

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

ВАЩЕНКО ОЛЬГА ВАЛЕРІЇВНА

УДК 577.352:538.91:615.31

**ІНДИВІДУАЛЬНІ ТА СПІЛЬНІ ВЗАЄМОДІЇ
КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ
З МОДЕЛЬНИМИ ЛІПІДНИМИ МЕМБРАНАМИ**

03.00.02 – біофізика

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фізико-математичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків

**Науковий
консультант:**

доктор фізико-математичних наук, професор
Лисецький Лонгін Миколайович,
Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України,
провідний науковий співробітник
відділу наноструктурних матеріалів.

Офіційні опоненти:

доктор фізико-математичних наук, доцент
Трусова Валерія Михайлівна,
Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна,
завідувач кафедри медичної фізики
та біомедичних нанотехнологій;

доктор фізико-математичних наук, професор
Довбешко Галина Іванівна,
Інститут фізики НАН України,
завідувач відділу фізики біологічних систем;

доктор фізико-математичних наук, професор
Лебовка Микола Іванович,
Інститут біоколоїдної хімії імені Ф.Д. Овчаренка
НАН України,
завідувач відділу фізичної хімії дисперсних
мінералів.

Захист відбудеться “19” березня 2020 р. о 15¹⁵ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розіслано “18” лютого 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

В.П. Берест

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Ліпідні мембрани, або ліпідні бішари, як структурно-функціональна основа клітинних мембран є об'єктом біофізичних досліджень упродовж тривалого часу, протягом якого відкриваються все нові важливі аспекти їх ролі у життєдіяльності клітини. Встановлено, що фазовий стан ліпідного бішару великою мірою визначає процеси формування, функціонування та руйнування мембран, тож є суттєвим фактором регуляції внутрішньоклітинних процесів. В той же час, плазматична мембрана є об'єктом дії компонентів лікарських препаратів (ЛП) оскільки місце внесення ЛП в організм та молекулярні мішені лікарських речовин (ЛР) зазвичай розділені низкою мембранних бар'єрів, які більшість ЛР долає шляхом пасивної дифузії крізь ліпідний бішар. Внаслідок взаємодії ЛР з мембраною змінюються її структурно-функціональні властивості та параметри фазового стану бішару, що неминуче відбивається у функціонуванні клітини. Таким чином, взаємодія з ліпідним бішаром є невід'ємною складовою дії ЛР в організмі, а для деяких груп ЛР (анестетиків, антибіотиків, препаратів антимікробної та психотропної дії тощо) має безпосереднє відношення до їх терапевтичної активності та біодоступності.

З точки зору біофізики взаємодія ЛР з модельними ліпідними мембранами відбивається у зміні їх термодинамічних, спектроскопічних та структурних параметрів, що складає індивідуальну мембранотропну дію (МД) даної речовини. Для оптимізації дії ЛР важливим є поширення уявлень щодо закономірностей та загальних механізмів їх індивідуальної МД. В цьому напрямку досить продуктивним уявляється розгляд взаємодій мембрани як власне з ЛР, так і з їх складовими частинами – різноманітними структурними фрагментами та іонами. Вивчення взаємодії мембрани з неорганічними іонами є важливим також для задач урахування ролі іонного складу клітинного та міжклітинного водного середовища.

Багатокомпонентний склад плазматичних мембран та оточуючого їх водного середовища, а також лікарських препаратів обумовлюють необхідність вивчення спільної мембранотропної дії декількох ЛР. Важливість цих досліджень є безумовною для порівняльного аналізу лікарських препаратів-аналогів, визначення сумісності ЛР та компонентів ЛП тощо.

Нарешті, модельні фосфоліпідні мембрани є ліотропними рідкими кристалами зі специфічними профілями градієнтів полярності, щільності, параметра порядку та вільного об'єму в напрямку нормалі, а також конформаційною, композиційною та фазовою неоднорідністю – тож, дослідження взаємодії таких структур з екзогенними молекулами надає важливу інформацію для вирішення спеціальних питань фізики складних рідин.

Таким чином, з'ясування механізмів індивідуальної та спільної взаємодії компонентів ЛР з ліпідними мембранами, а також встановлення визначальних параметрів цих взаємодій, є актуальною задачею сучасної біофізики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у рамках плану НДР Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, а саме: «Розробка нових наноматеріалів на основі гетероструктурованих рідких кристалів і ліотропних фаз гідратованих фосфоліпідів для застосування в медико-біологічних і біофізичних дослідженнях» (шифр «Гетерофаза-2»), № держреєстрації 0113U001842 (здобувач – виконавець), за темою відомчого держзамовлення ВФТПМ НАН України «Механізми надмолекулярного впорядкування та утворення нанорозмірних гетероструктур в багатокомпонентних рідкокристалічних системах і створення нових функціональних матеріалів на їх основі» (шифр «Наноспіраль-2»), № держреєстрації 0112U001903, (здобувач – виконавець), «Вплив біологічно важливих молекул та іонного середовища на фазовий стан модельних ліпідних мембран» (шифр «Фосфоліпід»), № держреєстрації 0112U001908 (здобувач – керівник), «Зміни структурно-функціональних властивостей модельних біомембран за індивідуальної та сукупної дії лікарських субстанцій» (шифр «Модуль»), № держреєстрації 0113U001836 (здобувач – керівник), «Вивчення мембранотропної дії лікарських субстанцій» (шифр «Мелодія»), № держреєстрації 0114U001505 (здобувач – керівник), «Специфіка відгуку ліпідного наноматеріалу на присутність люмінесцентних зондів та біологічно активних субстанцій» (шифр «Оркестр»), № держреєстрації 0115U003433 (здобувач – керівник), «Створення наноматеріалів з керованою електро-, фото- та рентген-стимульованою активністю» (шифр «Тригер»), № держреєстрації 0116U002612 (здобувач – виконавець), «Визначення взаємодії наноносіїв фармпрепаратів з модельними фосфоліпідними мембранами» (шифр «Біомембрана»), № держреєстрації 0118U002295 (здобувач – відповідальний виконавець), а також Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна «Біофізичні моделі молекулярної взаємодії грамідцину S» (шифр 36-14-18), № держреєстрації 0118U002041 (здобувач – виконавець).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є встановлення механізмів та визначальних молекулярних параметрів індивідуальних та спільних взаємодій компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідним мембранами на основі бішарів гідратованих фосфоліпідів. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Виявити молекулярні параметри, які визначають взаємодію з ліпідною мембраною молекул, що адсорбуються на полярній поверхні бішару (галогенідів та нітратів лужних, лужноземельних і перехідних металів, амонієвих сполук) та молекул, що локалізуються у гідрофобній внутрішній частині бішару (стеаринової та лауринової жирних кислот, холестерину, 7-дегідрохолестерину та холекальциферолу).
2. Висвітлити внесок в мембранотропну дію лікарських речовин їх окремих структурних складових: полярних (амонієвих груп, іонів кальцію) та неполярних (стеринових та жирнокислотних фрагментів, ментолу).
3. Виявити ключові молекулярні параметри, які визначають індивідуальну мембранотропну дію лікарських речовин різних фармакологічних груп (антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотиків тощо).
4. Встановити механізми взаємодії речовин окремо з гідрофільною поверхнею бішару та з його гідрофобною внутрішньою частиною.

5. Запропонувати методики якісної та кількісної характеристики ефектів спільної дії декількох речовин на ліпідні мембрани.
6. Висвітлити внесок у мембранотропну дію лікарських та допоміжних речовин у складі лікарських препаратів азитроміцину, метронідазолу, тилорону, аспірину, фенспіриду, фенібуту.
7. Виявити механізми спільної мембранотропної дії компонентів лікарських препаратів.
8. Встановити механізми спільної дії водорозчинних лікарських речовин тилорону та диметилсульфоксиду на модельні ліпідні мембрани в кінетичному режимі.
9. Провести аналіз та узагальнення спостережуваних ефектів спільної дії компонентів лікарських препаратів та їх проявів у специфічному відгуку ліпідних мембран у різних типах багатокомпонентних систем: в присутності декількох видів іонів, двох або декількох компонентів лікарських препаратів, різних ліпідних компонентів.

Об'єкт досліджень – механізми та закономірності індивідуальної та спільної взаємодії лікарських препаратів та їх компонентів з модельними ліпідними мембранами на основі бішарів гідратованих фосфоліпідів.

Предмет досліджень – термодинамічні, спектроскопічні та структурні параметри модельних ліпідних мембран, що містять лікарські препарати та їх компоненти.

Методи дослідження: диференціальна скануюча калориметрія, (параметри фазових переходів модельних ліпідних мембран), малокутове рентгенівське розсіювання (структурні параметри модельних ліпідних мембран), Фур'є-ІЧ-спектроскопія (характеристики смуг поглинання окремих функціональних груп ліпідів, води та компонентів ЛП), термогравіметричний аналіз (характеристики адсорбованої та кристалізаційної води у компонентах ЛП), ізотермічна сорбція (параметри гігроскопічності компонентів ЛП), оптична мікроскопія (морфологія та гемоліз еритроцитів), квантово-механічні розрахунки (молекулярні параметри ліпідів та компонентів ЛП), квантово-хімічне моделювання (міжмолекулярні взаємодії компонентів ЛП), кореляційний аналіз (кореляції між молекулярними параметрами компонентів ЛП та параметрами їх мембранотропної дії), математичне моделювання (математичні моделі, що описують спостережувані ефекти та механізми).

Наукова новизна отриманих результатів:

1. Вперше встановлено лінійну знакозмінну залежність зсуву температур фазових переходів мембрани L- α -диміристоїлфосфатидилхоліну від іонного радіусу катіонів у складі хлоридів лужних металів, у якій абсолютна величина зсуву зростає у порядку розташування іонів за шкалою Гофмейстера.

2. Вперше показано, що для одновалентних неорганічних іонів критичне значення поверхневої щільності заряду (відповідне зміні знаку зсуву температури плавлення мембрани) становить $\sim 5 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для катіонів та $\sim 3 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для аніонів.

3. Вперше для низки лікарських речовин різних фармакологічних груп (антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотиків) встановлено не-

монотонний характер залежності температури плавлення модельної мембрани від коефіцієнта ліпофільності речовини.

4. Вперше для параметризації мембранотропної дії водорозчинних сполук запропоновано використання моделі адсорбції Фрейндліха, що відкриває можливість кількісного порівняння ступеню їх космотропності або хаотропності.

5. Запропоновано нову методологію порівняння мембранотропної дії лікарських препаратів-аналогів, а також виокремлення внеску у мембранотропну дію допоміжних речовин лікарських препаратів методом диференціальної скануючої калориметрії, за допомогою якої встановлено відмінності мембранотропної дії лікарських препаратів-аналогів для антибіотика азитроміцину та антибактеріальної речовини метронідазолу.

6. Вперше показано, що неадитивність спільної мембранотропної дії тилорону та диметилсульфоксиду за порядком їх введення до мембрани у кінетичному режимі обумовлена суперпозицією двох механізмів: прискоренням пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності диметилсульфоксиду та уповільненням сорбції диметилсульфоксиду на мембрані в присутності тилорону.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати, отримані в роботі, можуть слугувати підґрунтям для вивчення змін фізико-хімічних параметрів біомембран при їх взаємодії з молекулами різної хімічної будови, для задач урахування ролі іонного складу клітинного та міжклітинного водного середовища, а також впливу на мембрани інших біологічно активних речовин. Методики, запропоновані в роботі, можуть бути застосовані на різних стадіях розробки лікарських препаратів, зокрема на стадії оптимізації їх складу для варіювання ефектів спільної мембранотропної дії шляхом підбору допоміжних речовин. Характеризація взаємодії з мембраною водорозчинних речовин на основі моделі адсорбції Фрейндліха дозволяє розраховувати ефекти їх взаємодії з мембраною за різних значень концентрації. Встановлення ефектів спільної дії лікарських речовин шляхом вивчення морфології та гемолізу еритроцитів відкриває можливість дослідження спільної дії речовин на клітинному рівні. Встановлення спорідненості досліджуваних антимікробних речовин до мембран певного ліпідного складу може бути застосоване для з'ясування біофізичних механізмів їх дії.

Особистий внесок здобувача. В опублікованих зі співавторами наукових працях особистий внесок здобувача полягає у наступному: у роботах [3, 5, 6, 8, 9, 13, 15, 17, 18, 20, 24, 26, 27, 33, 34, 36, 38, 39, 41, 42] – постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці експериментальних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації; у роботах [10, 21, 22] – постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці експериментальних даних, участь у розробці математичних моделей, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації; у роботах [54, 14, 16, 19, 29-32, 35, 37, 40, 43, 44] – участь у отриманні та обробці експериментальних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації; у роботах [1, 12, 25, 26, 28, 31] – отримання та обробка експериментальних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації; у роботах [46, 47] – узагальнення отриманих результатів, участь у підготуванні публікації; у роботі [11] – розрахунки молекулярних параметрів. Ідею дослідження спільної взаємодії двох речовин з ліпідною мембраною, а також застосування для цього методу квазібінарних фазових діаграм у роботах [1, 2, 4, 5, 9, 12, 14, 17, 21, 30, 38, 39, 45, 46] запропо-

новано науковим консультантом д. ф.-м. н., проф. Л.М. Лисецьким. Математичні моделі, запропоновані в роботах [10, 21, 22], розроблено у співавторстві з к. ф.-м. н. Р. Є. Бродським.

Апробація роботи. Основні результати досліджень було представлено та опубліковано в тезах доповідей вітчизняних та міжнародних наукових конференцій: 23rd International Liquid Crystal Conference (Krakow, Poland, 2010); V, VI та VII з'їздів Українського біофізичного товариства (Луцьк-Світязь, Україна, 2011 та 2015; Київ, Україна, 2018); Международной конференции «Физические методы исследования в медицине» (Тбилиси, Грузия, 2011); X Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Шевченковская весна 2012: биологические науки» (Київ, Україна, 2012); III and IX International Conferences for Professionals and Young Scientists «Low Temperature Physics» (Kharkov, Ukraine, 2012 and 2018); 30th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Olomouc, Czech Republic, 2012); 9th and 11th International Conferences «Electronic processes in organic materials» (Lviv, Ukraine, 2013; Ivano-Frankivsk, Ukraine, 2018); 3rd European Lipidomic Meeting (Pardubice, Czech Republic, 2013); XIV Kharkiv Young Scientists Conference on Radiophysics, Electronics, Photonics and Biophysics (Харьков, Украина, 2014); XXII and XXIII Galina Puchkovska International School-Seminars «Spectroscopy of molecules and crystals» (Zakarpattia, Ukraine, 2015; Kyiv, Ukraine, 2017); 3rd, 4th and 5th International Conferences «Nanobiophysics: fundamental and applied aspects» (Kharkiv, Ukraine, 2013; Kyiv, Ukraine, 2015; Kharkiv, Ukraine, 2017); 7th and 8th International Conference «Physics of liquid matter: Modern problems» (Kyiv, Ukraine, 2016 and 2018); XXIV Української конференції з органічної хімії (Полтава, Україна, 2016); XII Міжнародної конференції по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці (Київ, Україна, 2018).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи опубліковано в 47 наукових працях, з них 6 статей у вітчизняних фахових виданнях [1-6], 4 статті у виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази SCOPUS [7-10], 12 статей у зарубіжних спеціалізованих виданнях [11-22], 22 тези доповідей на міжнародних та вітчизняних конференціях [23-44] та 3 статті, які додатково відображають наукові результати дисертації [45-47].

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, семи розділів, висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Загальний обсяг дисертації складає 362 сторінки. Дисертація містить 116 рисунків, 34 таблиці. Список використаних джерел (565 найменувань) займає 62 сторінки. Додатки займають 27 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми досліджень, викладено мету та сформульовано основні задачі дисертаційної роботи, які необхідно розв'язати для її досягнення, визначено наукову новизну та практичне значення отриманих дисертантом результатів, а також особистий внесок здобувача, наведено інформацію про публікації здобувача та апробацію роботи.

У **першому розділі** охарактеризовано структуру та основні властивості ліпідного бішару, розглянуто мезоморфізм та фазові переходи ліпідних структур. Виділено такі базові властивості мембран, як динамічність,

поліморфізм, фазове розділення, асиметрія ліпідного складу. Особливу увагу приділено ламелярним бішаровим структурам та фазовим переходам між ними, які відповідають термодинамічним станам ліпідів у складі клітинних мембран. Розглянуто такі важливі специфічні характеристики ліпідного бішару, як гідратація, вільний об'єм та кооперативність; висвітлено їх значення для функціонування клітини. Показано, що амфіфільна природа ліпідів зумовлює задачу відокремлення механізмів, які керують змінами полярної та неполярної частин ліпідів, тобто змінами параметрів полярної поверхні та неполярної внутрішньої частини бішару.

На підставі аналізу даних літератури показано, що взаємодії модельних мембран з індивідуальними ЛР, зокрема, з антибіотиками та анестетиками, стосуються змін фазового стану мембран, змін впорядкування ліпідів, руйнування мембрани, а також зміни ступеню зв'язування ЛР з мембраною. Серед чинників, що керують взаємодією ЛР з мембранами, найбільш відомими є ліпофільність та іонний стан ЛР. Втім, наявні дані, які висвітлюють вплив конформації та ізомерії молекули ЛР, а також її розташування у мембрані. Найважливішим критерієм МД вважається структура сторонньої молекули, яка виводить на перший план ті чи інші механізми МД. Для ЛР різних фармакологічних груп (протизапальної, противірусної, психотропної дії, анестетики тощо) повідомляється про зв'язок їх мембранотропних ефектів зі структурою та фармакологічними властивостями. Наведено приклади однакової зміни параметрів мембрани за принципово різними механізмами: взаємодія з поверхнею або гідрофобною внутрішньою частиною (об'ємом) бішару.

