ІНСТИТУТ СЦИНТИЛЯЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Ващенко Ольга Валеріївна

УДК 577.352:538.91: 615.31

ДИСЕРТАЦІЯ

«ІНДИВІДУАЛЬНІ ТА СПІЛЬНІ ВЗАЄМОДІЇ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ З МОДЕЛЬНИМИ ЛІПІДНИМИ МЕМБРАНАМИ»

03.00.02 – біофізика
(фізико-математичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня
доктора фізико-математичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____О.В. Ващенко

Науковий консультант: Лисецький Лонгін Миколайович,
доктор фізико-математичних наук, професор

Харків – 2019

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, 2019.

Дисертацію присвячено виявленню механізмів та ключових молекулярних параметрів взаємодій компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідними мембранами на основі бішарів гідратованих фосфоліпідів. Індивідуальні та спільні взаємодії компонентів лікарських препаратів (ЛП), у тому числі лікарських речовин (ЛР) та допоміжних речовин, встановлювали шляхом вивчення змін термодинамічних, спектроскопічних та структурних параметрів модельних мембран при внесенні досліджуваних речовин. У якості компонентів ЛП досліджено близько 40 сполук різних класів (речовини антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотики тощо), а також допоміжні речовини лікарських препаратів (полімери, сурфактанти, вуглеводи) та біологічно значущі іони (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-, NO_3^- та ін.).

Метою роботи є встановлення механізмів та визначальних молекулярних параметрів індивідуальних та спільних взаємодій компонентів ЛП 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 неполярній внутрішній частині бішару (стеаринової та лауринової жирних кислот, холестерину, 7-дегідрохолестерину та холекальциферолу).

2. Висвітлити внесок в мембранотропну дію ЛР 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 ЛР 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 характеризації ефектів спільної дії декількох речовин на ліпідні мембрани.

6. Висвітлили внесок у мембранотропну дію лікарських та допоміжних речовин у складі ЛП 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 диметисульфоксиду 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.

За результатами дослідження встановлено, що механізми та молекулярні

параметри, ключові для мембранотропної дії компонентів ЛП, визначаються, перш за все, локалізацією молекули у ліпідному бішарі. 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 ущільнення або розрідження мембрани, а також до утворення нової фази. Для речовин, молекули яких локалізуються на полярній поверхні ліпідного бішару, суттєва роль у взаємодії з мембраною належить поверхневій щільності заряду. Вперше встановлено лінійну знакозмінну залежність зсуву температур фазових переходів мембрани L-α-диміристоїлфосфатидилхоліну від іонного радіусу катіонів лужних металів, у якій абсолютна величина зсуву зростає у порядку розташування іонів за шкалою Гофмейстера. Вперше для параметризації мембранотропної дії водорозчинних речовин запропоновано використання моделі адсорбції Фрейндліха.

Для речовин, які взаємодіють переважно з гідрофобною внутрішньою частиною ліпідного бішару, встановлено зв'язок їх мембранотропної дії з такими молекулярними параметрами, як анізометрія та частка полярної поверхні молекули. Вперше для низки ЛР різних фармакологічних груп встановлено немонотонний характер залежності температури плавлення модельної мембрани L-α-дипальмітоїлфосфатидилхоліну від коефіцієнту ліпофільності *logP* речовини, у якій максимальний ефект відповідає значенням *logP* від 1 до 6. Для низки речовин (амонієвих сполук, стеаратів кальцію та магнію, кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти) показано, що їх мембранотропна дія є суперпозицією дії окремих структурних складових (іонів, стеринів, жирних кислот).

Запропоновано та реалізовано нову методологію якісної та кількісної характеризації ефектів спільної мембранотропної дії методом диференціальної скануючої калориметрії. Вперше методом диференціальної скануючої калориметрії встановлені відмінності мембранотропної дії лікарських препаратів-аналогів для антибіотика азитроміцину та антибактеріальної ЛР метроні-

дазолу. Виявлено, що визначальний внесок у мембранотропну дію ЛП азитроміцину, метронідазолу, тилорону, аспірину, фенспіриду та фенібуту належить ЛР, тоді як внесок допоміжних речовин є модулювальним.

Розглянуті ефекти спільної дії речовин у різних типах багатокомпонентних систем: дві ЛР, два або декілька компонентів ЛП, ЛР та ліпідні компоненти мембрани, ЛР та іони, іони різних видів, а також сполучення функціональних фрагментів у молекулі ЛР. Серед проявів спільної дії компонентів ЛП на рівні мембран спостерігалися наступні: зміна проникності мембрани (для тилорону у присутності диметилсульфоксиду), перерозподіл ліпідів між фазами (для фенібуту у присутності допоміжних речовин фармпрепарату), зміна розподілення ЛР в мембрану (для граміцидину S у присутності холестерину), якісні зміни мембран (ущільнення мембрани у присутності хлориду церію – та руйнування мембрани у присутності нітрату церію).

Встановлено, що спільна дія лікарських речовин впливає на морфологію та гемоліз еритроцитів. Так, у присутності аспірину спостерігалося суттєве уповільнення декаметоксин-індукованого гемолізу еритроцитів та якісні зміни кінетичного профілю швидкості гемолізу. У присутності тилорону спостерігалося стримування ехіноцитозу еритроцитів, спричиненого внесенням диметилсульфоксиду.

Проведено систематизацію ефектів спільної дії компонентів лікарських препаратів в мембрані. Визначені механізми спільної дії речовин в ліпідній мембрані: конкуренція за зв'язування з поверхнею мембрани; конкуренція за вільний об'єм мембрани; продукування вільного об'єму; мембрано-опосередкована гідрофільно-гідрофобна взаємодія.

Вперше встановлено, що неадитивність спільної мембранотропної дії противірусної речовини тилорону та протизапальної речовини диметилсульфоксиду за порядком їх внесення до мембрани 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 диметилсуль-

фоксиду за механізмом виникнення неоднорідності пакування ліпідів.

Запропоновано феноменологічну математичну модель, на основі рівняння Клапейрона-Клаузіуса для двовимірного випадку, яка висвітлює зв'язок між зсувом температур фазових переходів ліпідної мембрани та виникненням у ній додаткового латерального тиску, позитивного або негативного. Модель описує низку спостережуваних механізмів індивідуальної та спільної взаємодії речовин з ліпідною мембраною, зокрема зміни проникності мембрани для однієї лікарської речовини, викликані виникненням неоднорідності мембрани внаслідок зв'язування з нею іншої речовини навіть при збереженні площі мембрани постійною.

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.

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, 2019.

The thesis is devoted to revealing mechanisms and significant molecular parameters of interactions between components of medcinal products (MP) and model lipid membranes based on hydrated phospholipid bilayers. Individual and joint interactions of components of medicinal products, such as medicinal substances (MS) and excipients, were studied by means of studying the changes of thermodynamic, spectroscopic or structural parameters of the membranes. Among MP components examined, there are about 40 compounds of various groups (antibiotics, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory ones), as well as drug excipients (polymers, surfactants, carbohydrates) and biologically relevant ions (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-, NO_3^-, etc.).

The achieved goal of the work was revealing the key mechanisms and molecular parameters of individual and joint interactions between MP components and model lipid membranes based on hydrated phospholipids. In order to achieve the goal, the following tasks were solved.

1. Revealing some molecular parameters which specify interactions between the membrane and the species adsorbed on the polar bilayer surface (halides and nitrates of alkali, alkaline-earth and transition metals, ammonium compounds), as well as those incorporated into the hydrophobic interior of the bilayer (stearic and lauric fatty acids, cholesterol, 7-dehydrocholesterol and cholecalciferol).

2. Elucidation the contributions of certain structural constituents of MS, both polar (organic and non-organic ions) and non-polar (fatty acids, sterols), to membranotropic action of a given MS.

3. Revealing the key molecular parameters which specify individual membranotropic action of MS of various groups (antibiotics, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory ones).

4. Ascertainment of mechanisms of interactions between MP components separately with polar or non-polar parts of lipid bilayer.

5. Suggestion of a methodology of qualitative and quantitative characterization of joint effects of several substances on lipid membranes.

6. Elucidation of contributions of MS and of excipients contained in MP azithromycin, metronidazole, tilorone, aspirin, fenspirid and phenibut.

7. Elucidation of mechanism of joint memranotroipic action of MP components.

8. Ascertainment of mechanisms of water-soluble MS tilorone and dimethylsulfoxide in kinetic regime.

9. Analysis and summarizing of the observed joint effects of MP components and their manifestations in specific response of lipid membranes in various types of multi-compound systems, namely, ones containing several types of ions, two or more MP compounds, various lipid components.

The object of the study was mechanisms and regularities of individual and joint interactions of MP and their components with model lipid membranes based on bilayers of hydrated phospholipids.

The subject of the study was thermodynamic, spectroscopic and structural parameters of model lipid membranes containing MP and their components.

Basing on the research finding, it was grounded that the key mechanisms and molecular parameters of interactions between MP components and model lipid membranes are primary specified by localization of the species in lipid bilayer. It was established that the key mechanisms of membranotropic action are changes of the membrane hydration, for the substances associated with polar surface of the membrane, and changes of membrane free volume, for those incorporating into the hydrophobic interior of the membrane. The both mechanisms may lead to identical structural effects, namely, to membrane tightening, to membrane fluidization as

well as to a new phase formation. For the species localizing on the polar bilayer surface, great significance of surface charge density was shown. For the first time, a linear sign-changed relation was established between the shifts of the melting temperature of the model L-α-dimyristoylphosphatidylcholine membrane and the ionic radius of alkali metal cations as parts of chlorides; the absolute value of the effect growths in the order of the ions in the Hoffmeister series. For the first time, Freundlich adsorption model was proposed for parametrization of membranotropic 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 corresponds 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).

A new methodology was proposed and actualized which allows one to characterize both qualitative and quantative 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 differental scanning calorimetry. It was elucidated that for a number of MP examined, namely, azithromycin, metronidazole, tilorone, aspirin, fenspirid 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 in 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 redistribution between different lipid phases (for phenibut in the presence of excipients), changes in MS distribution into the membrane (for gramcidin S in the presence of cholesterol), qualitative change of membrane response (membrane tightening in the presence of cerium chloride *vs.* membrane disruption in the presence of cerium nitrate).

Joint action of pharmaceutical substances was shown to reflect in changes of erythrocytes morphology and haemolysis. In particular, aspirin introduction caused deceleration of decamethoxin-induced haemolysis as well as qualitative changes in the kinetic profile of the rate of the haemolysis. In the presence of tilorone, inhibition of echinocytosis of erythrocytes was observed which resulted from their interactions with dimethylsulfoxide.

A systematization of joint membranotropic effects has been made. A number of mechanisms of joint actions of substances in lipid membrane was ascertained, namely, competition for binding with the bilayer surface, competition for binding with the bilayer interior, free volume production and membrane-mediated hydrophilic-hydrophobic interactions.

For the first time, it was approved that non-additivity of joint action of antiviral substance tilorone and anti-inflammatory substance dimethylsulfoxide by order of their administration into the membrane in kinetic regime results from the superposition of two mechanisms, namely, deceleration of dimethylsulfoxide sorption on the membrane resulted from tilorone advantage in competitive sorption and acceleration of trans-membrnane diffusion of tilorone by the mechanism of inhomogenuity generation caused by dimethylsulfoxide.

A phenomenological mathematical model is proposed on the basis of Klapeyron-Clausiuss equation for two-dimensional case, which elucidates relations between shifts of the melting temperature of the membrane and appearance of additive lateral pressure in membrane, positive or negative. The model describes a number of mechanisms of individual and joint interactions of substances with lipid membranes, in particular, changes in membrane permeability for a given MS

which results from membrane inhomogenuity caused by another one.

The data 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 medicinal products.

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

Список публікацій здобувача 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., Titar 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 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-Mugkhrabi 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., Bespalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospolipid 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. Ермак Ю.Л., **Ващенко О.В.** Влияние нитрата серебра на мультибислои 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 Iu.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 en 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 Meeteing, 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 studyies // 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 analisys // 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, біониці 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)*

ЗМІСТ

Список скорочень, термінів та умовних позначень 7
ВСТУП 10
Розділ 1. МОДЕЛЬНІ ЛІПІДНІ МЕМБРАНИ ТА ЇХ ВЗАЄМОДІЯ З КОМПОНЕНТАМИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН 18
1.1. Структура та основні характеристики модельних ліпідних мембран 18
1.1.1. Види та структура мембранних ліпідів 18
1.1.2. Поліморфізм та фазові переходи ліпідних структур 19
1.1.3. Структура та властивості ліпідного бішару 25
1.1.4. Ліпідна композиція бішару 33
1.1.5. Гідратаційні властивості ліпідного бішару 35
1.1.6. Вільний об'єм бішару 36
1.1.7. Роль холестерину у ліпідних мембранах 38
1.1.8. Кооперативність фазових переходів 40
1.2. Дослідження взаємодії ліпідних структур із лікарськими речовинами та іншими біологічно активними речовинами за допомогою біофізичних методів 42
1.2.1. Модельні ліпідні середовища для вивчення взаємодій лікарських речовин з ліпідною компонентою біомембран 43
1.2.2. Методи досліджень ліпідних мембран 46
1.2.3. Мембранотропна дія іонів 47
1.2.4. Індивідуальна мембранотропна дія лікарських речовин та їх компонентів 51
1.2.5. Взаємодія лікарських речовин з багатокомпонентними мембранами 57
1.2.6. Спільна взаємодія компонентів лікарських препаратів з модельними мембранами 59
1.2.7. Кінетичні дослідження мембранотропної дії лікарських речовин методом калориметрії 61

1.3. Висновки до розділу 1 63
Розділ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 65
2.1. Матеріали 65
2.1.1. Речовини, що використовувалися для створення модельних ліпідних мембран 65
2.1.2. Досліджувані компоненти лікарських речовин 65
2.1.3. Приготування модельних ліпідних мембран 66
2.1.4. Приготування препаратів еритроцитів 67
2.2. Методи дослідження 67
2.2.1. Диференціальна скануюча калориметрія 67
2.2.2. Методика вимірювання 69
2.2.3. Температура фазового переходу 70
2.2.4. Теплоємність, ентальпія та ентропія фазового переходу 71
2.2.5. Напівширина та гістерезис фазового переходу 72
2.2.6. Асиметрія піку фазового переходу 73
2.2.7. Кооперативність фазового переходу 74
2.2.8. Обробка термограм 75
2.2.9. Фур'є-ІЧ-спектроскопія 75
2.2.10. Термогравіметричний аналіз 76
2.2.11. Малокутове рентгенівське розсіювання 78
2.2.12. Оптична мікроскопія 79
2.2.13. Ізотермічна сорбція 79
2.2.14. Квантово-хімічне моделювання молекулярних комплексів компонентів лікарських препаратів 81
2.2.15. Квантово-механічні розрахунки молекулярних параметрів компонентів лікарських речовин та ліпідів 82
2.2.16. Кореляційний аналіз 83
2.3. Висновки до розділу 2 83
Розділ 3. ЕФЕКТИ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ МЕМБРАНОТРОПНОЇ ДІЇ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРТІВ 85

3.1. Взаємодія з поверхнею ліпідного бішару 85
3.1.1. Адсорбція іонів на мембранній поверхні 85
3.1.1.1. Катіони лужних металів 85
3.1.1.2. Одновалентні аніони 88
3.1.1.3. Особливості мембранотропної дії іонів цезію 93
3.1.1.4. Багатозарядні катіони 98
3.1.2. Космотропні та хаотропні речовини 102
3.2. Взаємодія з неполярною внутрішньою частиною бішару мембрани 105
3.2.1. Жирні кислоти 105
3.2.2. Стерини 108
3.3. Суперпозиція мембранотропної дії гідрофільних та гідрофобних структурних складових молекул лікарських речовин 111
3.4. Утворення нової фази 114
3.5. Висновки до розділу 3 120
Розділ 4. МОДЕЛІ Й ЗАКОНОМІРНОСТІ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ МЕМБРАНОТРОПНОЇ ДІЇ 122
4.1. Класифікація мембранотропних ефектів 122
4.2. Визначальні параметри мембранотропної дії речовин 123
4.3. Модель взаємодії космотропних та хаотропних речовин з ліпідною мембраною 130
4.4. Модель ліпід-іонної взаємодії: залежність від іонного радіусу 135
4.5. Кореляція мембранотропної дії досліджених речовин та їх властивостей *in vivo* 139
4.6. Висновки до розділу 4 140
Розділ 5. СПІЛЬНА МЕМБРАНОТРОПНА ДІЯ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ 142
5.1. Метод квазібінарних фазових діаграм 142
5.2. Спільна мембранотропна дія іонів 143

5.2.1. Суперпозиція мембранотропної дії катіонів і аніонів 143
5.2.2. Особливості мембранотропної дії іонів церію з різними аніонами 144
5.2.3. Неадитивна спільна мембранотропна дія катіонів лужних та перехідних металів 146
5.2.4. Спільна мембранотропна дія іонів срібла з білковою структурою 149
5.3. Спільна мембранотропна дія лікарських речовин із різними типами локалізації у бішарі 150
5.4. Встановлення спільної мембранотропної дії лікарських речовин із застосуванням методу квазібінарних діаграм 152
5.4.1. Спільна мембранотропна дія бісчетвертинних амонійових сполук з органічними кислотами 153
5.4.2. Спільна мембранотропна дія водорозчинних лікарських речовин тилорону та диметилсульфоксиду 163
5.5. Спільна мембранотропна дія компонентів лікарських препаратів 165
5.5.1. Спільна дія тилорону та азитроміцину з окремими допоміжними речовинами з їх лікарських препаратів 166
5.5.2. Спільна мембранотропна дія антибіотика циклосерину зі стеариновою кислотою, стеаратами магнію та кальцію 170
5.5.3. Порівняння мембранотропної дії лікарської речовини та лікарського препарату 182
5.6. Вплив лікарських речовин та лікарських препаратів на гідратацію мембран 188
5.7. Класифікація та механізми спільної мембранотропної дії 193
5.8. Висновки до розділу 5 196
Розділ 6. ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН З БАГАТОКОМПОНЕНТНИМИ МЕМБРАНАМИ 198
6.1. Характеристики багатокомпонентних мембран 198

6.2. Лауринова кислота 203
6.3. Каолін 208
6.4. Фенспірид 212
6.5. Кон'югати метотрексату та бетулонової кислоти 213
6.6. Граміцидин S 220
6.7. Декстран-поліакриламідні сополімери 234
6.8. Висновки до розділу 6 240
Розділ 7. КІНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН 242
7.1. Визначення величини кооперативного домену методом диференціальної скануючої калориметрії 242
7.2. Кінетика спільної дії тилорону та диметилсульфоксиду 251
7.3. Модель зміни проникності мембрани при спільному внесенні двох лікарських речовин 260
7.4. Висновки до розділу 7 269
ВИСНОВКИ 271
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 274
Додаток А. Список публікацій здобувача за темою дисертації 336
Додаток Б. Структура та деякі характеристики досліджуваних речовин 347
Додаток В. Ефекти спільної дії лікарських речовин у ліпідних мембранах за даними літературних джерел 361

Список скорочень, термінів та умовних позначень

АСК – ацетилсаліцилова кислота.

БЧАС – бісчетвертинні амонієві сполуки.

ДГБК – дігідроксибензойна кислота.

ДМСО – диметилсульфоксид.

ДР – допоміжні речовини.

ДМФХ – *L*-α-диміристоїлфосфатидилхолін.

ДПФГ – *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилгліцерін.

ДПФХ – *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилхолін.

ДПФЕ – *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилетаноламін.

ДСК – диференціальна скануюча калориметрія.

ІТС – ізотермічна сорбція.

ІЧ – Фур'є-інфрачервона спектроскопія.

КЛ – кардіоліпін.

ЛП – лікарський препарат.

ЛР – лікарська речовина.

МД – мембранотропна дія.

МКРР – малокутове рентгенівське розсіювання.

ОЕГ – оксиетильовані похідні гліцерину.

ТМА – тетраметиламоній хлорид.

ФГ – фосфатидилгліцерини

ФХ – фосфатидилхоліни.

ФЕ – фосфатидилетаноламіни.

Хол – холестерин.

Цб – цереброзіди.

ЯЛ – яєчний лецитин.

a_{mol} – мольна мембранотропна активність.

a_{wt} – масова мембранотропна активність.

A – площа перетину молекули у ленгмюрівському моношарі.

c – концентрація.

CaSt – кальцію стеарат.

CN – розмір кооперативного домену модельних ліпідних мембран.

CyS – циклосерин.

D – оптична густина.

d_L – період повторюваності ламелярних структур модельних ліпідних мембран.

E_{int} – енергія міжмолекуряної взаємодії у комплексах речовин.

GS – граміцидин S.

h_m, h_p – гістерезиси основного та передпереходу модельних ліпідних мембран, відповідно.

J_{AB} – параметр спільної дії.

k_a – коефіцієнт молекулярної анізометрії.

$logP$ – коефіцієнт ліпофільності.

L_α – високотемпературна рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

$L_{\beta'}$ – низькотемпературна рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

$L_{\beta I}$ – інтердигітована рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

MgSt – магнію стеарат.

M – молекулярна маса.

N_{max} – максимальна кількість адсорбованої води.

P_{eff} – ефективний латеральний тиск, що утворюється молекулою рідини у ліпідному шарі.

P_{H2O} – парціальний тиск водної пари.

$P_{\beta'}$ – складчаста рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

$q_{1/2}$ – напівширина піку МУРР

r – коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона.

R – коефіцієнт детермінації.

r_{anion} – радіус аніону.

r_{cation} – радіус катіону.

StA – стеаринова кислота.

T_m – температура основного фазового переходу модельних ліпідних мембран.

T_m^* – температура максімуму додаткового піку фазового переходу модельних ліпідних мембран.

T_p – температура передпереходу модельних ліпідних мембран.

ΔG_{hydr} – вільна енергія гідратації.

ΔH_{des} – ентальпія десорбції води.

ΔH_m, ΔH_p – ентальпія основного та передпереходу модельних ліпідних мембран, відповідно.

ΔT_m, ΔT_p – зсуви температур основного фазового переходу та передпереходу модельних ліпідних мембран, відповідно, при внесенні компонентів лікарських препаратів.

$\Delta T_{m1/2}$, $\Delta T_{p1/2}$ – напівширина піків основного та передпереходу модельних ліпідних мембран, відповідно.

x – швидкість термічного сканування.

δCH_2 – деформаційні коливання метильних груп.

$1/\lambda$ – хвильове число.

ν_{as}, ν_s – асиметричні та симетричні валентні коливання, відповідно.

$\nu C{=}O$, νCH_2, $\nu C{=}O$, $\nu P{=}O$, νOH – валентні коливання карбонільних, метильних, фосфатних та гідроксильних груп, відповідно.

σ_q – поверхнева щільність заряду.

τ – час.

ВСТУП

Обгрунтування вибору теми дослідження. 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 внутришньоклітинних 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.

Багатокомопонентний 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»), «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 граміцидину 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 характеризації ефектів спільної дії декількох речовин на ліпідні мембрани.
6) Висвітлили 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 диметисульфоксиду 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 (ДСК), (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 (ТГА) (характеристики адсорбованої та кристалізаційної води у компонентах ЛП), ізотермічна сорбція (ІТС) (параметри гігроскопічності компо-

нентів ЛП), оптична мікроскопія (морфологія 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-дипіристоїлфосфатидилхоліну 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/нм^2 для катіонів та $\sim 3 \cdot 10^{-4}$ Кл/нм^2 для аніонів.

3. Вперше для низки лікарських речовин різних фармакологічних груп (антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотиків) встановлено немонотонний характер залежності температури плавлення модельної мембрани від коефіцієнту 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 уведення 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 середовищ, 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 экспериментальних 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] запропоновано 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» (Киев, 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 Meeteing (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.

РОЗДІЛ 1.
МОДЕЛЬНІ ЛІПІДНІ МЕМБРАНИ ТА ЇХ ВЗАЄМОДІЯ З КОМПОНЕНТАМИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

1.1. Структура та основні характеристики модельних ліпідних мембран

Ліпідний бішар як структурно-функціональна основа клітинних мембран є об'єктом біофізичних досліджень упродовж декількох останніх десятиріч, протягом яких відкривається все більше аспектів його ролі у життєдіяльності клітини. У сучасній літературі поширюється уявлення, що належне функціонування біомембран великою мірою визначається їх ліпідним складом, а також структурними й термодинамічними властивостями ліпідного бішару [48]. Так, саме із фазовим станом ліпідного бішару (в інших термінах – «мікров'язкістю» або «текучістю» [49]) зв'язують функціонування мембранних білків [50-52], процеси сну, екзоцитозу та підтримання певної температури тіла тварин [53] та ін.

