

УДК 547.56 + 543.97

## Новые подходы к созданию биологически активных водорастворимых антиоксидантов

Н. В. КАНДАЛИНЦЕВА, Ю. Н. ТРУБНИКОВА, А. Е. ПРОСЕНКО

*НИИ химии антиоксидантов Новосибирского государственного педагогического университета, ул. Вилюйская, 28, Новосибирск 630126 (Россия)**E-mail: aquaphenol@mail.ru*

### Аннотация

В обзоре представлены результаты авторских исследований в области синтеза и изучения антиоксидантных свойств полифункциональных водорастворимых антиоксидантов на основе алкилированных фенолов. Показана перспективность использования синтезированных соединений для коррекции патологических состояний, связанных с развитием окислительного стресса.

**Ключевые слова:** фенолы, полифункциональные фенольные антиоксиданты, водорастворимые антиоксиданты, антиоксидантная активность, свободнорадикальные патологии

### Оглавление

Введение .....	589
Пути синтеза полифункциональных гидрофильных антиоксидантов .....	591
Антиоксидантная активность синтезированных соединений .....	593
Биологическая активность азот-, серосодержащих гидрофильных антиоксидантов .....	595
Заключение .....	598

### ВВЕДЕНИЕ

Современная наука насчитывает более 200 заболеваний и патологических состояний, возникновение и развитие которых сопряжено с интенсификацией процессов неферментативного окисления – окислительным стрессом. В число таких патологий входят широко распространенные сердечнососудистые, воспалительные, онкологические и эндокринные заболевания, а также нарушения, связанные с неблагоприятным воздействием внешней среды (экологические патологии) и ассоциированные с возрастом (возрастные патологии). Это обуславливает актуальность создания лекарственных препаратов на основе соединений, обладающих противокислительной активностью [1, 2].

В системе естественной защиты живых организмов от повреждающего действия окислительного стресса важную роль играют природные фенолы (токоферолы, флавоноиды, убихинолы и др.). Их синтетические ана-

логи – алкилированные фенолы – также являются эффективными биоантиоксидантами [3]. В этой связи неудивительно, что в настоящее время в качестве лекарственных средств преимущественно используются антиоксиданты фенольного типа [4].

Большинство фенольных соединений, применяемых на практике и/или исследованных в лаборатории в качестве биоантиоксидантов, обладают липофильными свойствами. В то же время в биологии, ветеринарии и медицине эффективнее использовать гидрофильные формы, характеризующиеся большей биологической доступностью и удобными формами введения.

Проблема создания водорастворимых биоантиоксидантов решается путем введения в молекулы эффективных природных и синтетических антиоксидантов гидрофильных группировок – ионогенных групп или остатков сахаров (схема 1).

Такая модификация позволяет не только придать фенольным антиоксидантам водорас-

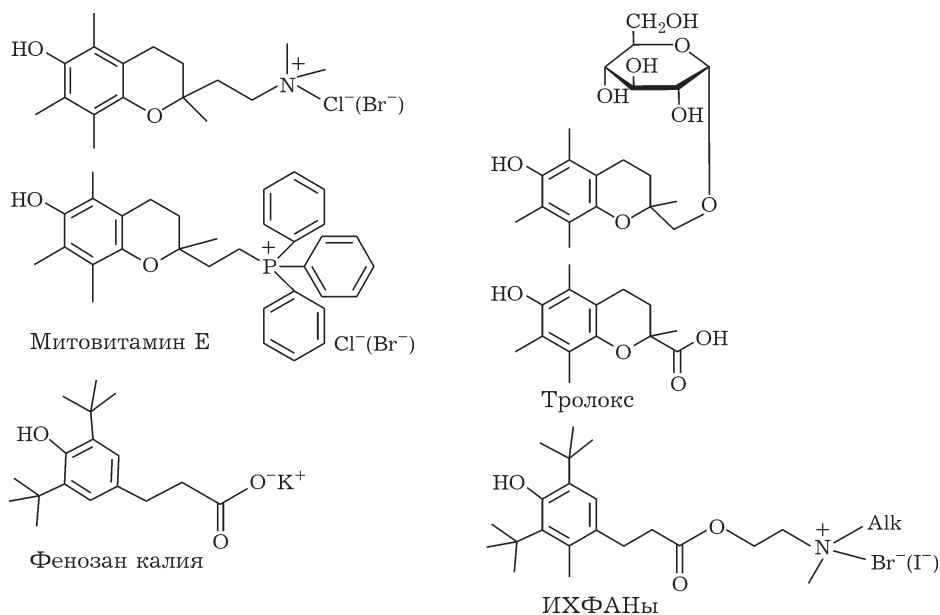


Схема 1.

творимый характер, но и создавать антиоксиданты направленного действия. Так, замещение алифатического “хвоста”  $\alpha$ -токоферола на тетраалкиламмонийную группу позволило синтезировать гидрофильные препараты с направленным кардиопротекторным действием [5, 6], а в случае его замещения на трифенилфосфониевую группу получен митохондриально-адресованный антиоксидант митовитамин E [7, 8]. Показано, что антиоксиданты, подобные митовитамину E, накапливаются в митохондриях в концентрациях, превышающих их содержание в крови в 100–500 раз. При этом они обеспечивают лучшую защиту митохондрий от окислительных повреждений по сравнению с обычным  $\alpha$ -токоферолом. Благодаря работам [9, 10], особую известность получили митохондриально-адресованные антиоксиданты на основе пластохинона.

Известно [3, 11], что в основе механизма действия фенольных антиоксидантов (ArOH) лежит их способность взаимодействовать с ведущими цепи окисления радикалами, в частности липопероксидными ( $\text{LOO}^\bullet$ ):



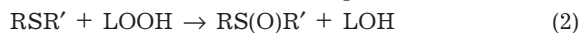
Высокая скорость протекания этой реакции и низкая активность феноксильных радикалов  $\text{ArO}^\bullet$  в реакциях продолжения цепей окисления определяют противоокислительное действие фенольных соединений [11, 12].

Вместе с тем, образующиеся в реакции (1) липопероксиды представляют собой малостабильные соединения и могут распадаться с зарождением новых цепей окисления:



Введение в молекулы фенольных антиоксидантов функциональных групп (в частности, сульфидных), способных восстанавливать гидропероксиды, приводит к значительному увеличению эффективности антиоксидантов [3, 13–15].

Предполагается [13, 14], что высокая эффективность противоокислительного действия серосодержащих фенольных антиоксидантов связана с клеточными эффектами. Нахождение гидроксифенильного и сульфидного фрагментов в одной молекуле способствует тому, что гидропероксид, образовавшийся на фенольной OH-группе по реакции (1), без выхода в объем окисляющегося субстрата восстанавливается атомом серы:



Благодаря этому, предотвращается возможность распада  $\text{LOOH}$  на свободные радикалы.