Показано, що майже в усіх роботах, які стосуються спільного внесення ЛР до мембрани доповідається про специфічні та згодом непередбачувані ефекти спільної дії. Роботи з цієї тематики на сьогодні вкрай розрізнені, втім спостережувані ефекти можна умовно віднести до трьох груп: зміна зв'язування з мембраною, зміна проникності та зміна ефекту (кількісна або якісна). Зазначено, що спільні взаємодії компонентів ЛП з ліпідними мембранами можуть стосуватися специфічних взаємодій не тільки ЛР між собою, але ЛР та допоміжної речовини (ДР) у складі ЛП та мати безпосереднє відношення до модуляції біодоступності ЛР. Серед основних механізмів модуляції біодоступності ЛР в присутності ДР в літературі відзначають утворення сполук та комплексів ЛР-ДР у водному середовищі, ефективне зв'язування ДР з клітинними мембранами, конкурентне витіснення ЛР з мембран, зміну текучості мембран, а також дегідратацію клітин. Огляд робіт, присвячених застосуванню калориметричних методів для вивчення взаємодій ЛР з модельними мембранами у кінетичному режимі, дозволив зробити висновок про плідність та інформативність такого підходу.

Проведено аналіз методів, якими вивчають взаємодію ЛР з мембранами, а також застосованих в цій галузі різних типів модельних ліпідних мембран. Виявлено необхідність розробки та тестування різних типів модельних мембран, що обумовлено різноманітністю ліпідного складу біомембран різних клітин та органел; зокрема застосування фосфоліпідів вважається доцільним при моделюванні мембран ссавців. Доведено, що в якості модельного

середовища для досліджень методом калориметрії доцільно обирати мембрани на основі штучних насичених фосфоліпідів із додаванням інших видів ліпідів для наближення до ліпідного складу мембран еритроцитів, бактерій, мітохондрій тощо.

Загалом, наявні дані літератури свідчать про актуальність вирішення проблеми встановлення механізмів та закономірностей індивідуальної та спільної взаємодії компонентів лікарських препаратів з ліпідними мембранами в рівноважному та кінетичному режимах на підставі вивчення фазових переходів модельних мультибішарових мембран на основі насичених фосфоліпідів методом калориметрії із залученням інших біофізичних методів.

У **другому розділі** охарактеризовані об'єкти та методи дослідження. Робота проводилася на модельних ліпідних мембранах різного складу із вмістом $60 \div 90$ мас. % води. Моноліпідними модельними мембранами слугували мультибішарові ламелярні структури гідратованого L- α -дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ) (Рис. 1, а) або диміристоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ) як одні з основних ліпідних складових біомембран. Багатокомпонентні мембрани містили, окрім ДПФХ, інші компоненти ліпідних бішарів біомембран: дипальмітоїлфосфатидилетаноламін (ДПФЕ), дипальмітоїлфосфатидилгліцерин (ДПФГ) натрієву сіль, бичачий кардіоліпін (КЛ), цереброзиди (ЦБ) та холестерин (Хол) (Рис. 1, б). Було досліджено близько 40 сполук ЛР різних класів: речовини антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотики тощо, а також допоміжні речовини лікарських препаратів (полімери, сурфактанти) та біологічно значущі іони (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- та ін.). Вибір ЛР був обумовлений необхідністю забезпечити різноманіття їх хімічної будови, оскільки при взаємодії з мембраною визначальним є не активний центр ЛР, відповідальний за її терапевтичні властивості, а комплекс фізико-хімічних параметрів.

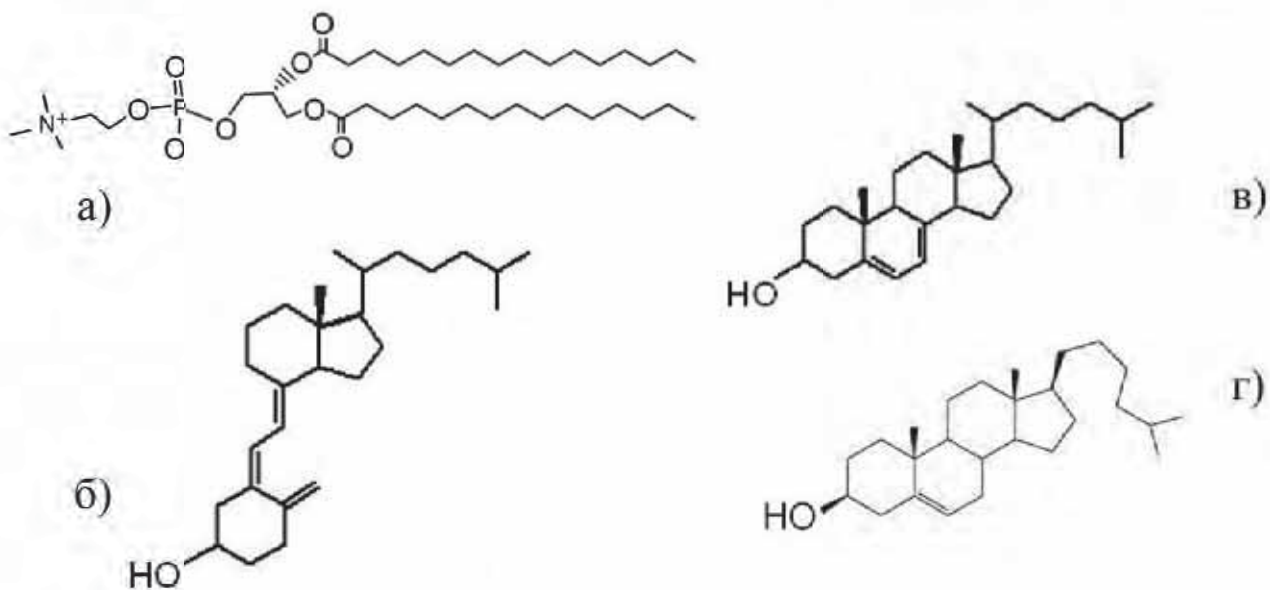


Рис. 1. Структурні формули ДПФХ (а), холекальциферолу (б), 7-дегідрохолестерину (в) та холестерину (г).

Викладено фізичні основи та методику дослідження модельних ліпідних мембран та ЛР методами диференціальної скануючої калориметрії (ДСК), Фур'є-ІЧ-спектроскопії (ІЧ), малокутового рентгенівського розсіювання (МКРР), термогравіметричного аналізу (ТГА), ізотермічної сорбції (ІТС) та оптичної мікроскопії. Методом ДСК були отримані параметри фазових переходів між ламелярними рідкокристалічними фазами (плавлення мембрани): температура (T_m , T_p) ентальпія (ΔH_m , ΔH_p) напівширина ($\Delta T_{m1/2}$, $\Delta T_{p1/2}$) та гістерезис (h_m , h_p).

Аналіз сукупності отриманих параметрів дозволив встановити, що параметр T_m є найбільш чутливим та водночас відтворюваним з усіх вказаних термодинамічних параметрів. Згідно даним літератури, цей комплексний параметр пов'язаний з електронною та геометричною структурою ліпідів, в'язкістю та топологією поверхні мембран, а також низкою інших факторів. Зниження T_m є індикатором розрідження бішару, тобто зниження його впорядкованості або підвищення текучості мембран. Для порівняння МД різних речовин використовувалися коефіцієнти мембранотропної активності:

$$\begin{aligned} a_{wt} &= \Delta T_m / c_{wt}; \quad a_{mol} = \Delta T_m / c_{mol}, \\ \Delta T_m &= T_m - T_{m0} \end{aligned} \quad (1)$$

де T_m – температура основного фазового переходу ліпідної мембрани із вмістом досліджуваної речовини; T_{m0} – температура основного фазового переходу вихідної мембрани; c_{wt} та c_{mol} – відповідно, масова та мольна концентрації речовини відносно вмісту фосфоліпідів.

Методом ІЧ було отримано параметри смуг поглинання функціональних груп ліпідів, ЛР та води. Метод МКРР був застосований для отримання значень періода повторюваності бішарів. Методом ТГА було отримано параметри адсорбованої та кристалізаційної води окремих компонентів ЛП. Методом ІТС вивчали гігроскопічність окремих компонентів ЛП. Методом оптичної мікроскопії досліджували морфологію еритроцитів у присутності окремих ЛР.

Квантово-механічні розрахунки молекулярних параметрів компонентів ЛП та ліпідів (лінійні розміри r_x , r_y , r_z , молекулярний об'єм V_{total} , площа поверхні молекули S_{total} , дипольний момент μ) напівемпіричними методами AM1 та PM6 були здійснені на базі програмного пакету MORAC 2016 18.305W (вільна академічна ліцензія). Для розрахунків коефіцієнтів ліпофільності ЛР ($\log P$) використовували ресурс віртуальної обчислювальної хімічної лабораторії <http://www.vcclab.org>. На підставі отриманих молекулярних параметрів були обчислені коефіцієнт молекулярної анізотропії (k_a), а також частка полярної поверхні молекули (σ_{polar}):

$$\begin{aligned} k_a &= (r_x - r_y) / (r_x + r_y), \quad r_x > r_y > r_z \\ \sigma_{polar} &= S_{polar} / S_{total}, \end{aligned} \quad (2)$$

де S_{polar} – площа полярної поверхні молекули (за даними літератури).

При квантово-хімічному моделюванні молекулярний докінг проводився за допомогою ПЗ AutoDock Vina; двокомпонентні молекулярні комплекси у вакуумі та у наближенні PCM (polarizable continuum model) для водного ото-

чення були оптимізовані за допомогою методу m06-2x/cc-pvdz з використанням ПЗ GAUSSIAN09. Для обробки експериментальних даних (зокрема, розкладання піків на гаусіани і визначення коефіцієнтів детермінації апроксимацій R) використовували ПЗ, що вільно розповсюджується, «QtiPlot 0.9.8.9».

У розділі 3 наведено результати вивчення взаємодій індивідуальних компонентів лікарських препаратів з ліпідним бішаром. Встановлено ефекти взаємодії речовин з гідрофільною поверхнею бішару, його гідрофобною внутрішньою частиною (об'ємом), а також випадки утворення нової ліпідної фази.

Іони Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- та ін., які утворюються у водному середовищі внаслідок дисоціації відповідних солей, здатні адсорбуватися на центрах позитивного (амоній) та негативного (фосфат) зарядів молекули ДМФХ, тобто взаємодіяти з поверхнею бішару. Показано, що адсорбція іонів на мембрані ДМФХ приводить до зсувів температури плавлення мембрани в бік зниження або підвищення (Рис. 2). На прикладі іонів лужних металів та галогенів показано, що космотропні іони підвищують T_m та T_p у мембрані ДМФХ, тоді як хаотропні – знижують. Абсолютна величина ефекту зростає у порядку розташування іонів за шкалою Гофмейстера ($\text{Li}^+ > \text{Na}^+$; $\text{K}^+ < \text{Rb}^+$; $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$) (Рис. 2). Встановлено, що критичне значення поверхневої щільності заряду σ_q (відповідне зміні знаку ΔT_m) становить $\sim 5 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для катіонів та $\sim 3 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для аніонів (Рис. 3). На підставі даних літератури щодо значень вільної енергії гідратації іонів встановлено, що відповідне критичне значення становить для катіонів та аніонів ~ 350 кДж/моль.

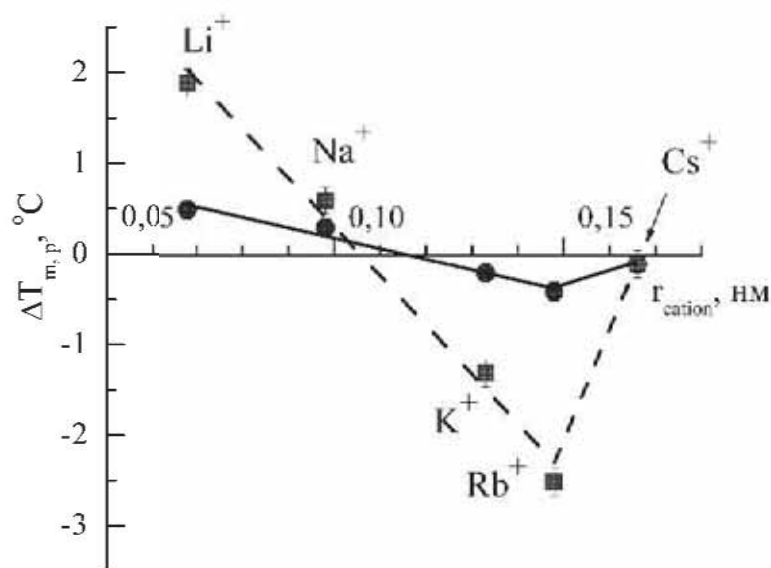


Рис. 2. Залежності зсувів температур основного фазового переходу (пунктирна лінія) та передпереходу (суцільна лінія) у мембрані ДМФХ від іонних радіусів катіонів лужних металів.

Для параметризації МД водорозчинних речовин запропоновано використання моделі адсорбції Фрейндліха, яка добре описує адсорбцію на неоднорідній поверхні:

$$\Delta T_m = kc^{1/n}, \quad (3)$$

де c – концентрація іону у водному розчині, k та n – феноменологічні константи. Формально k відповідає значенню ΔT_m для розчину одиничної молярної концентрації, а $1/n$ – тангенсу куту нахилу вказаної залежності у подвійній логарифмічній шкалі. Умовою застосування вказаної моделі є пропорційність ΔT_m до концентрації речовини на поверхні бішару – тобто, незалежне зв'язування окремих молекул з мембраною.

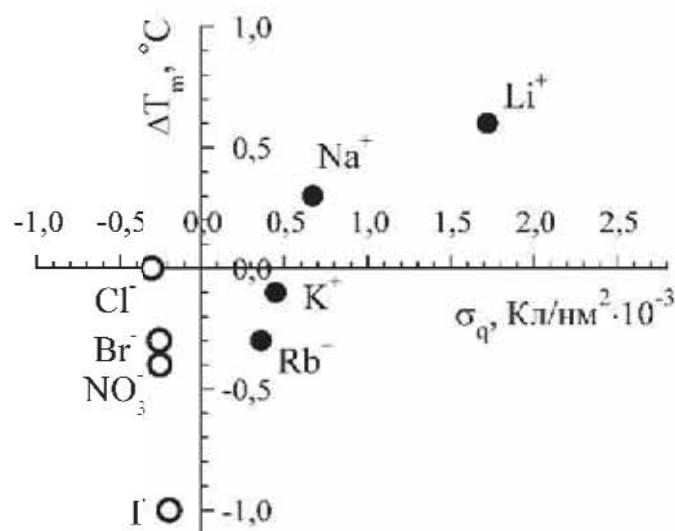


Рис. 3. Залежності зсуву температури основного фазового переходу мембран ДМФХ від поверхневої щільності заряду одновалентних неорганічних іонів: катіонів лужних металів (суцільні символи), а також галогенів та нітрат-іону (відкриті символи).

За допомогою (3) порівняно МД іонів Ce^{3+} та Ca^{2+} , які можуть конкурувати за зв'язування з біомолекулами внаслідок близького значення іонних радіусів. Показано, що Ce^{3+} має значно більшу МД, ніж Ca^{2+} , особливо за малих концентрацій, що може бути важливою складовою його біологічної дії (Табл. 1).

Розглянуто декілька прикладів водорозчинних ЛР з невеликою молекулярною масою (протизапальний препарат диметилсульфоксид (ДМСО), противірусний препарат тилорон, міорелаксant сукцинілхолін), параметри сорбції яких на мембрані ДПФХ, визначені за рівнянням (3), характеризують їх космоетропні чи хаотропні властивості (Табл. 1).