1.1.1. Види та структура мембранних ліпідів

Ліпіди, поряд з білками та вуглеводами, є основними структурними компонентами біомембран та складають більше половини маси сухих клітин [52, 54, 55]. Вміст ліпідів по відношенню до білкових структур коливається від 25 % до 75 % за масою [54].

До складу біомембран входять ліпіди декількох основних класів: фосфоліпіди, гліколіпіди, сфінголіпіди та стероїди. Всім ліпідним молекулам притаманна амфіфільність: наявність полярної частини (або т. зв. голівки) та неполярної частини (алкільних ланцюгів або стероїдного ядра). Полярна та неполярна частини фосфоліпідів з'єднані гліцериновим остовом, причому алкільні ланцюги приєднані до нього в положенні 1 та 2, а полярна голівка – в положенні 3 (структурні формули ліпідів див. у Табл. Б1, Додаток Б).

Полярні голівки цвіттеріонних фосфоліпідів – фосфатидилхолінів (ФХ), фосфатидилетаноламінів (ФЕ) та сфінгомієлінів – є диполями й при нейтра-

льних pH в цілому електронейтральні. Голівки т. зв. кислих ліпідів – фосфатидилсеринів, фосфатидилгліцеринів (ФГ) та фосфатидилінозитів – несуть по одному, а кардіоліпінів (КЛ) – по два нескомпенсованих від'ємних заряди.

Неполярні частини фосфоліпідів утворені залишками жирних кислот та містять, як правило, 14 – 22 метиленові ланки [54]. Алкільні ланцюги ліпідів можуть бути повністю насиченими або містити від 1 до 6 подвійних зв'язків (як правило, в *цис*-конформації). Ліпіди можуть містити неоднакові алкільні ланцюги в положенні 1 та 2 гліцеринового остову, але в природних фосфоліпідах залишки ненасичених жирних кислот зазвичай займають положення 2 [54]. Для зручнішого позначення складу алкільних ланцюгів широко використовується цифрове кодування «$W_1 : Z_1 / W_2 : Z_2$», де W_1 та W_2 – кількість атомів вуглеводу ланцюгів у положеннях 1 та 2 гліцеринового остову; Z_1 та Z_2 – відповідна кількість подвійних зв'язків (тобто, для повністю насичених ланцюгів $Z_1 = Z_2 = 0$). У деяких мікроорганізмах присутні розгалужені алкільні ланцюги [56].

Стерини – поліциклічні спирти, утворені на основі вуглеводню холестану, – є розповсюдженими компонентами біомембран різних типів клітин [52]. В залежності від функцій мембрани кількість стеринів в них коливається від 2 % до 40 % відносно загальної кількості ліпідів [57]. Полярна частина стеринів утворена гідроксильною групою. До стеринових компонентів мембран належать, наприклад, холестерин (Хол), ергостерин, 7-дегідрохолстерин, які розрізняються видом замісників у різних положеннях стероїдного ядра (див. Табл. Б1 та Табл. Б2 Додатку Б).

1.1.2. Поліморфізм та фазові переходи ліпідних структур

Природні ліпіди здатні утворювати різноманітні (зазвичай замкнуті) надмолекулярні агрегати, структура яких залежить від pH, іонної сили розчину, температури, вмісту та виду розчинника тощо [56, 58-61]. Завдяки високій конформаційній рухливості форма ліпідної молекули суттєво змінюється в залежності від виду утворюваного ними надмолекулярного агрегату [60].

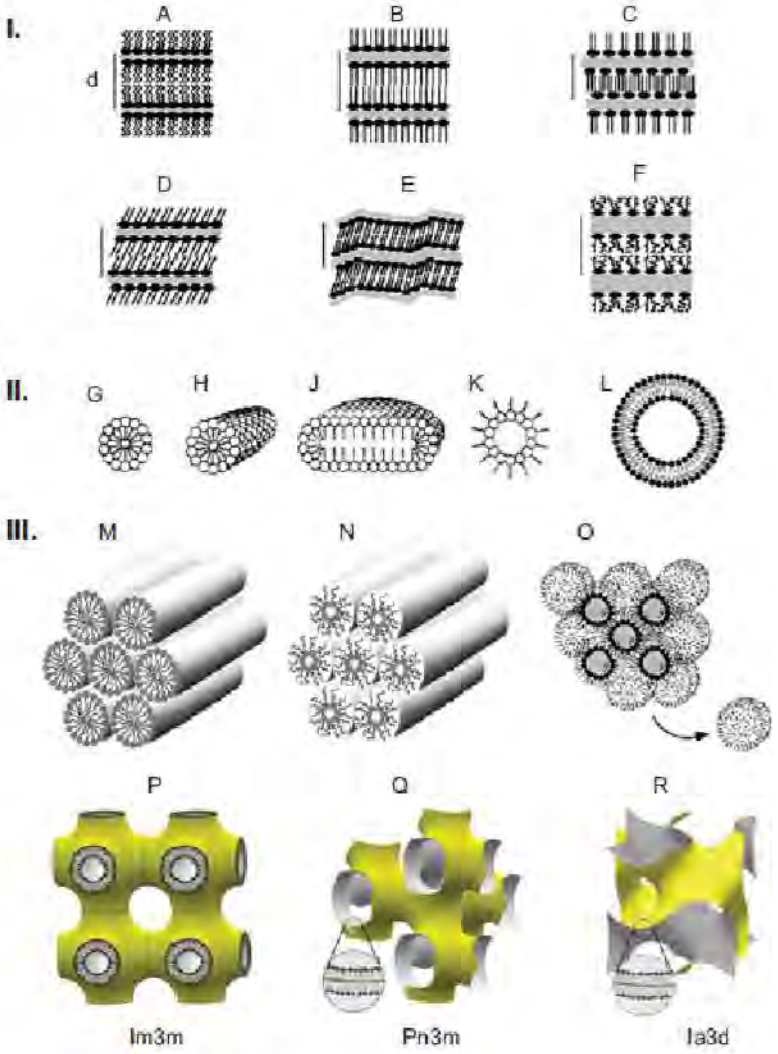


Рис. 1.1. Структури ліпідних фаз [60]. I – ламелярні фази: (A) субгелева, L_c; (B) гелева, L_β; (C) гелева інтердигітована, $L_{\beta I}$; (D) гелева за нахилом ланцюгів, $L_{\beta'}$; (E) складчаста, $P_{\beta'}$; (F) рідкокристалічна, L_α. II – міцелярні фази: (G) сферичні міцели M_I; (H) циліндричні міцели; (J) диски; (K) інвертовані міцели, M_{II}; (L) ліпосоми. III – неламелярні рідкокристалічні фази: (M) гексагональна фаза, H_I; (N) інвертована гексагональна фаза, H_{II}; (O) інвертована міцелярна кубічна фаза, Q_{II}^M; (P) бішарова кубічна (Q_{II}) фаза Im3m; (Q) бішарова кубічна фаза Pn3m; (R) бішарова кубічна фаза Ia3d.

Згідно [62], основними параметрами геометричної форми молекули ліпіду є співвідношення площ перетину її полярної та неполярної частин, які,

при завданій довжині молекули, визначають просторовий кут зрізаного конусу, у який може бути «вписана» ліпідна молекула. Цей кут є своєрідним узагальненим геометричним параметром, який описує ефективну форму молекули та безпосередньо пов'язаний з вільним об'ємом бішару (див. п. 1.1.6). Зокрема, ФХ мають форму перегорнутого зрізаного конусу (площа полярної частини більша за неполярну), Хол – форму канонічного зрізаного конусу, а ФЕ – циліндричну форму [63]. Геометрична форма ліпідних молекул має важливе значення для життєдіяльності клітини. Так, молекули ФХ як структурні елементи плазматичної мембрани сприяють збереженню її ламелярності або певного ступеню кривизни при варіаціях параметрів зовнішнього середовища (pH, іонна сила, присутність сторонніх молекул), тоді як молекули ФЕ відіграють ключову роль при утворенні неламелярних структур [58].

Конічні за формою молекули утворюють міцели, циліндричні – планарні структури, а молекули у формі зрізаного конусу – ліпосоми або циліндричні структури (з орієнтацією голівок назовні або усередину, залежно від співвідношення площ перетину її полярної та неполярної частин) [63-66].

Згідно [64],

$$\frac{v}{a} = \frac{4\pi l_c^{\,3}}{4\pi l_c^{\,2}} = \frac{1}{3} \text{ (сферичні міцели)},$$

$$\frac{1}{3} = \frac{v}{a_0 l_c} \le \frac{1}{2} \text{ (циліндричні міцели)}, \qquad (1.1)$$

$$\frac{v}{a_0 l_c} \to 1 \text{ (бішар)},$$

де l_c – довжина алкільного ланцюгу ліпіду; v – об'єм, що займають алкільні ланцюги; a_0 – площа перетину полярної частини ліпіду.

Співвідношення площ перетину гідрофільної та гідрофобної частин ліпідів зменшується в ланці фаз: ламелярна > кубічна > гексагональна [58].

Зменшення довжини алкільних ланцюгів та наявність у них подвійних зв'язків викликають зниження модулю згину бішару, яке характеризується підвищенням флуктуацій метильних ланок та корелює зі зменшенням ступеню їх впорядкованості [60] (див. Рис. 1.8, с. 30). Саме такий механізм реалізується й при підвищенні температури і є фактором збільшення кривизни циліндричних ліпідних структур у H_{II}-фазі [62].

Ліпідна фаза певної структури утворюється в результаті мінімізації вільної енергії внаслідок пакування ліпідів та встановлення певної кривизни поверхні [67]. Внесок першого фактору визначається конформацією алкільних ланцюгів ліпідів та може бути охарактеризований значенням вільного об'єму; другого – структурою та гідратацією ліпідних голівок. Наявність нескомпенсованого заряду у полярній частині кислих ліпідів (фосфатидилсеринів, ФЕ, ФГ та КЛ) ускладнює утворення ними ламелярних структур внаслідок електростатичного відштовхування – тож, такі ліпіди мають підвищену схильність до утворення гексагональних фаз [52, 54, 66]. Утворення певної фази зарядженими ліпідами суттєво залежить від властивостей середовища, зокрема pH та присутності іонів Ca^{2+} [58]. Відомо також, що ДНК, білки та деякі інші молекули здатні модифікувати поліморфні властивості ліпідів, зокрема, шляхом утворення з ними комплексів [52, 58].

Надмолекулярні агрегати ФХ характеризуються як ліотропним, так і термотропним мезоморфізмом [68, 69]. На Рис. 1.2 наведені фазові діаграми яєчного ФХ (більш уживана назва – яєчний лецитин, ЯЛ). Як можна бачити, при повній гідратації утворюється стабільна ламелярна L_α-фаза. Ця фаза відповідає вмісту води бліизько 50 %, підвивищення якого приводить до виділення фракції вільної води, без подальших змін параметрів ліпідної структури. Численні експерименти свідчать, що саме L_α-фаза відповідає термодинамічному стану ліпідів в клітинних мембранах [52]. Важливо, що у L_α-фазі зберігаються деякі ознаки рідкокристалічного впорядкування (зокрема, переважна орієнтація молекул), але відсутня дальня кореляція між рухливістю алкільних ланцюгів [60].

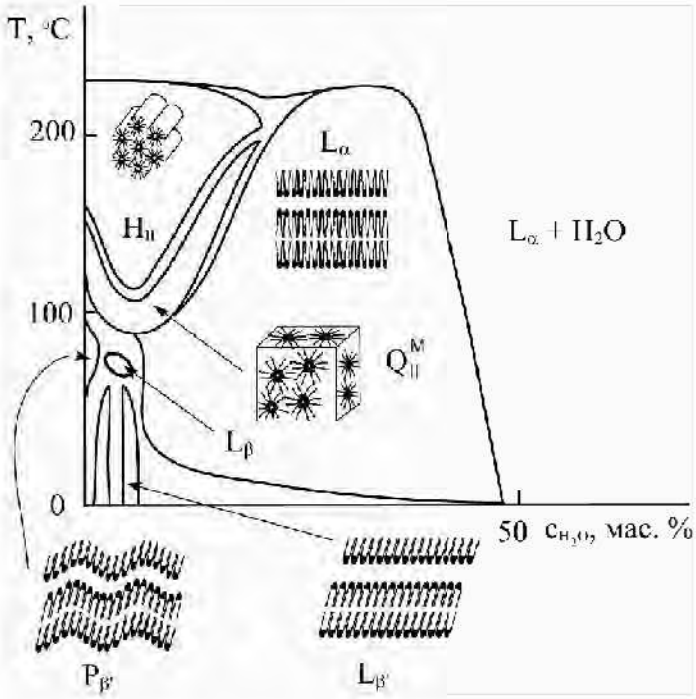


Рис. 1.2. Фазова діаграма системи ЯЛ – вода [68] (умовні позначення ліпідних структур відповідають таким на Рис. 1.1).

У мембранах повністю гідратованих синтетичних ФХ та ФЕ при постійному вмісті води та підвищенні температури спостерігаються фазові переходи $L_c \rightarrow L_{\beta'}$ (L_β) $\rightarrow P_{\beta'}$ (P_β) $\rightarrow L_\alpha \rightarrow H_{II}$ [59, 70]. Індекс «′» позначає, що алкільні ланцюги розташовані не вздовж нормалі бішару, а під певним кутом до неї – заради компенсації площ перетину гідрофобної та гідрофільної частин ліпідної молекули, що забезпечує планарність ліпідного агрегату [52, 53].

На Рис. 1.3 наведені переходи $L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'} \leftrightarrow L_\alpha$, які відбуваються у мембрані L-α-дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ, або 16:0/16:0 ФХ) у фізіологічній області температур. Перехід $P_{\beta'} \leftrightarrow L_\alpha$ – основний перехід, або плавлення мембрани – спостерігається у мембранах ДПФХ при $T_m = 41{,}3 \pm 1{,}8$ °C [70]. Цей перехід має ознаки як першого роду (гістерезис, ентальпія), так і дру́гого (флуктуації об'єму та площі поблизу точки фазового переходу), тому його іноді розглядають як псевдокритичне явище [53]. При вказаному переході змінюється орієнтація та впорядкованість алкільних ланцюгів, а також

впорядкованість голівок у латеральному напрямку [52]. Ентальпія основного переходу корелює з ентальпією плавлення вуглеводневих ланцюгів [52, 71].

Передперехід $L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'}$, або передперехід, спостерігається у мембранах ДПФХ при $T_p = 34{,}4 \pm 2{,}5$ °C. Складчаста $P_{\beta'}$-фаза утворюється внаслідок підвищення рухливості та, відповідно, гідратації ліпідних голівок при збереженні упаковки хвостів [52, 72]. При цьому молекули ліпідів зсуваються від рівня поверхні бішару на 2,5 ÷ 4 Å [73], утворюючи хвилеподібну періодичну структуру (див. Рис. 1.3, а) з підвищеним, у порівнянні з сусідніми фазами, періодом повторюваності ламелярної структури. Ентальпія передпереходу не залежить від довжини алкільних ланцюгів, тому цей перехід відносять до переходу головок [73]. Проникність мембрани у $P_{\beta'}$-фазі набагато вища за $L_{\beta'}$ [74]. Температурний діапазон існування $P_{\beta'}$-фази у мембранах ФХ зменшується зі зменшенням гідратації (і повністю зникає при вмісті води нижче ~ 20 %) та з підвищенням довжини алкільних ланцюгів (зникає при довжині ланцюгів більше 20 метиленових ланок) [73]. Прецизійні експерименти доводять, що $P_{\beta'}$-фаза становить, власно, суміш доменів двох фаз, які розрізняються за вмістом води та параметрами елементарної комірки ліпідів; питомий вміст цих доменів виявляється вельми чутливим до термічної історії зразка [75].

Для багатокомпонентних клітинних мембран температурний інтервал фазового переходу дуже широкий [52, 80] – тож, можна вважати, що мембрана нативної клітини знаходиться у температурних межах фазового переходу. Саме у такому стані, згідно [62], мембрана особливо чутлива до найменших змін зовнішніх параметрів, що, певно, й забезпечує її високу лабільність та адаптаційні властивості. Проникність мембрани в області фазового переходу різко підвищується [86]. Варто уваги, що температура росту клітин відповідає температурі утворення везикулярних структур, яка, в свою чергу, відповідає температурі переходу мембрани до гелевої фази [54].

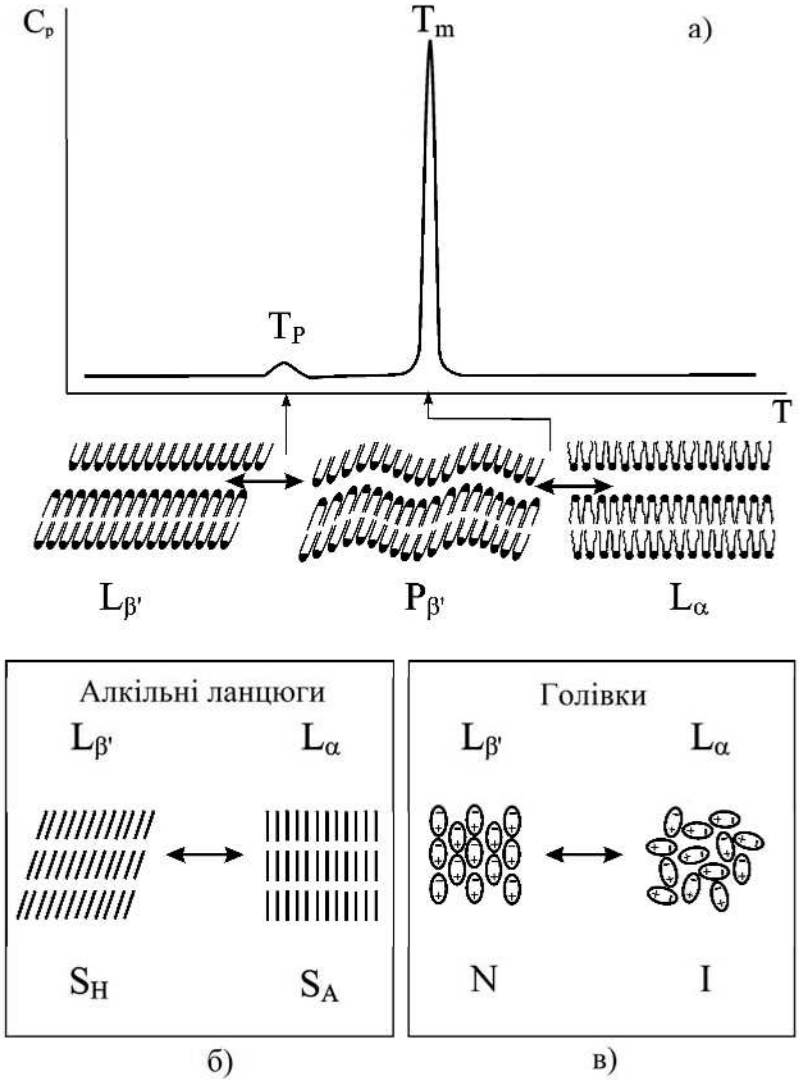


Рис. 1.3. Фазові переходи $L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'}$ (температура T_p) та $P_{\beta'} \leftrightarrow L_{\alpha}$ (температура T_m) у мультибішарових ліпідних структурах ФХ: надмолекулярне впакування та загальний вигляд ДСК-термограм (а), зміни впорядкування алкільних ланцюгів (б) та дипольних голівок ліпідів (в).

1.1.3. Структура та властивості ліпідного бішару

Структура ліпідного бішару як основи клітинної мембрани встановлювалася протягом 30-70-х років XX ст. [64] та посіла гідне місце серед об'єктів біофізичних досліджень після створення т. зв. рідинно-мозаїчної моделі біологічної мембрани [76]. На теперішній час ця модель набула декотрих змін та уточнень для урахування кількісних даних щодо доменної структури, асиметрії розподілення ліпідів між моношарами тощо [50, 77, 78] – втім, загально-

прийнятим залишається уявлення про ліпідну мембрану як дзеркально-симетричну двошарову структуру, у яку занурені інші компоненти мембрани – білки, гліколіпіди, глікопротеїни (Рис. 1.4).

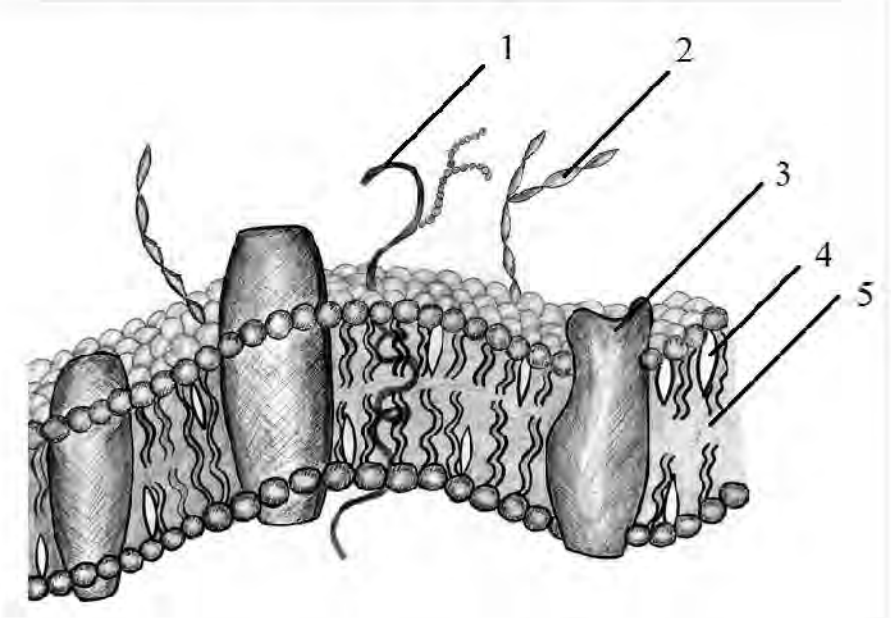


Рис. 1.4. Схематичне зображення біомембрани: 1 – ліпідний бішар (зверху – зовнішній моношар, знизу – внутрішній моношар клітини); 2 – Хол; 3 – інтегральні білки; 4 – гліколіпіди; 5 – глікопротеїни.

Амфіфільна природа та специфічна форма ліпідних молекул визначають анізометрію розташування молекул у бішарі [79], що, власно, й обумовлює анізотропію їх механічних, магнітних та оптичних властивостей [54]. Найбільш важливими характеристиками ліпідних мембран вважають текучість, площу перетину ліпідних молекул, здатність утворювати неламелярні фази та електричний заряд [50].

У бішарі виділяють гідрофобний об'єм, утворений алкільними ланцюгами ліпідів, гідрофільні поверхні та області гідрофільно-гідрофобного інтерфейсу (область гліцеринових остовів) [52, 80]. У взаємодії вздовж поверхні мембрани переважний внесок вносять електростатичні сили (зокрема, диполь-дипольні), а також сили стеричного відштовхування. В області гідрофобного об'єму бішару перевагу мають ван-дер-вальсові сили [64].

Стабілізація бішару відбувається за рахунок балансу гідрофільних та гідрофобних сил [52, 64, 81] (Рис. 1.5). При підвищенні довжини алькільних ланцюгів внесок гідрофобних сил зростає, що приводить до зменшення площі перетину ліпідної молекули (відповідно, в гідрофобній і в гідрофільній її частині) [82]. Вважається, що саме взаємозв'язок гідрофільних та гідрофобних сил відповідальний за структурно-динамічний відгук мембрани на зовнішні впливи та в цілому за адаптацію та виживання клітин [83], допомагає підтримувати планарність мембрани, а також є однією з причин гістерезису фазових переходів [84]. Завдяки цьому зв'язку зміни в одній частині мембрані викликають відповідні зміни у іншій частині, причому ключову роль в цих процесах відіграє область інтрефейсу.

