Plenum Press, pp. 111–116.
15. Munday R., Winterbourne C.C. (1989) Biochem. Pharmacol., **38**, 4349–4352.
16. Wengel A. (1988) Enzymes – Tools and Targets. Basel: Karger, pp. 161–167.
17. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. (1993) Успехи современной биологии, **113**, 456–470.

# ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛОВ

18. *Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И.* (1985) Человек и противокислительные вещества. Наука, Ленинград.
19. *Beyer R.E.* (1990) *Free Rad. Biol. Med.*, **8**, 545–565.
20. *Рогинский В.А.* (1988) Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. Наука, М.
21. *Mickle D.A.G., Li R.K., Weisel R.D. Tumiaty L.C., Wu T.W.* (1990) *J. Mol. Cell. Cardiol.* **22**, 1297–1304.
22. *Воскресенский О.Н., Жутаев И.А., Бобырев В.Н., Безуглый Ю.В.* (1982) *Вопр. мед. химии*, №1, 14–27.
23. *Соколовский В.В.* (1988) *Вопр. мед. химии*, №6, 3–10.
24. *Maron D.M., Ames B.N.* (1983) *Mutat. Res.*, **113**, 173–215.
25. *Quillardet P., Hofnung M.* (1985) *Mutat. Res.*, **147**, 65–78.
26. *Asad N.R., de Almedia C.E.B., Asad L.M.B.O., Felzeswalb I., Leitao A.C.* (1995) *Biochimie*, **77**, 262–264.
27. *Gomes E.M., Souto P.R., Felzeswalb I.* (1996) *Mutat. Res.*, **367**, 203–208.
28. *Imlay J., Chin S.M., Linn S.* (1988) *Science*, **240**, 640–642.
29. *Asad N.R., Leitao A.C.* (1991) *J. Bacteriol.*, **173**, 2562–2568.
30. *Кемелева Е.А., Васюнина Е. А., Сеницина О.И., Хомченко А.С., Гросс М.А., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Невинский Г.А.* (2008) *Биоорг. хим.*, **34**, 499–509.
31. *DeWitt S.K., Adelbeg E.A.* (1962) *Genetics*, **47**, 577–585.
32. *Олейник А.С., Куприна Т.С., Певнева Н.Ю., Марков А.Ф., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Григорьев И.А.* (2007) *Изв. АН. Сер. химич.*, **6**, 1094–1101.
33. *Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Дюбченко О.И., Стоянов Е.С.* (2001) *Журн. орг. химии*, **9**, 1317–1320.
34. *Миллер Дж.* (1976) Эксперименты в молекулярной генетике. Мир, М.
35. *Bhatnagar S.K., Bessman M.J.* (1988) *J. Biol. Chem.*, **263**, 8953–8957.
36. *Miller J.H., Michael M.* (1996) *Gene*, **179**, 129–132.
37. *Lin J.J., Sancar A.* (1989) *Bochemistry*, **28**, 7979–7984.
38. *Олейник А.С., Певнева Н.Ю., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Хоценко О.М., Душкин М.И.* (2008) *Химия в интересах устойчивого развития*, №5, 559–564.

Поступила: 25. 09. 2009.



EVALUATION OF CYTOTOXICITY AND EFFICIENCY OF ANTIOXIDANT PROTECTION  
OF HYDROPHILIC DERIVATIVES OF 2,4,6-TRIALKYLPHENOLS  
IN *ESCHERICHIA COLI* CELLS

U.N. Rotskaya<sup>1</sup>, L.P. Ovchinnikova<sup>1</sup>, E.A. Vasunina<sup>1</sup>, O.I. Sinitsina<sup>1</sup>, N.V. Kandalintseva<sup>2</sup>,  
E.A. Prosenko<sup>2</sup>, G.A. Nevinsky<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cytology and Genetics, SD RAS, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>2</sup>Novosibirsk State Pedagogic University, Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>3</sup>SD RAS Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Lavrentyeva st., 8, Novosibirsk, 630090 Russia; tel.: 007-383-3356226; fax: (3832) 333-677; e-mail: Nevinsky@niboch.nsc.ru

The effects of five new derivatives of 2,6-dialkyl-4-propylphenole containing in *para*-radical different ionogenic groups ( $-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{S}(\text{NH}_2)_2\text{Cl}$ ) in the presence and in the absence of hydrogen peroxide on the survival of *E. coli* AB1157 cells and its isogenic strain defective in repair enzyme genes were studied. Cell survival treated with hydrogen peroxide was remarkably increased in the presence of (3-(3,5-dimethyl-4-hydroxyphenyl)propyl)-1-sulphonate of sodium (C1). Replacement of methyl *ortho*-radicals in the structure of N1 for *tert*-buthyl or cyclohexyl groups led to a decrease of the compounds ability to protect the cells from exogenic hydrogen peroxide. Between derivatives of 2,6-di-*tert*-buthylphenol the compound with thiosulphonate group demonstrated properties comparable with those for its sulphonate analog, then a chloride of isotiurone at concentration 3 mM completely suppressed the growth of cells in presence and in the absence of  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Compound C1 may be considered as most perspective for detail analysis as antioxidant.

**Key words:** oxydative stress, phenolic sulfur content antioxydants, hydrophilic antioxydants, 2,4,6-trisubstituted phenols.