Таблиця 1

Параметри апроксимації залежностей ΔT_m мембран ДПФХ від концентрації водних розчинів речовин рівнянням (3): значення констант та коефіцієнтів детермінації R

№ з/п	Параметр	$k, ^\circ\text{C}$	n	1/n	R
	Речовина				
1.	CaCl_2	0,08	1,7	0,59	0,99
2.	CeCl_3	0,13	4,4	0,23	0,99
3.	Сукцинілхолін	0,03	1,5	0,65	0,99
4.	ДМСО	0,02	2,6	0,39	0,79
5.	Тилорон	-0,12	3,7	0,27	0,87

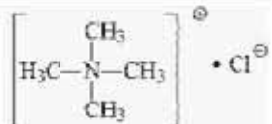
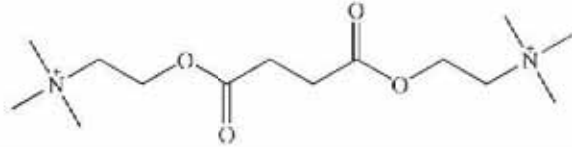
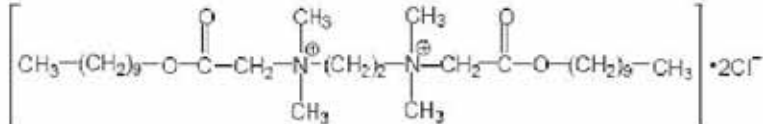
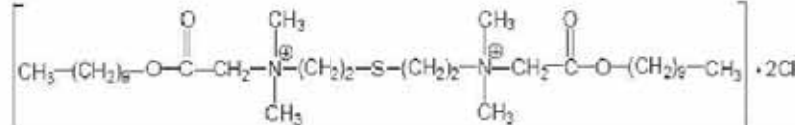
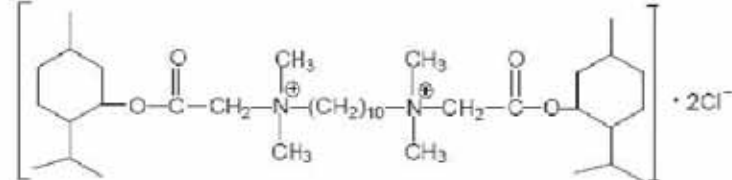
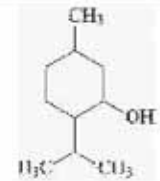
Варто відмітити, що структурним компонентом, який є центром позитивного заряду, у сукцинілхоліні виступає тетраметиламоній хлорид (ТМА) (Табл. 2). Він має позитивне значення $a_{\text{вт}}$, що свідчить про його космоетропність. Молекула сукцинілхоліну містить два фрагменти ТМА, має позитивну, але меншу $a_{\text{вт}}$ у порівнянні з ТМА та, за даними ІТС, на 30 % меншу гігроскопічність, що, певно, обумовлено зниженням поверхневої щільності заряду внаслідок часткового перерозподілу зарядів ТМА-груп на з'єднувальний

ланцюг. За даними квантово-механічних розрахунків, відстань між групами ТМА у молекулі сукцинілхоліну складає $\sim 1,3$ нм, тоді як середня відстань між молекулами ліпиду у бішарі становить $\sim 0,4$ нм – тому зв'язування сукцинілхоліну з мембраною приводить до розштовхування сусідніх голівок, що дає від'ємний внесок в його МД.

ТМА як структурний фрагмент входить також до складу антимікробних ЛР декаметоксину, етонію та тіонію. Для цих сполук $a_{wt} < 0$, що обумовлене наявністю в їх структурі алкільних ланцюгів, коротших за довжину вуглеводневих ланцюгів ДПФХ або залишку ментолу, який має виражену розупорядковувальну дію (Табл. 2).

Таблиця 2

Параметри мембранотропної дії амонієвих сполук та їх структурних складових у мембрані ДПФХ

Параметр Речовина	a_{wt} , °C	a_{mols} , °C	Структурна формула
ТМА	0,4	0,1	
Сукциніл-холін	0,1	0,1	
Етоній	-0,3	-0,3	
Тіоній	-0,4	-0,4	
Декамет-оксин	-0,6	-0,6	
Ментол	-3,4	-0,8	

При вивченні взаємодії з гідрофобною внутрішньою частиною бішару досліджувалися дві групи гідрофобних речовин: стерини холестерин, 7-дегідрохолестерин та холекальциферол (Рис. 1, в, г), а також стеаринова та лауринова жирні кислоти (структури наведені на Рис. 9 та Рис. 11). Ефекти їх взаємодії з бішаром загалом відомі з літератури (внесення до мембрани довголанцюгових жирних кислот приводить до підвищення T_m , стеринів – до її зниження), тому в даній роботі стояла задача висвітлення молекулярних параметрів, що обумовлюють ці ефекти. Порівняння значень параметрів a_{wt} для стеринів та жирних кислот (Табл. 3) приводить до висновку, що коефіцієнт ліпофільності не є єдиним визначальним параметром мембранотропної дії навіть для гідрофобних молекул. Впливовими параметрами є також k_a , який у досліджених системах прямо корелює з величиною ефекту та конформаційна рухливість – величина, розрахована на підставі літературних даних як відношення кількості рухомих зв'язків у молекулі (rotatable bond count) до загального вмісту атомів С, О, N, Р (heavy atom count). Для молекули ДПФХ конформаційна рухливість становить 0,8; значення k_a та r_x дорівнюють 0,65 та 3,19 нм, відповідно. Підвищення k_a фактично означає збільшення поверхні молекули при фіксованому об'ємі та відповідне підвищення внеску дисперсійних сил у міжмолекулярні взаємодії, що приводить до збільшення енергії цих взаємодій та, отже, спостережуваного мембранотропного ефекту, тоді як конформаційна рухливість забезпечує знак ефекту.

Таблиця 3

**Молекулярні параметри та параметри мембранотропної дії
стеринів та жирних кислот у мембрані ДПФХ**

№ з/п	Параметр	a_{wt} (a_{mol}), °C	$\log P$	конформаційна рухливість	k_a $r_x r_y r_z$, нм
	Речовина				
1.	Холестерин	-0,12 (-0,07)	8,7	0,18	0,30 1,56 0,84 0,59
2.	7-дегідрохолестерин	-0,21 (-0,12)	7,9	0,18	0,38 1,63 0,74 0,62
3.	Холекальциферол	-0,37 (-0,21)	8,0	0,21	0,42 1,89 0,78 0,55
4.	Лауринова кислота	0,04 (0,01)	4,2	0,71	0,71 1,68 0,28 0,24
5.	Стеаринова кислота	0,56 (0,22)	7,4	0,80	0,73 2,33 0,36 0,34

Розглянуто декілька випадків утворення додаткової фази ліпідів, більш чи менш щільної за вихідну, які відбуваються внаслідок взаємодії сторонньої речовини як з поверхнею ліпідного бішару, так і з його гідрофобною внутрішньою частиною. Так, при уведенні холестерину до мембрани ДПФХ спостерігалось добре відоме з літератури утворення холестерин-збагаченої та холестерин-збідненої фаз зі значеннями T_m , нижчими за вихідну мембрану. Для стеаринової кислоти утворення нової фази ліпідів спостерігалось вище порогової концентрації 2 мас. % відносно ДПФХ. Нітрат срібла індукував створення нової фази у мембрані ДПФХ в широкому концентраційному діапазоні (від 5 до 30 мас. % у воді). За своїми характеристиками нова фаза відрізнялася від вихідної більшою щільністю упаковки ліпідів та підвищеною латеральною гетерогенністю. При підвищенні концентрації нітрату срібла спостерігався перерозподіл інтенсивностей вихідного та додаткового піків таким чином, що при мольному співвідношенні ДПФХ : AgNO_3 1 : 3 залишається лише додатковий пік T_m^* (Рис. 4).

На підставі отриманих експериментальних даних та встановлених закономірностей зроблено висновок про необхідність висвітлення загальних механізмів та ключових молекулярних параметрів МД.

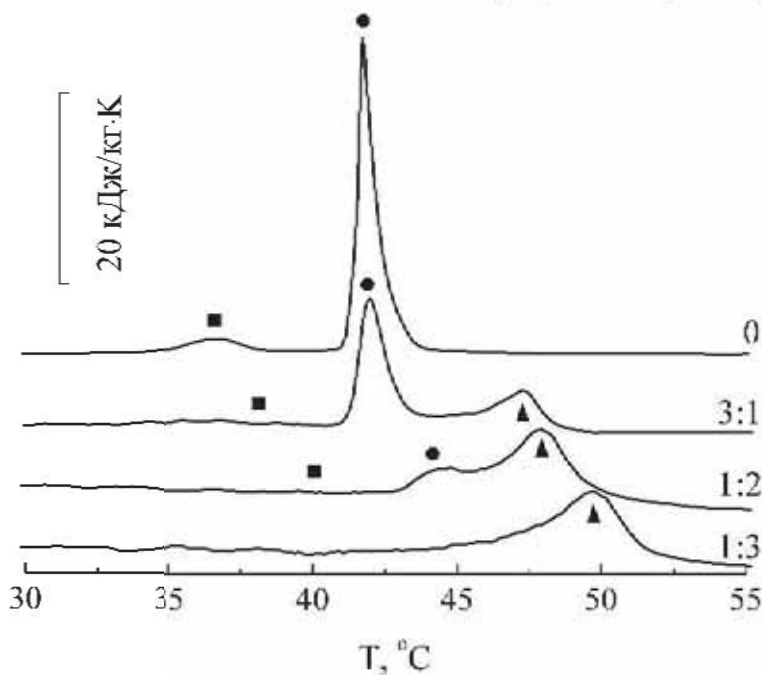


Рис. 4. Питоме теплосмієнність мембрани ДПФХ із AgNO_3 (у режимі нагрівання) в області фазових переходів T_g (■), T_m (●) та T_m^* (▲). У підписах вказані мольні співвідношення ДПФХ : AgNO_3 .

У розділі 4 проведено класифікацію мембранотропних ефектів, виокремлено визначальні параметри мембранотропної дії речовин, запропоновано моделі взаємодії з мембраною космотропних та хаотропних речовин, а також іонів. Класифікацію мембранотропних ефектів розроблено на основі базових механізмів мембранотропної дії екзогенних речовин: модифікації полярної шляхом зміни параметрів гідратації мембран або неполярної – шляхом зміни вільного об'єму мембрани. Температура основного фазового переходу мембрани закономірно підвищується при зменшенні площі перетину обох частин мембрани та, відповідно, знижується при збільшенні цього параметра. Додатково в рамках обох механізмів можливе утворення нової фази ліпідів, фізичним механізмом якогось може бути обмежена розчинність сторонньої

речовини у мембрані у поєднанні зі значною енергією її взаємодії із молекулами ліпідів. Переважна більшість обговорюваних випадків ілюструється прикладами з розділу 3 та узгоджується із численними даними літератури.

З метою висвітлення впливовості параметра $\log P$ для взаємодії компонентів ЛП з мембранами були застосовані методи статистичного аналізу. Для групи речовин з $\log P < 0$ коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона $r = -0,47$, тоді як для групи з $\log P > 0$ $r = 0,82$. Для повного набору досліджуваних речовин кореляція a_{wt} з $\log P$ слабка ($r = -0,26$). Такі відмінності, певно, відбивають кардинальну різницю механізмів взаємодії з мембраною гідрофільних та гідрофобних речовин. Рис. 5 демонструє середні значення a_{wt} у завданному інтервалі $\log P$ досліджуваних речовин. Як можна бачити, мембранотропний ефект наростає у інтервалі $\log P$ $0 \div 6$, а вище цих значень починає зменшуватися, що узгоджується з відомими даними літератури щодо значень $\log P$, оптимальних для забезпечення терапевтичної активності ЛР ($-1 \div 5$).

Проведено кореляційний аналіз параметру a_{wt} досліджених ЛР з низкою їх молекулярних параметрів, отриманих за допомогою квантово-механічних розрахунків, на підставі якого визначено інші впливові параметри МД. Так, для речовин, які взаємодіють переважно з гідрофобною внутрішньою частиною ліпідного бішару, встановлено високий коефіцієнт лінійної кореляції ($r = -0,8$) між a_{wt} та σ_{polar} . Додатково для речовин близької хімічної будови (оксистерильовані похідні гліцерину, амонійні сполуки) встановлені високі лінійні кореляції з V_{total} ($r = 0,8$), S_{total} ($r = 0,9$) та μ ($r = 0,9$).

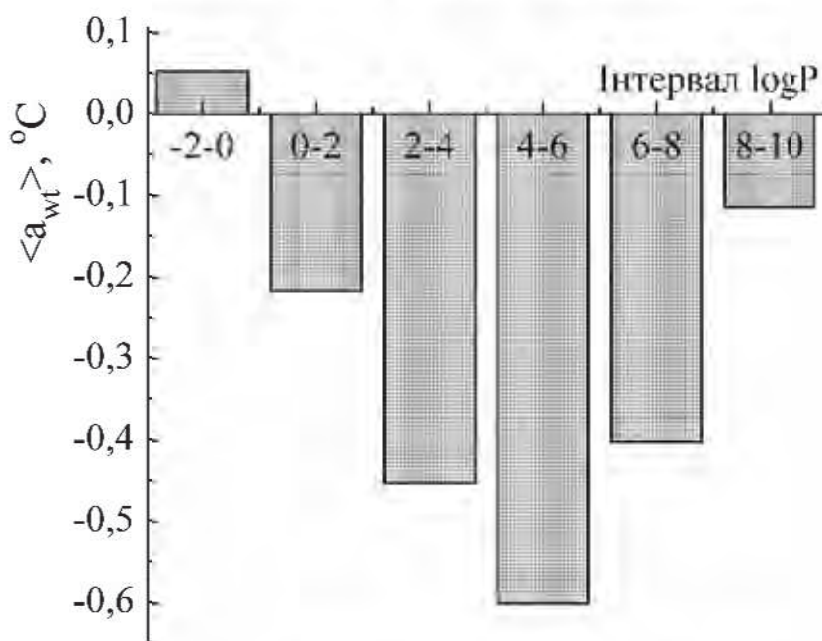


Рис. 5 Середні значення a_{wt} у завданному інтервалі $\log P$ досліджуваних компонентів ЛП.

Для опису взаємодії водорозчинних екзогенних речовин з поверхнею мембрани запропоновано математичну модель на основі рівняння Клапейрона-Клаузіуса для двовимірного випадку. В рамках цієї моделі збільшенню (або зменшенню) величини T_m відповідає додатний (або від'ємний) ефективний латеральний тиск P_{eff} . Таким чином, зв'язування з мембраною космотропних речовин еквівалентно $P_{eff} > 0$, хаотропних – $P_{eff} < 0$. Застосовуючи зв'язок латерального

тиску у ліпідному моношарі та концентрації речовин у розчині, встановлений на підставі даних літератури, було отримано степеневу залежність $\Delta T_m(c)$:

$$\Delta T_m(c) \approx \left(\frac{T_{m0}(A_2 - A_1)}{q} B \right) c^\beta, \quad (4)$$

де T_{m0} – температура основного фазового переходу чистої мембрани; A_1 та A_2 – площа перетину ліпідних молекул, відповідно, до та після фазового переходу; c – концентрація речовини у системі; c_m – поверхнева концентрація речовини; q – молекулярна теплота переходу; B та β – константи.

Отримане рівняння (4) збігається з емпірично встановленим рівнянням адсорбції (3), тобто має безпосереднє експериментальне підтвердження. Аналіз отриманої залежності $\Delta T_m(c)$ та її зіставлення із даними літератури дозволило зробити висновок, що запропонована модель може бути застосована за малих концентрацій речовин, коли їх сорбція на мембрані відбувається за законом Генрі.

Подальша розробка запропонованої моделі стосовно взаємодій іонів з ліпідною мембраною дозволила теоретично обґрунтувати лінійну залежність $\Delta T_m(r_{cation})$ для космотропних та хаотропних катіонів лужних металів, отриману експериментально (див. Рис. 2). Аналіз літератури показав, що така залежність не впливає з будь-якої з існуючих моделей ліпід-іонної взаємодії. Поверхню мембрани було розглянуто як набір елементарних трикутних комірок, утворених центрами ліпідів; рухливість ліпідних голівок навколо цих центрів обумовлює існування певного «вільного об'єму» голівок (Рис. 6), що й зумовлює відмінності відгуку мембрани при зв'язуванні з іонами різної природи. Зв'язування космотропного іону з ліпідною коміркою приводить до зсуву центрів молекул ліпідів у напрямку до центру комірки, хаотропного – у протилежному напрямку. При цьому площа комірки змінюється (відповідно, зменшується чи збільшується) на величину, пропорційну r_{cation} .

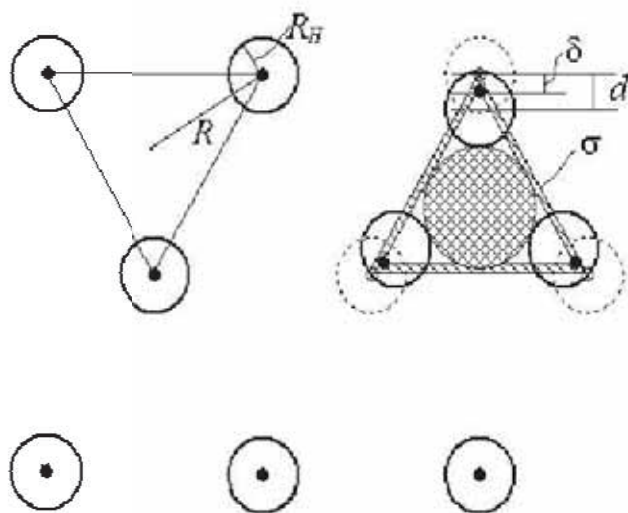


Рис. 6. Схематичне розташування голівок ліпідів (відкриті кола) на поверхні мембрани: вигляд згори. Трикутник зліва – елементарна комірка ліпідів при гексагональному типі пакування. R – відстань від центру комірки до центру ліпиду; R_H – характерний розмір молекули ліпиду. Трикутник справа: d – зсув молекули в результаті адсорбції іону (заштриховане коло); δ – зсув центрів ліпідних голівок внаслідок сорбції іону ($\delta = \gamma d$, $\gamma \ll 1$); σ – відповідна зміна площі комірки.

Виходячи з цього, з урахуванням рівняння (4), отримано лінійну залежність $\Delta T_m(r_{cation})$:

$$\Delta T_m \approx T_{m0} \frac{A_2 - A_1}{q} P_{eff} = \left[T_{m0} \frac{(A_2 - A_1)}{q} K c_m \cdot 2\alpha R \gamma \right] \cdot ((R - R_H) - r_{cation}), \quad (5)$$

де K – коефіцієнт стисливості мембрани у латеральному напрямку; c_m – поверхнева концентрація речовини; α – число молекул води на одиницю площі мембрани; пояснення інших величин наведено на Рис. 6 та у рівнянні (4).

