

УДК 577.3

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ ПРИ РЕНТГЕНОВСКОМ ОБЛУЧЕНИИ В МАЛОЙ ДОЗЕ

© 2019 г. Л.Н. Шишкина, А.Ю. Бабкин, М.А. Климович, М.В. Козлов, Л.И. Мазалецкая,
Н.И. Шелудченко, И.Ю. Чукичева*, И.В. Федорова*, А.В. Кучин*

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

**Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167000, Сыктывкар, Первомайская ул., 48, Республика Коми*

E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 02.11.2018 г.

После доработки 25.06.2019 г.

Принята к публикации 04.07.2019 г.

Изучены эффективность ингибирования и радиопротекторные свойства двух изоборнилфенолов при их введении за 30 мин до рентгеновского облучения беспородных мышей (самки) в дозе 50 сГр. Установлено, что высокая ингибирующая эффективность 1,3-дигидрокси-4,6-диизоборнилбензола обусловлена взаимодействием с пероксирадикалами. Профилактическое введение 2-изоборнилорксифенола нормализует индекс селезенки и содержание продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови облученных мышей, показатели, ранее предложенные в качестве тестов для оценки противолучевых свойств препаратов при облучении лабораторных животных в малых дозах. Выявлена нежелательность применения водного раствора этанола как растворителя для введения гидрофобных соединений в организм при слабых радиационных воздействиях. Полученные данные и анализ литературы позволяют предположить перспективность применения изоборнилфенолов как противолучевых средств при радиационных воздействиях в разных диапазонах доз.

Ключевые слова: изоборнилфенолы, антиоксидантная активность, перекисное окисление липидов, рентгеновское излучение, малые дозы, радиопротекторные свойства.

DOI: 10.1134/S000630291906019X

Различие ведущих молекулярных механизмов формирования последствий воздействия ионизирующих излучений на организм [1,2] обуславливает отсутствие универсальных противолучевых средств, обеспечивающих защиту биологических объектов от повреждающего воздействия ионизирующих излучений во всех диапазонах доз [3,4]. Это следует из сформулированных еще в 70-х годах прошлого столетия представлений о том, что не только ДНК, но и мембрана является мишенью действия ионизирующих излучений на биологические объекты. Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающие на мембранном, клеточном и органном уровнях, относятся к одним из наиболее древних в эволюционном плане регуляторных механизмов. Это позволяет рассматривать их как нормальный физиологический процесс [5,6], а интенсификацию

процессов окисления, обусловленную активацией активных форм кислорода, в качестве основной причины развития окислительного стресса, играющего важную роль медиатора поражения мембран, липидов, белков, ДНК и других компонентов клетки [7,8]. Система окислительно-восстановительного гомеостаза играет важную роль в формировании радиационно-индуцированной нестабильности генома [9].

В системе защиты организма от острого облучения в сублетальных и летальных дозах более эффективными оказались синтетические соединения и цитокины, однако при облучении в малых дозах преимущество отдается препаратам природного происхождения [4,10–14]. Поиск средств защиты от действия ионизирующих излучений в малых дозах в настоящее время становится все более актуальным в связи с широким использованием источников ионизирующих излучений в медицинской практике и повседневной жизни человека. Это вызывает необходимость поиска эффективных, недорогих и нетоксичных

Сокращения: ПОЛ – перекисное окисление липидов; ИБФ – изоборнилфенол; ТБК-активные продукты – продукты окисления, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой; ИС – индекс селезенки; ИП – индекс печени.

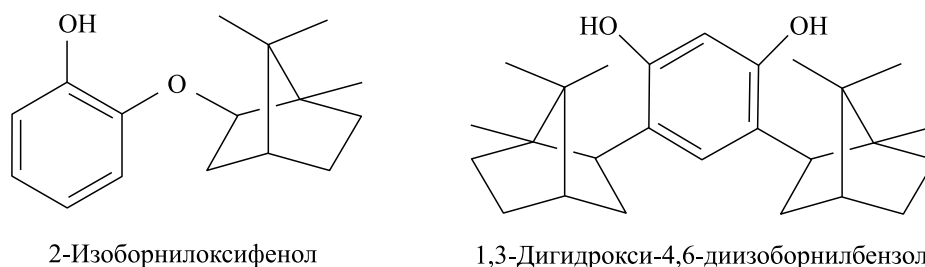


Рис. 1. Структурные формулы изученных соединений.