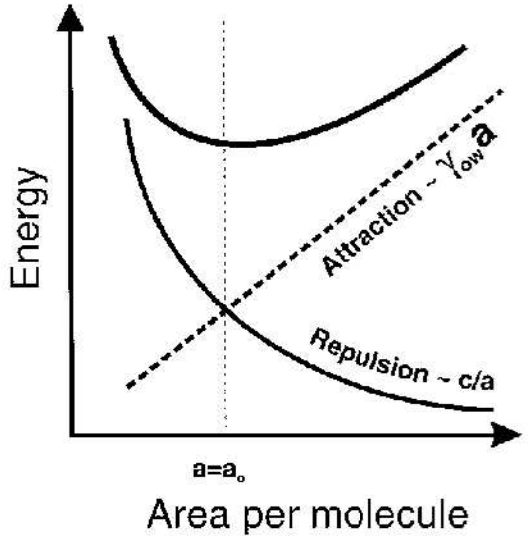


Рис. 1.5. Латеральні сили, що визначають рівноважну середню площу ліпідної молекули у бішарі a_0 [64].

Ліпідний бішар характеризується градієнтом латерального тиску вздовж нормалі (Рис. 1.6). Згідно [58], гідрофобний ефект, відповідальний за стабільність бішару, проявляє себе як притягальна сила в області гідрофільно-гідрофобного інтерфейсу. При цьому кожний окремий моншар ліпідів має потенціал утворення від'ємної кривизни (закручування у зворотні міцели),

але два протилежно орієнтованих симетричних моношари компенсують один одного, утворюючи пласку структуру.

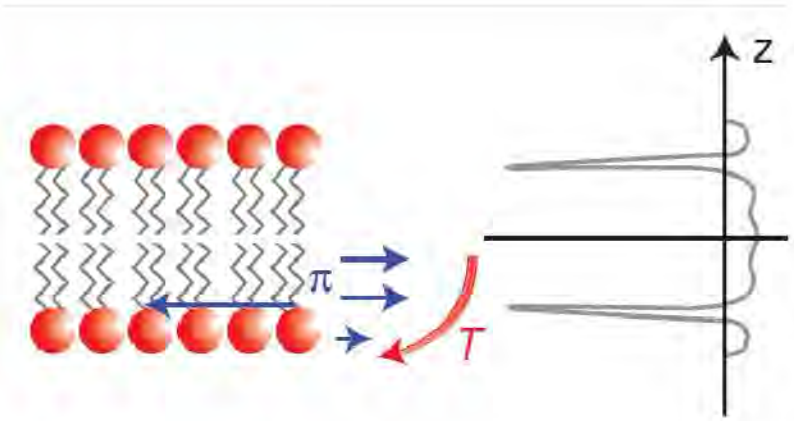


Рис. 1.6. Профілі латерального тиску π вздовж нормалі ліпідного бішару *z* [96]. T – напрямок спонтанного закручування моношару.

Ліпідний бішар характеризується складними профілями щільності та полярності у напрямку нормалі [83, 85] (Рис. 1.7). Щільність пакування визначає флукутації площі перетину відповідного фрагменту ліпідів, пропорційні коефіцієнту стисливості бішару та його проникності [86]. Згідно [87], у бішарі ДПФХ максимальна щільність пакування алкільних ланцюгів має місце на відстані ~ 1 нм від центру бішару, мінімальна – на відстані 1,6 нм від центру.

Деяке уявлення про зміну полярності вздовж нормалі бішару надає робота [88], де встановлено, що при зануренні мероцианінів з поверхні бішару до області алкільних ланцюгів смуга їх поглинання, чутлива до полярного оточення, зсувається так само, як при їх перенесенні з етанолу (XlogP3 = –0,1 [89]) до бензолу (XlogP3 = 2,1 [89]). Втім, з огляду на те, що полярність оточення суттєво варіює від вздовж напрямку алкільних ланцюгів ліпідів (від начальних метиленових груп до області кінцевих метильних груп), отримані дані здаються дещо заниженими стосовно ліпофільності усередині бішару та, певно, потребують уточнення.

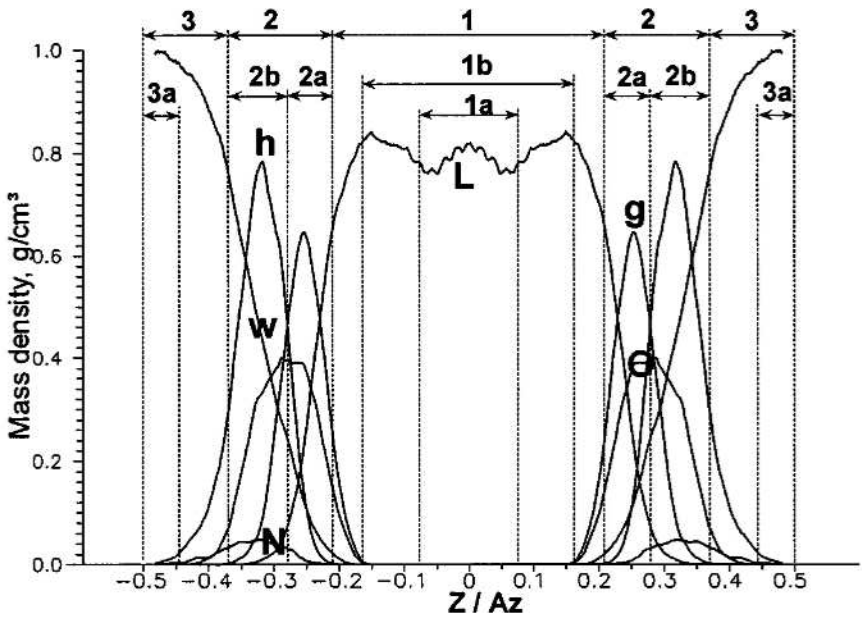


Рис. 1.7. Профілі щільності мембрани стеароїлолеоїлфосфатидилхоліну вздовж нормалі до бішару [85]: h – фосфатидилхолінові групи; w – вода; N – атоми Нітрогену; g – гліцеринові остови; O – атоми Оксигену; L – вуглеводневі групи алкільних ланцюгів. По осі абсцис відкладені частки від загальної товщини мембрани *Z/Az*. Додатково наведено умовне розділення мембрани на зони та підзони, запропоноване у [85].

У ліпідному бішарі розрізняють трансляційний та конформаційний порядки. Трансляційний порядок пов'язаний із латеральною дифузією у ліпідному бішарі, тоді як конформаційний порядок – із відношенням *транс*- та *гош*-конформацій у вуглеводневих ланцюгах ліпідів [90].У латеральному напрямку ліпідні молекули мають гексагональну або квазігексагональну упаковку [91]. Впорядкованість алкільних ланцюгів вздовж нормалі бішару неоднорідна та залежить від типу залишку жирної кислоти у складі ліпіду. Так, для насичених жирних кислот має місце високий ступінь впорядкованості ланцюгів в області C_3 – C_9, тоді як для перших та останніх двох ланок він

суттєво нижчий (Рис. 1.8). У положенні подвійного зв'язку спостерігається істотне зниження параметра порядку (Рис. 1.9).

Конформація голівок ліпідів непланарна: залишок холіну у молекулі ДПФХ розташований паралельно площі мембрани, тоді як залишок оротофосфорної кислоти експонований у водну фазу під кутом ~ 47° до площини мембрани [92]. Загалом, цей кут визначається електростатичним притяганням центрів позитивного та негативного зарядів голівки [52], тому має залежність від pH, іоної сили розчину тощо – тому ці чинники деякою мірою змінюють й відстань між фосфатними та амонійними групами молекули ФХ [52].

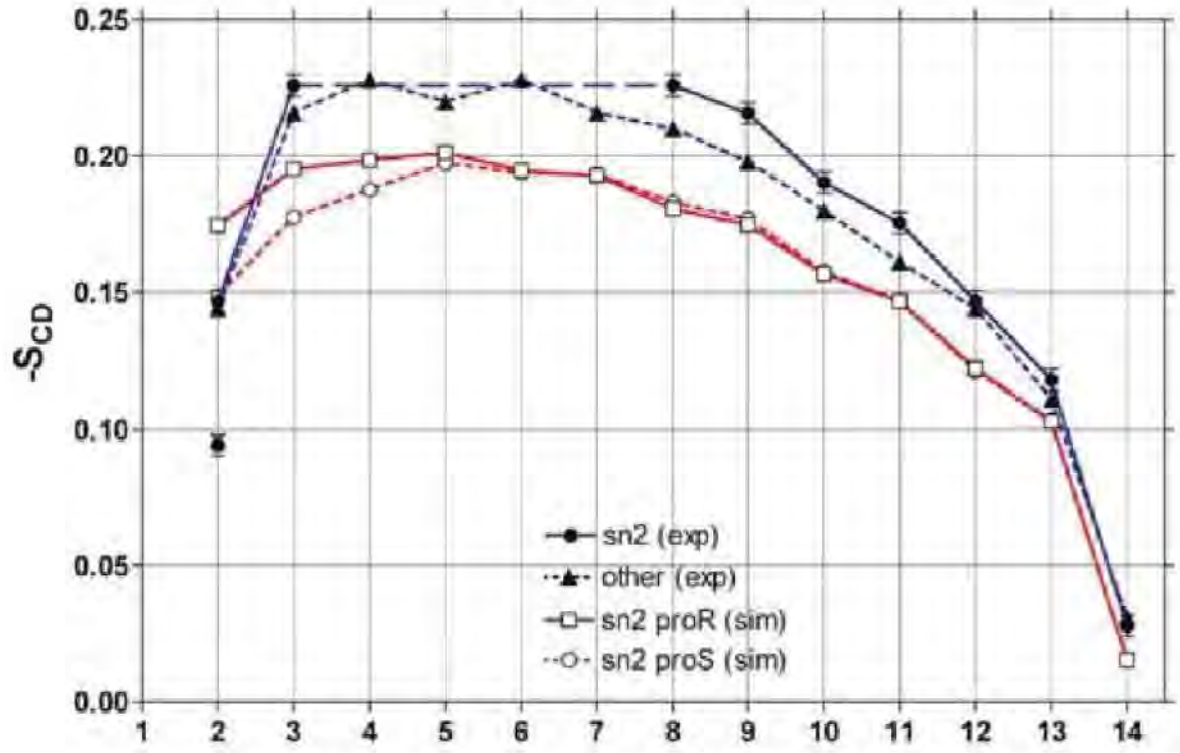


Рис. 1.8. Параметр порядку алкільних ланцюгів ліпідів у мембрані насиченого ліпіду 14:0/14:0 ФХ [93]: експериментальні (exp) та розрахункові (sim) дані, отримані різними методами. По осі абсцис відкладений номер атому карбону в ліпідному ланцюгу.

При плавленні бішару спостерігається стрибок таких фізичних параметрів мембрани, як ентальпія, об'єм, теплоємність, стисливість, швидкість зву-

ку, поглинання звуку та параметра порядку [94]. Як можна бачити з Табл. 1.1, $L_{\beta'}$- та L_{α}-фази ліпідного бішару суттєво відрізняються за своїми термодинамічними, структурними та енергетичними параметрами.

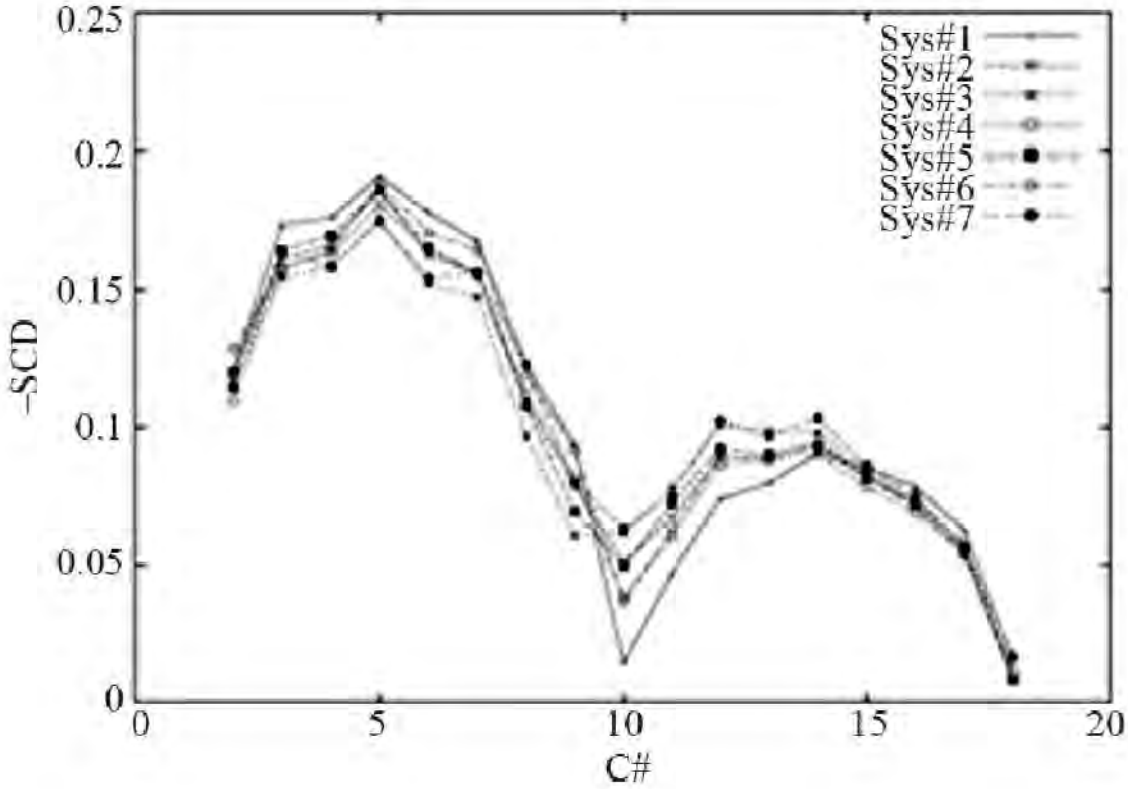


Рис. 1.9. Параметр порядку алкільних ланцюгів ліпідів у мембрані ненасиченого ліпіду 18:1/18:1 ФХ [95]: розрахункові дані. По осі абсцис відкладений номер атому карбону в ланцюгу. Системи #1 – #7 відповідають часам симуляції від 8 до 10 нс.

Ліпідна мембрана є високодинамічною системою. Ліпідні молекули у бішарі беруть участь у різноманітних видах рухів: обертальних, трансляційних, трансбішарових, конформаційних тощо, – з суттєво різними характерними часовими інтервалами. Так, за даними ЯМР, час кореляції обертального руху ліпідної молекули становить 10^{-9} с, тоді як спонтанний трансбішаровий рух (спонтанні фліп-флоп-переходи) має характерний час від декількох годин до декількох діб, залежно від складу мембрани [56]. Завдяки динамічності та

впорядкованості ліпідним бішарам водночас притаманні гнучкість та стабільність структури, які необхідні для виконання функцій клітинного бар'єру.

Динамічність ліпідних структур допомагає підтримувати гомеостаз фізичних властивостей клітинних мембран, а також виступає регулювальним фактором багатьох клітинних процесів [52, 56, 58]. Приймаючи до уваги, що білки займають близько 20 % поверхні мембрани, а середня міжбілкова відстань становить ~ 10 нм (близько 12 шарів ліпідів), можна усвідомити, що мембранні білки знаходяться у оточенні потужної ліпідної оболонки, властивості якої згодом мають суттєвий вплив на їх розташування, функціонування та властивості [52, 64, 96].

Таблиця 1.1

Параметри модельних ліпідних мембран ДПФХ

(у дужках вказані термодинамічні фази)

№ з/п	Параметр	Од. вим.	Значення	Джерело
1.	Об'єм молекули ($L_{\beta'}$/ L_{α})	$Å^3$	1444/1232	[97, 98]
2.	Площа на молекулу ($L_{\beta'}$/ L_{α})	$Å^2$	47,9/ 61,2	[99]
3.	Міжмолекулярна відстань ($L_{\beta'}$/ L_{α})	Å	4,14/4,25	[100]
4.	Кут нахилу алкільних ланцюгів ($L_{\beta'}$/ L_{α})	°	32/0	[101]
5.	Кількість *гош*-конформерів на ланцюг ($L_{\beta'}$/ L_{α})	–	0/3	[52]
6.	Модуль стиснення ($L_{\beta'}$/ L_{α})	$м^2$/Дж	1,0 / 6,9	[102]
7.	Період складок ($P_{\beta'}$)	Å	154	[75]
8.	Товщина бішару ($L_{\beta'}$/ $P_{\beta'}$/ L_{α})	Å	45/48/43	[103, 104]
9.	Міжбішарова відстань ($L_{\beta'}$/ $P_{\beta'}$/ L_{α})	Å	18/23/24	[103]
10.	Період повторюваності ($L_{\beta'}$/ $P_{\beta'}$/ L_{α})	Å	63/70/67	[103]

1.1.4. Ліпідна композиція бішару

Різноманіття структур та форм ліпідів покликане підтримувати належне функціонування мембрани у широких межах зовнішніх умов. Тому ліпідний склад мембран варіює у залежності від виду організму та типу клітини [56]. Наприклад, для мембран ссавців характерна наявність фосфатидилхолінів, а для мембран бактерій – фосфатидилгліцеринів та кардіоліпінів [56]. Крім того, численні експерименти свідчать, що ліпідні склади внутрішнього та зовнішнього моношарів мембрани також відрізняються [54, 60]. Зокрема, ФХ та ФЕ експоновані у цитоплазму, а фосфатидилсеріни – у міжклітинний простір [52, 60]. Така асиметрія розподілу ліпідів між моношарами притаманна усім нативним клітинам [60] і відбиває різницю в оточенні та функціональному навантаженні моношарів.

У плазматичних мембранах ссавців частка ФХ найбільша серед усіх фосфоліпідів (~ 70 мас. %), причому природні ліпіди характеризуються різноманіттям алкільних ланцюгів в рамках одного типу [56]. Найбільш розповсюдженими у ссавців є пальмітинова, стеаринова, олеїнова та линолева кислоти [56]. Наприклад, ЯЛ має наступний склад жирнокислотних залишків: пальмітинова (16:0) – 32 %, олеїнова (18:1) – 30 %, линолева (18:3) – 17 %, стеаринова (18:1) – 16 %, арахідонова (20:4) – 3 %, пальмітолеїнова (16:1) – 1 % [70]. Встановлена кореляція між рівнем метаболізму клітини чи органели та вмістом ненасичених жирних кислот в її мембранах [85].

Ліпідний склад мембран визначає такі їх важливі параметри, як кривизна, в'язкість, фазовий стан та функціональні властивості [105-108]. Так, додавання ФЕ до ФХ з такими ж алкільними ланцюгами підвищує кривизну ліпідних структур у H_{II}-фазі [67]. Важливо, що вказаний ефект проявляється так само, як і підвищення температури, але за принципово іншим механізмом: не завдяки розупорядкуванню алкільних ланцюгів, а завдяки зменшенню середньої площі гідрофільної області. Вказаний ефект є ще одним проявом взаємозв'язку гідрофільної та гідрофобної областей бішару.

Ліпідні суміші можуть набувати поліморфізму, який не був притаманний індивідуальним компонентам. Зокрема, у [58] було показано, що у композиціях етил-діолеоїлфосфатидилхоліну (Е-ДОФХ) з КЛ мезоморфні перетворення при підвищенні вмісту КЛ відбуваються у наступному порядку: ламелярна фаза (чистий Е-ДОФХ) → губчата фаза → кубічна фаза → H_{II}-фаза → кубічна фаза → губчата фаза → ламелярна фаза (чистий КЛ). При цьому співвідношення площ перетину гідрофобної та гідрофільної частин ліпідних молекул зменшується у низці ламелярна фаза > кубічна фаза > H_{II}-фаза. У присутності Хол в мембранах ФХ спостерігається утворення L_o-фази [109] (докладніше про роль Хол у мембрані див. у п. 1.1.7).

Взаємне розташування ліпідів у мультикомпонентних мембранах неоднорідне та, згідно [62], визначається здебільшого їх просторовою геометричною формою (див. п. 1.1.2). Компенсаційна упаковка ліпідних молекул у бішарі приводить, наприклад, до того, що Хол переважно розташовується поблизу ДПФХ та сфінгомієліну [125], а не ДПФЕ. Розглядаючи ліпідні мембрани як двовимірну рідину, латеральну гетерогенність можна вважати маркером незмішуваності ліпідів [90].

Фазове розділення ліпідів є одним з потужних факторів, що регулюють діяльність мембранних білків шляхом утворення специфічних ліпідних доменів [50, 52, 60]. Одні з них (як ферменти, так і субстрати) мають спорідненість до L_α-фази, інші – до L_o-фази [109]. Наприклад, підвищення гетерогенності мембрани приводить до розмежування тих білків, які мають спорідненість до різних фаз, та, навпаки, зближення тих білків, які мають спорідненість до однієї фази, – таким чином може відбуватися регуляція взаємного розташування ферментів та субстратів [109]. Існує думка, що ліпідне різноманіття, яке спостерігається у біологічних мембранах, слугує саме для забезпечення можливості формування стабільних доменів (рафтів) певного розміру, які можуть співіснувати із рідким ліпідним матриксом [90].

Фазове розділення ліпідних сумішей, у свою чергу, може регулюватися присутністю іонів, зокрема Ca^{2+}, за механізмом екранування заряду й виникнення спонтанної кривизни бішару [110].

1.1.5. Гідратаційні властивості ліпідного бішару

Гідратація біологічних мембран є однією з його найважливіших характеристик [48], яка визначає, зокрема, стабільність та проникність мембрани [111]. Склад гідратної оболонки бішару суттєво неоднорідний. Відомо, що близько 6 молекул води сильно зв'язані з ліпідними голівками й не зазнають кристалізації при охолодженні [111]; при цьому 1-2 молекули води зв'язані найсильніше [111]. Ця фракція молекул характеризується часом обертальної кореляції 10^{-7} с [54]. Негативно заряджені фосфатидилсеріни гідратовані більше, ніж ФХ (в них детектується ~ 13 молекул сильно зв'язаної води) [111], тоді як ФЕ є менш гідратованими (4 – 7 молекули води на ліпід) [52, 112, 113]. Видалення води з гідратної оболонки ліпдів викликає конформаційні зміни у структурі ліпідних голівок [111] та підвищення температури основного фазового переходу [71]. Як встановлено у [114], зміна гідратації викликає зміни параметра впорядкованості алкільних ланцюгів немонотонним чином: на першому етапі адсорбції води (близько 12 молекул) впорядкованість ланцюгів підвищується, тоді як подальше збільшення вмісту води її зменшує. Втім, для багатокомпонентних мембран такої кореляції не простежено [115].

Повна гідратація мембран ФХ досягається при ~ 24 моль води на моль ліпіду [112], що відповідає вмісту води близько 40 мас. % відносно сухого ліпіду [52]. Згідно [116], структура води на поверхні мембрани більш компактна, ніж у чистій воді. У мультибішарових структурах із надлишком води утворюється фракція деполяризованої води, розташованої між поляризованими шарами примембранної гідратної оболонки [112]. Загалом ступінь гідратації бішару обмежена латеральними взаємодіями полярних частин молекул ліпідів, тому залежить від його ліпідного складу.

При фазовому переході $L_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$ спостерігається збільшення гідратації бішару [52, 88], причому суттєвий внесок в цей процес надає перебудова структури водневих зв'язків між карбонільними групами ліпідів та водою [117, 226]. Таким чином, зміни гідратації відбиваються у зміні площі перетину полярної частини ліпідів, що має безпосереднє відношення до їх фазового стану (див. п. 1.1.2).

Варто відзначити, що вільна енергія електростатичної взаємодії ліпідних голівок не перевищує ~ 21 кДж/моль, тоді як вільна енергія гідратації, навіть для іонів, складає 210 ÷ 240 кДж моль. [54]. З огляду на ці дані, зрозуміло, що врахування змін гідратації дає змогу адекватніше описувати еластичні властивості моно- та бішарів ліпідів [83].

1.1.6. Вільний об'єм бішару

Згідно одному з найпоширеніших визначень [118], вільний об'єм бішару складає різниця об'єму ліпідних молекул в бішарі та їх ван-дер-вальсового об'єму. Параметри вільного об'єму бішару здебільшого визначаються гідрофобними взаємодіями алкільних ланцюгів [88]. Флуктуації вільного об'єму в різних областях мембрани можуть бути визначені за допомогою модулю стиснення [85, 119, 120].