Обговорено умови, за яких лінійність, описана рівнянням (5), буде зберігатися: однакові значення заряду іонів, координаційного числа та константи їх зв'язування з мембраною. Розглянуто фактори, які можуть впливати на вигляд залежності $\Delta T_m(r_{cation})$, такі як анізотропія іону та ліпідної комірки.

У **п'ятому розділі** досліджено ефекти спільної дії двох та більше ЛР або компонентів ЛП у мембрані ДПФХ (іонів, водорозчинних сполук, гідрофільної та гідрофобної сполук тощо). Для висвітлення та аналізу ефектів спільної взаємодії з мембраною двох ЛР, тобто ефектів модуляції МД однієї речовини у присутності іншої, виявлення неадитивності спільної дії ЛР, а також встановлення стехіометрії утворенної ними сполуки або комплексу, якщо це має місце, використано метод квазібінарних фазових діаграм, згідно якому специфічні взаємодії між внесеними до мембрани компонентами проявляються як відхилення її екстенсивних параметрів від адитивності. Для кількісного аналізу ефектів спільної МД запропоновано параметр спільної дії J_{AB} , який водночас відбиває і знак, і величину ефекту:

$$J_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \Delta T_m^{add} - \Delta T_m^i = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (1 - c_i) \Delta T_m^A + \Delta T_m^B - \Delta T_m^i, \quad (6)$$

де ΔT_m^A – МД речовини А; ΔT_m^B – МД речовини Б; ΔT_m^{add} – адитивна МД речовин А та Б; ΔT_m^i – МД системи i , що містить речовини А і Б; n – кількість таких систем c_i – мольна (або масова) частка компонента В відносно загальної кількості А та В.

Класифікація ефектів спільної дії ЛР, прийнята в літературі, не може бути безпосередньо застосована до ефектів спільної МД, оскільки мембранотропна дія, на відміну від терапевтичної, може бути як позитивною, так і негативною. За допомогою параметра J_{AB} спостережувані ефекти спільної МД можна класифікувати на базі загальноприйнятих термінів: синергізм (посилення ефекту), антагонізм (зміна знаку ефекту), адитивність (сумація ефектів) та конкуренція за зв'язування з мембраною із перевагою речовини А або Б.

Ефекти спільної дії мають місце вже для біологічно значущих іонів. Зокрема, показано адитивність зсуву МД солей лужних металів на $-0,3$ °C при заміні хлорид-іону нітрат-іоном, що дозволяє розташувати нітрат-іон на шкалі хаотропності між Br^- та I^- . На цьому тлі відзначено особливості МД іонів церію, для яких заміна Cl^- на NO_3^- призводила до якісно нового специфічного ефекту – окислення ліпідів та руйнування мембрани. Для іонів лужних та лужно-

земельних металів встановлено неадитивність МД у парах $\text{Ag}^+ - \text{Na}^+$, $\text{Ag}^+ - \text{K}^+$ та $\text{Ag}^+ - \text{Cu}^{2+}$, яка відбиває переважну адсорбцію на мембрані катіону з більшою поверхневою щільністю заряду. Величини J_{AB} , складають для цих пар 1,9 °С, 2,0 °С та 0,2 °С, відповідно, що для перших двох пар достовірно перевищує експериментальну похибку вимірювань (0,1 °С).

Методом квазібінарних фазових діаграм у мембрані ДПФХ встановлено антагонізм спільної МД протизапальної ЛР ацетилсаліцилової кислоти (АСК) з протимікробними ЛР класу бісчетвертинних амонієвих сполук (БЧАС) – декаметоксином ($J_{AB} = 0,9$ °С), етонієм ($J_{AB} = 1,1$ °С) та тіонієм ($J_{AB} = 0,9$ °С). Для декаметоксину в цій мембрані встановлений антагонізм МД з дигідроксибензойною та аскорбіновою кислотами (значення J_{AB} становлять, відповідно, 0,9 °С та 0,3 °С), а також адитивність МД з уркановою кислотою.

Слід зазначити, що спільна взаємодія АСК та БЧАС з мембраною реєструється методом ДСК у вигляді немонотонних знакозмінних залежностей ΔT_m від вмісту АСК в загальній кількості внесених ЛР: для індивідуальних ЛР характерні негативні значення (Табл. 2), тоді як при їх спільному внесенні спостерігається позитивне ΔT_m (0,3 ÷ 0,9 °С у різних наборах АСК-БЧАС). Зміна знаку ΔT_m при спільному внесенні вказаних ЛР може розглядатися як свідчення взаємодії з мембраною їх сполуки або комплексу. Виходячи зі структури АСК (Рис. 7) та БЧАС (Табл. 2), логічно припустити утворення двоосновної солі АСК. Це припущення підтверджується отриманими нами даними оптичної мікроскопії, які засвідчують істотне уповільнення декаметоксин-індукованого гемолізу у присутності АСК та ускладнення кінетичного профілю цього процесу (Рис. 8), а також узгоджується з літературними даними мас-спектрометрії. На Рис. 7 наведено значення напівширини піків основного переходу $\Delta T_{m1/2}$ мембрани ДПФХ у присутності АСК та БЧАС. Як можна побачити, усі ЛР викликають збільшення $\Delta T_{m1/2}$, втім при їх спільному внесенні $\Delta T_{m1/2}$ додатково зростає на 20 ÷ 50 %, що відбиває підвищення неоднорідності мембрани.

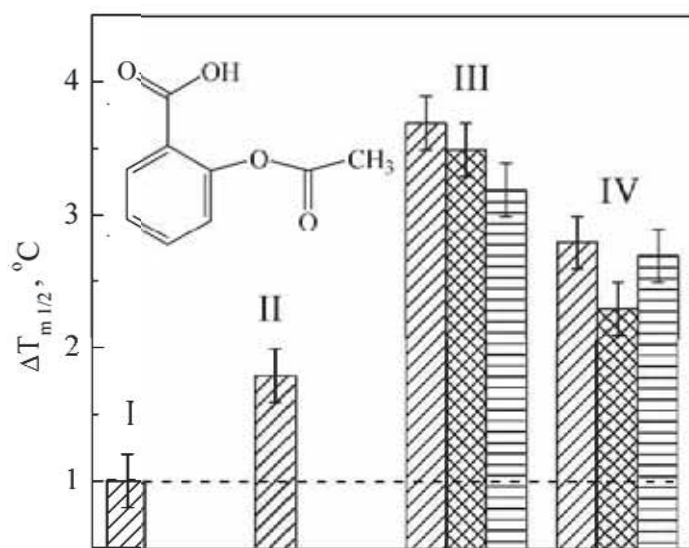


Рис. 7. Напівширина піку основного фазового переходу у мембрані ДПФХ без ЛР (I) або із вмістом 1 мас. % ЛР: АСК (II), АСК : БЧАС 1 : 4 моль/моль (III) або БЧАС (IV). Коса штриховка відповідає даним, отриманим для декаметоксину, сітчаста – для етонію, горизонтальна – для тіонію. Пунктирна лінія позначає величину $\Delta T_{m1/2}$ для мембрани ДПФХ без домішок. Структурна формула АСК наведена на рисунку.

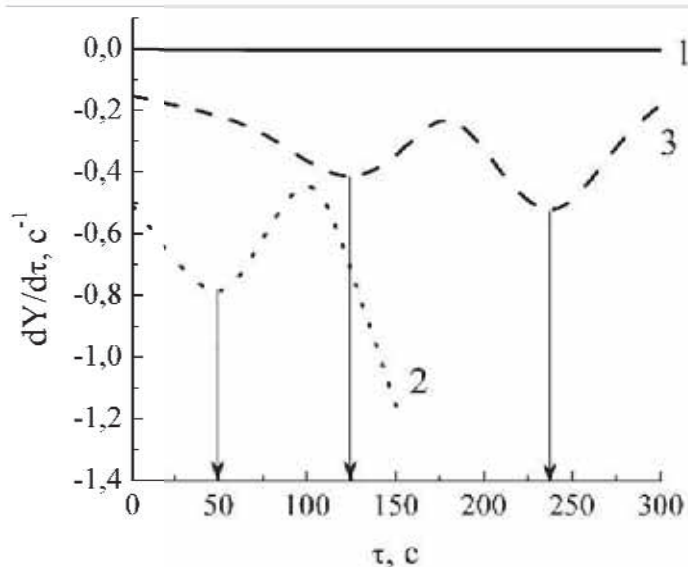


Рис. 8. Швидкість гемолізу еритроцитів $dY/d\tau$ в фізіологічному розчині із вмістом АСК 0,05 мас. % (1), декаметоксину 0,05 мас. % (2) або їх суміші у мольному співвідношенні АСК : декаметоксин 2 : 1. Y – питома частка еритроцитів в полі мікроскопу через проміжок часу τ після додавання ЛР. Стрілками показані значення τ , які відповідають максимумам швидкості гемолізу.

Для двох водорозчинних ЛР – тилорону та ДМСО – методом квазібінарних діаграм встановлено перевагу зв'язування з мембраною тилорону. На користь цього висновку свідчать дані оптичної мікроскопії, які показують, що одночасне внесення тилорону та ДМСО в суспензію еритроцитів усуває характерний морфологічний ефект ДМСО (ехіноцитоз), що вказує на перешкоджання його зв'язування з мембраною еритроцитів з боку тилорону.

При дослідженні спільної взаємодії з мембранами у парах ЛР – ДР, таких як тилорон – гіпромелоза та азитроміцин – лактоза, для першої пари встановлено адитивність МД, тоді як для другої спостерігалася відхилення від лінії адитивності у бік МД азитроміцину ($J_{AB} = -0,3^\circ \text{C}$). Враховуючи, що азитроміцин є гідрофобною речовиною ($\log P$ 4,0), а лактоза – гідрофільною ($\log P$ -4,7), можна зрозуміти, що місця їх локалізації у мембрані рознесені. Таким чином, можна говорити про мембрано-опосередковану гідрофільно-гідрофобну взаємодію ЛР та ДР у мембрані.

Для деталізації спостережуваних ефектів та висвітлення їх зв'язку з хімічною будовою речовин нами був обраний водорозчинний антибіотик циклосерин (CyS). До складу ДР препаратів CyS зазвичай входять сурфактанти кальцію стеарат (CaSt) або магнію стеарат (MgSt). Додатково в парі з циклосерином була досліджена стеаринова кислота (StA), яка теж використовується у якості ДР у різних ЛП. Згідно власним даним та джерелам літератури, обидва структурні компоненти стеаратів (стеаринова кислота й іони магнію та кальцію) викликають позитивний зсув T_m (Табл. 1 та Табл. 2) – тож, МД стеаратів є суперпозицією МД їх компонентів (Рис. 9). Дещо менше значення ΔT_m для CaSt у порівнянні з MgSt може бути обумовлене з його меншою поверхневою щільністю заряду, а також більшою гідратацією, за даними методів ТГА та ІТС.

При спільному внесенні CyS з CaSt або MgSt спостерігався синергічний ефект, тоді як у парі CyS – StA мала місце адитивність ефектів – як за ΔT_m , так і за ΔT_p (Рис. 9). Спостережуваний синергічний ефект для передпереходу виражений значно більше, ніж для основного, та зростає із концентрацією. Окрім того, для CaSt він дещо вищий ніж для MgSt (відповідні значення J_{AB}

становлять 0,4 °C та 0,3 °C). Методом МКРР показано, що CaSt та MgSt, на відміну від StA, індивідуально знижують період повторюваності бішарів (d_L) у L_α -фазі мембрани ДПФХ, тоді як при внесенні разом із CyS – підвищують його, що свідчить про неадитивність МД, вірогідно, внаслідок комплексоутворення у парах ЛР – ДР.

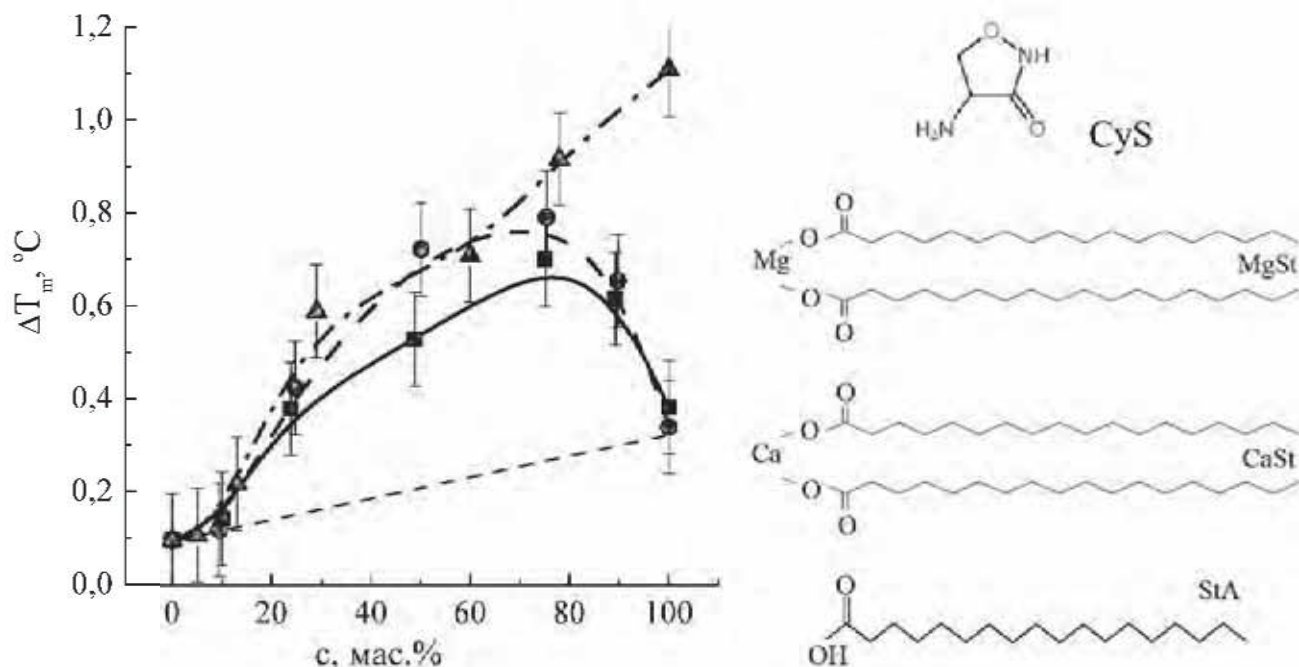


Рис. 9. Зсуви температур основного переходу мембран ДПФХ із вмістом 2 мас. % CyS-CaSt (●), CyS-MgSt (■) та CyS-StA (▲) у залежності від концентрації ДР у парі. Пунктиром позначена лінія адитивності ΔT_m по концентрації CyS у парі. Структурні формули речовин наведені на рисунку.

Аналіз результатів квантово-хімічного моделювання показує, що середня енергія міжмолекулярних взаємодій CyS – CaSt та CyS – MgSt у водному середовищі (78 кДж/моль та 98 кДж/моль, відповідно) значно перевищує таку для комплексів CyS – StA (49 кДж/моль), що, певно, обумовлено участю у міжмолекулярних взаємодіях катіонів відповідних металів. Енергія комплексоутворення та синергічний ефект виявилися більшими для MgSt у порівнянні з CaSt. Молекула CyS в отриманому наборі комплексів виступала в основному акцептором водневого зв'язку, втім у комплексах з найбільшими значеннями E_{int} CyS виступав і водночас і як донор, і як акцептор водневого зв'язку.

Запропоновано методологію порівняння МД між ЛР та його ЛП за допомогою якої висвітлено внесок у мембранотропну дію ЛР та ДР у препаратах азитроміцину, метронідазолу, тилорону, аспірину, фенспіриду, фенібуту. Зокрема, для групи препаратів антибіотика азитроміцину встановлена параболічна форма залежностей $\Delta T_m(c)$ (Рис. 10). Як можна бачити, максимальний ефект у різних системах мав місце за різних концентрацій $c_{кр}$ та розрізнявся за абсолютною величиною. Так, для ЛП «Азитроміцин» у порівнянні з ЛР азитроміцином значення $c_{кр}$ зменшувалося від 7,7 % до 5,9 %, а

мембранотропний ефект збільшувався, що вказує на потужний потенціал модуляції взаємодії ЛР з мембраною з боку ДР.