радиопротекторных средств, среди которых большую группу соединений представляют препараты, обладающие способностью тормозить процессы ПОЛ при введении в организм. В последние годы усилия исследователей направлены на поиск новых полусинтетических антиоксидантов, обладающих меньшей токсичностью по сравнению с синтетическими соединениями. В качестве перспективных рассматриваются и активно изучаются изоборнилфенолы (ИБФ), кинетические характеристики и физико-химические свойства которых обобщены в работе [15].

Целью данной работы являлись оценка ингибирующей эффективности и изучение радиопротекторных свойств двух ИБФ при их введении мышам за 30 мин до воздействия рентгеновского излучения в дозе 50 сГр.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были белые беспородные мыши (самки) массой 20,5–25 г, общее количество животных 80 особей, возраст к моменту облучения составлял 10–11 недель. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, разработанными Европейской конвенцией о защите животных, используемых для экспериментальных целей.

2-Изоборнилоксифенол (ИБФ 1) и 1,3-дигидрокси-4,6-диизоборнил-бензол (ИБФ 2) растворяли в 9,5%-м водном этаноле и вводили внутрибрюшинно в дозах 5 и 7,8 мг/кг массы мыши соответственно (10^{-5} моль/л). Синтез изученных ИБФ, подробно представленный в работах [16,17], осуществляли путем алкилирования двухатомных фенолов камфеном в присутствии различных гомогенных и гетерогенных катализаторов: эффективным катализатором для получения ИБФ 1 является сульфокатионит Фибан К-1 [16], а для ИБФ 2 – изопропилат алюминия [17]. Структурные формулы исследованных в работе ИБФ представлены на рис. 1.

Ингибирующую активность ИБФ 2 изучали в модельной реакции окисления этилбензола, инициированного динитрилом азоизомасляной кис-

лоты. Кинетику поглощения кислорода в процессе окисления регистрировали с помощью высокочувствительной волюмометрической установки при 333 К и скорости инициирования $W_i = (5-10) \cdot 10^{-8}$ моль/(л·с). Этилбензол с растворенным инициатором предварительно термостатировали, после чего вводили добавку вещества. Из кинетических кривых поглощения кислорода определяли величину периода индукции (τ) по методу [18] и начальную скорость поглощения кислорода.

Антиоксидантные свойства ИБФ 2 изучали при автоокислении метилолеата в тонком слое при свободном доступе воздуха (323 К). Вещество в метилолеат вводили в этиловом спирте. Исходная доля спирта в общем объеме реакционной смеси во всех опытах была постоянной и составляла 4%. За ходом окисления следили по накоплению гидропероксидов (ROOH), концентрацию которых определяли методом йодометрического титрования (ГОСТ 26593-85). Эффективность ингибирующего действия добавок определяли по величине периода индукции (τ_1). За τ_1 принимали отрезок времени от нуля до перпендикулярной проекции на ось времени точки пересечения двух линейных участков кинетической кривой накопления –ROOH, соответствующих начальной и максимальной скорости образования пероксидов [19].

Мышей (корм из клеток был вынут накануне вечером) облучали в специальных контейнерах группами по 10 особей, располагая каждую мышь в отдельной ячейке с сохранением свободы движения, однократно на рентгеновской установке РУМ-17 («Мосрентген», Россия) в суммарной дозе 50 сГр (мощность дозы 16 сГр/мин; фильтр Al+Cu 0,5 мм) с 11.05 до 11.25 ч, чтобы исключить влияния суточных колебаний антиокислительной активности липидов тканей [20]. Предварительно мыши были разделены на восемь близких по массе тела групп:

- К – исходная контрольная группа;
- группа 1 – введение 9,5%-го водного раствора этанола;

– группа 2 – введение 9,5%-го водного этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр;

– группа 3 – введение раствора ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола;

– группа 4 – введение раствора ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола;

– группа 5 – введение раствора ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр;

– группа 6 – введение раствора ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр;

– группа 7 – интактный возрастной контроль.

