

Давыдова О.К.Оренбургский государственный университет
E-mail: okdavydova@yahoo.com

АСПЕКТЫ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ

Выявление механизмов адаптации организма к экстремальным воздействиям в большинстве случаев включает вопросы влияния окислительного стресса, в связи с чем все более актуальным становится поиск антиоксидантов растительного и микробного происхождения, а также разработка концепции неспецифических механизмов защиты клетки от активных форм кислорода.

Различные биологические эффекты алкилоксибензолов (АОБ) позволяют использовать их для разработки биомедицинских технологий и препаратов. Собственные экспериментальные исследования антиоксидантной активности АОБ проведены в *invitro*, *invivo* и *insilico* моделях окислительного стресса. Полученные данные позволили ранжировать различающиеся длиной и расположением алкильного радикала АОБ, оценить их прямые эффекты в системе генерации супероксид-аниона, влияние на изменение топологических свойств молекул ДНК, а также вклад в модуляцию повреждающего эффекта активных форм кислорода на клетку. Кроме этого полученные результаты были использованы при создании на основе АОБ липосомальных структур различными методами, исследовании их размеров, стабильности в различных условиях хранения, потенциала инкапсуляции на примере введения флуоресцентного зонда и дополнительного антиоксиданта – альфа-токоферола, а также оценки цитотоксичности с использованием клеточных тест-систем.

Представленные данные о биологических активностях АОБ являются научным обоснованием создания на их основе косметической композиции для защиты кожи от экстремальных воздействий.

Ключевые слова: алкилоксибензолы, антиоксидантное действие, активные формы кислорода, повреждение ДНК, липосомальные структуры, оценка цитотоксичности.

Будучи впервые обнаруженными у растений в 1930-х годах, гомологи и изомеры алкилоксибензолов (АОБ), сразу привлекли внимание исследователей с точки зрения их роли как биосенсибилизирующих веществ, отражающих не только природу, но и степень выраженности действия факторов окружающей среды, кроме того, являющихся антистрессорными компонентами, способными модифицировать метаболизм организма, приспособив его к меняющимся условиям. Известные на сегодняшний день активности АОБ показали перспективность их применения в составе препаратов функционального и лечебного питания, препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний и ишемической болезни сердца, а также биомаркеров потребления зерновых продуктов, что хорошо отражено в обзоре М. Стасюк и А. Козюбека [2]. Однако, вторая волна исследования их активностей связана с обнаружением в 1980-х годах научной группой Г.И. Эль-Регистан АОБ у бактерий и выяснением их роли как ауторегуляторных факторов, обеспечивающих межклеточную коммуникацию и контролирующую поведение микробной популяции в целом при неблагоприятных условиях среды [3]. Проведение большого количества работ этой научной группой закрепило за АОБ в русскоязычной литературе именно этот термин, хотя в большин-

стве работ использованы не столько попадающие под более общую формулировку алкилированные фенолы с различным количеством гидроксогрупп, а вполне конкретные производные дигидроксибензола (резорцина) с алкильным заместителем в 4- или 5- положениях, согласно номенклатуре называемые алкилрезорцины. Обнаруженное же снижение метаболической активности бактериальных клеток по мнению авторов происходило вследствие образования комплексов АОБ с фосфолипидами клеточной мембраны и ферментами [4], что легло в основу ряда разнообразных биотехнологий их применения [5]–[7].

Адаптационная гибкость, присущая микроорганизмам в большей степени, чем другим формам жизни является и объективной причиной трудностей при разработке эффективных антибактериальных препаратов. Поэтому хотя первые сообщения, касающиеся антибактериальных свойств АОБ и их использования в лечении инфекций, появились еще в 1920-х годах, большая часть работ по созданию таких антибактериальных препаратов, в том числе и путем сочетания действия с традиционными антибиотиками, происходила в последние десятилетия [8], [9].