Показано, что липофильные серосодержащие фенольные антиоксиданты являются эффективными биоантиокислителями. Так, бис(3-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)пропил)сульфид (CO-3, тиофан) защищает клетки *S. typhimurium* от повреждающего

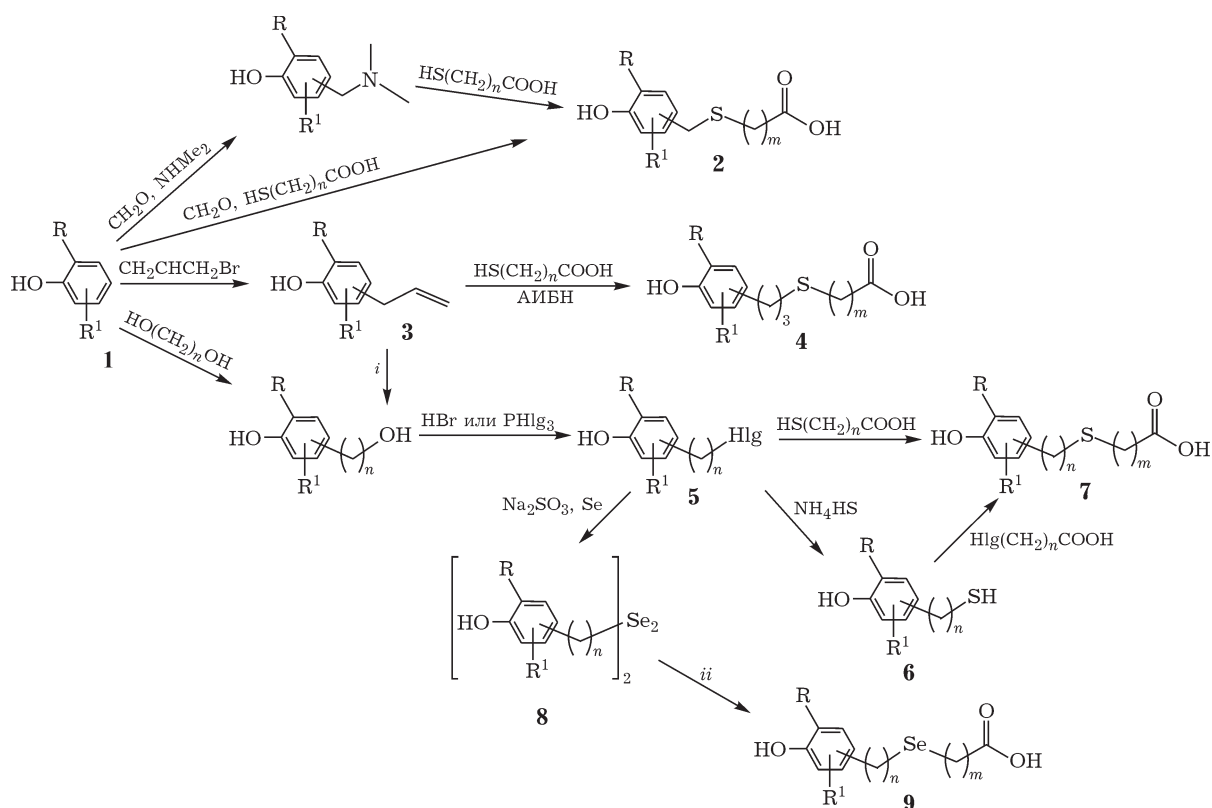
действия  $H_2O_2$  в тесте Эймса эффективнее тролокса [15] и *in vivo* проявляет выраженное протекторное действие при различных свободнорадикальных патологиях [16–22]. Додецил-(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид также эффективно защищает клеточные культуры от  $H_2O_2$  [23], *in vivo* проявлял гемореологическую, антиагрегационную и антитромбоцитарную активность [24], снижает накопление продуктов липопероксидации при экспериментальной ишемии головного мозга [25].

В этой связи представлялось перспективным создание водорастворимых фенольных антиоксидантов, которые, в отличие от предложенных ранее аналогов, наряду с антирадикальной активностью проявляли бы и противопероксидные свойства. Данная задача решалась нами посредством введения в молекулы алкилфенолов серо(селен, азот, фосфор)содержащих ионогенных фрагментов, а также дополнительных сульфидных и селенидных групп.

#### ПУТИ СИНТЕЗА ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГИДРОФИЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

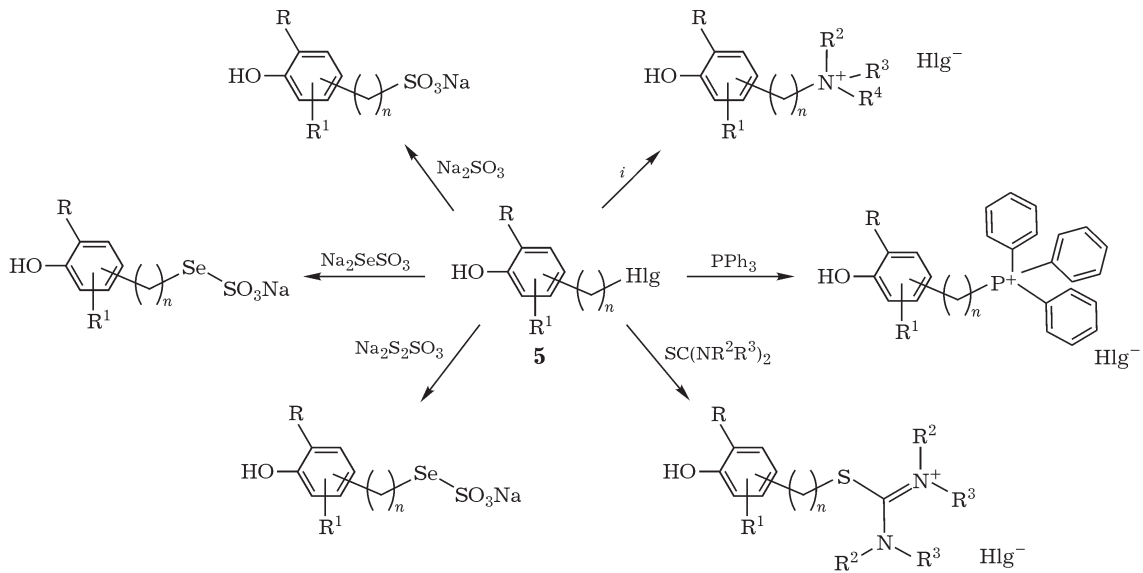
Для синтеза серо(селен, азот, фосфор)содержащих гидрофильных алкилфенолов применяли различные синтетические подходы, выбор которых определялся как структурой целевых соединений, так и доступностью исходных реагентов. Так, например, синтез гидроксиарилтиоалкановых кислот из 2,6(2,4)-диалкилфенолов **1** осуществляли в соответствии со схемой 2.