Забой мышей, корм у которых был убран заранее, был осуществлен декапитацией. Кровь отбирали в пробирки, обработанные 5%-м раствором цитрата натрия. Плазму от форменных элементов крови отделяли центрифугированием, используя лабораторную клиническую центрифугу ОПн-3 (АО ТНК «Дастан», Кыргызская Республика), при 1500 об/мин в течение 5 мин. Печень и селезенку сразу после забоя помещали в бюксы, охлаждаемые льдом. Содержание продуктов окисления, реагирующих с 2-тиобарбатуровой кислотой (ТБК-активных продуктов), определяли по методу, описанному в работе [21]. Концентрацию белка анализировали микробиуретовым методом [22], используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин в диапазоне концентраций от 0,09 до 0,76 мг/мл. Коэффициенты корреляции калибровочных прямых R варьируют в пределах 0,99–1,0. Анализ количества ТБК-активных продуктов и белка в каждой пробе проводили в трех параллельных измерениях.

Для определения исходных биохимических показателей в партии мышей забой мышей группы К был проведен в начале эксперимента. Для оценки отдаленных последствий воздействия все остальные группы мышей забивали одновременно спустя 30 суток после начала экспериментов, в том числе и группу возрастного контроля. Определяли как абсолютную, так и относительную массу (индекс) селезенки и печени, выраженную как отношение массы органа в мг к массе особи в г (%). Определение всех изученных показателей проводили индивидуально для каждой особи в день забоя животных.

Для статистической обработки результатов использовали стандартные методы вариационной статистики, достоверность различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента [23]. Экспериментальные данные представлены в виде среднеарифметических значений с указанием среднеквадратичной ошибки средней арифметической величины ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При введении в организм животных антиоксиданты являются эффективными регуляторами окислительных процессов, играющих важную роль в клеточном метаболизме в норме и при действии повреждающих факторов. При этом радиозащитная эффективность антиоксидантов существенно зависит от величины их константы скорости реакции с пероксидными радикалами (k_7), а исходный антиоксидантный статус тканей играет важную роль в проявлении противолучевых свойств и синтетических, и природных антиоксидантов [13]. Это обусловлено тем, что эффективность ингибирующего действия антиоксидантов в сложных системах определяется не только способностью реагировать с ведущими цепи окисления пероксирадикалами, но и их участием в побочных реакциях.

В настоящее время экспериментально показано, что все ферменты антиоксидантной защиты являются субстрат-индуцируемыми, что обуславливает участие антиоксидантов на первых этапах защиты организма вследствие их взаимодействия с активными формами кислорода, концентрация которых увеличивается при воздействии ионизирующих излучений. Это вызывает необходимость оценить способность вновь синтезированных соединений тормозить процессы окисления сначала в модельных системах. Поэтому первым этапом работы явилось изучение антирадикальной активности ИБФ 2, ОН-группы которого расположены в m -положении относительно друг друга и содержат два изоборнильных заместителя (рис. 1). Для определения величины параметра ингибирования $-fk_7$, где k_7 – константа скорости взаимодействия ИБФ 2 с пероксирадикалами, а f – стехиометрический коэффициент ингибирования, начальные скорости окисления в присутствии ИБФ (W) представляли в координатах уравнения $(W_0/W - W/W_0) \times W_i^{0,5} = fk_7[\text{ИБФ 2}]_0/k_6^{0,5}$, где W_0 – скорость окисления в отсутствие добавок, а k_6 – константа скорости квадратичной рекомбинации радикалов RO_2^\cdot (рис. 2). Из тангенса угла наклона полученной прямой (рис. 2) определили величину параметра ингибирования $fk_7 = 3,7 \cdot 10^5$ л/(моль · с). Для расчета величины константы k_7 из зависимости $\tau W_i = f[\text{ИБФ 2}]_0$ (рис. 3) определили значение стехиометрического коэффициента ингибирования, которое оказалось равным $f = 2,3$. Эта величина превышает значение $f = 2$ для монофенолов и замещенных пирокатехина и гидрохинона, у которых за счет образования энергетически выгодной хиноидной структуры с ОН-группой взаимодействует только один свободный радикал. С учетом полученного значения $f = 2,3$ величина константы скорости реакции ИБФ 2 с пероксирадикалами этилбензола равна $k_7 = 1,6 \cdot 10^5$ л/(моль · с), что