Фотозащитные и противорадиационные активности АОБ были также исследованы [10] в том числе нами наряду с особенностями их

взаимодействия с ДНК [11]. Обнаруженный при этом целый комплекс эффектов привел в свою очередь к разработке технологий создания надмолекулярных структур из молекул ДНК [12], их защиты при проведении электрофореза [13] и потребовал более тщательного обсуждения механизма этих активностей. Так стало очевидно, что механизм устойчивости бактериальных клеток к ультрафиолетовому излучению является комплексным и опосредуется влиянием АОБ на альтернативные механизмы «активной» (регуляторной) и «пассивной» (прямой) защиты биополимеров клетки, и в первую очередь ДНК, при повреждающих воздействиях [14]–[15]. В ряде работ также обсуждаются иницилируемые ионизирующим излучением сложные окислительно-восстановительные процессы, которые характеризуются набором промежуточных продуктов окисления, зачастую демонстрирующих более высокую реакционную способность [16].

Сопряженными вопросами, в том числе определяющими распространение, основанных на использовании АОБ технологий, являются обнаруженные мутагенное [17] и антимутагенное [18] действия АОБ на уровне клетки и оценка их воздействия на организм [19]. Продолжая работы данной тематики по исследованию метаболизма АОБ в организме эукариот и механизмов их токсического действия интересным аспектом является вопрос их присутствия в различных биологических жидкостях человека в результате продукции симбиотической и патогенной микрофлорой [20], что в последствие позволило установить у них ряд иммуномодулирующих активностей [21], [22].

Еще одной важной особенностью АОБ является амфифильный характер их молекул, с одной стороны, определяющий возможность проникновения через цитоплазматические мембраны, а с другой – в определенном диапазоне концентраций – ведущий к формированию наноразмерных мицелл и липосомальных структур. Данное свойство представляется существенным при разработке «капсул» для доставки различных веществ (лекарства, витамины, дополнительные антиоксиданты, генетический материал) в клетки. Следует отметить, что созданные липосомы на основе АОБ и фосфолипидов для доставки лекарственных средств [23] имели высокую стабильность при хранении, но размеры получаемых везикул

(200–280 нм) существенно ограничивали область их применения [24].

Подытоживая, можно сказать, что в настоящее время идет интенсивное накопление данных о разнообразных эффектах действия природных и синтетических АОБ, однако, отдельные экспериментальные факты пока не складываются в единую картину их биологической роли. Такое положение связано с отсутствием или недостаточной проработанностью отдельных ключевых вопросов, что не позволяет в полной мере находить им биологическое и медицинское применение.

Целью настоящей работы явилось экспериментальное изучение молекулярных механизмов антиоксидантной активности АОБ и их амфифильных свойств, являющихся научным обоснованием создания на их основе космецевтической композиции для защиты кожи от экстремальных воздействий.

Важным условием для достижения поставленной цели явилось использование пяти химически синтезированных гомологов АОБ со степенью очистки 99.9%, различающиеся размером и расположением алкильного радикала, определяющим гидрофобность и биологическую активность данных соединений: орцинол (1,3-диокси-5-метилбензол; C₁-АОБ), диварин (1,3-диокси-5-пропилбензол; C₃-АОБ), оливетол (1,3-дигидрокси-5-пентилбензол; C₅-АОБ), гексилрезорцинол (1,3-диокси-4-гексилбензол; C₆-АОБ) и додецилрезорцинол (1,3-диокси-5-додецилбензол; C₁₂-АОБ), а также применение разнообразных методов исследования: компьютерного моделирования, гель-электрофореза, спектральных методов (фото-, флуориметрии, биолюминесценции, методов флуоресцентного зонда и динамического светорассеяния), методов люминесцентной микроскопии, культуральных и различных методов создания липосомальных структур.

На первом этапе работы были использованы молекулярные и клеточная тест-системы при определении влияния АОБ на стрессовый ответ бактериальных клеток и топологические свойства ДНК при развитии окислительного стресса, вызванного присутствием супероксид-аниона. Так проведение компьютерного прогнозирования антиоксидантной активности АОБ с использованием информационной технологии «Микрокосм», реализующей комплексный подход к анализу

QSAR-зависимостей (количественных соотношений «структура – активность»), позволило оценить их как соединения с преимущественно высоким уровнем антиоксидантной активности, однако имеющих неидентичную вероятность подобного прогноза, возрастающую от короткоцепочечных C_1 -АОБ (0,701) и C_3 -АОБ (0,653) к длинноцепочечному C_{12} -АОБ (0,999), что согласовывается с представлениями о потенциальной значимости размера углеводородного радикала в обеспечении высокого уровня антирадикальной активности АОБ [25].