Гидроксибензилтиоалкановые кислоты **2** получали непосредственно из диалкилфенолов **1** конденсацией с формальдегидом и тиоалкановыми кислотами, а также через промежуточное получение оснований Манниха [26]. Пропилтиоалкановые кислоты **4** получали через аллилфенолы **3**, а кислоты **7** с различным числом метиленовых звеньев, разделяющих ароматическое ядро и атом серы – через галлодиалкилфенолы **5**. На основе последних син-



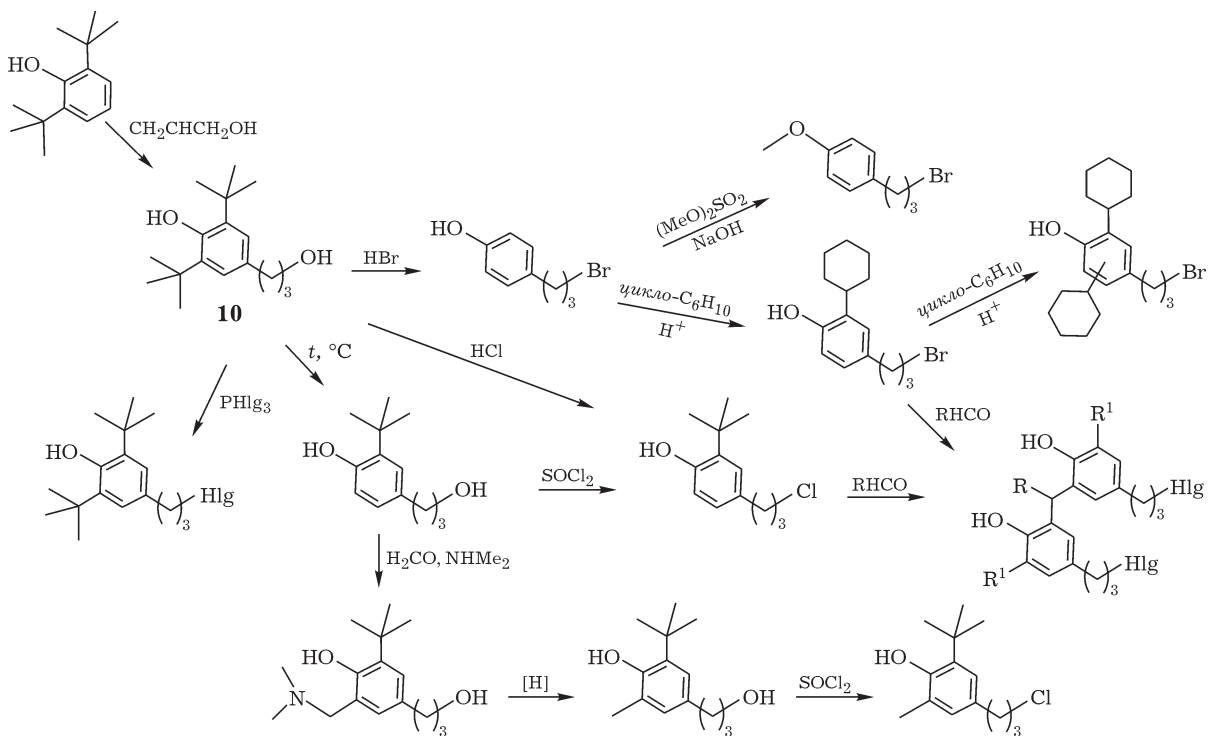
R, R<sup>1</sup> = Me, *t*-Bu, цикло-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>; n = 2–4; m = 1–4; Hlg = Cl, Br; *i*: 1) NaBH<sub>4</sub>, (MeO)<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>; 2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOH; *ii*: 1) NaBH<sub>4</sub>, 2) Br(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOH

Схема 2.



$\text{R}, \text{R}^1 = \text{H}, \text{Me}, t\text{-Bu}, \text{цикло-C}_6\text{H}_{11}$ ;  $\text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4 = \text{H}, \text{Me}$ ;  $n = 2-4$ ;  $\text{Hlg} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{J}$ ;  $i$ : 1)  $\text{C}_6\text{H}_4(\text{CO})_2\text{NK}$ , 2)  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 3)  $\text{NHlg}$  или 1)  $\text{NHMe}_2$  (или  $\text{NH}_2\text{Me}$ ),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 2)  $\text{NHlg}$  (или  $\text{EtJ}$ )

Схема 3.



$\text{R} = \text{H}, \text{Me}$ ;  $\text{R}^1 = t\text{-Bu}, \text{цикло-C}_6\text{H}_{11}$ ;  $\text{Hlg} = \text{Cl}, \text{Br}$

Схема 4.

тезированы также тиолы **6** и диселениды **8**, из которых по реакциям с галогеналкановыми кислотами получали соответствующие тио- и селеноалкановые кислоты **7** и **9** [27].

На основе галоидалкилфенолов **5** синтезированы и другие классы водорастворимых антиоксидантов (схема 3), содержащих в качестве ионогенных фрагментов алкиламмонийные [28, 29], трифенилфосфониевые, изотиурониевые [28–31], тио- и селеносульфатные, а также сульфонатные [31–33] группы.

Следует отметить, что ранее сотрудниками нашего института совместно с коллегами из НИОХ СО РАН были разработаны эффективные способы функционализации диалкилфенолов **1**, основанные на введении в ароматическое ядро гидроксильного заместителя и последующем превращении гидроксидалкилфенолов в галогениды **5**. На схеме 4 показаны пути синтеза *para*-галоидпропилфенолов с различным *ortho*-замещением из 2,6-ди-*tert*-бутилфенола через алканол **10** ( $\gamma$ -пропанол). Отдельные стадии этих превращений подробно описаны в работах [33–38].

Использование галоидалкилфенолов **5** в качестве полупродуктов для водорастворимых антиоксидантов позволило получить десятки целевых соединений, с одной стороны, характеризующихся значительным структурным разнообразием, а с другой, – образующих ряды с вариациями в строении отдельных структурных фрагментов. Это послужило основой для изучения в рядах синтезированных соединений зависимостей “структура – свойство” и последующего использования выявленных закономерностей для молекулярного дизайна и направленного синтеза новых соединений с требуемыми свойствами.

#### АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Молекулярный дизайн синтезированных гидрофильных антиоксидантов предполагает наличие двух типов противоокислительной активности: антирадикальной у фенольной ОН-группы и противопероксидной у серо(селен, азот, фосфор)содержащих групп. В этой связи исследование противоокислительных свойств синтезированных соединений по срав-

нению с предложенными ранее структурными аналогами проводили в различных модельных системах, позволяющих изучать как антирадикальную или противопероксидную активность, так и общую ингибирующую активность (Total Antioxidant Activity).

Об антирадикальной активности синтезированных соединений судили по величине константы скорости их взаимодействия с липопероксидными радикалами ( $k_1$ ), которые измеряли в условиях иницированного азосоединениями окисления метилолеата в гомогенных (в хлорбензоле) и микрогетерогенных растворах (водные растворы ПАВ).

В рядах гидрофильных производных 3-(4-гидроксиарил)пропильного ряда с различным числом и строением *ortho*-заместителей наименьшими значениями  $k_1$  характеризовались *ortho*-незамещенные соединения, наибольшими – производные с метильными и циклогексильными группами [33].

Степень влияния ионогенного фрагмента на величину  $k_1$  зависела от его удаленности от ароматического ядра и условий окисления. Так, при окислении метилолеата в хлорбензоле в ряду хлоридов *N,N*-диметил- $\omega$ -(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)алкиламмония увеличение числа метиленовых звеньев в *para*-заместителе приводило к росту значений  $k_1$ . При этом хлорид бензиламмония характеризовался более низким (в 1.7 раза) значением  $k_1$  по сравнению с соответствующим амином, а по мере удаления атома азота от ароматического ядра различия в величинах  $k_1$  для алкиламинов и их солей нивелировались [39]. По-видимому, этот эффект связан с электроноакцепторным влиянием аммонийного атома азота.

С другой стороны, при окислении метилолеата в хлорбензоле 2,6-ди-*tert*-бутил-4-метилфенол (ионол, он же дибунол) и его гидрофильные производные, в частности S-[3-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)пропил]-тиосульфат натрия (**11**) характеризовались практически одинаковыми значениями  $k_1$  [40]. При окислении метилолеата в водном растворе ПАВ величина  $k_1$  для ионола почти в 5 раз выше таковой для тиосульфата **11** [33]. С привлечением УФ-спектроскопии показано, что в бифазной системе “метилолеат – вода” тиосульфат **11** находится преимущественно в воде, тогда как ионол нацело переходит в ме-

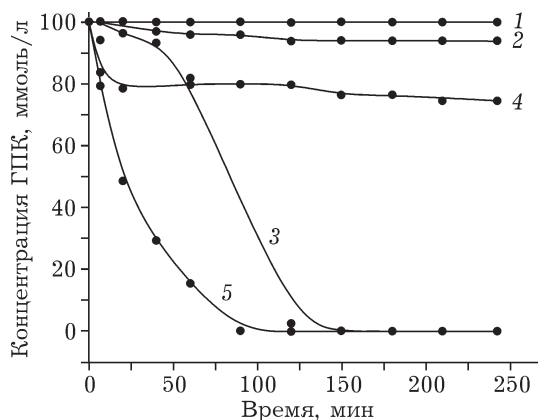
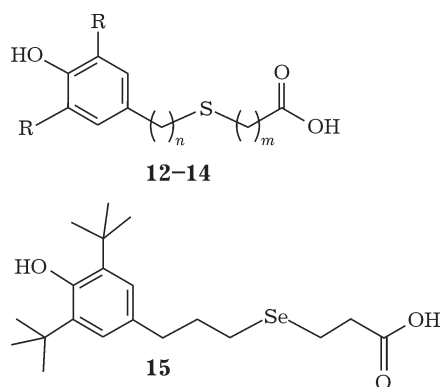


Рис. 1. Кинетические кривые разложения ГПК под действием 10 мМ фенозана (1) и  $\omega$ -(4-гидроксиарил)алкилтио(селено)алкановых кислот **12–15** (2–5 соответственно) при 60 °С.

тилолеат. Таким образом, в водно-липидных системах экспериментально измеряемые величины  $k_1$ , по-видимому, существенным образом зависят от распределения молекул антиоксидантов между липидной и водной фазами.

Противопероксидную активность синтезированных соединений изучали в модельной реакции разложения гидропероксида кумола (ГПК). Как и следовало ожидать, добавки фенозана (3-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокси-фенил)пропановой кислоты) не оказывали влияния на устойчивость ГПК, в то время как в присутствии его серо- и селенсодержащих аналогов **12–15** наблюдалось снижение концентрации ГПК (рис. 1).



R = *t*-Bu,  $n = 3$ ,  $m = 1$  (**12**);  
R = Me,  $n = 1$ ,  $m = 1$  (**13**),  $m = 3$  (**14**)

Кинетические кривые разложения ГПК в присутствии бензилтиоэтановой кислоты **13** имели выраженный S-образный характер, что

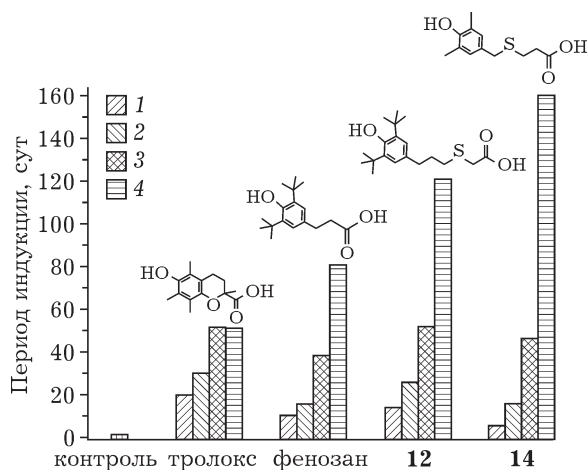


Рис. 2. Диаграмма периодов индукции окисления метилолеата (60 °С), ингибированного гидроксиарилалкановыми кислотами. Концентрация кислот, мкмоль/г: 0,25 (1), 0,5 (2), 1,0 (3), 2,5 (4).

свидетельствует о протекании автокаталитической реакции [26]. Вероятно, в роли катализаторов разложения ГПК выступают сульфокислоты, образующиеся в процессе окисления сульфидной группы кислоты **13**. На возможность образования сульфокислот в процессе окисления структурного аналога кислоты **13** – бис(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокси-бензил)сульфида – и их способность катализировать разложение гидропероксидов ранее указывали авторы работ [41, 42].