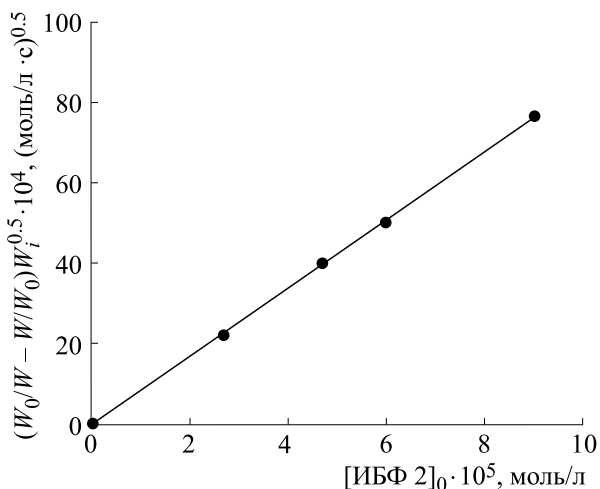


Рис. 2. Зависимость начальной скорости ингибированного окисления этилбензола от начальной концентрации изоборнилфенола 2 в координатах уравнения $(W_0/W - W/W_0) \cdot W_i^{0,5} = f k_7 [ИБФ 2]_0 / k_6^{0,5}$. Температура 333 К.

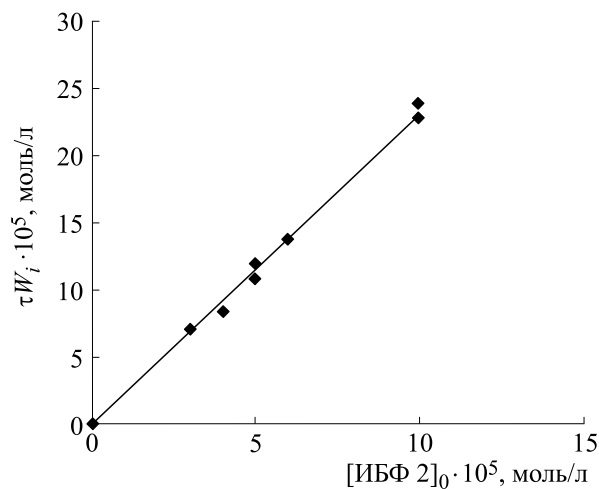


Рис. 3. Зависимость периода индукции τ , рассчитанного из кинетических кривых поглощения кислорода при инициированном окислении этилбензола, от начальной концентрации изоборнилфенола 2. Температура 333 К.

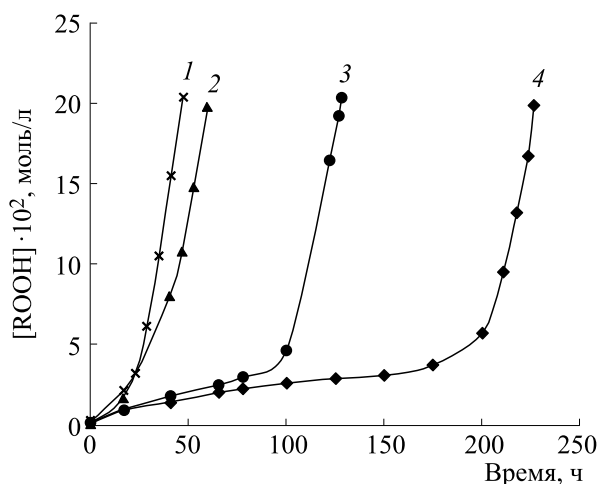


Рис. 4. Кинетические кривые накопления гидропероксида при автоокислении метилолеата в тонком слое при 323 К в отсутствие (1) и в присутствии изоборнилфенола 2 в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ (2), $5 \cdot 10^{-4}$ (3) и $1 \cdot 10^{-3}$ (4) моль/л.

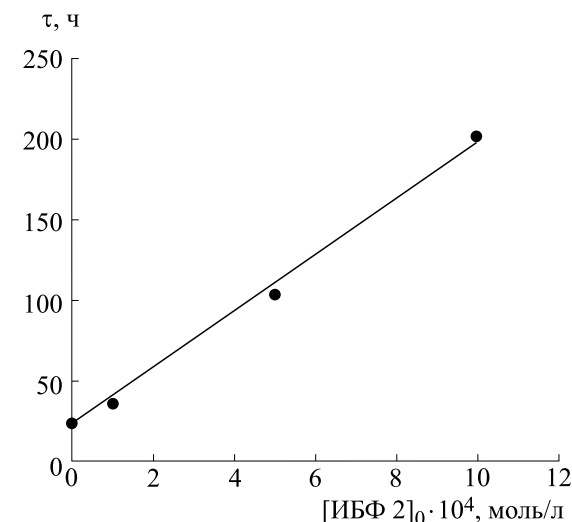


Рис. 5. Зависимость периода индукции, определенного из кинетических кривых накопления пероксидов при автоокислении метилолеата в тонком слое, от начальной концентрации изоборнилфенола 2. Температура 323 К.