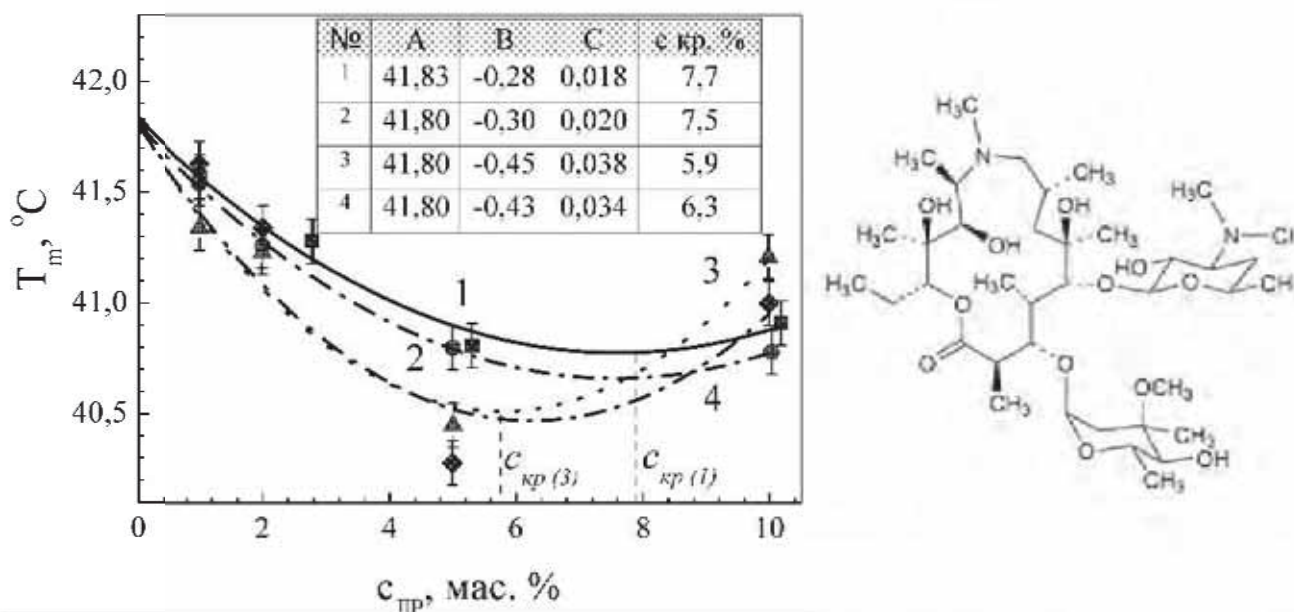


Рис. 10. Залежності температури плавлення мембрани ДПФХ від концентрації ЛР азитроміцину у водному розчині (1) та у складі ЛП: «Азицин» (2), «Азитроміцин» (3) и «Хеоміцин» (4). Точки – експериментальні дані; лінії – параболічна апроксимація ($T_m = A + Bc_{LP} + Cc_{LP}^2$). Вертикальні пунктирні лінії позначають величину $c_{кр}$ для мембран із вмістом ЛР азитроміцину ($c_{кр(1)}$) та ЛП «Азитроміцин» ($c_{кр(3)}$). Структурну формулу азитроміцину наведено на рисунку.

При внесенні до мембрани ДПФХ ЛР фенібуту та його ЛП «Нообуту ІС» на ДСК-термограмі спостерігалися два додаткові піки, вище та нижче за вихідний. Такий характер термограм був добре відтворюваний в усіх експериментах. Якісні відмінності МД «Нообуту ІС» від МД фенібуту полягали у підвищенні температур максимумів усіх піків на $0,7 \div 1,0$ °С, а також у деякому збільшенні частки основного піку за рахунок двох інших, тобто у перерозподілі ліпідів між ліпідними доменами. Для ЛП групи метронідазолу спостерігався від'ємний зсув ΔT_m у порівнянні з ЛР, тоді як для тилорону, фенспіриду, та аспіріну цей зсув був додатним. Таким чином, в усіх досліджених групах ЛР – ЛП загальний вигляд концентраційних залежностей термодинамічних параметрів, характерних для ЛР, зберігався й для його ЛП, що говорить про визначальний внесок ЛР у мембранотропну дію ЛП. Внесок допоміжних речовин у складі ЛП відбивається у зміні температури та ентальпії фазових переходів ліпідних мембран, а також у перерозподілі ліпідів між доменами різної щільності – тобто, є модульовальним.

Проведена класифікація спостережуваних ефектів спільної МД з виділенням їх основних видів: пряма взаємодія (утворення сполук та комплексів), непряма взаємодія (опосередкована середовищем) і відсутність

взаємодії. Виділено механізми зміни фізико-хімічних властивостей мембрани при у випадках двох гідрофільних речовин (конкуренція за зв'язування з поверхнею мембрани), двох гідрофобних речовин (конкуренція за вільний об'єм мембрани або продукування вільного об'єму) та гідрофільної й гідрофобної речовин (мембрано-опосередкована гідрофільно-гідрофобна взаємодія). Показано, що визначальними параметрами для спільної МД є вільний об'єм неполярної частини мембрани та площа перетину її полярної частини, яка здебільшого визначається гідратаційними параметрами мембрани.

На підставі отриманих даних обґрунтовано доцільність застосування багатокомпонентних мембран для подальших досліджень взаємодій з мембраною ЛР з різними мембранотропними властивостями.

У шостому розділі розроблено та охарактеризовано низку багатокомпонентних ліпідних мембран, що наближаються до ліпідного складу мембран еритроцитів, кардіоміоцитів, мембран шкіряних покривів, бактеріальних мембран тощо. Деякі з багатокомпонентних мембран, як і мембрана ДПФХ, мали однофазний термодинамічний профіль, інші (наприклад, мембрана ДПФХ-ДПФЕ-Хол) були двофазними, внаслідок чого пік ДСК становив суперпозицію піків плавлення двох фаз: холестерин-збагаченої та холестерин-збідненої.

Для ЛР із різними типами зв'язування з мембраною (взаємодія з поверхнею ліпідного бішару, його гідрофобною внутрішньою частиною або змішаний тип) встановлено, що однакові мембранотропні ефекти можуть бути викликані зв'язуванням речовини як з поверхнею, так і з об'ємом бішару. Зокрема, каолін, який взаємодіє з поверхнею бішару, та лауринова кислота, яка занурена у його внутрішній об'єм, викликають перерозподілення ліпідів між холестерин-збагаченою та холестерин-збідненою фазами мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол мембрани (Рис. 11). У той же час фенспірид (змішаний тип зв'язування) в мембранах ДПФХ, ДПФХ-Цб та ДПФХ-ДПФЕ-Хол має якісно та кількісно однакову розріджувальну МД (дані не наведені).

Для лауринової кислоти у мембранах ДПФХ та ДПФХ-Цб якісно подібна та типова для усіх довголанцюгових жирних кислот у мембранах фосфатидилхолінів: підвищення температур фазових переходів (Табл. 3) та збільшення однорідності пакування ліпідів. У присутності Цб в мембрані ДПФХ форма піку передпереходу суттєво порушується (збільшення високотемпературної частини піку), тоді як при додаванні лауринової кислоти – відновлюється (дані не наведені). Таким чином, у мембрані ДПФХ має місце компенсація мембранотропних ефектів лауринової кислоти та Цб.

Каолін викликає підвищення температур основного та передпереходу у мембрані ДПФХ та їх зниження – у мембрані ДПФХ-Цб (Рис. 12). Тож, каолін по відношенню до мембрани ДПФХ виявляє хаотропні властивості, тоді як до мембрани ДПФХ-Цб – космоетропні, що, певно, обумовлене підвищенням гідратації мембранної поверхні при додаванні Цб.

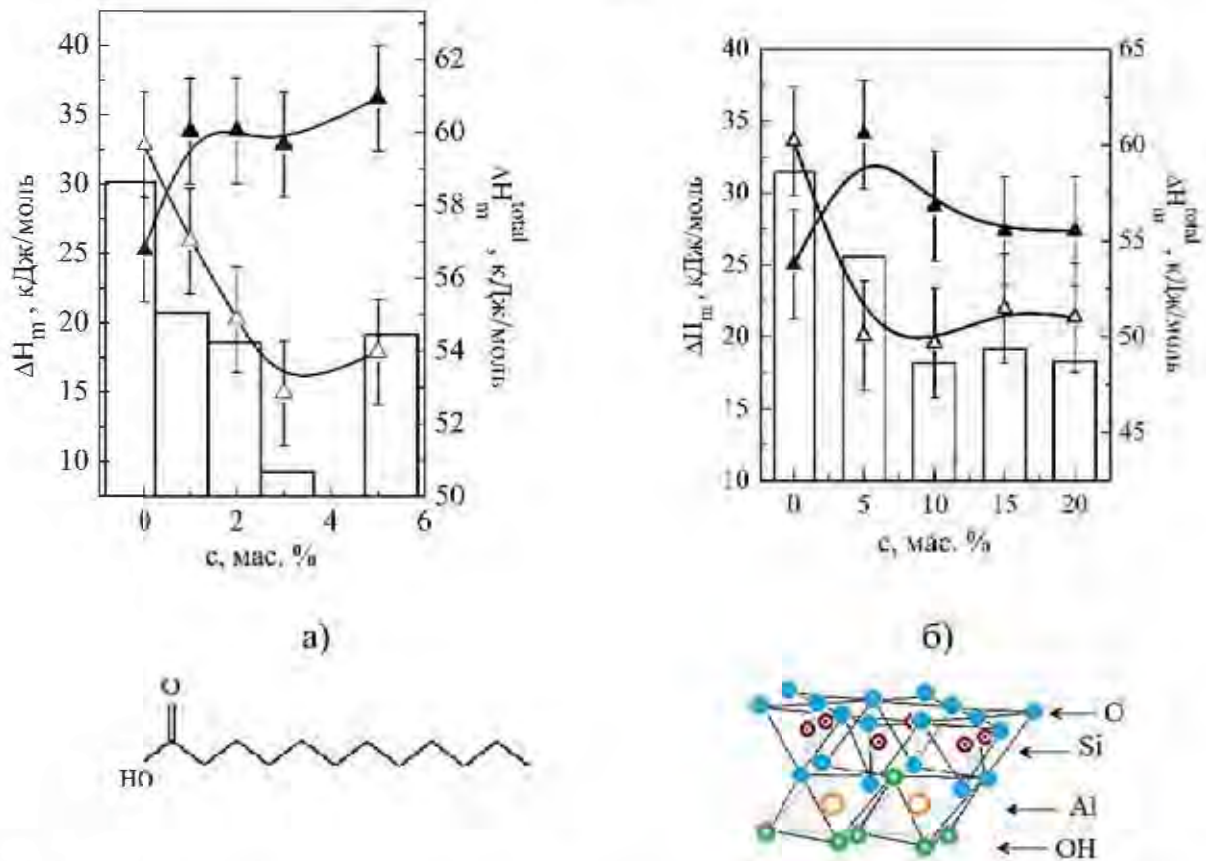


Рис. 11. Перерозподіл піків холестерин-збагаченої (▲) та холестерин-збідненої (Δ) фаз у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол залежно від вмісту лауринової кислоти (а) та каоліну (б). Столпчиками показані значення загальної ентальпії ДСК-піку ΔH_m^{total} . Структури лауринової кислоти та каоліну наведено на рисунку.

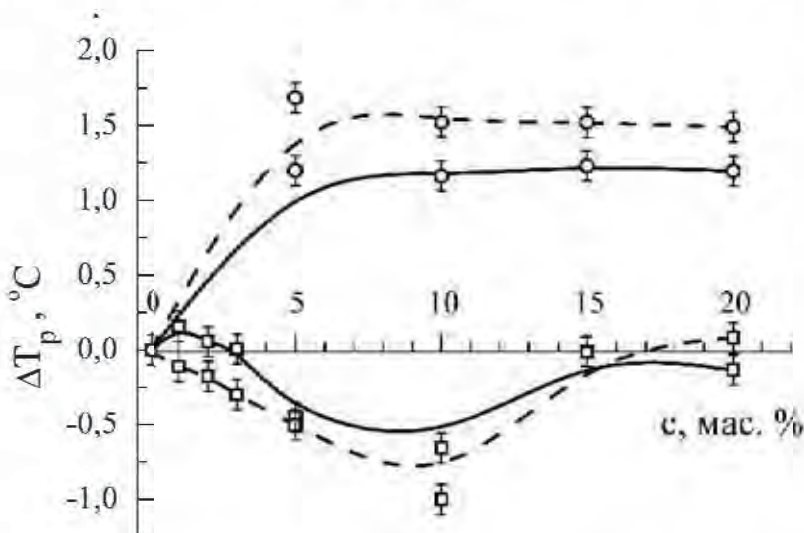


Рис. 12. Зсуви температур передпереходу залежно від вмісту каоліну в мембранах ДПФХ (□) та ДПФХ-Ц6 (○): суцільна лінія – нагрівання, пунктирна лінія – охолодження.

Отримано дані щодо МД низки кон'югатів антиметаболіту метотрексату (МТ) та імуномодулятору бетулонової кислоти (БК), які розрізняються видом та розташуванням замісників карбонільних груп (Рис. 13). Треба підкреслити, що МТ у складі кон'югатів втрачає свою здатність потрапляти до клітини за

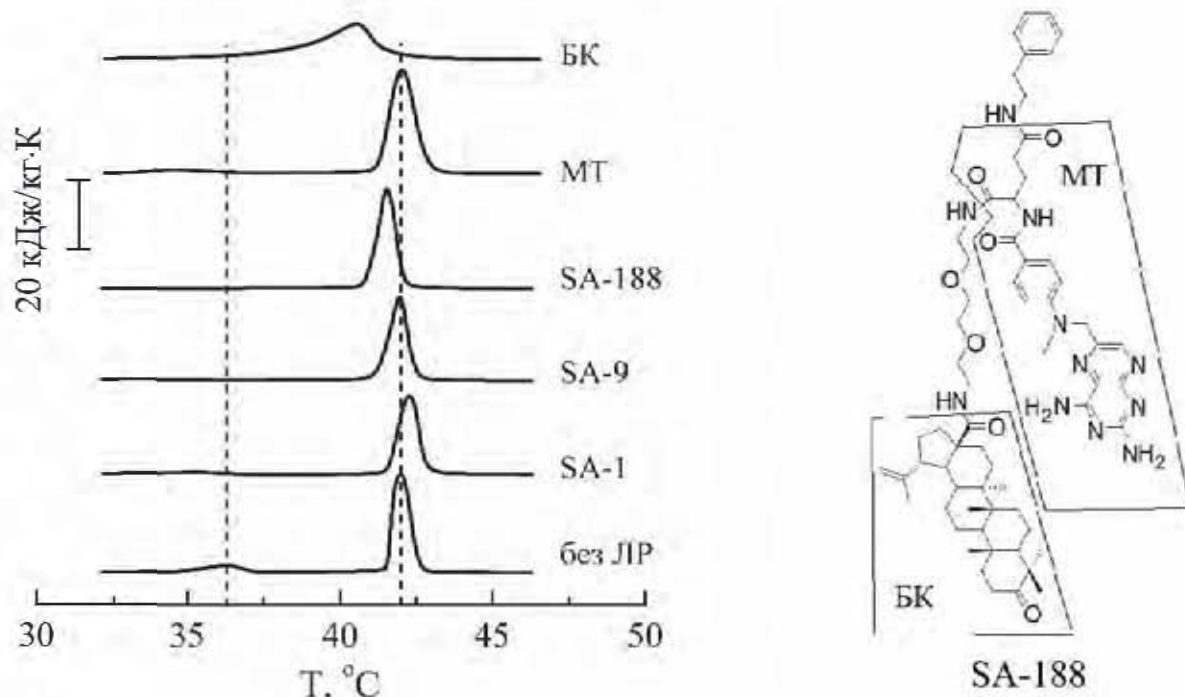
допомогою білків-переносників фолієвої кислоти, структурним аналогом якої він є, тому на перший план виходить його здатність до пасивної дифузії крізь ліпідний бішар. Показано, що індивідуально МТ практично не змінює термодинамічні параметри мембрани ДПФХ, тоді як БК, навпаки, знижує та розмиває піки фазових переходів цієї мембрани, що й визначає її від'ємний внесок в МД кон'югатів як структурного компонента, аналогічно залишку ментолу у складі декаметоксину (Табл. 2). Взаємодія кон'югатів з мембраною ДПФХ приводить до зміни низки її термодинамічних параметрів, особливо виражених для кон'югату SA-188 (Рис. 13). У мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол зміни профілів ДСК у присутності кон'югатів не були настільки виражені, як у мембрані ДПФХ. Однак, розкладення вихідного піку на дві компоненти, які, згідно даним літератури, відповідають Хол-збагаченій та Хол-збідненій фазам ліпідів, дозволило виокремити відмінності у МД кон'югатів на ліпідні фази різного складу. Зокрема, встановлено, що зниження температури фазового переходу та розширення відповідного піку є більш суттєвими для широкого піку, який відповідає Хол-збагаченій фазі, що вказує на переважне зв'язування кон'югатів з цією фазою.

В присутності антимікробного пептиду граміцидину S (GS) у мембранах різного ліпідного складу було відзначено появу додаткового ДСК-піку фазового переходу мембран з $T_m^* < T_m$ та $\Delta T_{m1/2}^* > \Delta T_{m1/2}$, який, згідно даним літератури, відповідає взаємодії з мембраною олігомерів GS. При внесенні 5 моль % GS до мембрани ДПФХ-Хол (10 моль %) встановлено додаткове суттєве зменшення T_m (Рис. 14), викликане в основному внеском піку олігомерів, що може бути інтерпретоване як синергізм МД GS та Хол. Вірогідний механізм встановленого ефекту полягає у підвищенні зв'язування з мембраною GS на границях доменів холестерин-збагаченої та холестерин-збідненої фаз (механізм продукування вільного об'єму). Встановлено адитивність МД GS та іонів Ca^{2+} у мембрані ДПФХ, яка відбивається у поступному зсуві залежностей $\Delta T_m(c)$ та $\Delta T_m^*(c)$ при підвищенні концентрації розчину CaCl_2 (Рис. 15). Дані ІЧ-спектроскопії свідчать, що GS має якісно та кількісно різний вплив на мембрани різного ліпідного складу. Так, в негативно зарядженій мембрані ДПФХ-ДПФГ він викликає дегідратацію фосфатних груп та розупорядкування упаковки вуглеводневих ланцюгів, тоді як у мембрані ДПФХ-Хол ефект зворотний.