Розподіл вільного об'єму вздовж нормалі бішару є неоднорідним. Наприклад, для мембрани L-α-дімиристоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ, або 14:0/14:0 ФХ) в полярній області його частка складає 24 %, в неполярній – 38 %, а в центрі бішару – 58 % [121]. При цьому у полярній області бішару порожнини дрібніші, ніж у неполярній [85]. Детальніше розподілення вільного об'єму вздовж нормалі бішару наведено на Рис. 1.10. Як можна бачити, профіль вільного об'єму змінюється як при зміні довжини алкіьних ланцюгів, так і при зміні ступеню їх насиченості. Найбільша питома частка вільного об'єму спостерігається у області гліцеринових остовів [85, 88], що узгоджується з даними щодо існування найбільшого латерального тиску в цій області (див. Рис. 1.6).

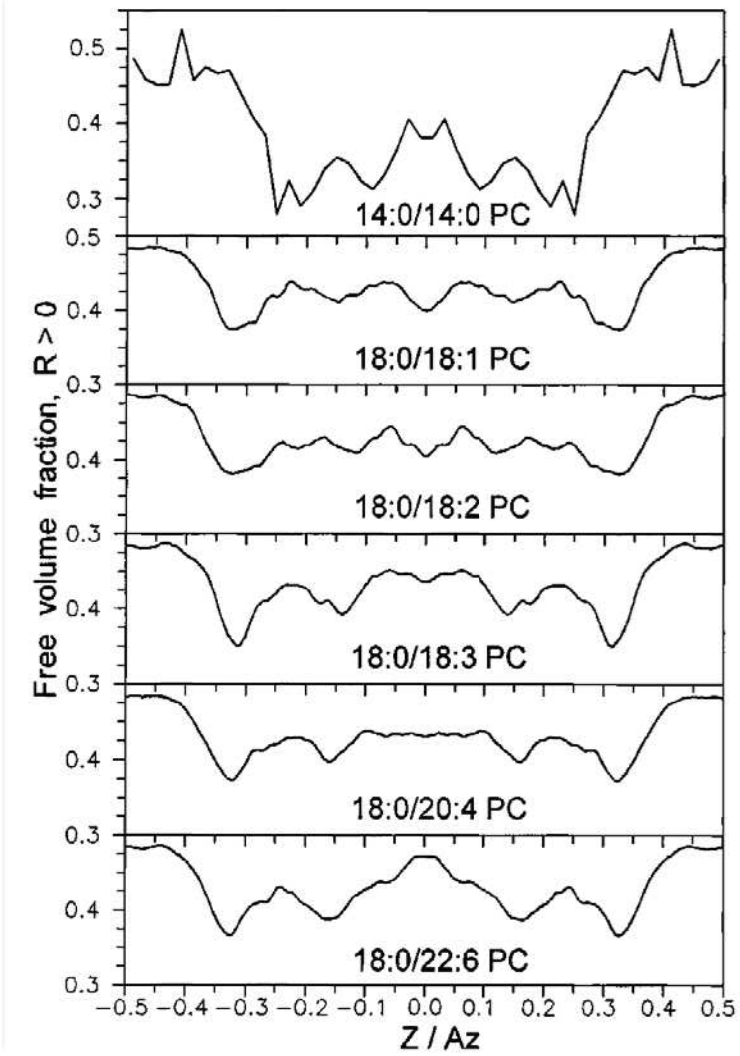


Рис. 1.10. Частка вільного об'єму від загального об'єму молекули у бішарі – профілі у напрямку нормалі до поверхні бішару [85]. По осі абсцис відкладені частки від загальної товщини мембрани. У підписах вказані кодировки ФХ, які утворюють мембрану (див. п. 1.1.1).

Параметри вільного об'єму бішару чутливі як до змін ліпідного складу мембрани, так і до її фазового стану. Так, зі зниженням довжини алкільних ланцюгів та підвищенням їх ненасиченості вільний об'єм мембрани та її стисливість збільшуються [108, 122]. При цьому, як можна бачити з Рис. 1.10, другий фактор має сильніший вплив, ніж перший, приводячи до збільшення вільного об'єму у середині бішару [85]. Підвищення вільного об'єму бішару зі збільшенням ненасиченості ланцюгів корелює з підвищенням його про-

никності для малих молекул, зокрема для газів та води [85, 88, 123]. Внесення екзогенних молекул також змінює профіль вільного об'єму у залежності від їх розміру, анізометрії та орієнтації у мембрані [85, 123].

При фазовому переході $L_{\beta'} \rightarrow P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$ загальний вільний об'єм бішару підвищується стрибкоподібно майже вдвічі, тобто безпосередньо пов'язаний з конформаційним розупорядкуванням ліпідів; при цьому в центрі бішару з'являється локальний максимум щільності [120]. Середній розмір порожнини збільшується від $4 \div 5$ Å^3 у $L_{\beta'}$- та $P_{\beta'}$-фазах до 6 Å^3 та більше у L_{α}-фазі [120].

Наявність у бішарі вільного об'єму та його нерівномірне розподілення вздовж нормалі має велике значення для функціонування мембрани. Так, в структурному аспекті він визначає пакування та впорядкування молекул у бішарі (див. пп. 1.1.2, 1.1.4), в динамічному аспекті – латеральну дифузію ліпідів та інших компонентів мембрани (зокрема, білків), а також дифузію невеликих молекул крізь мембрану [87]. Зміни вільного об'єму відбиваються у зміні площі перетину неполярної частини ліпідів, що має безпосереднє відношення до їх фазового стану (див. пп. 1.1.2, 1.1.3). Таким чином, амфіфільна природа ліпідів зумовлює відокремлення механізмів, які керують змінами площ перетину полярної та неполярної частини ліпідів, тобто зміною параметрів полярної поверхні та неполярного об'єму мембрани.

1.1.7. Роль холестерину у ліпідних мембранах

Вміст Хол у плазматичних мембранах ссавців становить близько 40 % від маси фосфоліпідів [56]. Хімічна структура Хол (див. Табл. Б1, Дод. Б) обумовлює його розташування переважно у гідрофобній області бішару, втім, його гідроксильна група має здатність утворювати водневі зв'язки з полярними групами ліпідів та водою [48, 52, 124].

Малі розміри полярної частини Хол у порівнянні з неполярною дозволяють йому ефективно заповнювати динамічні порожнечі в бішарі, що обумовлює його стабілізуючу дію [52, 181]. Додавання Хол до ліпідного бішару

у L_α-фазі зменшує його вільний об'єм [119], сприяючи підвищенню мікров'язкості (від 3,9 до 11 П для мембран ЯЛ [54]) та латеральної дифузії (від $1{,}8 \cdot 10^8$ до $5 \cdot 10^8$ см^2/с для мембран ЯЛ [54]). Варто уваги, що зміна параметра впорядкованості алкільних ланцюгів й товщини бішару залежить від концентрації Хол немонотонним чином [125, 126].

Важливим механізмом дії Хол є також індукування перерозподілу ліпідів у межах ліпідних моношарів [127-130] та між ними [125]. Зокрема, встановлено, що у присутності Хол утворюються т. зв. Хол-збагачена (L_o) та Хол-збіднена фази ліпідів, які розрізняються значеннями температури, ентальпії та напівширини фазових переходів. Фаза L_o характерзується зниженням вмісту *гош*-конформерів у вуглеводневих ланцюгах ліпідів [52, 109]. Неоднорідність, викликана присутністю Хол, приводить до збільшення гідратації ліпідів на межах розподілу майже вдвічі [111].

При зростанні вмісту Хол ентальпія фазового переходу зменшується, а напівширина збільшується (розмивання піку); при вмісті Хол близько 40 моль % пік фазового переходу насичених ФХ зникає [127]. При цьому зсув температури основного фазового переходу залежить від довжини ланцюга ФХ: для ФХ з довжиною менше 17 метиленових ланок зсув має позитивний знак, для ФХ з більш довгими ланцюгами – негативний [127]. Загалом Хол має спорідненість до насичених вуглеводневих ланцюгів, тоді як ненасичені ліпіди утворюють окрему фазу [90]. За своєю довжиною Хол найближчий до дилауроїлфосфатидилхоліну (12:0 ФХ), і саме в цих мембранах його ефекти проявляються найсильніше [56], що можна вважати проявом принципу параметричної відповідності мембрани та внесенної речовини (докладніше див. п. 3.2.1). Слід також додати, що за своєю взаємодіїєю з мембраною Хол є виключенням з багатьох закономірностей. Так, він має протилежну дію на бішари ФХ у $L_{\beta'}$- та L_α-фазах [52], а також на вуглеводневі ланцюги та гідратацію мембрани; якісно відрізняється дія Хол у різних діапазонах концентрацій [115].

1.1.8. Кооперативність фазових переходів

Згідно загальноприйнятим уявленням, фазові переходи «гель – рідкий кристал» в модельних ліпідних мембранах (у т. ч. $L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'} \leftrightarrow L_{\alpha}$) належать до переходів I роду [131]; при цьому в реальних системах такі переходи не є суто ізотермічними, а відбуваються в деякому інтервалі температур. Зазвичай ці переходи описують рівнянням Вант-Гофа для хімічної реакції:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H_{ВГ}}{RT^2}, \qquad (1.2)$$

де K – константа рівноваги, T – абсолютна температура, $\Delta H_{ВГ}$ – ентальпія Вант-Гофа, R – універсальна газова стала.

Явище кооперативності фазових переходів у ліпідному бішарі встановлено більш ніж півстоліття тому, коли була виявлена багаторазова різниця між значеннями $\Delta H_{ВГ}$ та калориметричної ентальпії (ΔH_m) [52, 132]. На підставі цього було уведено уявлення про кооперативний домен ліпідів, одним з базових властивостей якого є здатність до колективного фазового переходу за тригерним механізмом.

Однією з фізичних причин явища кооперативності, згідно [133], є надлишок вільної енергії F_1, який має місце внаслідок невідповідності молекулярної упаковки на межах доменів нижче та вище температури фазового переходу T_m:

$$F_1 = 2RT_m \log(CN - 1). \qquad (1.3)$$

Основним методом визначення розміру кооперативного домену (CN) є метод калориметрії. Для оцінки розміру кооперативного домену CN використовують співвідношення між теоретично визначеною величиною $\Delta H_{ВГ}$, та експериментально отриманою величиною ΔH_m [52, 134]:

$$CN = \Delta H_{ВГ}/\Delta H_m. \qquad (1.4)$$

На підставі співвідношення (1.4) величину *CN* розраховують за рівняннями (2.11) або (2.12).

В літературі [52, 134, 135] зустрічається також формула

$$CN = 6{,}9\ T_m^2 / \Delta T_{m1/2} \Delta H_m, \qquad (1.5)$$

де фізичні величини такі самі, як у (2.11), але ΔH_m виражено у ккал/моль.

Треба зазначити, що, розрахунки величини *CN* за рівнянням (1.5) дають систематично занижені результати (на 12,7 %) у порівнянні із (2.11) та (2.12). Втім, проведення відповідних перетворень одиниць вимірювання дозволяє отримати коефіцієнт 7,9 у (1.5), що дає повний збіг результатів (1.5) та (2.11). Очевидно, що тут має місце первісна друкарська помилка, яка згодом потрапила й у інші літературні джерела.

Встановлено, що для мембран насичених фосфатидилхолінів кооперативність характерна як для основного переходу ($P_{\beta'} \leftrightarrow L_{\alpha}$), так і для передпереходу ($L_{\beta'} \leftrightarrow P_{\beta'}$) [136, 137]. В [58] було встановлено також кооперативність неламелярних фазових переходів ліпідних структур.

Кооперативність основного фазового переходу у декілька разів вища за кооперативність передпереходу [72, 136] та має зворотну лінійну залежність від довжини вуглеводневих ланцюгів фосфатидилхолінів. Цікаво, що для передпереходу подібної залежності не спостерігається [136, 137], що вказує на відміну його рушійних сил від основного переходу.

Розмір кооперативного домену ліпідів пов'язаний з багатьма кінетичними ефектами у ліпідних мембранах: часом релаксації після зняття тиску [138, 139], швидкістю фронту нової фази [49, 53], уявною енергією активації фазового переходу (appearent activation energy) [140]. Відомо, що ця енергія підвищується з підвищенням довжини вуглеводневих ланцюгів ліпідів [140] – таким чином, зниження кооперативності корелює з підвищенням енергії активації фазового переходу. Враховуючи тісний взаємозв'язок поверхні та об'-

єму мембрани, який продемонстрований у [84], можна припустити, що енергія активації також відіграє велику роль у кооперативних процесах в мембрані.

Встановлено, що більшість ЛР, а також Хол ефективно зменшують розмір кооперативного домену [141-144], що приводить до підвищення її гетерогенності та сприяє проникненню ЛР крізь мембрану [145, 146]. До того ж, кооперативність вважають одним з факторів регуляції функціонування мембрани, зокрема, ліпід-білкової взаємодії [142, 147]. Отже, завдяки явищу кооперативності ліпідний бішар, особливо поблизу фазового переходу, є своєрідним макромолекулярним ансамблем, організація та функціонування якого відбувається за рахунок нековалентних міжмолекулярних взаємодій.

Підсумовуючи усе вищесказане, ліпіди можна розглядати не тільки як активне середовище, що забезпечує необхідні умови для функціонування білків, але й як безпосереднього учасника різноманітних клітинних процесів, керованих білками та іншими мембраноактивними компонентами клітини [58, 148].

1.2. Дослідження взаємодії ліпідних структур із лікарськими речовинами та іншими біологічно активними речовинами за допомогою біофізичних методів

Окрім виконання своїх природних біологічних функцій, ліпідні структури є об'єктом дії лікарських речовин (ЛР), по-перше, внаслідок взаємодії в ході процесів пасивної дифузії ЛР крізь клітинну мембрану [149-151], що робить мемранотропну дію невід'ємною складовою загальної дії ЛР, по-друге, як одна з мішеней терапевтичної дії ЛР, поряд з білковими та нуклеїновими структурами [50, 91, 152].

Взаємодія з мембранами неминуче впливає як на властивості мембрани, так і на властивості ЛР, тому має важливе практичне значення. Взаємодія компонентів ЛП з ліпідними мембранами впливає на фармакокінетичні властивості ЛР, такі як дифузія, транспорт, розподілення, розташування та накопичення в мембрані [77, 105, 153]. Наприклад, концентрація ліпофільних ЛР

у мембранах часто у сотні разів перевищує їх концентрацію у водних середовищах організму [154]. Внаслідок взаємодій з ЛР змінюються й характеристики мембран, зокрема виникає розрідження або ущільнення пакування ліпідів [155-158], що в багатьох випадках корелює із підвищенням або зниженням проникності бішару. ЛР також здатні змінювати рідкокристалічні властивості мембрани [155, 159], що може запустити каскад реакцій, які впливають навіть на експресію генів [160]. На макроскопічному рівні взаємодія компонентів ЛП з мембранами проявляється як скупність змін їх фізичних властивостей [106], які можуть бути об'єднані терміном «мембранотропна дія» (МД).

Втім, оскільки б значними ні були б ЛР для фармакотерапії, цим їх застосування не вичерпується. Ще академік І.П. Павлов звертав увагу на лікарські речовини як на інструменти дослідження, за допомогою яких вдається розділити та проаналізувати нюанси функціонування живих систем, зрозуміти «самую суть жизни». Існує чимало ЛР, які з тих чи інших причин не знайшли клінічного застосування, втім зробилися неодмінним атрибутом наукових досліджень [161].

1.2.1. Модельні ліпідні середовища для вивчення взаємодій лікарських речовин з ліпідною компонентою біомембран

Останнім часом багато уваги приділяється взаємодії лікарських засобів зі штучними ліпідними мембранами [162]. Такі основні фізичні характеристики штучних ліпідних мембран, як товщина, індекс заломлення світла, електрична ємність та, у багатьох випадках, проникність, є подібними до клітинних мембран [106, 163], незважаючи на відносно спрощений склад та надмолекулярну організацію. Для низки ЛР встановлені незаперечні кореляції між їх терапевтичними властивостями та змінами біофізичних параметрів ліпідних мембран [77], на підставі чого такі структури визнають адекватними моделями для доклінічних досліджень ЛР, ЛП [91] та згодом пропонують для передбачення проникності ЛР крізь гемато-енцефалічний бар'єр [164] та

шкіряні покриви [165]. Одним з важливих напрямків застосування результатів досліджень взаємодії ЛР зі штучними мембранами є розробка ліпосомальних форм фармпрепаратів, покликаних підвищити ефективність та мінімізувати негативні побічні ефекти ЛР [166, 167].

На теперішній час зрозуміло, що при вивченні взаємодії ЛР з мембраною неможливо визначити універсальну, ідеальну модель ліпідного середовища [105]. Різноманіття ліпідного складу мембран (див. п. 1.1.4), а також існування різних типів проникнення ЛР у клітину [149, 178, 168, 169] обумовлюють необхідність розробки та тестування модельних середовищ, різних за своїм складом та структурою.

Серед модельних середовищ можна виділити дві основні групи: клітинні та ліпідні. Клітинні середовища застосовуються для вивчення проникності мембран вже кілька десятиріч [170-173]. Безумовною перевагою клітинних моделей є біоеквівалентність; до недоліків можна віднести тривалість експериментів, специфічність та невідтворюваність ліпідного складу, а також багатокомпонентність, яка підвищує похибку отриманих результатів та ускладнює їх інтерпретацію [170]. Позбавлені деяких з вказаних вад моделі PAMPA (parallel artificial membrane permeability assay), які становлять два буферні розчини, розділені штучною ліпідною мембраною [170, 174]. У якості ліпідних моделей структур на сьогодні найчастіше використовують моно- та мультибішарові ліпосоми різного радіусу, моношари на поверхні «вода – повітря» або на твердій підкладці (т. зв. плівки Ленгмюра та Легмюра-Блоджет), а також пласкі ліпідні мультибішари [52, 105]. Вибір моделі визначається завданнями та методами дослідження [105].

За допомогою ліпідних моношарів вивчають рухливість ліпідних молекул, міжмолекулярні взаємодії, кінетику процесів на межі розділу фаз тощо [54]. Втім, суттєвим обмеженням такої моделі є оберненість моношару до газової фази або до підкладки замість іншого, дзеракльно симетрично розташованого моношару, що у деяких випадках призводить до отримання некоректних результатів [175]. Адекватнішими моделями вважаються бішарові ліпідні

структури, які можуть мати форму ліпосом, тонких плівок або мультибішарових структур [52, 54]. Ліпосомальні структури широко використовуються для вивчення параметрів зв'язування ЛР з мембранами клітин (гігантські ліпосоми мають розміри, зіставні з розмірами клітини, ~ 1 мкм [110]), а також як системи доставки ліків та біосумісні контейнери в косметиці [60].

Ліпосоми спонтанно утворюються у водних дисперсіях ліпідів при механічних впливах (струшування, обробка ультразвуком, екструзія). В таких структурах ліпідні шари відокремлюють внутрішню водну фазу від зовнішнього розчину, тому їх зручно застосовувати для вивчення бар'єрних характеристик мембран, зокрема, проникності для ЛР. Мультиламелярні ліпосоми осмотично чутливі: вони змінюються в об'ємі при зміні осмотичних властивостей середовища [54].

Ламелярний тип організації бішарових структур найбільшою мірою відповідає характеру молекулярної організації ліпідів в біомембранах [54]. Ламелярні структури (бішари та мультибішари) використовуються для вивчення морфологічних та термодинамічних параметрів мембран. Мультибішарові структури, які застосовуються для визначення проникності, за якістю отриманих результатів не поступаються стандартним моделям з використанням нативних клітин, зокрема клітин *Caco-2* [163, 176].

Склад модельних мембран можна варіювати від моноліпідних до багатокомпонентних. У якості моноліпідних мембран зазвичай використовують синтетичні ФХ, ФЕ, ФГ тощо. Завдяки високій хімічній чистоті, у таких мембранах наявні чіткі та відтворювані піки фазових переходів. Різновидом багатокомпонентних мембран можна вважати мембрани з природних ліпідів одного виду (наприклад, мембрани ЯЛ), які характеризуються широким спектром жирнокислотного складу та, отже, дуже розмитими піками фазових переходів.

Багатокомпонентні мембрани зазвичай містять Хол, заряджені ліпіди, а також ліпіди, специфічні для таргетного середовища (КЛ, цереброзиди (Цб) тощо). Композиції з латеральним фазовим розділенням ліпідів вважаються придатними для моделювання зовнішнього моношару плазматичної мембра-

ни [90]. Зокрема, для моделювання багатокомпонентних мембран еукаріотів вважається доцільним використання трикомпонентної мембрани, яка складається з Хол, високоплавкого ліпіду та низькоплавкого ліпіду [109, 110]. Залежно від вмісту компонентів та зовнішніх умов у такій мембрані можливе співіснування 2-3 термодинамічних фаз (L_α, L_β, L_o – див. п. 1.1.2) у вигляді доменів різних розмірів, від 20 до 5000 Å [109]. Підвищення вмісту Хол зменшує відмінності між різними фазами, тому полегшує їх змішування й таким чином сприяє підвищенню фазової гомогенності мембрани.

При приготуванні мембран, особливо із вмістом pH-чутливих заряджених ліпідів, використовують буферні середовища. Для мембран з цвіттеріонних ліпідів використовують також бідистильовану воду.

В літературі існує уявлення, що серед моноліпідних бішарів найбільш адекватними моделями біомембран є штучні мембрани з діолеоїлфосфатидилхоліну [122, 177] або ЯЛ [178]. Втім, ліпіди з ненасиченими алкільними ланцюгами (до яких належать, зокрема, усі природні ліпіди) зазнають окислення, особливо за підвищених температур. Отже в рамках тривалої процедури приготування та вимірювання зразків методом ДСК, яка супроводжується багаторазовим підвищенням температури вище температури плавлення мембрани (див. пп. 2.1.3 та 2.2.1), ненасиченість алкільних ланцюгів стає джерелом похибки внаслідок процесів окислення ліпідів [52].

Таким чином, з огляду на розповсюдженість у складі біомембран та стабільність в широкому діапазоні pH (п. 1.1.1), термічну стійкість (п. 1.2.1), відповідність фазовому стану, кривизні та низці інших фізичних властивостей плазматичних мембран (п. 1.1.2), однією з оптимальних експериментальних моделей ліпідної мембрани є мультибішари повністю гідратованих ФХ з додаванням інших видів ліпідів.

1.2.2. Методи досліджень ліпідних мембран

Для вирішення проблеми взаємодії ЛР та ліпідного середовища використовуються різноманітні біофізичні методи: математичне та квантово-хімічне

моделювання, а також широке коло сучасних експериментальних методів. Жодний з них окремо не здатний забезпечити усю необхідну інформацію [179], тож є доцільним застосування комбінацій різнопланових методів, а також сполучення розрахункових та експериментальних підходів.

Зокрема, зв'язування ЛР з мембраною, їх розташування та розподіл у мембрану експериментально визначаються методами, оптичної та флуоресцентної та ІЧ-спектроскопії; морфологічні характеристики мембран – методами розсіювання світла, методами мало- та ширококутового рентгенівського розсіювання, електронної мікроскопії; впорядкування ліпідних ланцюгів – методом ЯМР; параметри гідратації – методами ЯМР, адсорбції та СВЧ-діелектрометрії; термодинамічні параметри та параметри фазових переходів – калориметричними методами [56, 105, 112, 180].

Вивчення мембранотропної дії ЛР методом диференціальної скануючої калориметрії набуває все більшого поширення завдяки своїй швидкості, неінвазивності та високій чутливості [106, 162, 181-185]. Після першого опису в літературі на початку 1960-х років минулого сторіччя скануюча мікрокалориметрія стрімко еволюціонувала, вдосконалювалася [162, 186, 187] та невдовзі була застосована у дослідженнях термоіндукованих процесів у ліпідних структурах [52, 56, 188] – зокрема, для встановлення зв'язків між термодинамічними властивостями ліпідів та функціонуванням клітини [189], а також для вивчення міжкомпонентних взаємодій [185].