свидетельствует о его весьма высокой антирадикальной активности по отношению к пероксирадикалам. Ранее для ИБФ 1 была выявлена достаточно низкая ингибирующая эффективность, обусловленная наличием в молекуле внутримолекулярной водородной связи [24].

Антиокислительную активность ИБФ 2 изучили в модельной системе автоокисления метилолеата, т. е. в условиях, в которых могут проявлять себя побочные реакции с участием антиоксидантов, приводящие к отклонению от линейности

для зависимости периода индукции от начальной концентрации соединения и обуславливающие снижение его эффективности. На рис. 4 представлены кинетические кривые накопления гидропероксида метилолеата при различных концентрациях ИБФ 2. Из представленных данных видно, что увеличение количества введенного препарата приводит к увеличению времени торможения процесса окисления, при этом величина периода индукции линейно возрастает с увеличением его начальной концентрации (рис. 5). Ли-

Таблица 1. Величины относительной массы (индекса) селезенки в контрольных и опытных группах беспородных мышей (самки)

Условия эксперимента (группа мышей)	Индекс селезенки (%)
Исходный контроль (группа К)	3,58 ± 0,21
Возрастной контроль (группа 7)	4,20 ± 0,26
30 суток после введения 9,5%-го водного раствора этанола (группа 1)	4,30 ± 0,30
30 суток после введения 9,5%-го водного раствора этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 2)	3,94 ± 0,33
30 суток после введения ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола (группа 3)	4,20 ± 0,29
30 суток после введения ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола (группа 4)	4,70 ± 0,36
30 суток после введения ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 5)	4,44 ± 0,33
30 суток после введения ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 6)	4,80 ± 0,50

нейная зависимость τ_1 от концентрации ИБФ 2 свидетельствует о незначительном влиянии побочных реакций в механизме ингибирования им процесса автоокисления в исследованном интервале концентраций.

Поскольку антиоксидантный статус биологических объектов подвержен выраженным сезонным и суточным колебаниям, а величина антиокислительной активности липидов тканей является одним из важных факторов для оценки эффективности радиозащитных свойств препаратов [13,20], то следующим этапом работы явилась оценка исходного антиоксидантного статуса партии мышей группы К в день начала эксперимента. В сложных биологических системах интенсивность ПОЛ обычно оценивают по содержанию ТБК-активных продуктов в тканях мышей [25]. В работе было обнаружено, что концентрации ТБК-активных продуктов равны $0,244 \pm 0,0255$ и $0,0131 \pm 0,0011$ нмоль/мг белка для плазмы крови и печени соответственно. Это свидетельствует о низкой интенсивности процессов ПОЛ в тканях мышей и согласуется с данными литературы о высоком антиоксидантном статусе лабораторных грызунов в зимний сезон [20].

Морфометрические показатели, являющиеся индикаторами физиологического состояния и позволяющие судить о напряженности обменного баланса в организме, обычно используются в экологических исследованиях для выявления последствий воздействия техногенного загрязнения окружающей среды на организм [26,27]. Тем не менее в работах [28,29] было показано, что и в лабораторных экспериментах индекс селезенки (ИС) и содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови являются чувствительными тестами для оценки биологических эффектов воздействия

ионизирующих излучений в малых дозах. Это обусловило выбор данных показателей для оценки противолучевых свойств исследованных соединений. Результаты анализа величин индекса селезенки мышей спустя 30 суток после внутрибрюшинного введения препаратов представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, введение и 9,5%-го водного раствора этанола (группа 1), и раствора ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола в дозе 5 мг/кг (группа 3) через месяц после воздействия не оказывают достоверного влияния на величины ИС (значения показателя соответствуют величине ИС у возрастного контроля и в группе 1). Введение ИБФ 2 в том же растворе в дозе 7,8 мг/кг (группа 4) через месяц после воздействия вызывает хотя и незначительный (на 12%), но достоверный рост показателя и относительно величины у возрастного контроля ($p < 0,001$), и по сравнению со значением у мышей группы 1 ($p < 0,01$), которым однократно вводили только водный раствор этанола.