На рис. 2 представлена диаграмма периодов индукции автоокисления метилолеата, ингибированного добавками антиоксидантов, содержащих в качестве гидрофильного фрагмента карбоксильную группу. Видно, что во всем диапазоне исследованных концентраций от 0,25 до 2,5 мкмоль/г фенозан уступает по антиоксидантной активности своему серосодержащему аналогу **12**. В области низких концентраций водорастворимый аналог  $\alpha$ -токоферола тролокс превосходит по эффективности *орто*-диметилзамещенную кислоту **14**. Однако в диапазоне концентраций 1–2,5 мкмоль/г противокислительная активность кислоты **14** резко возрастает, в то время как для тролокса усиления ингибирующего действия не наблюдается.

Известно, что  $\alpha$ -токоферол, который считается одним из наиболее эффективных природных антиоксидантов, проявляет высокую антиокислительную активность именно в низких концентрациях. В области высоких концентраций (по оценкам [43], при соотноше-

ТАБЛИЦА 1

Противоокислительная активность S-[3-(гидроксиарил)пропил]тиосульфатов и [3-(гидроксиарил)пропан]-1-сульфонатов натрия *in vitro* (концентрации, обеспечивающие 50 % ингибирование интенсивности окисления, мкМ)

Соединения	Система 1		Система 2	Система 3
	Cu <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>		
<b>11</b>	10	15	123	10.7
<b>16</b>	30	18	525	9.7
<b>17</b>	400	380	27	2.9
<b>18</b>	11 800	>1 · 10 <sup>6</sup>	74	16.5
<b>19</b>	15	36	631	24.7
<b>20</b>	43	32	1170	10.1
<b>21</b>	2770	2650	214	5.9
<b>22</b>	Дозозависимое стимулирование			
Фенозан калия	13	1.8	800	21.3

ниях α-токоферол/жирная кислота > 1 : 100) проявляет проокислительные свойства вследствие участия токоферильных радикалов в реакциях продолжения цепей окисления:



Такая концентрационная инверсия антиокислительного действия в проокислительное характерна для многих природных антиоксидантов, и с ней связывают неудачи в клиническом использовании витаминов-антиоксидантов для лечения свободно-радикальных патологий [1]. Различный характер зависимостей эффективности противоокислительного действия от концентрации для тролокса и тиоалкановых кислот **12** и **14** указывает на то, что, в отличие от природных антиоксидантов (в частности, α-токоферола и его гидрофильных производных), для синтезированных нами соединений дозозависимая инверсия антиокислительного действия не характерна.

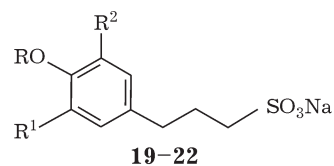
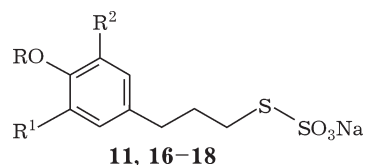
**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОТ-, СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ГИДРОФИЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ**

В работе [44] исследована способность хлоридов *N,N*-диметил-(4-гидроксиарил)алкиламмония различного строения защищать от негативного воздействия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> клетки *Escherichia coli* двух штаммов: АВ1157 дикого типа и его изогенного мутанта ВН910, дефектного по системе репарации окислительных повреждений. Установлено, что соли 3-метил-5-трет-бутил-4-гидроксibenзил- и 3-(3,5-ди-

трет-бутил-4-гидроксifenил)пропиламинов защищают мутантные клетки ВН910 от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> эффективнее тролокса, а хлорид *N,N*-диметил-(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)аммония превосходит по протекторному действию тролокс в отношении обоих штаммов.

Биоантиоксидантные свойства тиосульфатов **11**, **16–18** и сульфонов **19–22** изучали *in vitro* по их влиянию на окисление липопротейнов низкой плотности (ЛПНП) при их инкубации с ионами металлов переменной валентности (система 1), на генерацию активных кислородных метаболитов (АКМ) стимулированными нейтрофилами крови (система 2) и на образование пероксонитрит-аниона (ONOO<sup>-</sup>) при разложении морфолиносиднонимина (система 3) [32, 45, 46]. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Во всех случаях 50 % ингибирование интенсивности окислительных процессов дости-



- R = H, R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = *t*-Bu (**11**, **19**)
- R = R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = *t*-Bu (**16**, **20**)
- R = R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H (**17**, **21**)
- R = Me, R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H (**18**, **22**)

ТАБЛИЦА 2

Полулетальные дозы ( $LD_{50}$ ) для гидрофильных производных 3-(4-гидроксиарил)пропильного ряда (мышь, внутрибрюшинное введение), мг/кг

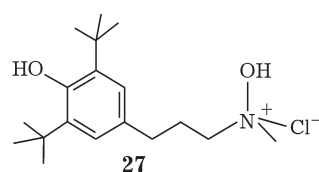
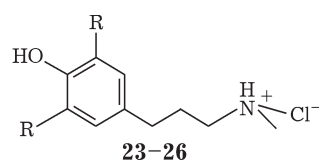
Орто-заместители	Гидрофильный фрагмент в <i>para</i> -заместителе				
	$NMe_2 \cdot HCl$	$SC(NH_2)_2^+Cl^-$	$SSO_3Na$	$SO_3Na$	$SCH_2COONa$
<i>t</i> -Bu	80	30	175	275	200
Me	70	110	1000	>3000	950
H	45	80	800	1800	900

галось при использовании более низких концентраций тиосульфатов **11**, **16–18** по сравнению с сульфонатами **19–22** аналогичного строения (см. табл. 1). Используемый в данном исследовании в качестве антиоксиданта сравнения фенозан калия по активности близок к сульфонату **19**, но уступает соответствующему тиосульфату **11**. Эти данные свидетельствуют о том, что присутствие атома бивалентной серы в структуре тиосульфатов **11**, **16–18** усиливает их антиокислительные свойства.

При оценке перспектив практического использования синтетических соединений в качестве биологически активных веществ, наряду с их специфической активностью, важно учитывать и безопасность применения. В результате исследования острой токсичности солянокислых солей *N,N*-диметил-3-(4-гидроксиарил)пропиламмония и хлоридов *S*-[3-(4-гидроксиарил)пропил]изотиурония показано, что она снижается при удалении *tert*-бутильных орто-заместителей или при их замене на метильные группы [29, 31]. В ряду же производных 3-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)пропильного ряда токсичность уменьшалась при замене алкиламмонийных и изотиурониевых групп на тиосульфатные и сульфонатные [31]. Это позволило предположить, что наиболее безопасными в применении будут производные 2,6-диметилфенола, содержащие в *para*-алкильном заместителе гидрофильные фрагменты анионного типа. Справедливость данного предположения подтверждена после синтеза соответствующих *S*-[3-(4-гидроксиарил)пропил]тиосульфатов, -сульфонатов и -тиоэтаноев (табл. 2). Согласно принятой классификации [47], алкилзамещенные фенолы, содержащие в структуре группы  $SSO_3Na$ ,  $SO_3Na$  и  $SCH_2COOK(Na)$ , относятся к IV–V классам токсичности соответственно.