Результаты компьютерного прогноза явились основанием для проведения уточняющей серии экспериментов по оценке механизмов антиоксидантных свойств АОБ в условиях ферментативной реакции фотохимической индукции супероксид-аниона, основанной на спектрофотометрическом обнаружении окрашенного продукта реакции спонтанного реокисления фотовосстановленного флавина [25], [26], где было показано действие АОБ как перехватчиков супероксид-аниона, предупреждающее переход нитросинего тетразолия в формазан, также возрастающее с увеличением длины углеводородной цепи в молекулах АОБ [25].

Оценка топологических изменений ДНК, связанных с образованием двуцепочечных разрывов под действием активных форм кислорода, и исследование возможности их предотвращения присутствием различающихся размером алкильного радикала АОБ была проведена в аналогичной системе с использованием электрофоретического разделения конформаций плазмидных молекул ДНК pUC19 [26]. При этом возрастание концентрации АОБ от 0,01 мкМ до 1 мкМ позволяло сохранить в 1,05–1,85 раз больше суперскрученной формы ДНК, изначально преобладающей в контроле, по сравнению с окисленными пробами. Также наблюдалась зависимость от вида используемого АОБ, например, в присутствии C_1 -АОБ максимальной концентрации от двуцепочечных разрывов сохранялось до 77,0±6,1%, C_6 -АОБ – 67,7±5,3, а C_{12} -АОБ – 92,2±6,6% от исходного содержания ДНК по сравнению с аналогичными значениями в окисленных пробах интактной ДНК [26].

Эффекты АОБ на окислительный стресс в клеточной системе оценивали с использованием рекомбинантного штамма *Escherichia*

colipsoxS'::luxCDABE-AmpR, отвечающего на воздействие супероксид-аниона синхронной индукцией как самого sox-регулона, так и находящейся под контролем промотора soxS-кассеты luxCDABE генов, согласно методике, представленной в [27] с использованием биолюминесцентного и культуральных методов. При этом совокупность полученных данных свидетельствовала о комплексном влиянии АОБ на устойчивость клеток к супероксиданион-индуцированному стрессу с преобладанием прямых антиоксидантных свойств АОБ, в то время как их не прямое влияние на активные механизмы антиоксидантной защиты имело аддитивный характер [27].

Целью второго этапа работы было создание антиоксидантных конструкций на основе АОБ, способных адресно доставлять в клетку протекторы окислительного стресса, проверка их характеристик и цитотоксичности. Для этого в сформированных суспензиях путем внесения навески АОБ в 5% водно-спиртовой раствор, где молекулы самостоятельно организовывались в липосомы, этанольной инъекции раствора АОБ в воду и формирования сухой липидной пленки с последующей ее гидратацией методом флуоресцентного зонда нами были оценены критические концентрации мицеллообразования составившие 0,45 мкМ для C_6 -АОБ и 0,08 мкМ C_{12} -АОБ, а также зависимость гидродинамического радиуса частиц от факторов нагрева и озвучивания [28]. Было определено, что самообразующиеся липосомы, как и липосомы, созданные методом этанольной инъекции характеризовались достаточно узким распределением по размерам, но радиус инъекционных липосом был в 1,64 раза меньше, чем самообразованных, составив 74±6 нм против 122±10 нм соответственно. Для C_{12} -АОБ радиус инъекционных липосом был в 1,83 раза меньше, чем самообразующихся, составив 114±9 нм против 209±31 нм, соответственно. Наиболее крупными по радиусу и с неоднородным распределением оказались липосомы, сформированные гидратацией сухой липидной пленки, поэтому в дальнейшей работе этот метод формирования липосом не использовался. Можно отметить, что для C_{12} -АОБ присущи более крупные радиусы липосом по сравнению с C_6 -АОБ, что объясняется более длинным алкильным радикалом.