1.2.3. Мембранотропна дія іонів

Неорганічні іони є необхідними компонентами життєзабезпечення клітини, причому їх функції виходять далеко за межі участі в біохімічних процесах у якості специфічних лігандів. Окрім їх відомої ролі у підтримці водного балансу клітини [190], встановлено закономірні зміни внутрішньоклітинного вмісту іонів за ходом клітинного циклу, а також їх безпосередня участь у регуляції основних клітинних процесів [191-193]. Зміна властивостей бішару у присутності іонів відбивається, в свою чергу, на його взаємодії з іншими мо-

лекулами, наприклад, зондами [194-196]. У зв'язку з цим взаємодія іонів із різними біомолекулами та біологічними структурами залишається на сьогодні дуже актуальним питанням.

Мембранотропна дія двовалентних катіонів, особливо Ca^{2+} та Mg^{2+}, вивченими на теперішній час найбільшою міроу у порівнянні з іншими іонами. Згідно літературним даним, Ca^{2+} та Mg^{2+} підвищують щільність упаковки ліпідів у мембрані, у тому числі шляхом утворення попарних зв'язків між сусідніми ліпідними голівками (т. зв. кальцієві містки) [52].

Щодо одновалентних іонів, які присутні в живих клітинах у найбільших концентраціях [197], в літературі відзначається їх в цілому значно слабкіший мембранотропний ефект. Втім, повідомляється про декотре підвищення температур фазових переходів мембран у присутності Li^{+} та Na^{+} [198-200], взаємодію цих іонів із карбонільними групами ліпідів [201, 202], а також про зміни гідратації мембрани та іонів при їх взаємодії [48, 203, 204]. У [111] показано, що конформаційні зміни голівок ФХ при дегідратації посилюються в присутності Ca^{2+} та Li^{+}.

Тривалентні катіони, особливо лантаніди, є об'єктом особливої уваги завдяки їх терапевтичній та/або шкідливій дії на організм людини [205]. Одним з головніших механізмів біологічної дії тривалентних катіонів є заміщення ними двовалентних у таких важливих біомолекулах, як ДНК, білки та ліпіди. Таке заміщення зазвичай відбувається на підставі однакового іонного радіусу двовалентного та тривалентного катіонів – втім, різниця у значеннях поверхневої щільності заряду, енергії гідратації, координаційного числа [206, 227, 228] призводить до порушення структури та функціонування біомолекул. Так, відомо, що зв'язування катіонів із поверхнею зарядженої фосфоліпідної мембрани сильно залежить від його валентності (тобто, від поверхневої щільності заряду) та збільшується у низці: лужні метали < лужноземельні метали < тривалентні катіони < тетравалентні катіони [207, 208]. При цьому збільшується й координаційне число іону: воно становить 1 ÷ 4 молекули ліпіду для одновалентних іонів, 8 – для двовалентних та більш 10 – для трива-

лентних [202]. В літературі наявні дані щодо дії багатьох тривалентних катіонів на термодинамічні властивості біомембран: Al^{3+} [209], Eu^{3+} [210], Gd^{3+} [207, 211], Tb^{3+} [212], Yb^{3+}, La^{3+} [207, 227], Pr^{3+} [213]. Усі вони підвищують величину T_m, тобто жорсткість мембрани [214].

Вплив аніонів (галогенидів у складі солей натрію та калію) відзначений у літературі як зниження температур фазових переходів T_m [194, 207], особливо виражене для I^-, причому величина ΔT_p суттєво перевищує величину ΔT_m. Крім того, у присутності цих аніонів відзначається підвищення ступеню гідратації фосфоліпідів, що приводить до збільшення міжламелярного періоду, підвищення опіру осмотичному тиску, зниження електронної щільності води поблизу мембранної поверхні тощо [200, 203, 215, 216].

Таким чином, стає очевидним, що МД іонів безпосередньо пов'язана зі зміною гідратації мембрани. Тому є доцільним розглянути декотрі властивості іонів стосовно структури води. Залежно від свого радіусу, іони мають якісно протилежний вплив на низку властивостей води (густина, в'язкість, поверхневий натяг тощо): декотрі з них, названі космотропними [217], підвищують ці показники в міру підвищення іонного радіусу, інші – т. зв. хаотропні [217] – їх знижують [206, 218, 219]. Визначальним параметром при цьому є поверхнева щільність заряду, причому за однакової щільності заряду аніони виявляються більш гідратованими, ніж катіони [220]. Енергія гідратації іонів, в свою чергу, визначає їх коефіцієнти розподілення та дифузії у різних середовищах [221]. Ці специфічні властивості іонів зумовлюють їх якісно протилежну дію на такі макромолекули, як білки та ДНК [217].

До космотропних іонів належать, наприклад, катіони Na^+, Li^+ та аніон F^-; до хаотропних – катіони K^+, Rb^+, Cs^+ та аніони Cl^-, Br^-, I^-. Специфічні ефекти іонів (ступінь їх космо-/хаотропності) у вказаному порядку їх розташування збільшуються.

Аналіз літературних даних щодо змін міжламелярної відстані у ліпідних мембранах із вмістом іонів [194, 196, 215, 222, 223] дозволяє простежити тенденцію до її збільшення в міру зростання хаотропності аніону, а також зни-

ження – в міру зростання космотропності катіону, що раніше не було відмічено в літературі. Треба також звернути увагу на суттєвий вплив структури полярної голівки ліпіду [224], а також складу середовища, зокрема буферу, на спостережуваний ефект. Наприклад, у [222] вплив Cl^- та Br^- визначено як рівнозначний, тоді як у [198] виявлено зростання впливу у порядку $Br^- <$ буфер $< Cl^-$, що не узгоджується зі встановленою багатьма іншими авторами тенденцією посилення спостережуваних ефектів в міру підвищення хаотропності аніону [196, 216, 222, 225].

Велика кількість робіт присвячена дослідженню концентраційних залежностей іон-ліпідних взаємодій. Як правило, такі залежності нелінійні, мають поріг [215] або екстремум [216].

Зв'язування іонів з мембраною модифікує дипольні взаємодії на її поверхні, відповідно до природи, розміру та заряду іону [80]. Згідно [64], розподілення іонів в мембрану визначається, на підставі різниці їх енергії у водному та мембранному оточенні (т. зв. енергії Борна W_B):

$$W_B = \frac{z^2 e^2}{8\pi\varepsilon_0 R}\left[\frac{1}{\varepsilon_m} - \frac{1}{\varepsilon_\omega}\right], \tag{1.6}$$

де R – радіус іону; e – заряд електрону; z – валентність іону; ε_m – діелектрична проникність мембрани; ε_ω – діелектрична проникність водного середовища; ε_0 – діелектрична стала.

Треба зазначити, що рівняння (1.6) описує процес перенесення іону з водного оточення у гідрофобний об'єм бішару, тоді як в реальних мембранах набагато більше значення має адсорбція іонів на полярній поверхні мембрани. Такий процес може бути описаний в рамках моделі Гуї-Чепмена [226]:

$$\begin{gathered} c_s = c_\infty \exp(-z\psi_s F / RT), \\ \psi_s = 2\frac{RT}{F}\ln\left[\frac{\sigma}{\sigma_0} + \sqrt{\left(\frac{\sigma}{\sigma_0}\right)^2 + 1}\right], \sigma_0 = \sqrt{8\varepsilon_0\varepsilon_m RTc_\infty}, \end{gathered} \tag{1.7}$$

де c_s та c_∞ – концентрації іонів на поверхні мембрани та у розчині, відповідно; ψ_s – різниця потенціалів між поверхнею та розчином; F – стала Фарадея; σ – поверхнева щільність заряду мембрани; інші позначення див. у (1.6).

Втім, як зазначають автори [226], якісне описання експериментальної ситуації ускладнено внаслідок численних відхилень від запропонованої ними спрощеної моделі. Дійсно, на сьогодні вже зрозуміло, що складні взаємодії іонів з мембранною поверхнею не можуть бути описані виключно у термінах константи зв'язування [227]. В літературі існує ще низка моделей ліпід-іонних взаємодій, кожна з яких описує окремі аспекти цього процесу [208, 227-231]. Зокрема, у [208] наведений найбільш загальний вигляд мембранотропного ефекту іону ω_{ion}:

$$\begin{aligned} \omega_{ion} &= K_{aq} \cdot M_{aq} \cdot p_{ion} \cdot k_{ion} \\ p_{ion} &= A \exp(-z\psi_0 e / k_Б T) \end{aligned}, \qquad (1.8)$$

де K_{aq} – константа зв'язування іонів з мембраною; M_{aq} – концентрація іонів у водній фазі; p_{ion} – константа розподілення іонів у мембрану; k_{ion} – кінетична константа утворення комплексів іонів з окремою групою на поверхні мембрани; ψ_0 – поверхневий потенціал мембрани; $k_Б$ – константа Больцмана; A – константа; інші позначення див. у (1.6) та (1.7).

Взаємодія іонів з гомогенною поверхнею ліпідів при завданій концентрації визначається $K_{aq} \cdot p_{ion}$ – втім, як зазначають автори [208], параметри p_{ion} та k_{ion}, у свою чергу, є складними та відбивають специфіку взаємодії іону з мембраною.

1.2.4. Індивідуальна мембранотропна дія лікарських речовин та їх компонентів

Дослідження взаємодій ЛР з мембранами тривають протягом майже сторіччя [80]. На теперішній час поширюється уявлення щодо існування зв'язку між взаємодією ЛР з ліпідними мембранами та їх фармакокінетичними влас-

тивостями, зокрема біодоступністю, для широкого класу речовин: транквілізаторів, анестетиків, антидепресантів, міорелаксантів, стероїдів, ПАВ, седативних, наркотичних, антигістамінних препаратів тощо [77, 80, 105, 106, 176, 232].

Транспорт ЛР та інших компонентів лікарських препаратів (ЛП) крізь клітинну мембрану є одним з найважливіших етапів, оскільки обумовлює подальше розподілення ЛР у біологічних рідинах та тканинах організму [149, 169]. Молекули ЛР долають бішар переважно шляхом пасивної дифузії [122, 179, 233-235], причому неспецифічне зв'язування ЛР з мембраною визначається як один з аспектів дії ЛР [236]. Невеликі амфіфільні молекули здатні легко долати не тільки клітинні мембрани, але й гемато-енцефалічний бар'єр [122]. З даних [176] можна бачити кореляцію між збільшенням проникності мембрани ЯЛ й зниженням значень T_m та електричного опору мембран ДПФХ та ДМФХ, що, можливо, обумовлене зменшенням товщини мембрани.

Втім, прояви взаємодії ЛР з ліпідними мембранами далеко не вичерпуються процесом долання гідрофільно-гідрофобного бар'єру, а впливають на властивості мембрани та, згодом, клітини в цілому. Зокрема, для анестетиків було встановлене вплив на цілу низку мембранних функцій: фазовий стан, кривизну, товщину та гідратацію мембран, фотосинтез, активний транспорт, пасивну дифузію, окислювальний метаболізм тощо [49, 80, 91, 237].

Для ЛР багатьох фармакологічних груп встановлена безпосередня залежність між їх взаємодією з ліпідною мембраною та фармакологічною дією [86, 238-240]:

- Неспецифічність структури загальних *анестетиків* свідчить на користь того, що мішенями їх терапевтичної дії є саме мембрани, а не білкові структури [100]. Цей висновок збігається також з даними [181], згідно яким анестетик у активній формі занурений у мембрану більше, ніж у неактивній, та більшою мірою сприяє зниженню T_m та T_p (див. Рис. 1.3, с. 25). У [241] показано, що анестетики модифікують розподіл вільного об'єму у бішарі, що, в свою чергу, змінює профіль латерального тиску та конфор-

мацію мембранних білків до закритої форми і становить, власно, один з механізмів дії цих ЛР.

- Зміна внеску бішару в енергію конформаційних перебудов мембранних ліпідів внаслідок зв'язування ЛР з мембраною вказується як один з механізмів дії *антидепресантів* [242].
- Суттєві зміни властивостей клітинних бар'єрів вказані як основний механізм дії нестероїдних *протизапальних* препаратів [91, 167]. Зокрема, при внесенні до мембрани модельної протизапальної речовини лікофелону встановлено підвищення локального впорядкування алкільних ланцюгів ліпідів поряд зі зниженням щільності їх пакування [91].
- Взаємодія з мембранами *анальгетиків* може впливати на електростатичний потенціал мембрани, який, зокрема, є суттєвим для функціонування іонних каналів, що показано на прикладі парацетамолу [243].
- Численні експериментальні дані свідчать на користь того, що збурення властивостей мембрани та суттєве підвищення її проникності є однією зі складових дії багатьох *антимікробних* препаратів [160, 167].
- Показано, що взаємодія з клітинними мембранами *антибіотиків* є критично важливою в аспектах їх біодоступності та токсичності [238, 239, 244, 245], тоді як зміна ліпідної композиції бішару є одним з факторів резистентності клітин до дії антибіотиків [246-248].
- Амфіфільні ЛР різних фармакологічних груп (анестетики, антибіотики, антидепресанти тощо) викликають низку ефектів при взаємодії з мембранами: зміна організації ліпідів, руйнування мембрани, утворення каналів, неламелярних структур, інтердигітованої фази, індукування фліп-флоп переходів [249].

У мембранах фосфатидилетаноламіну у присутності космотропних речовин сахарози та гліцерину встановлене звуження температурного інтервалу існування L_α-фази: зниження температур переходів $L_\alpha \rightarrow H_{II}$ вкупі з підвищенням температур переходів $L_\beta \rightarrow L_\alpha$ [256]. Вказаний ефект зменшувався з підвищенням довжини вуглеводневих радикалів. Треба зазначити, що для ха-

отропних речовин (наприклад, для тіоцианату натрію) ефект був зворотнім – звуження діапазону існування L_α-фази. Встановлено також, що з підвищенням довжини радикалів зменшується параметр dT_m/dc для переходу $L_\beta \rightarrow L_\alpha$. Втім, у більш гідратованій мембрані ДПФХ (16:0/16:0 ФХ) цей параметр був вищий за такий у мембрані 16:0/16:0 ФЕ. Відзначено підвищення текучості мембран при зв'язуванні з багатьма ЛР, що інтерпретують як зниження впорядкованості ліпідів [154].

Важливим аспектом вивчення мембранотропної дії лікарських речовин є удосконалення уявлень щодо молекулярних механізмів їх дії [77, 106, 232, 250]. Так, загальноприйнятим є уявлення, що мембранотропна дія ЛР визначається їх коефіцієнтом ліпофільності *logP* та коефіцієнтом розподілу *logD* (ефективною ліпофільністю при завданому значенні pH [234]), – втім, існує й багато виключень з цієї закономірності [122]. Величина *logP* впливає не тільки на розподіл речовини у мембрані, а й на її розташування. Так, у [125] методом молекулярної динаміки було показано, що ланостерин (*logP* 8,7) занурений у мембрану більше, ніж Хол (*logP* 8,5). Подібний ефект був встановлений у [88] для похідних мероціаніну з різними довжинами вуглеводневих радикалів. Роль замісників функціональних груп ЛР у біодоступності ЛР визначена й для природного флавоноїду кверцетину [251]. Також важливу роль для МД має іонізація ЛР (залежна від pH середовища), яке великою мірою визначає їх розподілення в мембрану, дифузію тощо [151, 178, 234, 252].

В [80, 124] на підставі аналізу більше 500 речовин різних класів (у т.ч. ЛР) методом ДСК було встановлено та охарактеризовано 4 різні типи їх взаємодії з мембраною ДПФХ, які автор пов'язав з різними типами їх розташування. Згідно цій класифікації, речовини типу А розташовуються в бішарі у області вуглеводневих ланцюгів $C_1 – C_8$ та індукують розмивання ДСК-піку, тобто зменшення розміру кооперативного домену (див. п. 1.1.8), оскільки вказана область відповідає найбільшому ступеню впорядкованості алкільних ланцюгів (див. Рис. 1.8). Речовини типу В локалізуються в області інтерфейсу бішару, індукуючи зменшення розміру кооперативного домену та фазове

розділення. Речовини типу C локалізуються у області вуглеводневих ланцюгів C_{10} – C_{16} та знижують температуру фазового переходу. Нарешті, речовини типу D зв'язуються з поверхнею мембрани та індукують фазове розділення ліпідів без зменшення розміру кооперативного домену. Втім, зі зміною концентрації припускається зміна типу розташування: C → A, D → B та B → A.

Роль розташування молекули ЛР у мембрані демонструє, наприклад, робота [253], у якій досліджені фенольні та метильні похідні противірусної ЛР ресвератролу у бішарах ДПФХ. Методами ДСК та молекулярної динаміки показано, що наявність фенольної групи, на відміну від метильної, забезпечує локалізацію молекули поблизу поверхні мембрани завдяки утворенню водневих зв'язків, що викликає сильніші зміни основного та (особливо) передпереходу й може бути пов'язане з більшою антиоксидантною активністю таких похідних.

Встановлено, що розташування стеринів у ліпідному бішарі визначається гідрофільно-гідрофобним балансом, електростатичним потенціалом та гідратацією поверхні мембрани [254]. Поляризація π-системи та гідроксильної групи, а також кількість та напрямок водневих зв'язків має велике значення для МД стеринів оскільки визначає їх орієнтацію у мембрані та взаємодію з оточуючими молекулами ліпідів [254].

Важливою для взаємодії з мембранами є також ізомерія молекул ЛР. Так, для енантіомерів анестетика бупівакаїну була встановлена різниця в локалізації у мембрані, площі на ліпідну молекулу та середній міжліпідній відстані [255], при цьому підвищення текучості мембран при внесенні R(+)-енантіомеру було співвіднесено з його здатністю блокувати активність серцевих натрієвих каналів та мембранних рецепторів.

Загалом, взаємодія ЛР з мембраною подібна до взаємодії іонів (див. рівняння (1.8)), але ще більш ускладнена за рахунок варіацій розташування ЛР у мембрані, їх конформаційного та зарядового стану, специфіки відгуку мембрани, а у випадку багатокомпонентних мембран – ефектів упаковки ліпідів.

В роботі [256] на засадах загальних термодинамічних принципів отримана залежність $T_m(c)$, яка описує взаємодію космотропних та хаотропних речовин з модельними ліпідними мембранами:

$$\frac{dT_{\mathrm{m}}}{d\tilde{c}} = \frac{RT_{\mathrm{m}}^{\ 2}}{H}\left(x_2 - x_1\right)\left(1 - \frac{\tilde{c}_{\mathrm{L}}}{\tilde{c}}\right), \qquad (1.9)$$

де $\tilde{c}_L$, $\tilde{c}$ – мольні частки речовини, відповідно, у мембрані та у воді; x_1, x_2 – кількість молекул води на молекулу ліпіду у мембрані, відповідно, до та після фазового переходу; H – мольна ентальпія переходу.

З рівняння (1.9) можна бачити, що зміна T_m залежить як від властивостей мембрани, зокрема гідратації, так і від розподілення речовини між водною та ліпідною фазами.

Загалом на сьогодні зрозуміло, що взаємодія ЛР з мембранами є набагато складнішим процесом, ніж уявлялось раніше, – проте, її вивчення необхідне в силу неспроможності описати розподілення речовин в організмі, обмежуючись тільки механізмами білок-опосередкованого транспорту [257]. Сучасні дослідження взаємодії ЛР з ліпідним бішаром стрімко розвиваються, із залученням фармацевтичних, фізичних, біологічних та біофізичних методів. У фармацевтичній галузі, розвиваючи емпіричний підхід Ліпінськи [258], інтенсивно розроблюється напрямок розрахунків біодоступності ЛР на основі великого набору їх молекулярних дескрипторів (функціональних груп тощо), який у переважній більшості випадків (> 70 %) дає адекватні результати [259]. Суттєвим обмеженням такий підходу є неможливість висвітлити загальні механізми та закономірності взаємодій компонентів ЛП з ліпідними мембранами. Втім, результати численних біофізичних дослідженнь взаємодій ЛР та інших біологічно активних речовин (іонів, пептидів тощо) з ліпідними структурами можуть бути використані для виокремлення механізмів та визначальних молекулярних параметрів МД, загальні для ЛР різної хімічної структури та фармакологічних груп.

На підставі вивчення взаємодій ЛР з ліпідним бішаром розпочато новий напрямок сучасної ліпід-спрямованої терапії (membrane-lipid therapy), потенціал якої визначається для лікування цілої низки захворювань, у тому числі, запалень, метаболічних та аутоімунних розладів [50, 260]. Ця терапія базується на здатності деяких речовин модифікувати структуру ліпідного бішару та ліпідний склад мембран і таким чином опосередковано впливати на локалізацію та функціонування мембранних білків [50]. Між тим, очевидно, що не менш важливим є встановлення таких зв'язків саме для тих речовин, що модифікують бішар.

1.2.5. Взаємодія лікарських речовин з багатокомпонентними мембранами

Варіації ліпідного складу нативних мембран як за структурою полярної частини ліпідів, так і за набором жирнокислотних залишків (див. п. 1.1.1), а також асиметрія їх розподілення між внутрішнім та зовнішнім моношарами (див. п. 1.1.4) мають великий вплив на проникність ЛР крізь мембрану [125]. На сьогодні у модельних дослідженнях використовуються ліпідні композиції різного складу [254, 261-263], для яких, незважаючи на складність, вже встановлена низка фізико-хімічних механізмів МД.

Так, у [254] вказується, що на розташування стеринів у ліпідному бішари впливають структура ліпідів (як його гідрофобної й гідрофільної частин, так і області інтерфейсу), а також фазовий стан мембрани. Латеральні взаємодії у бішарі, які залежать від структури та динаміки фосфоліпідів, визначають конформацію, локалізацію та орієнтацію молекули стерину. Це, в свою чергу, визначає мембранну проникність, товщину та ступінь змішуваності стерину з мембраною (її «сорбційну ємність» по відношенню до даної речовини).

В роботі [262] доповідається про зворотну залежність розподілення таксанів в мембрану від довжини вуглеводневих радикалів ліпідів. Роль структури гідрофільної та гідрофобної частини ліпідів детально показано у [264]

на прикладі дігітоніну. В роботі [265] показано, що ступінь зв'язування інтегрального білку спектрину з мембранами з суміші ФХ та ФЕ з однаковими вуглеводневими радикалами знижувалася в міру подовження радикалу. Встановлено також, що специфічний ефект спектрину – підвищення латерального тиску у мембрані – посилювався в міру збільшення довжини насичених радикалів ліпідів, тоді як для ліпідів з ненасиченими радикалами він був у декілька разів меншим. В [122] встановлений зв'язок між значенням T_m багатокомпонентних мембран, яке визначається довжиною їх алкільних ланцюгів, та швидкістю гідролізу ліпідів, індукованого внесенням модельної ЛР раклоприду. Зміни у структурі полярної частини ліпідів привдодять до зміни дипольного потенціалу мембрани, що, згідно [261], визначє відмінності дії амфотерицину В в модельних мембранах різного складу.

Вплив ліпідного складу можна розглядати як окремий випадок спільної дії (див. п. 1.2.6). Так, у роботі [261] доповідається про залежність ефекту спільної дії антибіотика амфотерицину В та природного флавоноїду флоретину від ліпідного складу мембрани, оскільки вбудовування у мембрану амфотерицину В залежить від форми ліпідної молекули; у роботі [266] наводяться дані щодо підвищення проникності для ацетилхоліну мембран із вмістом від'ємно зарядженого ліпіду фосфатидилсерину. Для локальних анестетиків лідокаїну, мепівакаїну та ропівакаїну встановлено немонотонну залежність їх розріджувального ефекту у ленгмюрівських моношарах від концентрації Хол в сумішах 16:1/16:1 ФХ та КЛ [267]. В мембрані, яка утворена сумішшю ФХ та ФЕ, у присутності Хол спостерігалося підвищення розподілення білку спектрину в мембрану, що пояснювалося підвищенням кількості міжфазних границь, які слугують своєрідними сайтами зв'язування спектрину [265].

У мембранах, що утворені декількома видами ліпідів, можна спостерігати вплив ЛР на їх однорідність, оскільки присутність сторонніх компонентів зазвичай приводить до перерозподілення ліпідів між різними фазами, а отже до виникнення або посилення латеральної гетерогенності [109, 148, 268-270]. Подібний ефект спостерігається й при вбудовуванні у мембрану білків [271,

272] та відбувається, зокрема, за механізмом гідрофільно-гідрофобної невідповідності (hydrophilic-hydrophobic mismatch) – адаптації товщини гідрофобної області бішару до розміру зануреного у нього гідрофобного фрагменту [273-277]. Відоме і протилежне явище: перешкоджання фазовому розділенню у присутності сторонньої молекули, яке спостерігається, наприклад, у Холвмісних мембранах за присутності трегалози [127]. Загалом латеральна неоднорідність ліпідів приводить до перерозподілення гідратації ліпідів та вважається одним з ключових факторів, що впливають на стабільність мембрани [278].