Гидрофильные производные  $\omega$ -(4-гидроксиарил)алкильного ряда с различными ионными фрагментами *in vivo* проявляли выраженную гепатопротекторную активность [40]. Так, хлориды  $\omega$ -(3,5-диалкил-4-гидроксиарил)алкиламмония в низких дозах (1/10 от  $LD_{50}$ ) уменьшали гепатотоксическое действие  $CCl_4$ , что проявлялось в достоверном снижении активности гепатоцеллюлярного фермента аланинаминотрансферазы (АЛАТ) в сыворотке крови и уменьшении содержания малонового диальдегида (МДА) в печени экспериментальных животных [29]. Наиболее эффективным в данном исследовании оказался хлорид *N,N*-диметил-[3-(3,5-ди-*tert*-бутил-4-гидроксифенил)пропил]аммония **23**, который снижал активность АЛАТ на 58 %, а концентрацию МДА – почти вдвое. По гепатопротекторным свойствам этот хлорид вдвое превосходил применяемый в медицинской практике водорастворимый антиоксидант эмоксипин (гидрохлорид 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина).

Различия в гепатопротекторной активности гидрохлоридов **23–27** [29] соответствовали различиям в способности соответствующих им аминов и *N*-оксида ингибировать автоокисление лярда [48] (рис. 3).



R = *t*-Bu (**23**), цикло- $C_6H_{11}$  (**24**), Me (**25**), H (**26**)



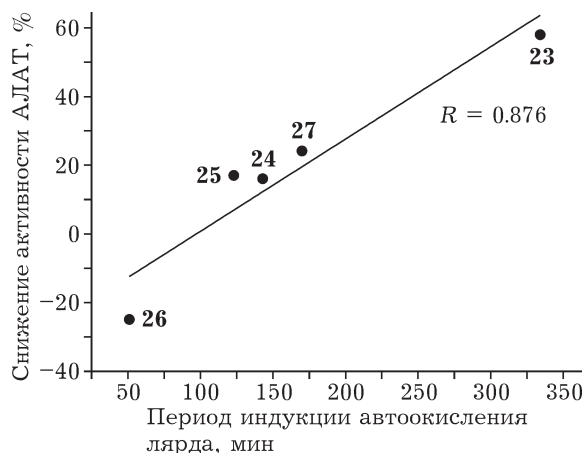


Рис. 3. Зависимость между гепатопротекторной активностью хлоридов *N,N*-диметил-3-(4-гидроксиарил)пропиламмония и антиокислительной активностью соответствующих аминов.

Наличие корреляции между антиокислительной активностью соединений в простых окислительных системах и гепатопротекторным действием *in vivo* хорошо согласуется с общепринятыми представлениями о механизме повреждающего действия  $CCl_4$ . Так, согласно данным представлений,  $CCl_4$  метаболизируется в микросомах печени с образованием трихлорметильных радикалов, а последние индуцируют процессы пероксидного окисления липидов в мембранах и вызывают гибель гепатоцитов [3].

Тот факт, что окисление атома азота при переходе от **23** к **27** приводит к снижению антиокислительной активности, свидетельствует о том, что соли  $\omega$ -(гидроксиарил)алкиламинов являются полифункциональными антиоксидантами, и эффективность их действия определяется активностью как фенольной, так и алкиламмонийной группы.

На модели изолированного сердца (крысы линий Wistar и Oxyus) выявлено наличие у тиосульфата **11** кардиопротекторной активности [49]. Так, перфузия изолированных сердец раствором тиосульфата **11** приводила к стабильному увеличению их работы (150–160 % к исходному) при одновременном возрастании потребления кислорода, а после 30-минутной ишемии миокарда тиосульфат **11** восстанавливал работу сердца до исходных параметров.

Введение тиосульфата **11** (*per os* в курсовой дозе 25–45 мг/кг) способствовало восста-

новлению иммунной системы мышей, подвергшихся облучению (200 рентген) или введению циклофосфана (200 мг/кг). На это указывает увеличение числа антителообразующих клеток в селезенке экспериментальных животных на фоне иммунизации 2 % раствором эритроцитов барана в 1.34 раза по сравнению с контролем в случае постлучевого иммунодефицита, в 1.79 раза по сравнению с контролем – в случае постциклофосфанового восстановления иммунитета [50].

Добавление тиосульфата **11** (0.2 мг/мл) в культуру мононуклеарных клеток крови больных хроническим гепатитом С приводило к усилению их пролиферативной активности. Это свидетельствует о том, что тиосульфат **11** наряду с иммуностимулирующими свойствами может обладать и противовирусной активностью [51].

Тиосульфаты **11**, **16–18** и сульфонаты **19–21** проявляли достоверное противовоспалительное действие на модели каррагинан-индуцированного отека лапы у крыс. При этом наиболее эффективным агентом оказался моно-*tert*-бутилзамещенный тиосульфат **16**, который по эффективности превосходил как свои аналоги, так и фенозан калия и аспирин [45]. Соответствия между противовоспалительными и антиокислительными свойствами исследуемых препаратов не наблюдалось, и это свидетельствует о том, что влияние данных препаратов на организм не ограничивается их влиянием на интенсивность протекания окислительных процессов.

В последние годы было показано, что биологическая роль фенольных соединений в организме часто определяется их регуляторным действием, а не антиоксидантными свойствами, это касается даже классических антиоксидантов, таких как  $\alpha$ -токоферол [52]. В клетках важной мишенью действия экзогенных фенольных антиоксидантов являются редокс-чувствительные транскрипционные факторы, прежде всего антиоксидант-респонсивный элемент (ARE: antioxidant responsive element) [53].

С целью проверки гипотезы о способности синтезированных антиоксидантов реализовывать свое действие посредством активации ARE на культуре клеток гепатомы человека HepG2 исследована их способность усиливать транскрипцию гена GSTP1, кодирующего глу-

татион-S-трансферазу P1. Установлено, что в концентрации 20 мкМ все исследованные соединения **11**, **16–21** повышали экспрессию гена GSTP1. Наиболее эффективным оказался час-точно экранированный тиосульфат **16**, активность которого во всем диапазоне исследованных концентраций 10–100 мкМ в среднем в 1.5 раза превышала активность классического индуктора ARE *трет*-бутил-гидрохинона. По-видимому, в основе эффективности противовоспалительного действия тиосульфата **16** лежит его способность индуцировать экспрессию контролируемых ARE генов, кодирующих белки, которые участвуют в воспалительном процессе [45].