Спектрофотометрически была оценена эффективность включения в липосомы из

АОБ гидрофобного содержимого на примере α -токоферола в различных соотношениях молекул – 10:1, 100:1 и 1000:1, которая оказалась обратнoзависима концентрации α -токоферола.

Создание липосомальных структур на основе АОБ, в том числе с включением дополнительных веществ позволяет рассматривать их в качестве средств доставки веществ в клетку. Одновременно это положение требует и оценки возможности безопасного их применения в живых системах. Таким образом, целью следующего фрагмента работы явилась определение степени цитотоксичности липосомальных структур на основе АОБ в тестах на мононуклеарных клетках периферической крови человека и бактериальных клетках *Escherichiacoli*, в том числе в составе люминесцирующей тест-системы «Эколом» с оценкой токсикологического параметра ЕС20 [29]. При этом было показано, что меньшее токсическое действие оказывает C_{12} -АОБ по сравнению с C_6 -АОБ, липосомальные формы с α -токоферолом по сравнению с липосомами без его включения, а также по сравнению с молекулярными растворами той же концентрации АОБ.

Все это свидетельствует о предпочтительном использовании в качестве основы для создания космецевтической композиции C_{12} -АОБ, проявившего наибольший антиоксидантный потенциал в отношении супероксид-аниона в различных *in vivo* и *in vitro* моделях окислительного стресса, однако имеющего более значительные размеры липосомальных структур, что может ограничивать возможность их проникновения в клетку [30]. Имеющийся результат заставил переоценить поставленные задачи и с учетом полученных нами ранее данных о сохранении физико-химических свойств ДНК в присутствии АОБ в условиях длительного хранения [31] и УФ-излучения [13], [14], связанных с упаковкой ДНК в структуры из молекул C_6 -АОБ [11], и привел к заключению об ином возможном применении липосомальных структур на основе C_6 -АОБ в качестве трансфектантов при введении ДНК в клетки.

Для этого в нашей работе был использован коммерческий набор для бактериальной трансформации TransformAid Bacterial Transformation Kit (Thermo Scientific, США), трансформирующим агентом служила плаزمида pUC19, имеющая гены устойчивости к ампициллину, эффективность трансформации определялась количеством колоний, выросших на чашке Петри после добавления к клеткам 1 мкг суперскрученной плазмидной ДНК и посева клеток на питательную среду с ампициллином. Было выбрано два способа модификации процесса трансформации: в первом случае к ДНК концентрацией 2×10^{-10} г добавляли C_6 -АОБ в концентрации 10, 1 и 0,1 мкМ с инкубацией в течение 7 суток, во втором случае, непосредственно перед трансформацией в среду к клеткам добавляли C_6 -АОБ в концентрации 0,1 мкМ (использование более высоких концентраций было невозможно из-за их собственного антибактериального эффекта). В результате, эффективность трансформации для ДНК, инкубированных с C_6 -АОБ, была выше в концентрации 10 мкМ – в 6 раз, 1 мкМ – в 5 раз; для клеток, инкубированных с ДНК – в 10 раз, по сравнению с интактной ДНК, что свидетельствует о возможной модификации АОБ клеточной поверхности, способствующей лучшей ее проницаемости и действию C_6 -АОБ как липофектантов для инкапсуляции молекул ДНК, также способствующих лучшему их проникновению внутрь клетки.

Описанные выше антиоксидантные и амфифильные свойства АОБ открывают перспективу их использования в качестве активных компонентов космецевтической композиции для защиты кожи от вредных воздействий, представляющих собой не только форму доставки, но и смесь антиоксидантных веществ повышающих адаптационные возможности клеток, и также как первый шаг в направлении исследований по созданию эффективных средств коррекции многих кислородзависимых патологических состояний.

11.12.2015

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 13-04-97052 p_поволжье_a).