Несколько иная картина выявлена спустя месяц после совместного действия ИБФ и острого рентгеновского излучения в относительно малой дозе 50 сГр (табл. 1). Прежде всего необходимо отметить, что введение 9,5%-го водного раствора этанола вызывает некоторое снижение средней величины ИС мышей в группе 2, хотя можно говорить лишь о тенденции такого изменения. Спустя 30 суток после совместного действия рентгеновского излучения и ИБФ, введенных за 30 мин до облучения, обнаружен рост ИС в обоих случаях по сравнению со значением показателя в группе 2, мыши которой получали только водный раствор этанола (табл. 1). Однако если в случае ИБФ 1 достоверное ($p < 0,01$) увеличение ИС происходит

Таблица 2. Содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови контрольных и опытных групп беспородных мышей (самки)

Условия эксперимента (группа мышей)	[ТБК-АП], нмоль/мг белка
Возрастной контроль (группа 7)	0,0748 ± 0,0089
30 суток после введения 9,5%-го водного раствора этанола (группа 1)	0,0656 ± 0,0066
30 суток после введения 9,5%-го водного раствора этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 2)	0,0624 ± 0,0084
30 суток после введения ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола (группа 3)	0,0489 ± 0,0066
30 суток после введения ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола (группа 4)	0,0739 ± 0,0047
30 суток после введения ИБФ 1 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 5)	0,0755 ± 0,0100
30 суток после введения ИБФ 2 в 9,5%-м водном растворе этанола за 30 мин до облучения в дозе 50 сГр (группа 6)	0,0960 ± 0,0190

Примечание. ТБК-АП – ТБК-активные продукты (продукты окисления, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой).

только до величины в группе возрастного контроля, то при введении ИБФ 2 обнаружен достоверный рост показателя на 11,7% ($p < 0,01$) и 21,8% ($p < 0,001$) относительно аналогичных значений в группах мышей 7 и 2 соответственно (табл. 1).

Следует отметить, что спустя 30 суток введение 9,5%-го водного раствора этанола приводит к некоторому снижению содержания продуктов окисления в плазме крови мышей (табл. 2), как и введение 9,5%-го водного раствора этанола за 30 мин до воздействия рентгеновского излучения в дозе 50 сГр (табл. 2). При этом изученные ИБФ оказывают разное влияние на интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови. Так, через месяц после воздействия содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови мышей, которым ИБФ 2 вводили в водном растворе этанола, практически такое же, как значение показателя у возрастного контроля и на 13% ($p < 0,02$) превышает величину в группе 1. Через месяц после введения ИБФ 1 в водном растворе этанола содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови мышей достоверно снижено в 1,3 ($p < 0,001$) и 1,5 ($p < 0,001$) раза относительно величины показателя и у возрастного контроля, и в группе мышей, которым вводили только водный раствор этанола, соответственно (табл. 2).

Иная картина последствий наблюдается после совместного действия ИБФ и рентгеновского излучения. Так, интенсивность ПОЛ в плазме крови мышей, которым вводили водно-спиртовой раствор ИБФ 1 за 30 мин до облучения (группа 5), достоверно не отличается от значения в группе возрастного контроля и лишь на 21,1% ($p < 0,1$) выше по сравнению с величиной показателя в группе 2 (табл. 2). В то же время достоверный рост интенсивности ПОЛ в плазме крови мышей через

месяц после введения ИБФ 2 в водном растворе этанола выявлен как относительно значения у возрастного контроля на 28,6% ($p < 0,01$), так и по сравнению с величиной в группе мышей 2 – в 1,5 раза ($p < 0,001$) (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что спустя месяц после воздействия как при введении исследованных ИБФ интактным мышам, так и при совместном действии препаратов и рентгеновского облучения животных в дозе 50 сГр биологические последствия существенно различаются в зависимости от химической структуры ИБФ. Так, ИБФ 1 вызывает нормализацию интенсивности ПОЛ в плазме крови облученных мышей и поддерживает значение ИС также на уровне показателя в группе возрастного контроля. Введение ИБФ 2 и/или применение этого препарата при совместном действии с рентгеновским излучением обуславливает достоверные различия и ИС, и интенсивности ПОЛ в плазме крови мышей относительно аналогичных показателей в группах возрастного контроля и опытных группах мышей, которым вводили водный раствор этанола.