У цьому розділі отримано результати щодо кінетичних властивостей досліджених систем. Зокрема, визначено розмір кооперативного домену ліпідів CN за різних швидкостей термосканування x та показана суттєва залежність $CN(x)$ у мембранах ДПФХ та ДМФХ, особливо при $x < 5$ К/хв. Значення CN розраховували за відомими з літератури формулами:

$$CN = 4RT_m^2 / (\Delta T_{m1/2} \Delta H_m) \text{ або } CN = 4RT_m^2 (d\eta/dT)_{T_m} / \Delta H_m, \quad (7)$$

де η – частка молекул, що зазнали фазового переходу до моменту нагрівання системи до температури T_m ; інші позначення уведено у розділі 2. Значення CN, розраховані за формулами (7), добре збігалися між собою (коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона $r = 0,993$).



SA-1

SA-9

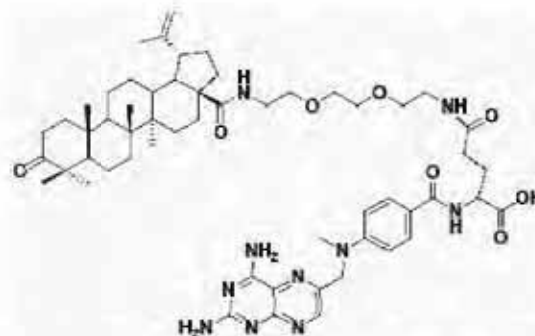
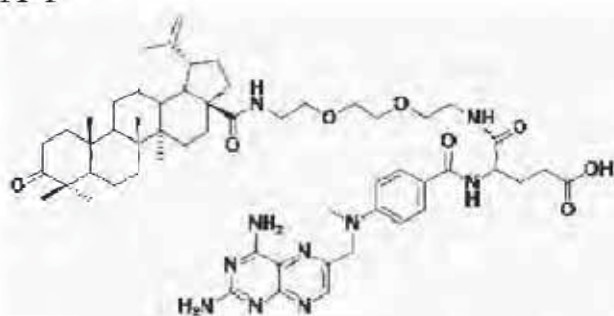


Рис. 13. ДСК-термограми мембран ДПФХ із вмістом МТ, БК та їх кон'югатів*. Вміст кон'югатів становив 2 мас. %, вміст МТ та БК – 5 мас. %, від маси ліпідів. Пунктирними лініями відмічені значення температур фазових переходів мембран без ЛР. Структурні формули кон'югатів наведено на рисунку.

На основі отриманих даних встановлено, що зі зменшенням x розмір кооперативного домену зростає за гіперболічним законом. Встановлено, що вказаний вид залежності визначається в основному зміною напівширини піку основного фазового переходу, тоді як інші термодинамічні параметри, за допомогою яких визначають CN (температура та ентальпія фазового переходу) мають значно слабшу залежність від x . Отримані залежності $CN(x)$ добре апроксимуються гіперболічним рівнянням виду:

$$CN = c + b/(x+a), \quad (8)$$

де a , b , c – константи.

* Вперше синтезовані к. х. н. Семешком О. М. (ДНУ НТК «Інститут монокристалів НАНУ»)

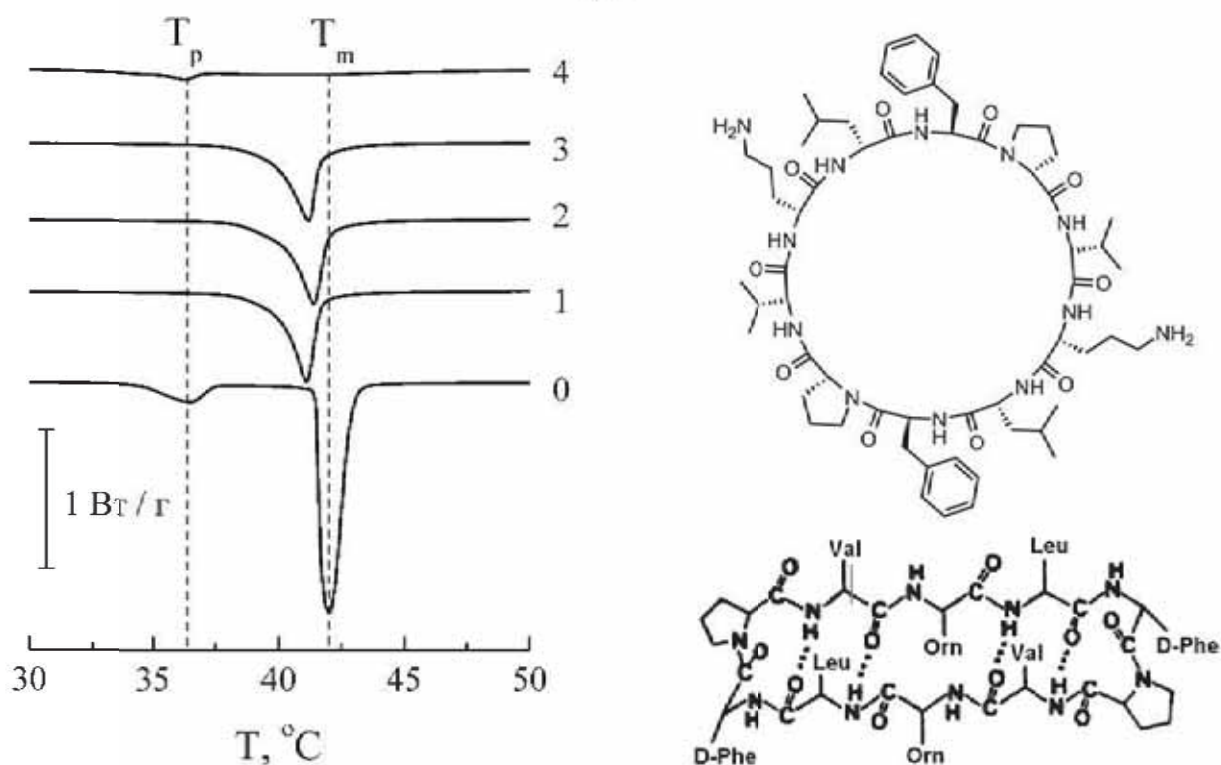


Рис. 14. Нормовані ДСК-термограми модельних ліпідних мембран, що містять 5 % GS: 1 – мембрана ДПФХ; 2 – мембрана ДПФХ-ДПФГ; 3 – мембрана ДПФХ-Цб; 3 – мембрана ДПФХ-Хол (0 – вихідна мембрана ДПФХ без ЛР). Вертикальні пунктирні лінії позначають T_m та T_p для мембрани ДПФХ. Структурна формула та конформаційна модель граміцидину S наведені на рисунку.

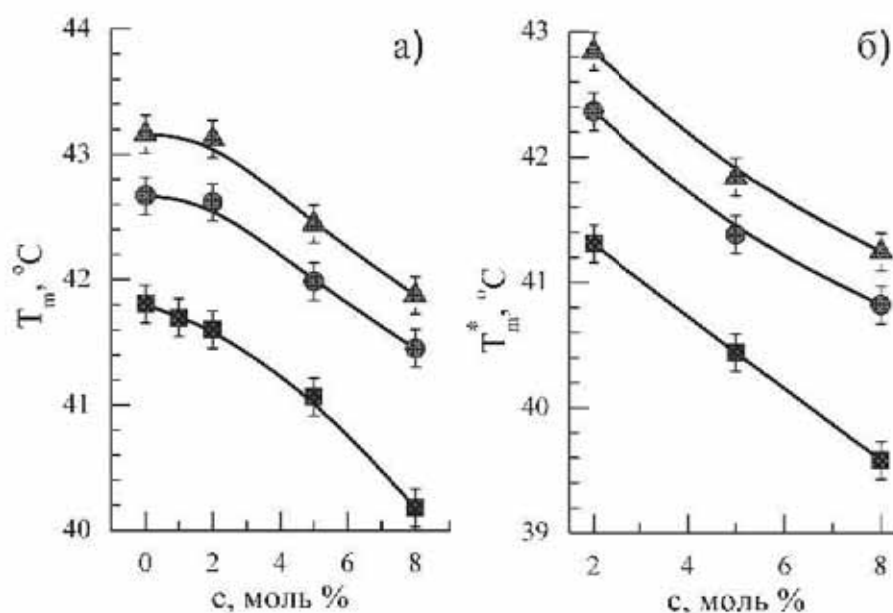


Рис. 15. Залежності температури основного (а) та додаткового (б) піків фазового переходу мембрани ДПФХ від концентрації GS у водних розчинах CaCl_2 : 0 мМ (■) 100 мМ (●) та 200 мМ (▲).

Параметри апроксимації залежності $CN(x)$ рівнянням (8) для мембран ДПФХ та ДМФХ наведено у Табл. 4. При екстраполяції отриманої гіперболічної залежності до $x = 0$ отримане значення $CN \sim 700$ та відповідне граничне значення напівширини піку $\Delta T_{m1/2} \approx 0,13$ К, які добре узгоджуються з даними літератури. Таким чином, можна говорити про ненульову граничну напівширину основного фазового переходу ліпідної мембрани і, отже, про скінченний граничний розмір кооперативного домену, який задає первинну неоднорідність моноліпідної мембрани.

Таблиця 4

Параметри апроксимації залежностей $CN(x)$ для мембран ДПФХ та ДМФХ рівнянням (8): константи та коефіцієнти детермінації

Мембрана	a, К/хв	b, хв/К	c	R
ДПФХ	0,38	226,8	17,7	0,985
ДМФХ	0,30	273,2	15,8	0,984

Проведено дослідження спільної дії ЛР тилорону та ДМСО у мембрані ДПФХ у кінетичних умовах. Використано різноманітні схеми внесення ЛР у мембрану: послідовне – (1)тилорон(2)ДМСО або (1)ДМСО(2)тилорон; спільне – (тилорон+ДМСО); а також внесення однієї ЛР у мембрану з рівномірним розподілом іншої ЛР – (0)ДМСО(1)тилорон або (0)тилорон(1)ДМСО.

Встановлено, що при додаванні тилорону до мембрани ДПФХ, пік ДСК становив суперпозицію піків чистої мембрани (з максимумом T_m та площею S) та мембрани, повністю насиченої тилороном (з максимумом T_m^* та площею S^*). Значення T_m^* слугували маркером сорбції тилорону на мембрані, а частка другого піку $\eta = S^*/(S+S^*)$ була використана як кінетична характеристика дифузії тилорону крізь ліпідні бішари за різних схем введення ЛР (Рис. 16).

Аналіз ДСК-термограм, отриманих на різних стадіях встановлення рівноваги дозволяє виокремити два процеси: 1) сорбція тилорону на ліпідній мембрані ($\sim 10^2$ с); 2) дифузія тилорону крізь стопки ліпідних бішарів, розділених водними прошарками ($\sim 10^4$ с). При одночасному внесенні тилорону та ДМСО спостерігається модуляція кінетичних характеристик цих процесів – зокрема, дифузія тилорону суттєво пришвидшується: характерний час дифузії тилорону стає порівняним з характерним часом його сорбції (Рис. 17). Швидкість дифузії тилорону зростає у схемах (1)тилорон(2)ДМСО < (тилорон+ДМСО) < (1)ДМСО(2)тилорон < (0)ДМСО(1)тилорон. При внесенні ЛР за схемою (0)Т(1)ДМСО (додавання ДМСО до мембрани, рівномірно насиченої тилороном) не спостерігалось змін ДСК-термограм протягом 24 годин, що свідчить про незмінність розподілення ЛР у мембрані в цьому часовому інтервалі й слугує на користь висновку про перевагу зв'язування тилорону. Втім, упродовж наступних 20 діб спостерігалось суттєве розмивання та розщеплення піку основного переходу, що певно, відбиває перерозподілення ЛР у мембрані з часом.

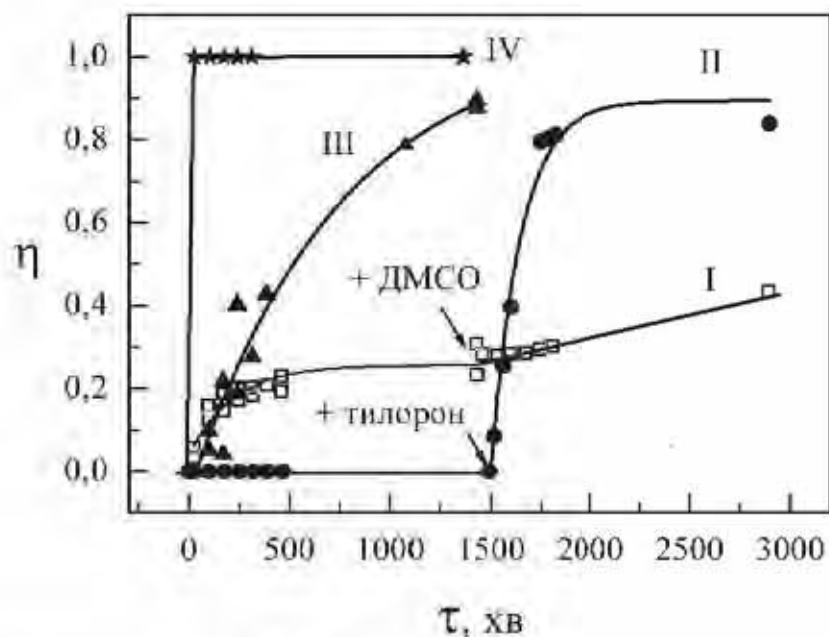


Рис. 16. Кінетичний профіль параметра η мембрани ДПФХ при внесенні тилорону та ДМСО за різними схемами: I – (1)тилорон(2)ДМСО; II – (1)ДМСО(2)тилорон; III – (тилорон+ДМСО); IV – (0)ДМСО(1)тилорон. Стрілками позначений момент введення відповідної ЛР.

Отримані дані цілком узгоджуються з відомою здатністю ДМСО покращувати проникнення інших ЛР крізь ліпідну мембрану за механізмом індукування неоднорідності пакування ліпідів. Новітнім є встановлення конкуренції тилорону та ДМСО за зв'язування з мембраною, у якій тилорон має перевагу. В цілому отримані результати вказують на неадитивність МД вказаних ЛР за порядком їх внесення до мембрани.

Запропонована феноменологічна модель, яка описує зміну дифузії однієї ЛР внаслідок зв'язування з мембраною іншої ЛР. В рамках цієї моделі показано, що виникнення неоднорідності в латеральній упаковці молекул внаслідок зв'язування однієї ЛР (див. Рис. 6) може викликати зміну проникності мембрани до іншої ЛР навіть за умов збереження постійної загальної площі молекули:

$$P = P_0 \left(1 + \left(1 - \frac{U'(s_0)}{kT} s_0 \right) \cdot \frac{\langle \sigma \rangle}{s_0} - \left[\frac{1}{2} \frac{U''(s_0) s_0^2}{kT} + \frac{U'(s_0) s_0}{kT} - \frac{1}{2} \left(\frac{U'(s_0) s_0}{kT} \right)^2 \right] \cdot \frac{\langle \sigma^2 \rangle}{s_0^2} \right), \quad (9)$$

де P_0 та P – проникність мембрани, відповідно, до та після сорбції ЛР; s_0 – площа елементарної комірки ліпідів (див. Рис. 6); $\langle \sigma \rangle$ – середнє відхилення площ комірок від s_0 ; $U(s_0)$ – потенціал взаємодії комірки з ЛР; k – константа Больцмана; T – абсолютна температура.