Список литературы:

1. Anderson, H.H., David, N.A., Leake, C.D. Oral toxicity of certain alkylresorcinols in guinea pigs and rabbits // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1931. – Vol. 28. – P. 609 – 612.
2. Stasiuk M., Kozubek A. Biological activity of phenolic lipids // Cell. Mol. Life Sci. – 2010. – Vol. 67. – P. 841–860.
3. Эль-Регистан Г.И., Мулюкин А.Л., Николаев Ю.А., Сузина Н.Е., Гальченко В.Ф., Дуда В.И. Адаптогенные функции внеклеточных ауторегуляторов микроорганизмов // Микробиология. – 2006. – Т. 75. – №4. – С. 446-456.
4. Беспалов М.М., Колпаков А.И., Лойко Н.Г., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Козлова А.Н., Варламова Е.А., Курганов Б.И.,

- Эль-Регистан Г.И. Функции аутоиндукторов анабиоза микроорганизмов при создании метаболического блока в клетке // Микробиология. – 2000. – №2. – С. 217–223.
5. Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И. Способ получения биологически активного компонента для средства, предназначенного для ухода за кожей, и компонент, полученный этим способом. Патент на изобретение РФ №2440096 от 20.03.2011.
 6. Гальченко В.Ф., Гернет М.В., Головлева Л.А., Дерябин Д.Г., Калинин М.В., Лойко Н.Г., Мартиросова Е.И., Николаев Ю.А., Соляникова И.П., Шаненко Е.Ф., Эль-регистан Г.И. Способ направленного изменения активности ферментных белков. Патент на изобретение РФ №2441068 от 27.01.2012.
 7. Дерябин Д.Г., Романенко Н.А., Эль-регистан Г.И. Способ стабилизации антител в водных растворах. Патент на изобретение РФ №2447448 от 10.04.2012
 8. Kanda N., Ishizaki N., Inoue N., Oshima M., Handa A. DB-2073, a new alkylresorcinol antibiotic. I. Taxonomy, isolation and characterization // *J. Antibiot (Tokyo)*. – 1975. – Vol. 28(12). – P. 935–42.
 9. Николаев Ю.А., Борзенков И.А., Калинин М.В., Лойко Н.Г., Тарасова Л., Плакунов В.К., Беляев С.С., Воронина Н.В., Гальченко В.Ф., Эль-Регистан Г.И. Антимикробные свойства фенольных липидов // *Прикл. биохимия и микробиология*. – 2010. – Т. 46. – №2. – С. 172–179.
 10. Степаненко И.Ю., Страховская М.Г., Беленикина Н.С., Николаев Ю.А., Мулюкин А.Л., Козлова А.Н., Ревина А.А., Эль-Регистан Г.И. Защита *Saccharomyces cerevisiae* алкилоксибензолами от ксенобиотического радиационного поражения // *Микробиология*. – 2004. – Т. 73. – С. 204–210.
 11. Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Эль-Регистан Г.И. Влияние химических аналогов микробных ауторегуляторов на чувствительность ДНК к УФ-облучению // *Микробиология*. – 2006. – Т. 75. – №5. – С. 654–661.
 12. Дерябин Д.Г., Давыдова О.К. Способ получения надмолекулярных композитов. Патент на изобретение РФ №2293766 от 20.02.2007.
 13. Дерябин Д. Г., Давыдова О.К., Грязева И.В. Способ защиты ДНК от ультрафиолетового излучения при детекции результатов гель-электрофореза. Патент на изобретение РФ №2465576 от 19.09.2011.
 14. Дерябин Д.Г., Давыдова О.К., Грязева И.В., Эль-Регистан Г.И. Роль алкилоксибензолов в ответе *Escherichia coli* на легальное воздействие ультрафиолетового облучения // *Микробиология*. – 2012. – Т. 81. – №2. – С. 185–195.
 15. Deryabin D., Davydova O., Gryazeva I. Alkylresorcinols protect the DNA from UV-damage in vitro and in vivo models / «Products and Applications of Biopolymers» / Edited by C.J.R. Verbeek – Croatia: InTech, 2012. – P.185–200.
 16. El-Registan G.I., Mulyukin A.L., Nikolaev Y.A., Stepanenko I.Yu., Kozlova A.N., Martirosova E.I., Shanenko E.F., Strakhovskaya M.G., Revina A.A. The role of microbial low-molecular-weight autoregulatory factors (alkylhydroxybenzenes) in resistance of microorganisms to radiation and heat shock // *Advances in Space Research*. – 2005. – Vol. 36 (9). – P. 1718–1728