1.2.6. Спільна взаємодія компонентів лікарських препаратів з модельними мембранами

Згідно канонічним уявленням фармакології [279], при спільному застосуванні ЛР між ними можуть спостерігатися фізико-хімічні, хімічні, фармакокінетичні та фармакодинамічні взаємодії. Фізико-хімічні та хімічні взаємодії ЛР можуть відбуватися як в організмі людини, так і поза ним (зокрема, в ЛП). Взаємодії ЛР з ліпідними мембранами належать до фармакокінетичних взаємодій, оскільки впливають на адсорбцію (всмоктування) ЛР [279, 280]. Таким чином, модельні ліпідні мембрани є унікальними об'єктами, які можуть надавати інформацію щодо фармакокінетичних взаємодій *in vitro*.

Разом із тим, кількість робіт, присвячених спільній МД речовин, значно менша за кількість робіт з вивчення індивідуальної МД, що, певно, обумовлене браком відповідних методик та теоретичного підґрунття. На сьогодні роботи з цієї тематики вкрай розрізнені – втім, майже в усіх наявні специфічні та згодом непередбачувані ефекти спільної дії, які умовно можна можна умовно віднести до 3-х груп: (1) зміна зв'язування з мембраною [227, 281-289]; (2) зміна проникності мембрани [244, 290-292]; (3) якісна або кількісна зміна ефекту [181, 261, 293-301] (детальніше див. Табл. В1, Додаток В).

Загальновідомо, що між компонентами ЛП, зокрема між ЛР та допоміжними речовинами (ДР), можуть відбуватися різноманітні фізико-хімічні

взаємодії (утворення комплексів та сполук), що порушує питання фармацевтичної несумісності* як компонентів ЛП, так і окремих ЛР між собою [302, 303]. Багато ДР здатні зв'язуватися з білками та ліпідами біомембран, впливати на тікучість ліпідів та проникність біомембран, що є одним з механзімів впливу ДР на біодоступність ЛР [105, 303-306]. Згідно [105, 303], механізми модуляції (підвищення або зниження) біодоступності ЛР у присутності ДР полягають у зміні дифузії ЛР у тканини, утворенні сполук ЛР-ДР, ефективному зв'язуванні ДР з клітинними мембранами, конкурентному витісненні ЛР з мембран, зміні текучості мембран, а також дегідратації клітин. Ці дані розкривають важливість проблеми взаємодій компонентів ЛП, втім не вісвітлюють усіх механізмів їх спільної взаємодії з ліпідним бішаром біомембран.

На сьогодні не існує універсальної термінології для усіх ефектів спільної дії; загалом в спеціалізованій літературі виділяють декілька принципово різних випадків: адитивність (ефект спільної дії дорівнює алгебраїчній сумі індивідуальних ефектів, тобто адитивному ефекту), синергізм (спільний ефект перевищує адитивний) або антагонізм (спільний ефект менший за адитивний) [169, 279]. Зазвичай під терміном «синергізм» (від гр. συνέργεια – співробітництво, сприяння, взаємодія) мається на увазі дія в одному напрямку двох або більше речовин. Терміном «антагонізм» (від гр. ανταγωνισμός – змагання, боротьба конкуренція) позначають протилежне явище.

Ефекти спільної дії лікарських речовин, встановлені в модельних ліпідних мембранах, найчастіше інтерпретують у зв'язку з їх фармацевтичною дією [283, 307, 308]. Табл. 1.2 містить наявну в літературі [169, 279] класифікацію ефектів спільної фармакологічної дії ЛР. Поряд з вищевказаними випадками адитивності, синергізму та антагонізму, виокремлюють також випадки сенситізації (потенціювання) або десенсетизації (інгібування), коли індивідуальна дія однієї ЛР не проявляється (A = 0 або B = 0), втім, змінює дію іншої.

---

* Згідно визначенню, «фармацевтическими несовместимостями (*Incompatibilita pharmaceutica*) называются такие сочетания ингредиентов, в которых в результате взаимодействия лекарственных веществ между собой и со вспомогательными веществами существенно изменяются их физико-химические свойства, а тем самым и терапевтическое действие» [428].

Таблиця 1.2

Характеристики ефектів спільної дії лікарських речовин

(А та В – ефекти індивідуальних речовин, АВ – ефект спільної дії)

Назва	Ефект	Умови
Синергізм	$AB > A + B$	$A \neq 0, B \neq 0$
Сенситізация (потенціювання)	— ″ —	$A = 0$ або $B = 0$
Адитивність (сумація)	$AB = A + B$	Будь-які А та В
Антагонізм	$AB < A + B$	$A \neq 0, B \neq 0$
Десенситизація (інгібування)	— ″ —	$A = 0$ або $B = 0$

1.2.7. Кінетичні дослідження мембранотропної дії лікарських речовин методом калориметрії

Більшість сучасних калориметричних досліджень взаємодій ЛР з мембранами проводяться у рівноважних умовах. Втім, існує низка робіт, присвячених вивченню кінетичних характеристик вказаного процесу за допомогою методу ДСК [309-312]. Подібні дослідження моделюють кінетику взаємодії ЛР з мембраною, опосередкованої як ліпофільною, так і гідрофільною складовими мембранного середовища.

Суть методики кінетичних досліджень полягає в отриманні низки послідовних ДСК-термограм на різних стадіях встановлення рівноваги, починаючи одразу від моменту внесення сторонньої речовини у мембрану. За допомогою цієї методики у [311] було вивчено мультиламелярні ліпосоми ДПФХ, до яких додавали водний розчин ДМСО (мольне співвідношення ДМСО : вода варіювалося від 1 : 25 до 1 : 2). Показано, що в таких системах при інкубації при 0° С протягом доби спостерігалося з'явлення нової субгелевої фази ДПФХ на 20 °С нижче $L_{\beta'}$-фази. Упродовж подальших двох місяців інкубації

при 0° С ДСК-пік нової фази розщеплювався на два піки, що авторі [311] пояснюють утворенням доменів різного складу.

У роботі [309] така методика була застосована для вивчення адсорбції ароматичних вуглеводнів (антрацену, пірену та бензопірену) на мембрані ДМФХ. Показано, що додавання вуглеводнів до мембрани у чистому вигляді (сухий порошок) не викликало змін ДСК-термограм при інкубації упродовж 12 годин. Втім, при додаванні до ліпосом ДМФХ еквімолярної кількості ліпосом з вказаними речовинами (6 мол. % від ДМФХ) у тих самих умовах зареєстроване $\Delta T_m = -0{,}6 \div -1{,}5$ °С (ефект зростав у порядку пірен < бензопірен < антрацен). Для всіх трьох речовин значення ΔT_m, отримані в кінетичному режимі, добре узгоджувалися з результатами, отриманими для цих систем у рівноважних умовах. При цьому автори вказують, що дифузія досліджуваних гідрофобних речовин безпосередньо крізь водне середовище неможлива, тож спостережувані ефекти відбуваються виключно завдяки участі ліпідів, що має загальнобіологічне значення. Такий самий висновок зроблений і у роботі [310], присвяченій взаємодії нітро-похідних ароматичних вуглеводнів з ліпосомами ДМФХ.

На відміну від ароматичних вуглеводнів, для лінолевої кислоти у кінетичному режимі показана здатність дифундувати крізь водне середовище, зв'язуватися з ліпосомами ДМФХ та проникати крізь ліпідні бішари [312]. Такий висновок зроблений на підставі того, що внесення до суспензії ліпосом ДМФХ лінолевої кислоти в чистому вигляді змінювало ДСК-профілі як моноламелярних, так і мультиламелярних ліпосом. При цьому кількість бішарів у ліпосомі мала значення для кінетики процесу (у моноламелярних ліпосомах взаємодія відбувалася ефективніше), але не для граничного значення ефекту. У моноламелярних ліпосомах із вмістом 9 моль. % лінолевої кислоти параметр ΔT_m досягав рівноважного значення (~ –1,8 °С) вже після 48 годин інкубування, тоді як для мультиламелярних ліпосом він у цей час був утричі менший, що автори пов'язують з обмеженнями при доланні водних прошар-

ків. Отримані результати, на думку авторів, доводять можливість пасивної дифузії *in vivo* для кислот такого типу.

Таким чином, очевидна інформативність кінетичних досліджень із застосуванням ДСК. Така методика має враховувати можливість пасивної дифузії ЛР як крізь ліпідне, так і крізь водне оточення, що визначається хімічною структурою ЛР. Критерієм коректності опрацьованої методики може виступати збіг даних, отриманих у кінетичних та статичних умовах.

1.3. Висновки до розділу 1

У першому розділі охарактеризована структура та основні властивості ліпідного бішару, розглянутий мезоморфізм ліпідних структур та фазові переходи між ними, а також взаємодії між ліпідними структурами та ЛР:

1. Ламелярні бішарові та мультибішарові ліпідні мембрани зазнають фазових переходів, які відповідають термодинамічним станам ліпідів у складі клітинних мембран. Важливими специфічніми характеристиками фазового стану ліпідного бішару є гідратація, вільний об'єм та кооперативність. Амфіфільна природа ліпідів зумовлює необхідність відокремлення механізмів, які керують змінами площ перетину полярної та неполярної частин ліпідів, тобто змінами параметрів полярної поверхні та неполярного внутрішнього об'єму ліпідного бішару.

2. Для ЛР різних фармакологічних груп (анестетики, протизапальні, противірусні, психотропні препарати тощо) показано зв'язок їх мембранотропних ефектів зі структурою та фармакологічними властивостями. Показано, що індивідуальні ефекти ЛР у мембранах стосуються ступеню їх зв'язування, розподілення, також термодинамічних властивостей та впорядкування мембран.

3. Встановлено, що 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. Втім, найважливішим критерієм у визначенні МД

уявляється структура сторонньої молекули, яка виводить на перший план ті чи інші механізми МД.

3. Обгрунтовано важливість ролі ліпідного складу мембрани для її взаємодії з ЛР, зокрема фазового розділення ліпідів у присутності ЛР.

4. Проаналізовано наявні дані літератури щодо спільних взаємодій двох речовин з ліпідними мембранами. Показано, що спостережувані ефекти стосуються зміни зв'язування ЛР з мембраною, зміни проникності мембрани та зміни ефекту, кількісної або якісної.

5. Проведено огляд робіт, присвячених застосуванню методу ДСК для вивчення взаємодій ЛР з модельними мембранами у кінетичному режимі, на підставі якого показано, що методика подібних досліджень має враховувати можливість пасивної дифузії ЛР як крізь ліпідне, так і крізь водне оточення, а критерієм коректності опрацьованої методики може виступати збіг даних, отриманих у кінетичних та статичних умовах.

6. Показано, що вивчення механізмів взаємодії ЛР з ліпідним бішаром надає цінну інформацію для нового напрямку сучасної ліпід-спрямованої терапії, яка базується на встановленні зв'язків «структура – властивості» для ліпідів та білків. Між тим, очевидно, що не менш важливим є встановлення таких зв'язків також і для ЛР.

7. Проведено аналіз методів, якими вивчають взаємодії ЛР з мембранами, а також застосованих в цієї галузі модельних ліпідних середовищ. Показано доцільність використання мембран зі штучних ліпідів для досліджень методом калориметрії.

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

Основні висновки цього розділу викладено у роботах [3], [5], [6], [13], [15], [18], [21], [22], [46], [47].

РОЗДІЛ 2.
ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали

2.1.1. Речовини, що використовувалися для створення модельних ліпідних мембран

Для отримання модельних ліпідних мембран в роботі використовувалися *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилхолін (ДПФХ), *L*-α-диміристоїлфосфатидилхолін (ДМФХ), кардіоліпіну натрієва сіль (КЛ) та холестерин (Хол) виробництва «Sigma-Aldrich»; *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилгліцерину натрієва сіль (ДПФГ) виробництва «Lipoid»; *L*-α-дипальмітоїлфосфатидилетаноламін (ДПФЕ) виробництва «Fluka», а також цереброзіди (Цб) виробництва «BASF».

Структури та деякі характеристики використовуваних ліпідів наведені у Додатку Б (Табл. Б1). У якості структурних характеристик ліпідів, важливих для міжмолекулярної взаємодії зі сторонніми компонентами, у Табл. Б1 наведені максимальний лінійний розмір молекули (r_x) та коефіцієнт анізометрії k_a (див. п. 2.2.15). Втім, для Цб, ЯЛ та КЛ, які становили суміш ліпідів із різними жирнокислотними залишками (R1 – R4), визначення таких структурних параметрів було неможливе.

2.1.2. Досліджувані компоненти лікарських речовин

В роботі використані 38 речовин вітчизняного та зарубіжного виробництва. Зокрема, тилорон, фенібут, фенспірид та мебікар були надані для досліджень компанією «Інтерхім» (м. Одеса), метронідазол, циклосерин та сукцинілхоліну дигідрат – ООО «Enamine» (м. Київ); декаметоксин, етоній, тіоній, тетраметиламонію хлорид та аспірин – Державним науковим центром лікарських засобів (м. Харків); азитроміцин дігідрат – компанією «Biochemie, S.A.» (Іспанія).

Граміцидин S виробництва ЗАТ «Производственная фармацевтическая компания «Обновление»» (Російська Федерація) був використаний після додаткової очистки. Кон'югати метотрексату та бетулонової кислоти (SA-1, SA-9 та SA-188) були вперше синтезовані та надані для дослідження к.х.н. Семененком О.М. (ДНУ «Інститут монокристалів НАНУ», м. Харків) Декстран-поліакриламідні сополімери з наночастинками Au або Ag отримані та надані для досліджень проф. Н.В. Куцевол (КНУ ім. Т.Г. Шевченка, м. Київ). В роботі також використані: диметилсульфоксид зневоднений «Gaylord Chemical» (США); хлорид, нітрат та амонійний нітрат церію виробництва «Sigma-Aldrich» (Німеччина); галогеніди лужних, лужно-земельних металів марки ОСЧ; нітрати срібла та купруму марки ОСЧ; гіпромелоза «Tian Ruitai cellulose» (Китай); магнію стеарат, кальцію стеарат, стеаринова кислота, лауринова кислота, лактози моногідрат «Molkerei MEGGLE Wasserburg» (Німеччина); полівінілпіролідон (повідон К-29/32) «International Speciality Products» (Швейцарія).

Структури та деякі характеристики досліджуваних речовин наведені у Табл. Б2 Додатку Б. Молекулярні параметри речовин розраховані за методикою, описаною у п. 2.2.15.

Також у роботі використані готові лікарські препарати: «Аміксин ІС» та «Нообут ІС» («Інтерхім», Україна), «Аспірин Комплекс» («Quimica Farmaceutica Bayer, S.A.», Іспанія), «Метрогіл» («Unique Pharmaceutical Laboratories», Індія), «Метронідазол Юрія-Фарм» («Юрія-Фарм», Україна), «Трікасайд» («Pharmasciens Inc.», Канада), «Ереспал» («Les Laboratoires Servier Industrie», Франція), «Мірамістин» («Дарниця», Україна), «Хемоміцин» («Хемофарм», Сербія), «Азитроміцин» («Alembic Pharmaceuticals Limited», Індія) та «Азицин» («Дарниця», Україна).

2.1.3. Приготування модельних ліпідних мембран

Для приготування модельних ліпідних мембран завданого складу та вмісту досліджуваних речовин ліпіди розчиняли у хлороформі або етиловому

спирті. Розчинник випаровували за допомогою концентратору «Concentrator Plus» (Eppendorf), після чого зразки гідратували бідистильованою водою (60 ÷ 90 мас. %). В залежності від властивостей досліджуваних речовин їх вносили до системи (у необхідному співвідношенні до ліпідів) разом з органічним розчинником або у вигляді водного розчину. При дослідженні спільної дії GS та $CaCl_2$ у якості субфази використовували комерційний лікарський препарат «Кальцію хлорид».

Гідратовані зразки модельних мембран термостатували упродовж 4–5 діб при температурі 5 °С. Протягом цього часу зразки 3 – 4 рази прогрівали до температури 50 °С та ретельно перемішували. Вміст води у мембрані підтримували постійним. Масу зразків контролювали за допомогою мікровагів «Mettler XP26» (Mettler-Toledo).

2.1.4. Приготування препаратів еритроцитів

Для досліджень використовувалися еритроцити донорів-добровольців з числа співавторів відповідних наукових публікацій. Свіжі зразки крові (близько 50 мкл) розташовували на предметному склі мікроскопу та розбавляли 50 мкл фізіологічного розчину, чистого або із вмістом досліджуваної речовини у належній концентрації. Після швидкого ретельного перемішування (близько 10 с) препарат накривали покривним склом та розташовували на столику мікроскопа. Цей момент вважали точкою відліку часу у кінетичних дослідженнях.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Диференціальна скануюча калориметрія

Застосування методу диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) до вивчення фазових переходів у ліпідних мембранах викладено у низці робіт [94, 185-187, 313-316]. Найбільш інформативними для вивчення модельних ліпідних мембран методом ДСК є фазові переходи ліпідних структур, параметри яких вкрай чутливі до щонайменших змін будови мембрани. У біофі-

зичних дослідженнях методом ДСК вивчають переходи між ламелярними структурами, наближеними до фазового стану ліпідів у клітинах: $L_{\beta'}(L_\beta) \leftrightarrow P_{\beta'}(P_\beta) \leftrightarrow L_\alpha$ (або $L_{\beta'}(L_\beta) \leftrightarrow L_\alpha$) та $L_\alpha \leftrightarrow H_{II}$ (див. п. 1.1.2 та Рис. 1.3).

Треба зазначити, що загальна двофазна модель фазових переходів (А ↔ В) непридатна у випадку фазових переходів ліпідних структур завдяки явищу кооперативності (детальніше див. п. 2.2.7).

Згідно рівнянню Вант-Гофа, температурна залежність константи рівноваги процесу фазового переходу має вигляд:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H_{ВГ}}{RT^2}, \tag{2.1}$$

де K – константа рівноваги процесу; T – абсолютна температура; $\Delta H_{ВГ}$ – ентальпія Вант-Гофа; R – універсальна газова стала.

У випадку складніших станів системи застосовують моделі з окремими рівняннями для кожного зі станів – складових загального переходу, із відповідним набором параметрів $\Delta H_{ВГ}$, напівширини переходу та ін. [162].

Залежність $C_p(T)$ для частково кооперативного фазового переходу у ліпідних структурах описується рівнянням [315]:

$$C_p(T) = \frac{K(T)\Delta H_{ВГ}\Delta H}{(1+K(T))^2 RT^2}, \tag{2.2}$$

де C_p – теплоємність при постійному тиску; ΔH – калориметрична ентальпія; інші позначення див. у (2.1).

Значення $K(T)$ визначається з (2.1) як:

$$K(T) = \exp\left[-\frac{\Delta H_{ВГ}}{RT}\left(1-\frac{T}{T_m}\right)\right], \tag{2.3}$$

де T_m – температура плавлення мембрани.

2.2.2. Методика вимірювання

Схематично метод ДСК можна описати наступним чином. У комірці ДСК розташовані два тиглі: тигель з досліджуваним зразком та тигель порівняння (зазвичай у якості середовища порівняння обирається повітря). Температура тиглю порівняння (T_r) змінюється за завданою програмою із певним часом затримки відносно температури печі (T_c), пропорційним швидкості сканування. У сучасних калориметрах ця затримка компенсується автоматично шляхом калібрування приладу. Температура тиглю зі зразком (T_s), яка становить ось абсцис ДСК-термограми, поза межами фазового переходу змінюється із постійною затримкою відносно T_r, а в області фазового переходу зразку (теоретично) не змінюється. Величина $\Delta T = T_s - T_r$ реєструється як диференціальний сигнал ЕДС і становить ось ординат ДСК-термограми. На величину ΔT також впливає швидкість сканування, приводячи до т. зв. інструментального розширення піку.

Дослідження методом ДСК проводили за допомогою мікрокалориметру «Mettler DSC 1» (Mettler-Toledo) та калориметричного блоку термоаналітичної системи «Mettler TA 3000» (Mettler). Досліджувані зразки (15 – 20 мг), запечатані у стандартних алюмінієвих тиглях вмістом 40 мкл, сканували у режимі «охолодження – нагрівання» декілька разів. Відтворюваність ДСК-профілей у послідовних циклах сканування слугувала критерієм стабільності та якості зразків. Швидкість термічного сканування, за винятком кінетичних досліджень (див. п. 7.1), становила 1 або 2 К/хв.

Експериментальні похибки вимірювання, визначені як стандартне відхилення результатів для 15 незалежно приготованих зразків мембран ДПФХ, становили: для температури – 0,15 / 0,25 °С; для ентальпії – 2,6 / 0,4 кДж/моль; для напівширини – 0,23 / 0,18 °С; для гістерезису – 0,3 / 0,5 °С; для асиметрії – 0,05 / 0,07 (позначка «/» розділяє похибки, визначені для основного та передпереходу). Детальніше усі вказані параметри розглянуті нижче.

2.2.3. Температура фазового переходу

Температура основного фазового переходу (T_m) – комплексний параметр, пов'язаний з електронною та геометричною структурою ліпідів, в'язкістю та топологією поверхні мембран, а також з низкою інших факторів [122]. Зниження T_m є індикатором розрідження бішару, тобто зниження його впорядкованості [309]. Згідно [309], зниження T_m відбиває підвищення текучості мембран. Температура передпереходу T_p визначається з дещо більшою похибкою, ніж T_m (див. п. 2.2.2) – певно, внаслідок суттєвої залежності характеристик складчастої фази від термічної історії зразка [75].

Зсуви температур фазових переходів (ΔT_m та ΔT_p) при внесенні до мембрани досліджуваних речовин визначили як:

$$\Delta T_m = T_m - T_m^{\,0}\,;\ \Delta T_p = T_p - T_p^{\,0}, \qquad (2.4)$$

де T_m, T_p – температури фазових переходів ліпідної мембрани із вмістом досліджуваної речовини; $T_m^{\,0}$, $T_p^{\,0}$ – температури фазових переходів вихідної мембрани.

Для зручності порівняння даних, доцільно застосовувати значення зсуву температури на одиницю концентрації (параметр мембранотропної активності), який, по суті, є параметром dT_m/dc рівняння (1.9):

$$a_{wt} = \Delta T_m/c_{wt};\ a_{mol} = \Delta T_m/c_{mol}, \qquad (2.5)$$

де a_{wt} – масова мембранотропна активність, a_{mol} – мольна мембранотропна активність.

Беручи до уваги постійність дисперсійних сил на одиницю поверхні молекули [317], у випадках, коли міжмолекулярна взаємодія речовини із мембраною відбувається неспецифічно (тобто об'ємно-адитивно), порівняння МД коректно проводити за параметром a_{wt}. Коли ж взаємодія специфічна, тобто важлива стехіометрія зв'язування, доцільніше використовувати пара-

метр a_{mol}. В такій формі параметра у врахований коефіцієнт розподілення речовини між водною та ліпідною фазами (за даної концентрації), який є індивідуальною характеристикою кожної речовини.

2.2.4. Теплоємність, ентальпія та ентропія фазового переходу

Термограми досліджуваних зразків в координатах теплоємність (c_P) – температура (T) були отримані на підставі співвідношення:

$$c_p(T) = \left(\frac{\partial H}{\partial T}\right)_P, \tag{2.6}$$

де T – температура, H – кількість тепла, необхідного для зміни температури зразка на 1 °С при постійному тиску P.

Оскільки теплоємність зразка є функцією температури, це слід враховувати при визначенні ентальпії фазових переходів. Фактично, калориметрична ентальпія ΔH визначається площею піку під ДСК-кривою з урахуванням базисної лінії, тобто:

$$\Delta H = \int_{T_1}^{T_2} C_P(T)dT. \tag{2.7}$$

де T_1 и T_2 – начальна та кінцева точки фазового переходу (в інших позначеннях – T_{onset} та T_{endset}).

У сучасній літературі замість залежностей $c_p(T)$ широко використовують нормовані ДСК-термограми, які отримують з оригінальних кривих шляхом нормування сигналу ДСК на масу ліпідів, що зазнають фазовий перехід.