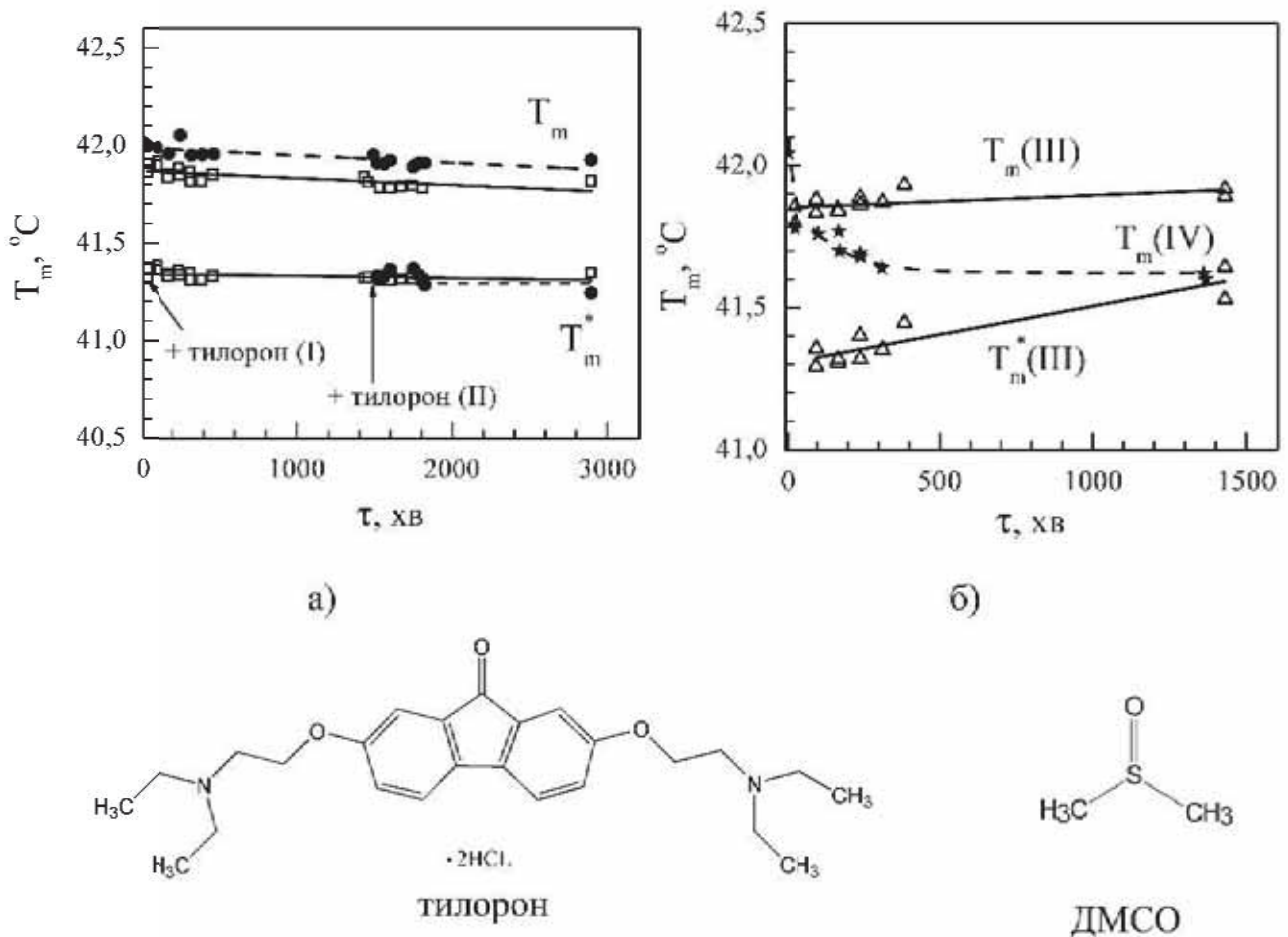


Рис. 17. Кінетичні профілі параметрів T_m та T_m^* мембрани ДПФХ при внесенні тилорону та ДМСО за схемами I та II (а), III та IV (б). Пояснення до схем див. на Рис. 16. Структурні формули тилорону та ДМСО наведені на рисунку.

Залежно від форми $U(s_0)$, проникність мембрани може як збільшуватися (що показано для формули (9) у випадку кулонівського потенціалу), так і, у загальному випадку, зменшуватися.

Таким чином, в роботі були розглянуті ефекти спільної дії у різних типах багатокомпонентних систем: дві ЛР; ЛР та ДР; ЛР та набір ДР, що входять до складу ЛП; ЛР та ліпідні компоненти мембрани; ЛР та іони; іони різних видів; сполучення функціональних фрагментів молекули ЛР. Серед проявів спільної дії на рівні мембран спостерігалася зміна їх проникності (для тилорону у присутності ДМСО), перерозподіл ліпідів між фазами (для фенібуту у присутності ДР), зміна розподілення ЛР в мембрану (для грамїцидину S у присутності холестерину), неадитивність ефекту за порядком введення (тилорон з ДМСО), кількісна модуляція відгуку мембрани допоміжними речовинами (фенібут, метронідазол, азитроміцин), а також якісні зміни мембран – окислення ліпідів ($\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$), зміна кінетичного профілю гемолізу еритроцитів (аспірин у присутності декаметоксину), усунення ехіноцитозу еритроцитів (тилорон у присутності ДМСО). Як можна бачити, ці прояви є різноманітними й суттєвими для функціонування клітини, у зв'язку з чим подальше вивчення спільної МД уявляється важливим та перспективним напрямком молекулярної біофізики.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі вирішено важливу наукову проблему встановлення механізмів та визначальних молекулярних параметрів індивідуальної та спільної дії компонентів лікарських речовин на модельні ліпідні мембрани на основі гідратованих фосфоліпідів.

1. Встановлено, що для компонентів лікарських препаратів, які локалізуються на полярній поверхні ліпідного бішару (іони лужних та лужно-земельних металів, лантанодів, галогенів), суттєва роль у взаємодії з мембраною належить поверхневій щільності заряду іону. Оцінене критичне значення поверхневої щільності заряду ($\sim 5 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для катіонів та $\sim 3 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм² для аніонів), при якому відбувається зміна знаку зсуву температур фазових переходів мембрани диміристоїлфосфатидилхоліну.

2. Показано, що для молекул ліпофільних речовин, які локалізуються у гідрофобній внутрішній частині бішару (лауринова та стеаринова кислоти, холестерин, 7-дегідрохолестерин та холекальциферол), визначальну роль у мембранотропній дії відіграють конформаційна рухливість молекули, яка забезпечує знак ефекту, а також молекулярна анізотрія, яка корелює з величиною ефекту.

3. Для низки речовин (амонієвих сполук, стеаратів кальцію та магнію, кон'югатів метотрексату та бетулонові кислоти) показано, що їх мембранотропна дія є суперпозицією дії окремих структурних складових (іонів, стеринів, жирних кислот).

4. Для низки лікарських речовин різних фармакологічних груп (речовини протимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотики) встановлено зростання мембранотропного ефекту у інтервалі коефіцієнтів ліпофільності $\log P$ від 0 до 6 та зменшення ефекту при подальшому підвищенні $\log P$, що узгоджується з відомими літературними даними щодо значень $\log P$, оптимальних для забезпечення терапевтичної активності лікарських речовин. Для речовин, які взаємодіють переважно з гідрофобною внутрішньою частиною ліпідного бішару, встановлено зв'язок між мембранотропним ефектом та часткою полярної поверхні молекули.

5. Встановлено, що ключовим механізмом мембранотропної дії при взаємодії речовин з поверхнею ліпідного бішару є зміна гідратації мембрани, а при взаємодії з гідрофобною внутрішньою частиною бішару – зміна вільного об'єму мембрани, причому обидва механізми можуть приводити до структурних ефектів ущільнення або розрідження мембрани, а також до утворення нової фази.

6. Запропоновано комплекс методик для якісної та кількісної характеристики ефектів спільної мембранотропної дії: метод квазібінарних фазових діаграм, методика порівняння мембранотропної дії лікарських препаратів-аналогів, методика виявлення внеску у мембранотропну дію основної та допоміжних речовин лікарського препарату. Введено параметр спільної мембранотропної дії, за допомогою якого запропоновано класифікацію

ефектів спільної мембранотропної дії за категоріями антагонізму, синергізму, адитивності або конкуренції.

7. Встановлено, що визначальний внесок у мембранотропну дію препаратів азитроміцину, метронідазолу, тилорону, аспіріну, фенспіриду та фенібуту належить лікарській речовині, тоді як внесок допоміжних речовин є модульовальним.

8. Визначено механізми спільної дії речовин в ліпідній мембрані: (1) конкуренція за зв'язування з поверхнею мембрани; (2) конкуренція за вільний об'єм мембрани; (3) продукування вільного об'єму; (4) мембрано-опосередкована гідрофільно-гідрофобна взаємодія.

9. Встановлено, що неадитивність спільної мембранотропної дії протівірусної речовини тилорону та протизапальної речовини диметилсульфоксиду за порядком їх введення до ліпідної мембрани в кінетичному режимі обумовлена суперпозицією двох механізмів: уповільненням сорбції на мембрані диметилсульфоксиду внаслідок переваги тилорону у конкурентній сорбції на мембрані та пришвидшенням пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності диметилсульфоксиду за механізмом виникнення неоднорідності пакування ліпідів.

10. Запропоновано феноменологічну математичну модель, яка описує зміни проникності мембрани для однієї лікарської речовини, викликані виникненням неоднорідності внаслідок зв'язування з нею іншої речовини навіть при збереженні площі мембрани постійною.

11. При спільному внесенні у ліпідну мембрану декількох видів іонів, двох або декількох компонентів лікарських препаратів, додаткових ліпідних компонентів встановлено різноманітні прояви їх спільної дії в специфічному відгуку модельних ліпідних мембран: зміна проникності мембрани, зміна розподілення лікарських речовин в мембрану, неадитивність ефекту за порядком внесення лікарських речовин, а також якісні зміни мембран (окислення ліпідів, перерозподіл ліпідів між фазами, зміна кінетичного профілю гемолізу еритроцитів, усунення ехіноцитозу еритроцитів).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації, які відображають основні наукові результати дисертації

Публікації у фахових виданнях України

1. **Ващенко О.В.**, Пашинская В.А., Косевич М.В., Боряк О.А., Касян Н.А., Лисецкий Л.Н. Изучение совместного воздействия четвертичных аммониевых соединений и органической кислоты на модельные фосфолипидные мембраны // Біофіз. вісн. 2010. Вип. 25 (2). С. 5-23. *(Особистий внесок здобувача: отримання та обробка калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
2. **Ващенко О.В.** Влияние нитратов металлов I группы на параметры мультибислойных фосфолипидных мембран // Біофіз. вісн. 2013. Вип. 30 (2). С. 53-62.

3. Красникова А.О., **Ващенко О.В.**, Касян Н.А., Ермак Ю.Л., Маркевич Н.А. Термодинамические параметры фазовых переходов модельных липидных мембран как маркер мембранотропного действия антибиотиков в препаратах-аналогах // *Біофіз. вісн.* 2014. Вип. 32 (2). С. 27-38. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
4. **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Pashynska V.A., Kosevich M.V., Sadchenko A.O., Tishko D.N., Tishko T.V., Titov V.P., Lisetski L.N. Intermolecular interactions of decamethoxinum and acetylsalicylic acid in systems of various complexity levels // *Біофіз. вісн.* 2015. Вип. 34 (2). С. 5-15. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці даних калориметрії та оптичної мікроскопії, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
5. **Ващенко О.В.**, Будянская Л.В. Совместное действие лекарственных веществ в модельных липидных мембранах: калориметрические эффекты // *Біофіз. вісн.* 2016. Вип. 36 (2). С. 11-18. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
6. **Ващенко О.В.**, Будянская Л.В., Касян Н.А., Лисецкий Л.Н. Мембранотропное действие лауриновой кислоты, фенспирида и каолина в модельных липидных мембранах: роль липидного состава // *Біофіз. вісн.* 2018. Вип. 39 (1). С. 27-41. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*

Публікації у виданнях наукометричної бази SCOPUS

7. **Vashchenko O.V.** Obtaining of hydration parameters of cesium halides in the processes of water absorption and desorption // *Func. Mater.* 2014. Vol. 21, Iss. 4. P. 482-486.
8. Sadchenko A.O., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Budianska L.V., Lisetski L.N. Correlations between molecular parameters of guest substances and their effect on model lipid membranes // *Func. Mater.* 2016. Vol. 23, Iss. 2. P. 230-235. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних та даних кореляційного аналізу, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
9. **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Budianska L.V. Comparative effects of stearic acid, calcium and magnesium stearates as dopants in model lipid membranes // *Func. Mater.* 2018. Vol. 25, Iss. 2. P. 300-307. DOI: 10.15407/FM25.02.300. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
10. **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Brodskii R.Ye., Budianska L.V., Sofronov D.S., Lisetski L.N. Model lipid bilayers as sensor bionanomaterials for characterization of membranotropic action of water-soluble substances // *Func. Mater.* 2018.

Vol. 25, Iss. 3. P. 422-431. DOI: 10.15407/fm25.03. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у розробці математичної моделі, участь у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*

Публікації у зарубіжних спеціалізованих виданнях

11. Lisetski L.N., Zavora L.N., Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Panikarskaya V.D. Cholesteric liquid crystals doped with molecules of organic scintillator materials // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 2009. Vol. 510. P. 106/[1240]-115/[1249]. *(Особистий внесок здобувача: розрахунки молекулярних параметрів)*
12. **Vashchenko O.**, Pashynska V., Kosevich M., Panikarska V., Lisetski L. Lyotropic mesophase of hydrated phospholipids as model medium for studies of antimicrobial agents activity // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 2011. Vol. 547. P. 155-163. DOI: 10.1080/15421406.2011.572038. *(Особистий внесок здобувача: отримання та обробка калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
13. **Vashchenko O.V.**, Ermak Yu.L., Lisetski L.N. Univalent ions in phospholipid model membranes: thermodynamic and hydration aspects // Biophysics. 2013. Vol. 58, Iss. 4. P. 515-523. DOI: 10.1134/S0006350913040180. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
14. Kasian N.A., Pashynska V.A., **Vashchenko O.V.**, Krasnikova A.O., Gömöry A., Kosevich M.V., Lisetski L.N. Probing of the combined effect of bisquaternary ammonium antimicrobial agents and acetylsalicylic acid on model phospholipid membranes: differential scanning calorimetry and mass spectrometry studies // Mol. Biosyst. 2014. Vol. 10, Iss. 12. P. 3155-3162. DOI: 10.1039/c4mb00420e. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
15. **Vashchenko O.V.**, Iermak Iu.L., Krasnikova A.O., Lisetski L.N. The effects of silver nitrate on the phase state of model multibilayer membranes// Biophysics. 2015. Vol. 60, Iss. 2. P. 244-250. DOI: 10.1134/S0006350915020207. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
16. Bulavin L.A., Soloviov D.V., Gordeliy V.I., Svechnikova O.S., Krasnikova A.O., Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Lisetski L.N. Lyotropic model membrane structures of hydrated DPPC: DSC and small-angle X-ray scattering studies of phase transitions in the presence of membranotropic agents // Phase Transitions. 2015. Vol. 88, Iss. 6. P. 582-592. *(Особистий внесок здобувача: участь у обробці та аналізі калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
17. **Vashchenko O.V.**, Sadchenko A.O., Budianska L.V., Lisetski L.N. The combined effects of nitrates on multibilayer lipid membranes: thermodynamic

- effects // Biophysics. 2017. Vol. 62, Iss. 2. P. 227-232. DOI: 10.1134/S0006350917020282. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
18. Sadchenko A.O., **Vashchenko O.V.**, Puhovkin A.Yu., Kopeika E.F., Kasian N.A., Budiyanska L.V., Maschenko A.V., Al-Mughrabi Ya.M., Sofronov D.S., Lisetski L.N. The characteristics of interactions of pharmaceuticals and their active ingredients with lipid membranes // Biophysics. 2017. Vol. 62, Iss. 4. P. 570-579. DOI: 10.1134/S0006350917040194. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у обробці калориметричних та спектроскопічних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 19. Kutsevol N., Harahuts Yu., Chumachenko V., Budianska L.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Lisetski L.N. Impact of surface properties of branched polyacrylamides onto model lipid membranes of various compositions // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 2018. Vol. 671, Iss. 1. P. 9-16. DOI: 10.1080/15421406.2018.1542079. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 20. Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Budianska L.V., Brodskii R.Ye., Lisetski L.N. Cooperative domains in lipid membranes: size determination by calorimetry // J. Therm. Anal. Calorim. 2019. Vol. 136, Iss. 2. P. 795-801. DOI: 10.1007/s10973-018-7695-8. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 21. Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Budianska L.V., Brodskii R.Ye., Lisetski L.N. Thermodynamics and kinetics of joint action of antiviral agent tilorone and DMSO on model lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta Biomembranes. 2019. Vol. 1861, Iss. 1. P. 123-129. DOI: 10.1016/j.bbamem.2018.08.007. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у розробці математичної моделі, у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 22. **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Budianska L.V., Brodskii R.Ye., Beshpalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospholipid membranes // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 275. P. 173-177. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.11.053. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у розробці математичної моделі, у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

23. **Vashchenko O.**, Pashynska V., Kosevich M., Panikarska V., Lisetski L. Lyotropic mesophase of hydrated phospholipids as model medium for studies of activity of antimicrobial agents //: 23rd International Liquid Crystal Conference, 11-16 July, 2010. : abstract book. Krakow, 2010. P. 847. *(Особистий внесок здобувача: отримання та обробка калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*

24. Єрмак Ю.Л., **Ващенко О.В.**, Лисецький Л.М. Вплив одновалентних іонів на фазовий стан модельних фосфоліпідних мембран // V з'їзд Українського біофізичного товариства, 22-25 черв. 2011 р. : тези доповідей. Луцьк, 2011. С. 12. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
25. **Ващенко О.В.**, Касян Н.А., Завора Л.Н., Пашинская В.А., Косевич М.В., Лисецкий Л.Н. Изучение мембранотропного действия фармпрепаратов и биологически важных молекул методом калориметрии // Физические методы исследования в медицине : международ. науч. конф., 27-29 окт. 2011 г. : сборник докладов. Тбилиси, 2011. С. 277-282. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
26. Єрмак Ю.Л., **Ващенко О.В.** Влияние нитрата серебра на мультибислой насыщенных фосфолипидов // Шевченковская весна 2012: биологические науки : X Международ. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых 19-23 марта 2012 г. : сборник докладов. Киев, 2012. С. 109. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
27. Iermak Yu.L., **Vashchenko O.V.** Influence of alkali metal halides on thermodynamic properties of model phospholipid membranes // Low Temperature Physics : III Intern. conf. of young scientists, 14-18 May, 2012. : conference programme and abstract book. Kharkov, 2012. P. 159. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
28. Pashynska V., Kosevich M., **Vashchenko O.**, Lisetski L., Gomory A., Vekey K. Mass spectrometry as an efficient method of revealing the membranotropic antimicrobial drugs activity modulation by organic acids // 30th Informal Meeting on Mass Spectrometry, 29 April - 3 May, 2012 : book of abstracts. Olomouc, 2012. P. 118. *(Особистий внесок здобувача: отримання та обробка калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
29. Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Krasnikova A.O., Pashynska V.A., Kosevich M.V., Lisetski L.N. Lipid multibilayers as a model medium for biomedical applications // Electronic processes in organic materials : 9th Internat. Conf., 20-24 May, 2013. : conference abstracts. Lviv, 2012. P. 49. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
30. Pashynska V.A., **Vashchenko O.V.**, Chagovets V.V., Kasian N.A., Krasnikova A.O., Kosevich M.V., Lisetski L.N. The harnessing of phospholipid biomimetic structures in investigations of membranotropic drugs effect // 3rd European Lipidomic Meeting, 2-4 July, 2013. : book of abstracts. Pardubice, 2013. P. 19. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*