Кроме того, необходимо отметить следующее обстоятельство. Через месяц после введения мышам только 9,5%-го водного раствора этанола не обнаружено достоверных различий как индексов селезенки (табл. 1) и печени (ИП = $42,2 \pm 1,0\%$ в группе 1), так и содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови (табл. 2) по сравнению с величинами показателей в группе возрастного контроля (ИП = $45,1 \pm 2,1\%$). Однако при совместном действии 9,5%-го водного раствора эта-

нола и рентгеновского излучения в дозе 50 сГр выявлена четкая гетерогенность ИП: у одной половины опытной группы 2 ИП достоверно увеличивался, достигая значения $47,7 \pm 1,25\%$ ($n = 5$), а у второй половины достоверно уменьшился до величины $37,1 \pm 1,7\%$ ($n = 5$). Эти данные свидетельствуют о нежелательности использования водного раствора этанола как растворителя для введения гидрофобных препаратов при изучении их влияния на формирование биологических последствий воздействия ионизирующих излучений в малых дозах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что кинетические характеристики полусинтетических антиоксидантов оказывают существенное влияние на формирование последствий радиационного воздействия в малой дозе на организм. Так, достаточно высокая величина константы скорости взаимодействия ИБФ 2 с пероксирадикалами в сочетании с его способностью влиять на параметры физико-химической системы регуляции ПОЛ в тканях при введении в организм позволяет рассматривать перспективность его применения как противолучевого средства при острых радиационных воздействиях в сублетальных и минимально летальных дозах. Такое предположение основано на полученной ранее прямой корреляционной взаимосвязи между радиозащитными свойствами синтетических антиоксидантов при остром облучении мышей линии Valb/c в летальной дозе 6,0 сГр и антиокислительной активностью исследованных соединений [30]. Более высокое значение стехиометрического коэффициента ингибирования ИБФ 2 по сравнению с замещенными пирокатехином и гидрохиноном позволяет допустить, что у полифенола с расположением ОН-групп в *m*-положении каждая из ОН-групп может действовать независимо. Тогда величина стехиометрического коэффициента могла бы достигать $f = 4$. Причина заметного снижения f для ИБФ 2 до 2,3 по сравнению с ожидаемым значением пока остается неясной и требует дополнительного изучения.

Совокупность представленных данных позволяет рассматривать ИБФ 1 как перспективный противолучевой агент при радиационных воздействиях в малых и/или относительно малых дозах. Это предположение соответствует и полученным ранее результатам о росте ингибирующей эффективности ИБФ 1 в полярных средах [31,32], несмотря на его достаточно низкую антирадикальную активность в реакции иницированного окисления этилбензола, т.е. при окислении неполярного субстрата [24].

Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследова-

ний для отбора среди терпенофенольных полусинтетических антиоксидантов наиболее перспективных соединений в качестве возможных радиопротекторов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №15-29-01220 офи_м).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. М. Кузин, Изв. АН СССР. Сер. биол., № 6, 212 (1980).
2. Е. Б. Бурлакова, Г. Ф. Иваненко и Л. Н. Шишкина, Изв. АН СССР. Сер. биол., № 4, 588 (1985).
3. В. И. Легеза и В. Г. Владимиров, Радиационная биология. Радиоэкология **38** (3), 416 (1998).
4. Ю. Б. Кудряшов, Радиационная биология. Радиоэкология **37** (4), 673 (1997).
5. Е. Б. Бурлакова, в кн. *Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты*. Т. 2. Биологическая кинетика (Химия, М., 2005), сс. 10–45.
6. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **39** (1), 44 (2007).
7. Ye. B. Burlakova, N. P. Pal'mina, and Ye. L. Mal'tseva, In: *Membrane Lipid Oxidation*, Ed. by C. Vigo-Pelfrey (CRC Press, Boston, 1991), V. III, pp. 209–237.
8. K. Hensley, K. A. Robinson, and S. P. Gabbita, et al., *Free Radic. Biol. Med.* **28**, 1456 (2000).
9. Е. Б. Бурлакова, В. Ф. Михайлов и В. К. Мазурик, Радиационная биология. Радиоэкология **41** (5), 489 (2001).
10. Л. М. Рождественский, Мед. радиология и радиационная безопасность **46** (4), 5 (2001).
11. М. В. Васин, *Противолучевые лекарственные средства* (М., 2010).
12. А. Н. Гребенюк и В. И. Легеза, *Противолучевые свойства Интерлейкина-1* (ООО «Изд-во Фолиант», СПб., 2012).
13. Л. Н. Шишкина, Радиационная биология. Радиоэкология **53** (3), 536 (2013).
14. Р. А. Тарумов, В. А. Башарин и А. Н. Гребенюк, Радиационная биология и радиология **13**, 682 (2012).