Встановлено, що значення $c_p(T_m)$ знаходиться у лінійній залежності із модулями стисливості та еластичності ліпідного бішару, при цьому коефіцієнт пропорційності не залежить від ліпідного складу мембрани [318, 319].

Значення ентропії фазового переходу отримують як

$$\Delta S = \int_{T_1}^{T_2} \frac{C_p}{T} dT = \frac{\Delta H}{T_G}, \tag{2.8}$$

де T_G – температура Гіббса, або термодинамічна температура фазового переходу.

2.2.5. Напівширина та гістерезис фазового переходу

Напівширина піку основного переходу ($\Delta T_{m1/2}$) визначається як ширина ДСК-піку на половині його висоти; залежно від складу мембран вона змінюється у досить широких межах: від 0,1 °С для чистих фосфоліпідів до 15 °С та більше – для біологічних мембран [188, 320]. Напівширина фазового переходу зростає зі зростанням швидкості термосканування (відбиває інструментальне поширення піку ДСК, див. п. 2.2.2) та зменшенням розміру кооперативного домену (детальніше див. п. 2.2.7). До зростання напівширини приводить й дегідратація поверхні мембрани [71]. Напівширина передпереходу ($\Delta T_{p1/2}$) дещо більша за основний, зокрема внаслідок неоднорідності структури складчастої фази [75].

Гістерезис фазових переходів розраховували як

$$h_m = T_m^{\text{нагрів}} - T_m^{\text{охол}}; \; h_p = T_p^{\text{нагрів}} - T_p^{\text{охол}}, \tag{2.9}$$

де верхні індекси позначають відповідний режим термосканування (нагрівання та охолодження).

Гістерезис фазових переходів відбиває водночас нескомпенсовану інструментальну затримку T_s відносно T_r (див. п. 2.2.2), а також швидкість фазового переходу. При однаковій швидкості термосканування перша складова

є постійною, – тож, зміни гістерезису при внесенні до мембрани досліджуваних речовин безпосередньо пов'язані зі змінами швидкості фазового переходу.

Передперехід та основний перехід як фазові переходи I роду проходять через стадію утворення зародків нової фази критичного розміру [94]. Отже, швидкість фазового переходу визначається двома головними факторами: вірогідністю утворення зародків нової фази критичного розміру та швидкістю поширення фронту нової фази [53]. Існування неоднорідностей (у т.ч. на межах доменів) сприяє першому з цих факторів, збільшення розміру доменів – другому. Враховуючи, що зміни напівширини зворотні до розміру доменів (див. (2.11), (2.12)), зниження гістерезису разом зі збільшенням напівширини свідчить про підвищення латеральної гетерогенності мембрани при внесенні ЛР.

2.2.6. Асиметрія піку фазового переходу

Асиметрія піку зазвичай застосовується для описання спектрофотометричних піків, але й у калориметричних дослідженнях вона є джерелом цінної інформації. Однією із зручних форм представлення асиметрії є різниця між температурою максимуму піку та серединою його напівширини:

$$a_m = T_m - T_m^c;\ a_p = T_p - T_p^c, \qquad (2.10)$$

де T_m^c, T_p^c – середина напівширини піків основного та передпереходу, відповідно; a_m, a_p – значення асиметрії відповідних піків (див. Рис. 2.1).

Якщо високотемпературна частина піку ширша за низькотемпературну, асиметрія набуває позитивного значення, і навпаки. Загалом, асиметрія піку фазового переходу відбиває цілу низку процесів, що відбуваються у мембрані: (1) кінетику фазового переходу [316]; (2) швидкість температурного сканування (див. п. 2.2.2); (3) спорідненість внесеної речовини до певної термодинамічної фази; (4) фазове розділення. Фактори (1) та (2) приводять до поширення високотемпературної частини піку у порівнянні із низькотемпера-

турною (див. Рис. 2.1), отже до певної позитивної величини асиметрії піку вихідної мембрани. Фактори (3) та (4) можуть сприяти наростанню низько- або високотемпературної частки піку, отже зсуву первісного значення асиметрії у бік підвищення або зниження. У неповністю гідратованих мембранах асиметрія піку основного переходу зсувається у бік позитивних значень [71].

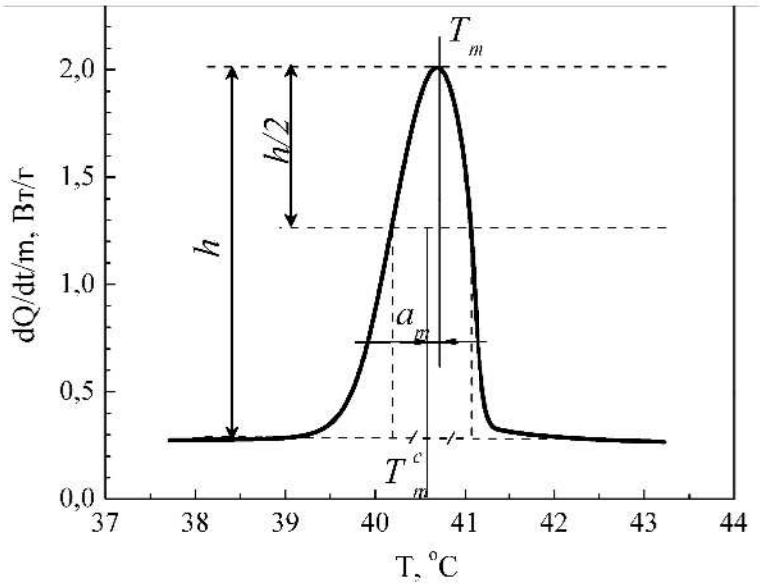


Рис. 2.1. Визначення асиметрії піку основного фазового переходу ДПФХ (h – висота піку; інші позначення див. у (2.10)).

2.2.7. Кооперативність фазового переходу

Значення величини кооперативного домену *CN* обчислювалося за формулою [52, 134]:

$$CN = 4RT_m^2 /(\Delta T_{m1/2}\Delta H_m), \qquad (2.11)$$

або за формулою [321]:

$$CN = 4RT_m^2(d\eta/dT)_{Tm}/\Delta H_m, \qquad (2.12)$$

де η – частка молекул, що зазнали фазового переходу до моменту нагрівання системи до температури T_m.

Значення *CN*, розраховані за формулами (2.11) та (2.12) добре збігалися між собою (коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона $r = 0{,}993$).

2.2.8. Обробка термограм

Обробка ДСК-термограм проводилася з використанням програмного забезпечення приладу «Mettler DSC 1», а також ПЗ, що вільно розповсюджується, QTiPlot. На підставі оригінальних термограм визначали температуру і ентальпію основного переходу ліпідних мембран (T_m, ΔH_m), а також передпереходу (T_p, ΔH_p).

Нормування ДСК-термограм проводилося на загальну масу тих ліпідів, що набували фазового переходу у діапазоні температур, що сканувався. Нормовані ДСК-термограми застосовувалися для забезпечення візуального порівняння ДСК-піків, отриманих для різних зразків.

Розкладання піків є стандартною процедурою аналізу ДСК-термограм складних систем та процесів [185]. Розкладання ДСК-піків на гаусіани і визначення їх параметрів проведено за допомогою ПЗ, що вільно розповсюджується, «QtiPlot 0.9.8.9». Аналітичним критерієм коректності розщеплення слугував коефіцієнт детермінації R між оригінальною та огинальною кривими (алгебраїчною сумою складових піків), який мав становити не менше 0,98.

2.2.9. Фур'є-ІЧ-спектроскопія

Метод Фур'є-ІЧ-спектроскопії використовувався у даному дослідженні для визначення конформаційних змін алкільних ланцюгів ліпідів, змін гідратації окремих груп ліпідів (фосфатних та карбонільних), змін смуг валентних коливань води, а також для встановлення характеристичних смуг поглинання деяких з досліджуваних ЛР.

Фур'є-ІЧ-спектри* було отримано за допомогою спектрофотометру «Spectrum One» (Perkin-Elmer) як середнє 4-х послідовних сканувань. Зразок (5 – 10 мкл) розташовували між пластинами ZnSe за методом розчавленої краплі. Для подальшої обробки спектрів власне поглинання ZnSe було враховане як базисна лінія.

Детальна обробка ІЧ-спектрів наведена у п. 6.6.

2.2.10. Термогравіметричний аналіз

Метод термогравіметричного аналізу (ТГА) дозволяє реєструвати масу досліджуваного зразка m у заданному температурному режимі: ізотермічному (задані температура T та час термостатування τ) або кінетичному (задані інтервал температур $T_1 \div T_2$ та швидкість термосканування $x = dT/d\tau = \text{const}$). При застосуванні кінетичного режиму окрім кривих ТГА – $m(T)$ – будували також диференціальні термогравиметричні криві (ДТГ) – $dm/d\tau(T)$. Криві ТГА та ДТГ отримували за допомогою термогравіметричного модулю TG 50 термоаналітичної системи "Mettler TA 3000" (Швейцарія).

Вивчення термостабільності зразків ЛР методом ТГА відбувалося у кінетичному режмі в діапазоні температур 30 ÷ 300 °С зі швидкістю сканування 5 К/хв. Експериментальна похибка визначння маси зразку становила 0,01 мг, визначення температури – 0,3 °С.

Метод ТГА був застосований в даній роботі також для вивчення гідратаційних властивостей досліджуваних речовин на основі кінетики десорбції води. Гідратовані зразки масою 4 ÷ 6 мг нагрівали у діапазоні температур 50 ÷ 100 °С зі швидкістю 0,5 К/хв у стандартному тиглі з оксиду алюмінію об'ємом 160 мкл з перфорованою кришкою. По закінченні вимірів зразок термостатували при температурі 110 °С упродовж 10 хв. для визначення маси сухої речовини.

---

* Фур'є-ІЧ-спектри було отримано к. х. н. Д.С. Софроновим (ДНУ НТК «Інститут монокристалів НАНУ»).

Процеси десорбції води чи газу можуть бути описані рівнянням Больцмана [322]:

$$n_{des} = A \cdot e^{\frac{-\Delta H}{RT}}, \qquad (2.13)$$

де n_{des} – кількість молекул десорбованої воді, ΔH_{des} – ентальпія десорбції води, T – абсолютна температура, A – константа десорбції, R – універсальна газова стала.

Логарифмування рівняння (2.13) дає:

$$\ln(n_{des}) = \ln A - \frac{\Delta H_{des}}{RT}. \qquad (2.14)$$

Тож, величину ΔH_{des} можна отримати з даних ТГА як тангенс куту нахилу прямої, побудованої у координатах $\ln(n_{des})$ *vs.* $(1/T)$. Аналогічну формулу використано в [323] для визначення ентальпії сублімації.

У якості реперного зразка використовувалась дистильована вода. Треба відмітити, що в даних експериментальних умовах значення ентальпії десорбції для чистої води становило ΔH^{w}_{des} = 49,0 ± 0,4 кДж/моль, що перевищує табличну величину 40,6 кДж/моль. Така похибка, певно, пов'язана із малим діаметром вимірювального тигля (6 мм), що призводить до додаткового внеску у поверхневий натяг. Для врахування цього користувалися величиною

$$\Delta\Delta H^{w}_{des} = \Delta H_{des} - \Delta H^{w}_{des}. \qquad (2.15)$$

Для кожного зразка було виконано 4 ÷ 6 вимірів, на підставі яких визначено середнє значення та експериментальну похибку.

Методом ТГА був визначений мольний вміст кристалогідратної води у стеаратах кальцію та магнію:

$$n = \frac{(m_1 - m_2) \cdot M_{ЛР}}{M_{н20}} \cdot 100\%, \qquad (2.16)$$

де m_1 та m_2 – маса зразка, відповідно, до та після видалення кристалогідратної води (г); m_c – маса сухого зразка (г); $M_в$ та $M_{ЛР}$ – молекулярні маси води та ЛР, відповідно.

За допомогою методу ТГА було визначено також енергію активації десорбції води з кристалогідратів кальцію та магнію за формулою Кісінжера [324, 325]:

$$\ln\frac{x}{T_{dh}^2} = -\frac{E_a}{RT_{dh}} + \text{const}, \qquad (2.17)$$

де x – швидкість сканування (0,08 ÷ 0,17 К/с); E_a – енергія активації дегідратації; T_{dh} – абсолютна температура дегідратації.

2.2.11. Малокутове рентгенівське розсіювання

Метод малокутового рентгенівського розсіювання (МКРР) був застосований для отримання значень періода повторюваності бішарів (d_L) у мультибішарових модельних мембранах ДПФХ та дослідження змін цього параметра у присутності компонентів ЛП. Профілі МКРР* були отримані за допомогою рентгенівського обладнання Rigaku з швидко-обертовим мідним анодом SMAXS-3000 Point SAXS. Опромінювання велося на довжині хвилі 1,54 Å.

Зразки у боросилікатних капілярах діаметром 1,5 мм і товщиною стінки 0,01 мм (W. Muller, Berlin, Germany) були фіксовані на температурному тримачі спектрометра. Вимірювання проводили в діапазоні температур 28 ÷ 66 °С.Точність вимірювання температур складала 0,5 °С. Час термостатування зразка при кожній температурі становив 20 хвилин.

Період повторюваності d_L визначали як

$$d_L = 2\pi/nq, \qquad (2.18)$$

---

* Дані МКРР було отримано та оброблено к. ф.-м. н. Д.В. Соловйовим у Московському фізико-технічному інституті (м. Долгопрудний, Російська Федерація).

де q – координата положення піка, а n – порядок відбивання.

Експериментальна похибка вимірювання d_L становила ± 0,04 Å.

Напівширина дифракційного піку $q_{1/2}$ визначалася за шляхом його апроксимації гаусіаною допомогою вільного ПО QtiPlot. Експериментальна похибка величини $q_{1/2}$ визначалася похибкою апроксимації.

2.2.12. Оптична мікроскопія

Методом оптичної мікроскопії за допомогою оптичного мікроскопу «Мікромед Полар 3» (Російська Федерація) були досліджені зразки еритроцитів людини (див. п. 2.1.4). За допомогою вмонтованої цифрової камери «Canon EOS 1100D» були отримані серії мікрофотографій досліджуваних зразків з інтервалом 30 с.

2.2.13. Ізотермічна сорбція

Метод ізотермічної сорбції (ІТС) використовували для вивчення гігроскопічності окремих компонентів ЛП. Метод ІТС заснований на адсорбції води зразком у атмосфері насиченої водної пари (Рис. 2.2). Згідно закону Рауля, відносне зменшення тиску насиченої пари над розчином (Δp) пропорційно мольній концентрації c розчиненої речовини:

$$\Delta p = p^o \cdot c, \tag{2.19}$$

де p^o – тиск насиченої пари чистого розчинника.

Оскільки за даних умов експерименту тигель з досліджуваною речовиною є відкритою системою, а маса води в гігростаті набагато перевищує масу води у зразку, відносне зниження тиску водяної пари над розчином постійно компенсується за рахунок пари, що утворюється над поверхнею води в гігростаті. Тож, над розчином у тиглі повсякчас має місце надлишковий тиск водяної пари у порівнянні із тиском насиченої водяної пари для даного розчину, що приводить до конденсації пари у розчині та поступового зростання

його маси. Очевидно, що при цьому розчин стає все більш розбавленим, тобто Δp поступово знижується, і процес адсорбції уповільнюється. При такому засобі гідратування, який виключає струшування та перемішування зразку, структура гідратних оболонок максимально збережена.

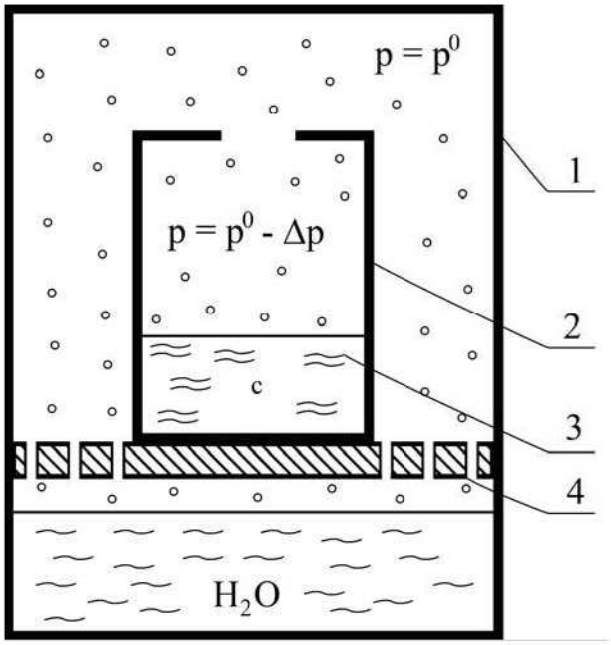


Рис. 2.2. Схема експерименту ізотермічної сорбції: 1 – герметично закритий термостатований сосуд, в якому утворена атмосфера насиченої водяної пари (гігростат); 2 – тигель із перфорованою кришкою; 3 – водний розчин досліджуваної речовини; 4 – підставка для тигля, що забезпечує вільне проникнення пари у об'єм гігростату.

Кінетика зростання маси зразка у процесі адсорбції води добре описується формулою Кувшиннікова [326], яка використовується у фармацевтичних дослідженнях [327, 328]:

$$n = N_{max}(1 - e^{-\frac{t}{t_1}}), \qquad (2.20)$$

де n – кількість молей адсорбованої води (у молях води на моль сухої речовини), N_{max} – максимальна кількість адсорбованої води, t_1 – характерний параметр швидкості адсорбції.

Параметр N_{max} залежить від парціального тиску води в гігростаті P_{H2O} [329], який, у свою чергу, залежить від температури, що дозволяє побудувати залежності $P_{H2O}(N_{max})$.

Вимірювання методом ITC здійснювалися за допомогою мікровагів Mettler Toledo XP26 (Mettler, Швейцарія). Для кожного зразка було виконано 3 ÷ 6 паралельних вимірів. На підставі отриманих даних визначали середні значення та експериментальну похибку вищевказаних параметрів.

Значення N_{max} також отримували у вигляді залежності від парціального тиску водяної пари у гігростаті, який за постійної відносної вологості повітря визначається температурою атмосфери гігростату. При фіксованій температурі значення N_{max} (у молях на моль речовини) розраховували за формулою:

$$N_{max} = (m_{гідр} - m_c)/m_c)/M_в \cdot 100\%, \qquad (2.21)$$

де $m_{гідр}$ – маса максимально гідратованого зразка (г); m_c – маса сухого зразка (г); $M_в$ – молекулярна маса води.

2.2.14. Квантово-хімічне моделювання молекулярних комплексів компонентів лікарських препаратів

На першому етапі квантово-хімічного моделювання* проводився молекулярний докінг: за допомогою ПЗ AutoDock Vina [330] були розраховані початкові оптимізовані структури досліджуваних ЛР. Для кожної ЛР було виділено 20 структур з найменшою енергією, які були використані для подальших розрахунків молекулярних комплексів.

---

* Квантово-хімічне моделювання проведено к.х.н. Шишкіною С.В. (ДНУ «Інститут монокристалів НАНУ», м. Харків).

Двокомпонентні молекулярні комплекси були оптимізовані на за допомогою методу m06-2x/cc-pvdz [331, 332] *in vacuo* та у наближенні полярного середовища з використанням PCM-моделі (polarizing continuum model) при ε = 81 (водне оточення) [333]. Енергія взаємодії ЛР (E_{int}) у кожному комплексі була розрахована та відкоректована на помилку суперпозиції базисного набору за допомогою стандартної процедури [334]. Розрахунки проведено з використанням ПЗ GAUSSIAN09 [335].

2.2.15. Квантово-механічні розрахунки молекулярних параметрів компонентів лікарських речовин та ліпідів

Квантово-хімічні розрахунки* застосовувались для параметризації молекул ліпідів та досліджуваних речовин. Розрахунки коефіцієнтів ліпофільності (*logP*) проводилися за допомогою відкритого електронного ресурсу [336] з використанням алгоритмів Pharma Algorithm (AC_logP), Molinspiration Algorithms (miLogP, MLOGP, ALOGP; ПЗ DragonX) [337, 338], XLOGP2 та XLOGP3 (ПЗ XLOGP2, XLOGP3) [339] та ALOGPs [340]. На підставі отриманих даних для кожної речовини був обчислений середній коефіцієнт ліпофільності <*logP*> як середнє арифметичне результатів, отриманих за різними алгоритмами.

Шляхом повної оптимізації геометрії та мінімізації енергії молекул у вакуумі напівемпіричним методом AM1 та PM6 з використанням програмного забезпечення MOPAC 2012, версія 15.347W [341, 342] були отримані такі геометричні параметри, як розміри молекули (r_x, r_y, r_z), молекулярний об'єм (V_m), загальна площа поверхні молекули (S_{total}), а також дипольний момент (μ). Параметр S_{polar} було отримано з [89].

Базуючись на отриманих значеннях, були розраховані такі молекулярні параметри, як частка полярної поверхні молекули (σ_{polar})

---

* В роботі використано результати квантово-механічних розрахунків, проведених спільно з к.ф.-м.н. Садченко А.О. та м.н.с. Будянською Л.В. (Інститут сцинтиляційних матеріалів НАНУ)

$$\sigma_{polar} = S_{polar}/S_{total}, \quad (2.22)$$

та коефіцієнт молекулярної анізометрії (k_a) [343]:

$$k_a = (r_x - r_y)/(r_x + r_y),\ r_x > r_y > r_z. \quad (2.23)$$

Конформаційну рухливість молекул було параметрізовано на підставі літературних даних [89] як відношення кількості рухомих зв'язків у молекулі (rotatable bond count) до загального вмісту атомів C, O, N, P (heavy atom count).

2.2.16. Кореляційний аналіз

Кореляційний аналіз був застосований для встановлення зв'язків між молекулярними параметрами досліджуваних речовин та параметрами їх МД у модельних та нативних мембранах. Для цього використовували коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона (r), який для довільних величин x та y має вигляд:

$$r(x,y) = \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2\sum(y-\bar{y})^2}}, \quad (2.24)$$

де $\bar{x}$ та $\bar{y}$ – відповідні середні значення по групі.

Матриці коефіцієнтів кореляції були отримані як для загального набору досліджуваних лікарських речовин, а також окремо по групах речовин, близьких за хімічною структурою.

2.3. Висновки до розділу 2

У другому розділі охрактеризовані об'єкти та методи дослідження:

1. Робота проводилася на модельних ліпідних мембранах різного складу із вмістом 1 – 3 видів ліпідів та 60 – 90 мас. % води. У якості моноліпідних модельних ліпідних мембран були використані мультибішарові

ламелярні структури гідратованого L-α-дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ) або L-α-диміристоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ), до складу яких додавали інші види ліпідів – L-α-дипальмітоїлфосфатидилетаноламін, L-α-дипальмітоїлфосфатидилгліцерин, бичачий кардіоліпін, цереброзиди та холестерин.

2. Було досліджено 38 компонентів ЛП різних класів: речовини антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотики тощо, а також допоміжні речовини ЛП (полімери, сурфактанти) та біологічно значущі іони (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^- та ін.).

3. Викладено фізичні основи та методика дослідження модельних ліпідних мембран та компонентів ЛП методами диференціальної скануючої калориметрії (ДСК), Фур'є-ІЧ-спектроскопії (ІЧ), малокутового рентгенівського розсіювання (МКРР), термогравіметричного аналізу (ТГА), ізотермічної сорбції (ІТС) та оптичної мікроскопії.

4. Описано методики кореляційного аналізу, квантово-механічних розрахунків молекулярних параметрів ліпідів та компонентів ЛП напівемпіричними методами AM1 та PM6, а також молекулярного докінгу та квантово-хімічного моделювання двокомпонентних молекулярних комплексів у вакуумі та у наближенні PCM (водне середовище) методом m06-2x/cc-pvdz з використанням ПЗ GAUSSIAN09.

Методики дослідження, викладені в цьому розділі, описано в роботах [1], [3], [5], [6], [8], [9], [11], [12], [36], [46].

РОЗДІЛ 3.
ЕФЕКТИ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ МЕМБРАНОТРОПНОЇ ДІЇ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРТІВ

Переважна більшість лікарських речовин є невеликими молекулами, різноманітними за своєю хімічною будовою, що ускладнює з'ясування механізмів їх взаємодії із ліпідною мембраною. Хімічна будова речовини визначає її розташування у мембрані, яке обумовлює взаємодію з її гідрофільною поверхнею, гідрофобним об'ємом чи гідрофільно-гідрофобним інтерфейсом. Тому з'являлося доцільним виокремити принципово різні механізми МД на прикладі тих речовин, розташування яких у мембрані відомо заздалегідь.