Известно [1], что возрастные патологии (болезни Альцгеймера, Паркинсона, инфаркт миокарда, диабет II типа, остеоартриты и ревматоидные артриты) связаны с развитием окислительного стресса. В этой связи представляет интерес исследовать возможность использования антиоксидантов в качестве геропротекторов.

В работе [54] показано, что влияние тиосульфата **16** на среднюю продолжительность жизни разных линий *Drosophila melanogaster* в значительной степени зависит от пола, генотипа и условий среды. В нормальных условиях средняя продолжительность жизни долгоживущих самок и самцов линии *Canton S* изменялась в условиях воздействия антиоксиданта, в то время как мухи линии *Oregon R* оказались нечувствительными к его действию. Вместе с тем, в условиях окислительного стресса, индуцированного паракватом, тиосульфат **16** повышает выживаемость обеих линий *D. melanogaster*. В клетках паракват циклично окисляется и восстанавливается в реакциях с участием NAD(P)H, образуя супероксидный анион-радикал. При этом повреждаются клетки головного мозга (*substantia nigra*) и развиваются процессы, характерные для болезни Паркинсона [55, 56]. Выявленный защитный эффект тиосульфата **16** в условиях воздействия параквата определяет перспективность его дальнейшего исследования в качестве препарата для лечения старческих нейродегенеративных заболеваний.

По данным [57], производные 2,6-диметилфенола, содержащие в *пара*-алкильном заместителе ионогенные группы  $\text{SSO}_3\text{Na}$ ,  $\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $\text{SCH}_2\text{COOK}$ , проявляли фунгистати-

ческую активность в отношении микроскопических грибов, продуцирующих микотоксины в комбикормах, используемых при выращивании цыплят-бройлеров. Введение тех же антиоксидантов в рацион цыплят-бройлеров, подвергающихся интоксикации соединениями свинца и кадмия, препятствовало накоплению тяжелых металлов в органах и тканях [58] и оказывало положительное влияние на рост и развитие цыплят [59].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований антиоксидантной активности синтезированных соединений в различных модельных системах, включая *in vitro* и *in vivo*, подтвердили, что введение в молекулы водорастворимых фенольных антиоксидантов функциональных групп, обладающих противопероксидной активностью, способствует повышению общей антиоксидантной активности соединений и позволяет получать антиоксиданты, превосходящие по эффективности предложенные ранее аналоги.

Авторы выражают искреннюю благодарность за сотрудничество своим коллегам из НГПУ, институтов СО РАН и СО РАМН, а также НГАУ, в соавторстве с которыми были опубликованы работы, использованные при написании данного обзора.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З., Бондарь И. А., Труфакин В. А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008.
- 2 Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К., Бондарь И. А., Круговых Н. Ф., Труфакин В. А. Окислительный стресс: прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006.
- 3 Зенков Н. К., Кандалинцева Н. В., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б., Просенко А. Е. Фенольные биоантиоксиданты. Новосибирск: СО РАМН, 2003.
- 4 Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2010.
- 5 Grisar J. M., Petty M. A., Bolkenius F. N., Dow J., Wagner J., Wagner E. R., Haegele K. D., De Jong W. // *J. Med. Chem.*, 1991. Vol. 34. P. 257.
- 6 Petty M. A., Grisar J. M., Jong W. de // *Eur. J. Pharmacol.* 1992. Vol. 210. P. 85.
- 7 Coulter C. V., Kelso G. F., Lin T.-K., Smith R. A., Murphy M. P. // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. Vol. 28. P. 1547.
- 8 Smith R. A. J., Porteous C. M., Gane A. M., Murphy M. P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 5407.
- 9 Скулачев В. П. // *Биохимия.* 2007. Т. 72. С. 1700.