31. Krasnikova A.O., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Zinchenko A.V., Lisetski L.N. Phase state of multibilayer lipid membranes in water/glycerol mixtures // Нанобиофизика: фундаментальные и прикладные аспекты : 3-я международ. конф., 7-10 окт. 2013 г. : сборник тезисов. Харьков, 2013. С. 99. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
32. Krasnikova A.O., Ratushnaya M.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Zinchenko A.V., Lisetski L.N. Modification of DPPC membrane phase behavior by oxyethylated derivatives of glycerol // XIV Kharkiv Young Scientists Conference on Radiophysics, Electronics, Photonics and Biophysics, 14-17 Oct., 2014 : conference proceedings. Kharkov, 2014. BIO-5. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
33. **Ващенко О.В.**, Краснікова А.О., Касян Н.А., Лисецький Л.Н., Максименко Г.О. Мембранотропна дія та гідратаційні властивості сукцинілхоліну // VI з'їзд Українського біофізичного товариства, 27-29 травня 2015 р. : матеріали з'їзду. Луцьк – Світязь, 2015. С. 41. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці даних термогравіметрії та ізотермічної сорбції, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
34. **Vashchenko O.V.**, Krasnikova A.O., Kasian N.A., Lisetski L.N., Sofronov D.S., Budyanskaya L.V. Hydration of model membrane surface in the presence of drugs by the evidence of FTIR-spectroscopy // Spectroscopy of molecules and crystals : XXII Galina Puchkovska International School-Seminar, 27 Sept. - 4 Oct., 2015. : book of abstracts. Chynadiyovo, 2015. P. 50. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці спектроскопічних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
35. Bulavin L.A., Soloviov D.V., Kuklin A.I., Lisetski L.N., Kasian N.A., Krasnikova A.O., **Vashchenko O.V.**, Zinchenko A.V. DPPC multilamellar structures with membranotropic agents of different chemical nature: SAXS and differential scanning calorimetry studies // Nanobiophysics: fundamental and applied aspects : 4th Intern. conf., 1-4 Oct., 2015. : book of abstracts. Kyiv, 2015. P. 36. *(Особистий внесок здобувача: участь у обробці та аналізі калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
36. **Vashchenko O.V.**, Sadchenko A.O., Budianska L.V. Hydration properties of drug compounds by the evidence of thermogravimetry analysis // Physics of liquid matter: Modern problems : 7th Intern. conf., 27-30 May, 2016. : abstracts. Kyiv, 2016. P. 40. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці даних термогравіметрії та ізотермічної сорбції, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
37. Семененко О.М., Ліпсон В.В., Бабак М.Л., Гелла І.М., Будянська Л.В., Касян Н.О., Садченко А.О., **Ващенко О.В.** Нові похідні бетуліну з потенційною протипухлинною активністю // XXIV Українська конференція з органічної

- хімії, 19-23 верес. 2016 р. : матеріали. Полтава, 2016. С. 285. *(Особистий внесок здобувача: участь у отриманні та обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
38. Budianska L.V., Kasian N.A., **Vashchenko O.V.**, Sofronov D.S., Lisetski L.N. Mutual effect of amixin and DMSO in model lipid membrane by the evidence of DSC and FTIR // Spectroscopy of molecules and crystals : XXIII Galyna Puchkovska intern. school-seminar, 20-25 Sept., 2017. : book of abstracts. Kyiv, 2017. P. 113. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних та спектроскопічних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 39. Budianska L.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Lisetski L.N. Distinction in individual and joint membranotropic action of calcium and magnesium stearates // Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects : 5th Intern. conf., 2-5 Oct., 2017. : book of abstracts. Kharkov, 2017. P. 42. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 40. Budianska L.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Harahuts Yu. I., Lisetski L.N., Kutsevol N.V. Impact of surface properties of branched polyacrylamides onto model lipid membranes of various compositions // Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials : XI Intern. conf., 21 - 25 May, 2018. : book of abstracts. Ivano-Frankivsk, 2018. P. 33. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, у обробці калориметричних даних, у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 41. **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Budianska L.V., Pashynska V.A., M.V. Kosevich, Gomory A., Sofronov D.S., Lisetski L.N. Calcium and magnesium stearates vs. stearic acid: details of complexes formation and membranotropic action // Physics of Liquid Matter: Modern Problems : 8th Intern. conf., May 18-22, 2018. : abstracts. Kyiv, 2018. P. 18. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних та спектроскопічних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 42. Budianska L.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A. Comparative membranotropic action of dopants in model lipid membranes of various compositions // Low Temperature Physics : IX Intern. conf. for professionals and young scientists, 4-8 June, 2018. : conference programme and book of abstracts. Kharkov, 2018. P. 142. *(Особистий внесок здобувача: постановка задачі, підбір та аналіз літератури, участь у отриманні та обробці калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
 43. Будянская Л.В., **Ващенко О.В.**, Берест В.П., Софронов Д.С. Грамицидин S в многокомпонентных липидных мембранах: роль липидного состава // XIII Міжнародна конференція по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці, 18-20 жовт. 2018 р. : матеріали. Київ, 2018. С. 10. *(Особистий внесок здобувача: участь у обробці та аналізі даних)*

калориметрії та ІЧ-спектроскопії, робота з літературними джерелами, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)

44. Budianska L.V., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Semenenko A.N., Lipson V.V., Zozulya S.A., Zhuravel E.V., Yurchenko V.V., Lisetski L.N. Membranotropic properties of different methotrexate – betulonic acid conjugates // Тематичний VII з'їзд Українського біофізичного товариства, 29-31 жовтня 2018 р. : матеріали. Київ, 2018. С. 42. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, у обробці та аналізі результатів, робота з літературними джерелами, участь у підготуванні публікації)*

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації

45. **Ващенко О.В.**, Пашинская В.А., Косевич М.В., Паникарская В.Д., Лисецкий Л.Н. Модуляция воздействия четвертичных аммониевых соединений на модельные биомембраны посредством комплексообразования с органическим анионом // Biopolym. Cell. 2010. Vol. 26, № 6. P. 472–477. *(Особистий внесок здобувача: отримання та обробка калориметричних даних, участь у аналізі результатів та підготуванні публікації)*
46. **Ващенко О.В.**, Касян Н.А., Пашинская В. А., Косевич М.В., Ермак Ю.Л., Лисецкий Л.Н. Липидные мембраны как модельная среда для решения прикладных биомедицинских задач / Функциональные материалы для сцинтилляционной техники и биомедицины. Харьков, 2012. 428 с. (с. 324-354). *(Особистий внесок здобувача: узагальнення отриманих результатів, участь у підготуванні публікації)*
47. Lisetski L.N., **Vashchenko O.V.**, Kasian N.A., Krasnikova A.O. Liquid crystal ordering and nanostructuring in model lipid membranes / Nanobiophysics: Fundamentals and Applications. Ed. V.A. Karachevtsev. Singapore, 2016. Chapt. 6. P. 163-192. ISBN 978-981-4613-96-5 (Hardcover). ISBN 978-981-4613-97-2 (eBook). Scopus. *(Особистий внесок здобувача: узагальнення отриманих результатів, участь у підготуванні публікації)*

АНОТАЦІЯ

Ващенко О.В. Індивідуальні та спільні взаємодії компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідними мембранами. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки). – Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України; Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, Харків, 2020.

Дисертацію присвячено виявленню механізмів та ключових молекулярних параметрів взаємодій компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідними мембранами на основі бішарів гідратованих фосфоліпідів. Мембранотропну дію компонентів лікарських препаратів встановлювали шляхом вивчення змін термодинамічних, спектроскопічних та структурних параметрів

модельних ліпідних мембран. Встановлено, що ключовим механізмом мембранотропної дії при взаємодії речовин з поверхнею мембрани є зміна її гідратації, а при взаємодії з гідрофобною внутрішньою частиною – зміна вільного об'єму мембрани, причому обидва механізми можуть приводити до структурних ефектів. Для лікарських речовин різних фармакологічних груп (антибіотики, речовини протимікробної, противірусної, протизапальної дії) встановлений зв'язок їх мембранотропної дії з долею полярної поверхні молекули. Показано, що мембранотропна дія низки компонентів лікарських препаратів є суперпозицією ефектів їх окремих структурних складових. Проведено систематизацію ефектів спільної дії компонентів лікарських препаратів в мембрані. Вперше встановлено, що неадитивність спільної мембранотропної дії противірусної речовини тилорону та протизапальної речовини диметилсульфоксиду за порядком їх внесення до мембрани обумовлена суперпозицією механізмів сорбції та дифузії. Встановлено, що спільна дія лікарських речовин впливає на морфологію та гемоліз еритроцитів. Вперше запропоновано феноменологічну математичну модель, яка описує низку механізмів індивідуальних та спільних взаємодій речовин з ліпідною мембраною. Отримані результати сприяють поглибленню розуміння функціонування ліпідних мембран та їх взаємодій з речовинами різної хімічної будови, а також можуть бути застосовані на різних стадіях розробки лікарських препаратів.

Ключові слова: модельні ліпідні мембрани, фосфоліпіди, лікарські речовини, спільна дія, фазові переходи, диференціальна скануюча калориметрія.

АННОТАЦИЯ

Ващенко О.В. **Индивидуальные и совместные взаимодействия компонентов лекарственных препаратов с модельными липидными мембранами.** – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.00.02 – биофизика (физико-математические науки). – Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины; Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина МОН Украины, Харьков, 2020.

Диссертация посвящена выявлению механизмов и ключевых молекулярных параметров взаимодействий компонентов лекарственных препаратов с модельными липидными мембранами на основе бислоев гидратированных фосфолипидов. Мембранотропное действие лекарственных веществ и других компонентов лекарственных препаратов определяли путём изучения изменений термодинамических, спектроскопических и структурных параметров модельных липидных мембран. Установлено, что ключевым механизмом при взаимодействии молекул лекарственных веществ с полярной поверхностью мембраны является изменение её гидратации, а при взаимодействии с неполярной внутренней частью – изменение свободного объёма мембраны, причём оба механизма могут приводить к одинаковым структурным эффектам. Для лекарственных веществ различных

фармакологических групп (антибиотики, вещества противомикробного, противовирусного, противовоспалительного действия) установлена связь их мембранотропного действия с долей полярной поверхности молекулы. Показано, что мембранотропное действие ряда компонентов лекарственных препаратов является суперпозицией эффектов их отдельных структурных составляющих. Проведена систематизация эффектов совместного действия компонентов лекарственных препаратов в мембране. Впервые показано, что неаддитивность совместного действия противовирусного вещества тилорона и противовоспалительного вещества диметилсульфоксида по порядку их введения в мембрану в кинетическом режиме обусловлена суперпозицией механизмов сорбции и диффузии. Установлено, что совместное действие лекарственных веществ отражается на морфологии и гемолизе эритроцитов. Впервые предложена феноменологическая математическая модель, которая описывает ряд механизмов индивидуальных и совместных взаимодействий веществ с липидной мембраной. Полученные данные способствуют углублению понимания функционирования липидных мембран и их взаимодействий с веществами различного химического строения, а также могут применяться на различных стадиях разработки лекарственных препаратов.

Ключевые слова: модельные липидные мембраны, фосфолипиды, лекарственные вещества, совместное действие, фазовые переходы, дифференциальная сканирующая калориметрия.

ABSTRACT

Vashchenko O.V. **Individual and joint interactions of components of medicinal products with model lipid membranes.** – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for the scientific degree of doctor of sciences in physics and mathematics, specialty 03.00.02 – Biophysics (Physics and Mathematics). – Institute for Scintillation Materials NAS of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis is devoted to revealing of mechanisms and significant molecular parameters of interactions between components of medicinal products and model lipid membranes based on hydrated phospholipid bilayers. Membrantropic action of components of medicinal products, such as medicinal substances and excipients, was determined by means of studying the changes of thermodynamic, spectroscopic and structural parameters of the membranes. It was established that the key mechanisms of the membrantropic action are changes of the membrane hydration, for the substances associating with polar surface of the membrane, and changes of membrane free volume, for those incorporating into hydrophobic interior of the membrane. The both mechanisms may result in identical structural effects. For the first time, a linear sign-changed relation was established between shifts of the melting temperature of the model membrane of L- α -dimyristoylphosphatidylcholine and the ionic radius of cation as part of chlorides; the absolute value of the effect grows in the order of the ions in the Hoffmeister series. For the first time, Freundlich adsorption model was proposed for parametrization of membrantropic action of water-soluble drugs.

The relationship between membranotropic action and the fraction of polar molecular surface was established for a number of pharmaceutical substances (antibiotics, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory ones). For the first time, non-monotonous dependence was established between the melting temperature of the membrane L- α -dipalmitoylphosphatidylcholine and lipophilicity logP of MS of various pharmacological classes, where maximal absolute effect correspond to logP 1 to 6. It was shown that membranotropic action of certain pharmaceutical substances is a superposition of specific effects of their structural constituents (organic and non-organic ions, fatty acids, sterols). It also was shown that membranotropic action of certain pharmaceutical substances is a superposition of specific effects of their structural constituents (organic and non-organic ions, fatty acids, sterols).

A new methodology was proposed and actualize allowing one to characterize both qualitative and quantitative joint membranotropic effects by means of differential scanning calorimetry. For the first time, distinctions between membranotropic effect of pharmacology analogues for antibiotic azithromycin and antibacterial MS metronidazole was established by means of differential scanning calorimetry. It was elucidated that for a number of MP examined, namely azithromycin, metronidazole, tilorone, aspirin, fenpropion and phenibut, determinative contribution to membranotropic action is made by MS, whereas the contribution of excipients is modulating.

A number of joint effects were explored in various types of multi-compound systems, namely, two PSs, two or more MP components, MS and various lipid components, MS and ions, sets of ions of various types, as well as conjunction of functional moieties of MS molecules. Among the manifestation of joint effects of MP component there were changes in membrane permeability (for tilorone in the presence of dimethylsulfoxide), lipid re-arrangement between different lipid phases (for phenibut in the presence of excipients), changes in MS distribution into the membrane (for gramicidin S in the presence of cholesterol), qualitative change of membrane response (membrane tightening in the presence of cerium chloride and membrane disruption in the presence of cerium nitrate).

A systematization of joint membranotropic effects has been made. Joint action of medicinal substances was shown to reflect in changes of erythrocytes morphology and hemolysis. For the first time, it was approved that non-additivity of joint action of antiviral substance tilorone and anti-inflammatory substance dimethylsulfoxide in the order of their administration into the membrane in kinetic regime results from the superposition of sorption and diffusion processes. A phenomenological mathematical model is proposed which describes a number of mechanisms of individual and joint interactions of substances with lipid membranes. The results obtained contribute to deeper understanding of membrane functioning and interactions with substances of various chemical structure and also could be used at various stages of development of pharmaceutical products.

Keywords: model lipid membranes, phospholipids, medicinal substances, joint action, phase transitions, differential scanning calorimetry.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- ДМСО – диметилсульфоксид.
ДМФХ – L- α -диміристоїлфосфатидилхолін.
ДПФГ – L- α -дипальмітоїлфосфатидилгліцерін.
ДПФЕ – L- α -дипальмітоїлфосфатидилетаноламін.
ДПФХ – L- α -дипальмітоїлфосфатидилхолін.
ДР – допоміжні речовини.
ДСК – диференціальна скануюча калориметрія.
ЛП – лікарський препарат.
ЛР – лікарська речовина.
МД – мембранотропна дія.
МКРР – малокутове рентгенівське розсіювання.
Хол – холестерин.
Цб – цереброзиди.
 a_{mol} – коефіцієнт мольної мембранотропної активності (формула (1)).
 a_{wt} – коефіцієнт масової мембранотропної (формула (1)).
 c – концентрація.
CaSt – кальцію стеарат.
CN – розмір кооперативного домену модельних ліпідних мембран (формула (7)).
CyS – циклосерин.
GS – граміцидин S.
 J_{AB} – параметр спільної дії (формула (6)).
 k_a – коефіцієнт молекулярної анізотропії (формула (2)).
 $\log P$ – коефіцієнт ліпофільності.
 L_α – високотемпературна рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.
 L_β – низькотемпературна рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.
MgSt – магнію стеарат.
 P_{eff} – ефективний латеральний тиск, що утворюється молекулою рідини у ліпідному шарі.
 r – коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона.
 R – коефіцієнт детермінації.
 r_{cation} – радіус катіону.
StA – стеаринова кислота.
 T_m – температура основного фазового переходу модельних ліпідних мембран.
 T_m^* – температура максимуму додаткового піку фазового переходу модельних ліпідних мембран.
 T_p – температура передпереходу модельних ліпідних мембран.
 x – швидкість термічного сканування.
 σ_q – поверхнева щільність заряду.
 σ_{polar} – доля полярної поверхні молекули (формула (2)).
 τ – час.