15. Л. Н. Шишкина и А. В. Кучин, в кн. *Биоантиоксидант: Труды IX Междунар. конф.* (РУДН, Москва, 2015), сс. 5–19.
16. И. Ю. Чукичева, И. В. Федорова, Ю. С. Матвеев и А. В. Кучин, *Журн. общ. химии* **82** (6), 1130 (2012).
17. И. Ю. Чукичева, И. В. Федорова, Е. В. Буравлёв и др., *Журн. общ. химии* **82** (8), 1354 (2012).
18. В. Ф. Цепалов, А. А. Харитонов, Г. П. Гладышев и Н. М. Эмануэль, *Кинетика и катализ* **18** (5), 1261 (1977).
19. Л. И. Мазалецкая, Н. И. Шелудченко и Л. Н. Шишкина, *Прикл. биохимия и микробиология* **46** (2), 148 (2010).
20. Л. Н. Шишкина и Е. Б. Бурлакова, в кн. *Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты. Т. 2. Биологическая кинетика* (Химия, М., 2005), сс. 365–395.
21. T. Asakawa and S. Matsushita, *Lipids* **15** (3), 1137 (1980).
22. R. Itzhaki and D. M. Gill, *Annal. Biochem.* **9**, 401 (1964).
23. Г. Ф. Лакин, *Биометрия*, 2-е изд. (Высш. шк., М., 1990).
24. Л. И. Мазалецкая, Н. И. Шелудченко, Л. Н. Шишкина и др. *Нефтехимия* **51** (5), 354 (2011).
25. В. Е. Каган, О. Н. Орлов и Л. Л. Прилипко, *Итоги науки и техники ВИНТИ СССР. Биофизика*, т. 18 (М., 1986).
26. Г. В. Оленев и И. В. Пасичник, *Экология*, № 3, 208 (2003).
27. А. Г. Кудяшева, Л. Н. Шишкина, О. Г. Шевченко и др., *Биологические эффекты радиоактивного загрязнения в популяциях мышевидных грызунов* (Екатеринбург, 2004).
28. Л. Н. Шишкина, Е. В. Кушнирева и М. А. Смотряева, *Радиац. биология. Радиоэкология* **44** (3), 289 (2004).
29. М. А. Климович, М. А. Смотряева, В. Д. Гаинцева и Л. Н. Шишкина, *Радиац. биология. Радиоэкология* **49** (4), 473 (2009).
30. Е. Б. Бурлакова, А. В. Алесенко, Е. М. Молочкина и др., *Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте* (Наука, М., 1975).
31. Л. И. Мазалецкая, Н. И. Шелудченко, Ю. К. Луканина и Л. Н. Шишкина, *Хим. физика* **32**, 31 (2013).
32. О. Г. Шевченко, С. Н. Плюснина, Л. Н. Шишкина и др., *Биол. мембраны* **30** (1), 40 (2013).

Study of Antioxidative and Radioprotective Properties of Isobornylphenols under X-Ray Irradiation at Low Dose

L.N. Shishkina*, A.Yu. Babkin*, M.A. Klimovich*, M.V. Kozlov*, L.I. Mazaletskaya*, N.I. Sheludchenko*, I.Yu. Chukicheva**, I.V. Fedorova**, and A.V. Kutchin**

*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**Institute of Chemistry, Komi Scientific Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, ul. Pervomaiskaya 48, Syktyvkar, Republic of Komi, 167000 Russia

The inhibitory efficiency and radioprotective properties of two isobornylphenols were studied under their administration for 30 minutes before X-ray irradiation of mice (females) at the dose of 50 sGy. It was found that 1,3-dihydroxy-4,6-diisopropylbenzene exhibited a high inhibitory efficiency due to its interaction with peroxy radicals. The spleen index and the content of the lipid peroxidation products in the blood plasma, earlier suggested as tests for the assessment of the radioprotective properties of substances under the irradiation of animals at the low doses, are returned to norm by the prophylactic injection of 2-isobornylloxyphenol. Perniciousness of the application of water solution of ethanol as solvent for the hydrophobic substances under their administration in organism under the week radiation actions is revealed. The data obtained and the literature analysis allows us to predict a possibility of the isobornylphenols employment as radioprotective agents under the radiation actions at the different ranges of doses.

Keywords: isobornylphenols, antioxidant activity, lipid peroxidation, X-rays, low doses, radioprotective properties