- 10 Антоненко Ю. Н., Аветисян А. В., Бакеева Л. Е., Черняк Б. В., Чертков В. А., Домнина Л. В., Иванова О. Ю., Изюмов Д. С., Хайлова Л. С., Клишин С. С., Коршунова Г. А., Лямзаев К. Г., Мунтян М. С., Непряхина О. К., Пашковская А. А., Плетюшкина О. Ю., Пустовидко А. В., Рогинский В. А., Рокицкая Т. И., Рууге Э. К., Сапрунова В. Б., Северина И. И., Симонян Р. А., Скулачев И. В., Скулачев М. В., Сумбатян Н. В., Свириева И. В., Ташлицкий В. Н., Васильев Ю. М., Высоких М. Ю., Ягужинский Л. С., Замятнин А. А. (мл.), Скулачев В. П. // *Биохимия*. 2008. Т. 73. № 12. С. 1589.
- 11 Рогинский В. А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность. М.: Наука, 1988.
- 12 Denisov E. T., Denisova T. G. *Handbook of Antioxidants: Bond Dissociation Energies, Rate Constants, Activation Energies and Enthalpies of Reactions*. Boca Raton: CRC Press, 2000.
- 13 Meier H., Kuenzi H., Knobloch G., Rist G., Szelagiewicz M. // *Phosphorus, Sulfur and Silicon*. 1999. Vol. 153–154. P. 275.
- 14 Meier H., Kuenzi H., Knobloch G., Rist G., Szelagiewicz M. // *Chemistry and Technology of Polymer Additives*. UK, Blackwell, Oxford, 1999.
- 15 Овчинникова Л. П., Рощкая У. Н., Васюнина Е. А., Синицина О. И., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Невинский Г. А. // *Биоорган. химия*. 2009. Т. 35. № 3. С. 417.
- 16 Бахтина И. А., Антипьева Е. В., Просенко А. Е. Стрельцова Г. П., Душкин М. И., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Рагино Ю. И. // *Бюлл. СО РАМН*. 2000. № 3–4. С. 24.
- 17 Пат. 2242221 РФ, 2004.
- 18 Смольякова В. И., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Иванов И. С., Просенко А. Е., Кандалинцева Н. В. // *Экспер. клин. фармакол.* 2010. Т. 73. С. 32.
- 19 Каледин В. И., Колосова Н. Г., Гончар А. М., Гришанова А. Ю., Просенко А. Е. // *Сиб. экол. журн.* 2004. № 1. С. 19.
- 20 Пат. 2367420 РФ, 2009.
- 21 Смольякова В. И., Плотников М. Б., Чернышева Г. А., Иванов И. С., Просенко А. Е., Кандалинцева Н. В. // *Бюлл. сиб. мед.* 2010. № 5. С. 98.
- 22 Макеев А. А., Сахаров А. В., Просенко А. Е. // *Вестн. КрасГАУ*. 2009. № 6. С. 105.
- 23 Кемелева Е. А., Васюнина Е. А., Синицина О. И., Хомченко А. С., Гросс М. А., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Невинский Г. А. // *Биоорган. химия*. 2008. Т. 34. № 4. С. 558.
- 24 Пат. 2368376 РФ, 2009.
- 25 Плотников М. Б., Просенко А. Е., Смольякова В. И., Иванов И. С., Чернышева Г. А., Кандалинцева Н. В. // *Хим.-фарм. журн.* 2010. Т. 44. № 3. С. 65.
- 26 Степанова Т. С., Трубникова Ю. Н., Олейник А. С., Гаас Н. А., Марков А. Ф., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Бутлеров. сообщ.* 2011 (в печати).
- 27 Трубникова Ю. Н., Ягунов С. Е., Гаас Н. А., Олейник А. С., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Химия уст. разв.* 2011. № 6. С. 685.
- 28 Кандалинцева Н. В., Дюбченко О. И., Просенко А. Е., Душкин М. И., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б. // *Хим.-фарм. журн.* 2001. Т. 35, № 3. С. 22.
- 29 Дюбченко О. И., Никулина В. В., Марков А. Ф., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Хощенко О. М., Шварц Я. Ш., Душкин М. И. // *Хим.-фарм. журн.* 2006. Т. 40, № 4. С. 117.
- 30 Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Дюбченко О. И., Стоянов Е. С. // *Журн. орган. химии*. 2001. Т. 37. С. 1317.
- 31 Олейник А. С., Певнева Н. Ю., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Хощенко О. М., Душкин М. И. // *Химия уст. разв.* 2008. Т. 16, № 5. С. 559.
- 32 Просенко А. Е., Клепикова С. Ю., Кандалинцева Н. В., Дюбченко О. И., Душкин М. И., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б. // *Бюлл. СО РАМН*. 2001. Т. 99, № 1. С. 114.
- 33 Олейник А. С., Куприна Т. С., Певнева Н. Ю., Марков А. Ф., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Григорьев И. А. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2007. № 6. С. 1094.
- 34 А. с. 858306 СССР, 1979.
- 35 А. с. 1162781 СССР, 1985.
- 36 Пат. 1376511 РФ, 1993. [С. А., 124, 316743].
- 37 Просенко А. Е., Скоробогатов А. А., Дюбченко О. И., Пинко П. И., Кандалинцева Н. В., Шакиров М. М., Покровский Л. М. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2007. № 6. С. 1078.
- 38 Марков А. Ф., Просенко А. Е., Кандалинцева Н. В. // *Химия уст. разв.* 2007. Т. 15, № 5. С. 557.
- 39 Дюбченко О. И., Никулина В. В., Терах Е. И., Кандалинцева Н. В., Марков А. Ф., Григорьев И. А., Просенко А. Е. // *Нефтехимия*. 2005. Т. 45, № 5. С. 359.
- 40 Кандалинцева Н. В., Дюбченко О. И., Терах Е. И., Просенко А. Е., Шварц Я. Ш., Душкин М. И. // *Хим.-фарм. журн.* 2002. Т. 36, № 4. С. 13.
- 41 Farsaliev V. M., Fernando W. S., Scott G. // *Eur. Polym. J.* 1978. Vol. 14. P. 785.
- 42 Асланов А. Д., Петров Л. В., Денисов Е. Т., Кулиев Ф. А. // *Нефтехимия*. 1985. Т. 25. С. 84.
- 43 Чудинова В. В., Алексеев С. М., Захарова Е. И., Евстигнеева Р. П. // *Биоорган. химия*. 1994. Т. 10. С. 1029.
- 44 Рощкая У. Н., Овчинникова Л. П., Васюнина Е. А., Синицина О. И., Дюбченко О. И., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е., Невинский Г. А. // *Биоорган. химия*. 2010. Т. 36, № 4. С. 563.
- 45 Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Кандалинцева Н. В., Олейник А. С., Просенко А. Е., Гусаченко О. Н., Шкляева О. А., Вавилин В. А., Ляхович В. В. // *Биохимия*. 2007. Т. 72, № 6. С. 790.
- 46 Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Бюлл. экспер. биологии и медицины. Приложение 1*. 2008. С. 42.
- 47 Сидоров К. К. // *Токсикология новых промышленных химических веществ*. М.: Медицина, 1973.
- 48 Дюбченко О. И., Никулина В. В., Терах Е. И., Просенко А. Е., Григорьев И. А. // *Журн. прикл. химии*. 2005. Т. 78, № 5. С. 796.
- 49 Колпаков А. Р., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Тез. докл. VI Междунар. конф. "Биоантиоксидант"*. М., 2002. С. 278.
- 50 Колесникова О. П., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Тез. докл. VII Междунар. конф. "Биоантиоксидант"*. М., 2006. С. 156.
- 51 Фридлянд И. Ф., Просенко А. Е., Клепикова С. Ю., Кандалинцева Н. В., Леплина О. Ю., Тихонова М. А., Останин А. А., Черных Е. Р. // *Мед. иммунология*. 2001. Т. 3, № 2. С. 243.
- 52 Takabe W., Matsukawa N., Kodama T., Tanaka K., Noguchi N. // *Free Rad. Res.* 2006. Vol. 40, No. 1. P. 21.
- 53 Ляхович В. В., Вавилин В. А., Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б. // *Биохимия*. 2006. Т. 71. С. 1183.
- 54 Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Вайсман Н. Я., Кандалинцева Н. В., Просенко А. Е. // *Бюлл. экспер. биологии и медицины*. 2010. Т. 150, № 7. С. 74.

- 55 Dinis-Oliveira R. J., Duarte J. A., Sánchez-Navarro A., Remiro F., Bastos M. L., Carvalho F. // *Crit. Rev. Toxicol.* 2008. Vol. 38, No. 1. P. 13.
- 56 Jimenez-Del-Rio M., Guzman-Martinez C., Velez-Pardo C. // *Neurochem. Res.* 2010. Vol. 35. P. 227.
- 57 Коваль Ю. И., Шатунова М. П., Бокова Т. И., Шалдяева Е. М., Кандалинцева Н. В. // *Вестн. НГАУ.* 2011. № 18. С. 61.
- 58 Коваль Ю. И., Бокова Т. И. // *Вестн. НГАУ.* 2011. № 14. С. 35.
- 59 Коваль Ю. И., Бокова Т. И. // *Вестн. НГАУ.* 2009. № 9. С. 37.