 17. Ильинская О.Н., Колпакова А.И., Зеленихин П.В., Круглова З.Ф., Чойдаш Б., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Эль-Регистан Г.И. Влияние аутоиндукторов анабиоза бактерий на геном микробной клетки // *Микробиология*. – 2002. – Т. 71. – №2. – С. 164–168.
 18. Gasiorowski K., Brokos B., Kozubek A.J., Oszmianski J. The antimutagenic activity of two plant-derived compounds. A comparative cytogenic study // *Cellular and Molecular Biology Letters*. – 2000. – №5. – P. 171–190.
 19. Chhabra R.S., Huff J.E., Haseman J., Hall A., Baskin G., Cowan M. Inhibition of some spontaneous tumors by 4-hexylresorcinol in F344/N rats and B6C3F1 mice // *Fundam Appl Toxicol*. – 1988. – Vol. 11(4). – P. 685–690.
 20. Ross A.B., Redeuil K., Vigo M., Rezzi S., Nagy K. Quantification of alkylresorcinols in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. – 2010. – Vol. 24. – №5. – P. 554–560.
 21. Дерябин Д.Г., Михайленко Н.А., Эль-Регистан Г.И. Влияние алкилоксибензолов на антигенсвязывающую способность антител // *Микробиология*. – 2009. – Т. 78. – №5. – С. 629–635.
 22. Дерябин Д.Г., Романенко Н.А., Свиридова Т.Г., Эль-Регистан Г.И. Влияние алкилоксибензолов на стабильность функциональных характеристик антител в водных растворах // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2012. – №2. – С. 38–43.
 23. Atrooz O.M. Formation of Highly Antioxidative Liposomes from Crude Acetone Extracts of *Canna indica*, *Cucumis melo*, and *Prunus Armeniaca* // *Asian Journal of Biochemistry*. 2012. – №7(4). – P. 218–225.
 24. Kozubek A., Gubernator J., Przeworska E., Stasiuk M. Liposomal drug delivery, a novel approach: PLARosomes // *Acta biochimica Polonica*. – 2000. – Vol. 47. – №3. – P. 639–649.
 25. Грязева И.В., Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Свиридова Т.Г., Свиридов А.П. Прогнозируемая и экспериментально выявляемая антиоксидантная активность алкилоксибензолов (алкилрезорцинов) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2013. – №8. – С. 41–46.
 26. Короткова А.М., Давыдова О.К. Эффекты синтетических алкилрезорцинов на топологические изменения ДНК, опосредованные активными формами кислорода, в системе in vitro // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2015. – №6 (181). – С. 157–164.
 27. Gryazeva I.V., Davydova O.K., Deryabin D.G. Evaluation of the potential of alkylresorcinols as superoxide anion scavengers and sox-regulon modulators using nitrobluetetrazolium and bioluminescent cell-based assays // *Cellular and Molecular Biology Letters*. – 2015. – Vol. 20. – №1. – P. 24–37.
 28. Давыдова О.К., Гавриш И.А. Создание липосомальных структур на основе алкилоксибензолов и исследование их свойств // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2013. – №10 (159). – С. 108–111.
 29. Давыдова О.К., Гавриш И.А. Оценка степени цитотоксичности производных алкилоксибензолов с использованием клеточных тест-систем // *Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов»*. – М.: МАКС Пресс. – 2014. – С. 70.
 30. Davydova O.K., Nikiyan H.N., Gavriish I.A. Liposomal Transport Systems Based on Alkylresorcinols with Antioxidant Action. XII International Conference on Nanostructured Materials, Moscow. – 2014.
 31. Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Эль-Регистан Г.И. Длительное сохранение ДНК в водных растворах в присутствии химических аналогов микробных ауторегуляторов // *Микробиология*. – 2006. – Т. 75. – №5. – С. 662–669.

Сведения об авторе:

Давыдова Ольга Константиновна, доцент кафедры биохимии и микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент
460018, г. Оренбург, пр-т Победы 13, тел. (3532) 372481
E-mail: okdavydova@yahoo.com