3.1. Взаємодія з поверхнею ліпідного бішару

3.1.1. Адсорбція іонів на мембранній поверхні

З методичної точки зору, застосування іонів допомагає відокремити ефекти, пов'язані тільки із взаємодію з поверхнею бішару, без впливу взаємодії з його внутрішнім об'ємом. Дійсно, постійний електричний заряд забезпечує локалізацію іонів на мембрані у межах полярних голівок ліпідів та, іноді, гідрофільно-гідрофобного інтерфейсу, майже виключаючи їх взаємодію із гідрофобним об'ємом мембрани. Саме тому взаємодію іонів з мембраною можна розглядати як адсорбцію на мембранній поверхні.

Беручи до уваги велику кількість дещо суперечливих даних літератури, а також важливу роль гідратаційних взаємодій (див. п. 1.2.3), доцільним уявляється проведення систематичного аналізу МД іонів із застосуванням уявлень щодо їх космотропності та хаотропності.

3.1.1.1. Катіони лужних металів

Катіони лужних металів входять до складу компонентів фармпрепаратів (наприклад, солей органічних кислот), а також виступають у ролі окремих

допоміжних речовин. Водночас іони є необхідними учасниками життєзабезпечення клітини, а також широко застосовуються як компоненти харчових домішок та буферних розчинів. Усе це обумовлює важливість вивчення їх мембранотропних властивостей.

Для дослідження було обрано 0,45 М розчини хлоридів лужних металів (LiCl, NaCl, KCl, RbCl, CsCl), що відповідає мольному співвідношенню ліпід : іон 3 : 1. При внесенні вказаних солей в мембрану ДМФХ спостерігалися знакозмінні зсуви температур обох фазових переходів, ΔT_m та ΔT_p (див. (2.4), с. 70), більш виражені для передпереходу, ніж для основного (Рис. 3.1). Як можна побачити, для Li^+ та Na^+ зсув обох переходів позитивний (для LiCl ΔT_m = 0,6 °C; ΔT_p = 1,9 °C), тоді як для K^+, Rb^+ – негативний (для RbCl ΔT_m = –0,3 °C; ΔT_p = –2,5 °C). Виключення з цієї закономірності, які мають місце при внесенні цезію, детально розглянуто нижче (див. п. 3.1.1.3). При цьому значення ентальпії та кооперативності переходів не набувають суттєвих змін, залишаючись у рамках експериментальної похибки вимірювань.

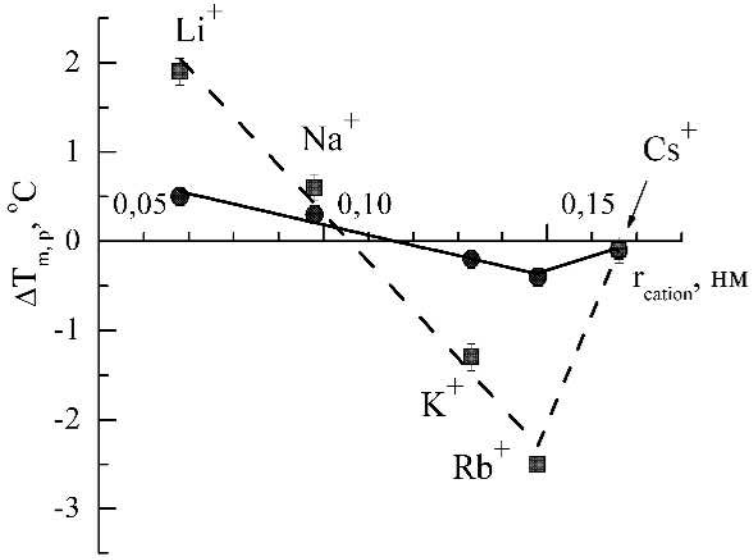


Рис. 3.1. Залежності зсувів температур основного фазового переходу (пунктирна лінія) та передпереходу (суцільна лінія) у мембрані ДМФХ від іонних радіусів катіонів лужних металів.

Слід підкреслити, що спостережувані ефекти не можуть бути зумовлені виключно зміною констант зв'язування катіонів (див. рівняння (1.6), с. 50), оскільки зменшення цього параметра від Li^+ до Cs^+ є монотонним й складає ~ 20 % [344]. Вони також не описуються у рамках наявних моделей ліпід-іонних взаємодій (див. п. 1.2.3). Втім, ці ефекти адекватно пояснюються у рамках уявлень щодо космотропності та хаотропності іонів (див. п. 1.2.3). Дійсно, зі збільшенням космотропності катіону ($Na^+ \rightarrow Li^+$) збільшується позитивне значення величини ΔT_m, тоді як з підвищенням хаотропності ($K^+ \rightarrow Rb^+$) зростає негативне значення цього параметра.

Якісно спостережувані ефекти можна пояснити ущільненням гідратної оболонки та, відповідно, упаковки молекул ДПФХ у присутності космотропних катіонів, тоді як при зв'язуванні з мембраною хаотропних катіонів має місце протилежний ефект. Така інтерпретація повністю підтверджується даними щодо зміни міжламелярної відстані (див. п. 1.2.3). Значно більша чутливість ΔT_p порівняно із ΔT_m також свідчить на користь висунутого тлумачення, оскільки саме передперехід зумовлений зміною гідратації ліпідних головок (див. п. 1.1.2). Тож, позитивний або негативний зсув ΔT_m логічно пов'язати саме з космотропністю або хаотропністю катіону. Лінійність залежності ΔT_m від радіусу катіону (r_{cation}) варта особливої уваги, оскільки відбиває механізм взаємодії іонів із мембранною поверхнею. Феноменологічну модель іон-ліпідної взаємодії, що пояснює вказану лінійність, запропоновано у п. 4.4.

Співставлення ΔT_m зі значеннями вільної енергії гідратації катіонів ΔG_{hydr} (Рис. 3.2), що використовується в літературі як одна з основних характеристик іонів [345, 346], свідчить про наявність порогового значення ΔG_{hydr} ~ 350 кДж/моль, яке розділяє якісно протилежні ефекти, індуковані катіонами.

Тут треба зауважити, що при концентрації солі, що використовується в експерименті, кожний іон оточений лише 2 – 3 шарами гідратної води. Таким чином, нема підстав вважати іони цілком незалежними один від одного, а

отже значення вільної енергії – адитивним. Тому розумно було обмежитися розгляданням таких залежностей окремо по катіонах та аніонах.

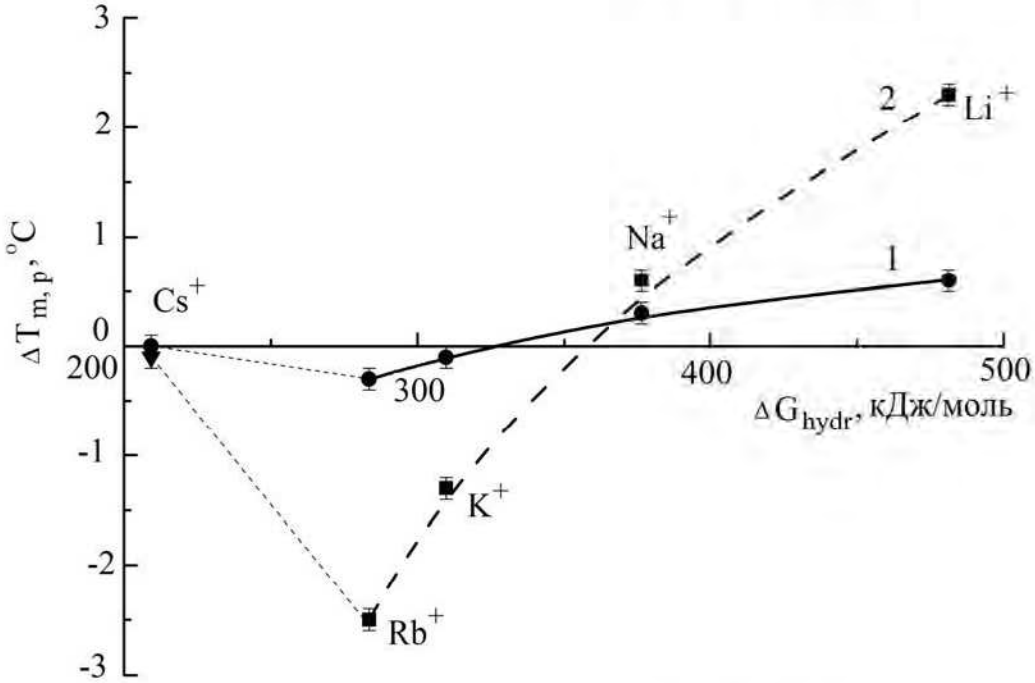


Рис. 3.2. Кореляція значень вільної енергії гідратації катіонів (за [347]) із зсувами температури основного фазового переходу (пунктирна лінія) та передпереходу (суцільна лінія) у мембрані ДМФХ.

3.1.1.2. Одновалентні аніони

Вважається, що катіони взаємодіють із ліпідною мембраною переважно через безпосереднє зв'язування, тоді як аніони розподіляються далі від мембранної поверхні, що особливо стосується хлорид-іону [204, 206, 229, 348]. Так, у роботі [201] методом молекулярної динаміки показано, що іони Cl^- локалізуються переважно у межбішаровій воді. До того ж, точці зміни знаку залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ (Рис. 3.1) відповідає іонний радіус 1,1 ÷ 1,2 Å, дуже близький до відомого з літератури критичного радіусу 1,06 Å, що розділяє катіони на хаотропні та космотропні [206]. Це також може слугувати підтвердженням слабкого впливу хлорид-іонів на мембрану.

Дія аніонів на бішар ФХ вважається менш вираженою у порівнянні із катіонами також тому, що центри позитивного заряду ФХ голівки (амоній) ек-

рановані метильними групами і набагато слабкіше гідратовані у порівнянні із центрами негативного заряду (ортофосфат) [206, 348].

Вплив аніонів був досліджений із застосуванням галогенидів калію, натрію та цезію на мембрані ДМФХ (мольне співвідношення ДМФХ : галогенид 3 : 1). Як можна побачити з Рис. 3.3, а, величина ΔT_m, як і у випадку катіонів, збільшується в низці $Cl^- < Br^- < I^-$, тобто, в міру підвищення ступеню хаотропності аніону. Критичне значення енергії гідратації (відповідне зміні знаку T_m) становить ~350 кДж/моль, як і для катіонів (Рис. 3.2). Аналогічно одновалентним катіонам, тут має місце чітка кореляція між значеннями вільної енергії гідратації іону та індукованим ним ΔT_m, проте для аніонів вона виражена значно сильніше (порівн. Рис. 3.1 та Рис. 3.3, а). Те ж вірно й для ΔT_p. Так, величині ΔG_{hydr} = –295 кДж/моль відповідають ΔT_p ~ 6,2 °C (NaI) та ~ 2 °C (RbCl) (див. Табл. 3.1 та Рис. 3.1). На перший погляд, отриманий результат суперечить уявленню щодо слабкішої МД аніонів у порівнянні із катіонами, що було зазначено на початку даного підрозділу. Можливою причиною може виступати зміна коефіцієнтів розподілення іонів між водною та ліпідною фазами. Так, в [349] відзначається зростання спорідненості до ліпосом ДМФХ у ланці $Cl^- < Br^- < I^-$.

На Рис. 3.3, б наведені кореляції ΔT_m та величини зміни ентропії води внаслідок гідратації катіона. Наявна схожість Рис. 3.3, б з Рис. 3.3, а свідчить, на нашу думку, на користь того, що ліпід-іонна взаємодія відбувається за безпосередньої участі води, що узгоджується також із висновками роботи [350]. Детальніше порівняльну дію аніонів можна простежити за змінами значень кооперативності та мембранотропної активності (див. Табл. 3.1). Як можна бачити, у ланці $Cl^- < Br^- < I^-$ спостерігається підвищення розміру кооперативного домену та зниження гістерезису основного переходу для галогенідів натрію та калію. Для всіх досліджуваних галогенидів спостерігався від'ємний зсув параметрів мембранотропної активності (a_{wt} та a_{mol}), що свідчить про підвищення розупорядковувальної МД іонів в цій послідовності.

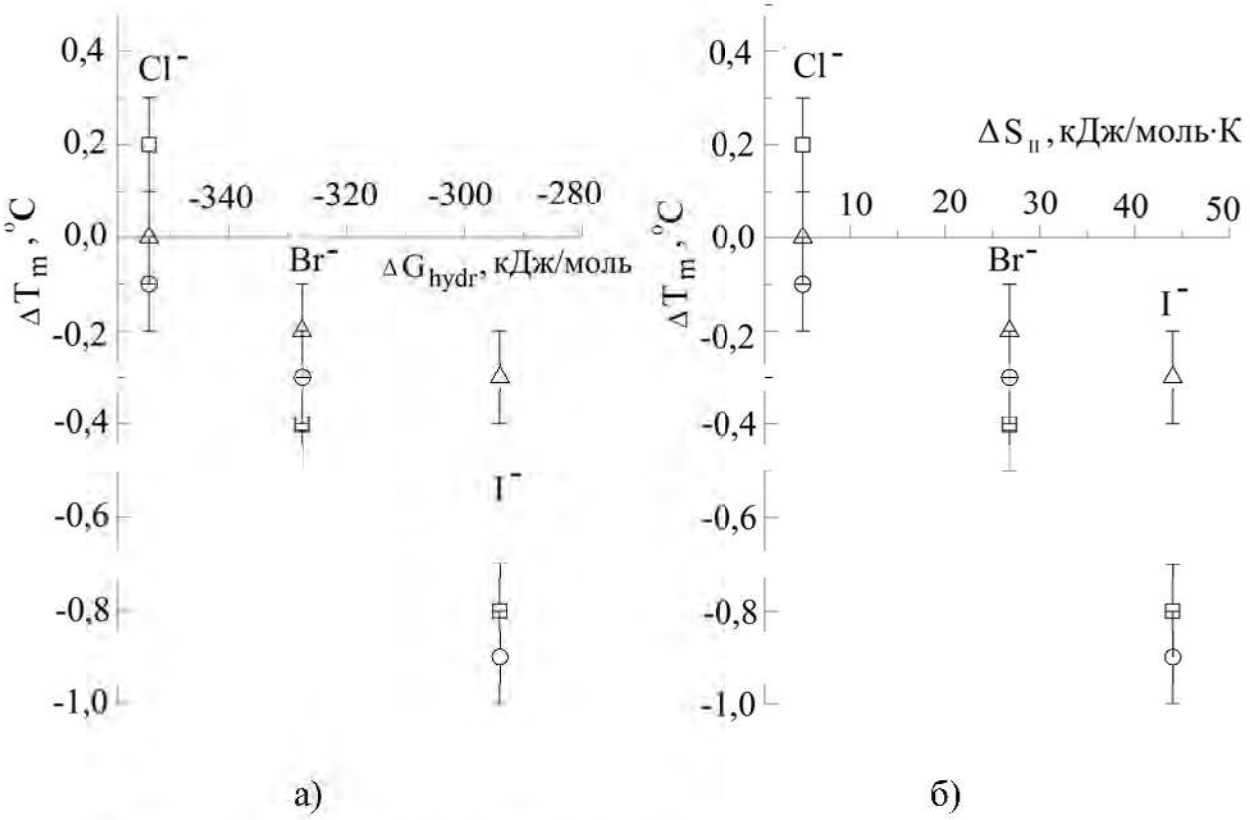


Рис. 3.3. Кореляція між зсувом температур основного фазового переходу та параметрами гідратації іонів у складі солей натрію (□), калію (○) та цезію (△): а – значеннями вільної енергії гідратації (за [347]); б – змінами ентропії води внаслідок гідратації іона (за [351]).

Вивчення МД нітрат-іону було здійснено шляхом співставлення кореляцій $\Delta T_m(r_{cation})$ для низки нітратів та хлоридів катіонів металів ІА та ІВ підгруп (Рис. 3.4). Як можна побачити, для всіх нітратів металів ІА підгрупи у порівнянні з хлоридами має місце внесок від'ємної сталої складової –0,3° С. Логічно припустити, що саме ця складова відповідає МД нітрат-іону. Дані щодо МД інших досліджених нітратів міді та срібла, представлених на Рис. 3.4, будуть обговорені нижче (див. п. 5.2.3). Також можна простежити пряму кореляцію між значенням T_m та ΔH_m, – втім, останній параметр визначається зі значно більшою похибкою, тому не є настільки відтворюваним, як перший.

Таблиця 3.1

Параметри фазових переходів у мембранах ДМФХ з додаванням галогенидів одновалентних металів

Сіль	Нагрівання				Гістерезис, °C	CN	$a_{wt,}$ °C	$a_{mol,}$ °C
	T_p, °C	ΔH_p, кДж/кг	T_m, °C	ΔH_m, кДж/кг				
–	13,7	1,2	24,0	18,3	0,3	161	–	–
LiCl	15,6	1,8	24,6	19,4	0,4	153	30,0	1,86
NaCl	14,3	1,7	24,3	18,2	0,3	154	10,7	0,93
NaBr	12,1	1,9	23,6	16,6	0,2	184	-8,2	-1,20
NaI	-	-	23,2	14,7	0,1	222	-11,6	-2,60
KCl	12,4	1,7	23,9	18,4	0,4	129	-2,9	-0,31
KBr	12,5	2,2	23,7	17,6	0,2	157	-5,5	-0,95
KI	7,5	0,8	23,1	17,5	0,2	184	-11,7	-2,90
RbCl	11,2	1,3	23,7	19,1	0,4	137	-5,4	-0,96
CsCl	13,6	1,6	24	16,6	0,4	181	0	0
CsBr	12,3	2,7	23,8	15,7	0,6	171	-2,1	-0,70
CsI	11,0	1,9	23,7	16,2	0,6	168	-2,7	-1,00

З метою узагальнення даних, для всіх досліджуваних систем були отримані кореляції між відносною температурою фазового переходу (T_m/T_{m0}) та радіусом аніону r_{anion} (Рис. 3.5). Така форма подання результатів є прийнятою у фізиці рідких кристалів [352] і дає можливість зіставляти дані, отримані для систем різного складу, але з однаковим типом надмолекулярного впорядкування. У якості реперної експериментальної точки був вибраний NaBr, дані для якого були отримані в обох типах мембран. Як можна бачити, величина T_m/T_{m0} для NaBr в обох типах мембран співпадає в межах експериментальної похибки, що свідчить на користь коректності отриманих даних. З урахуванням похибки вимірювань, ланка аніонів за збільшенням їх МД ви-

глядає наступним чином: $Cl^- < NO_3^- \sim Br^- < I^-$. Тобто, за своїм мембранотропним ефектом нітрат-іон з'являється близьким до Br , що в цілому узгоджується із літературними даними, отриманими для білків [353].

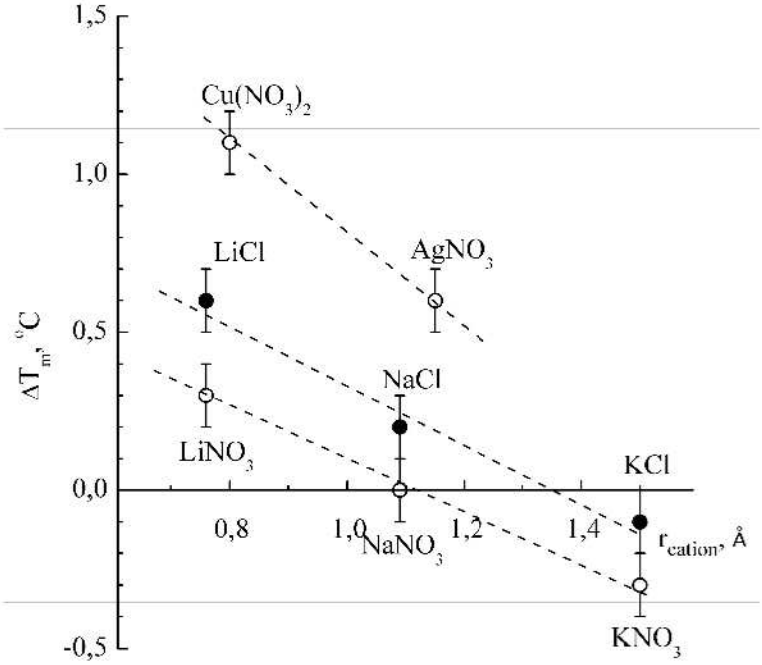


Рис. 3.4. Зсуви температури основного фазового переходу мембран ДПФХ та ДМФХ у присутності солей одновалентних металів та їх кореляції з радіусами катіонів за даними [354].

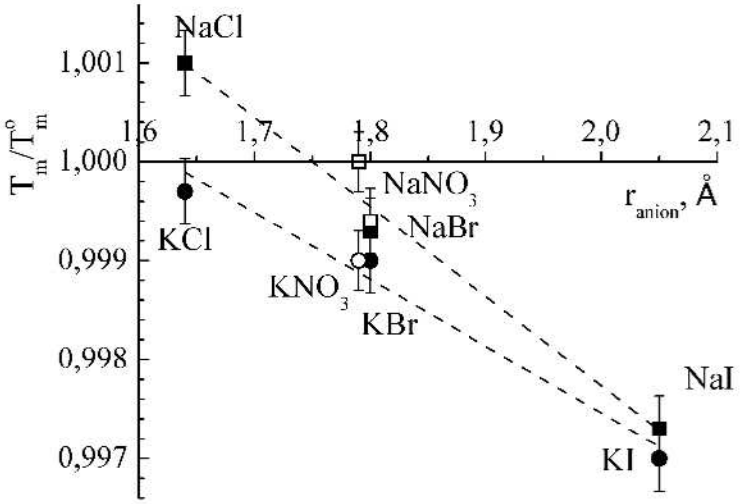


Рис. 3.5. Кореляція відносного зсуву температур основного фазового переходу мембран ДПФХ (відкриті символи) та ДМФХ (суцільні символи) в присутності солей натрію та калію.

Спостережувані ефекти можна описати в термінах критичного значення поверхневої щільності заряду σ_q (Рис. 3.6). Як можна бачити, для іонів лужних металів вона складає близько $0{,}5\cdot10^{-3}$ Кл/нм^2, тоді як для аніонів – $0{,}3\cdot10^{-3}$ Кл/нм^2. Треба також зазначити, що хід залежності $\Delta T_m(\sigma_q)$ для катіонів більш пологий, ніж для аніонів. Усе це вказує на різницю у механізмах взаємодії з мембраною катіонів та аніонів.

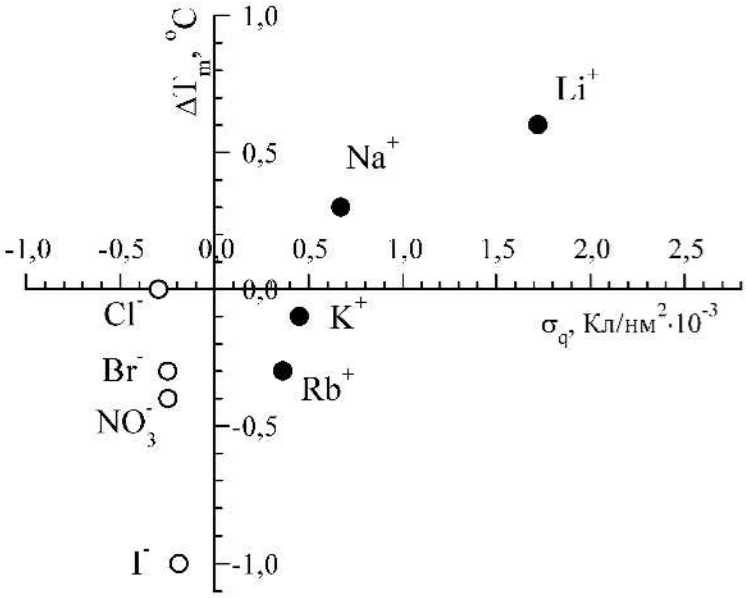


Рис. 3.6. Залежності зсуву температури основного фазового переходу мембран ДМФХ від поверхневої щільності заряду одновалентних неорганічних іонів: катіонів лужних металів (суцільні символи), а також галогенів та нітрат-іону (відкриті символи).

3.1.1.3. Особливості мембранотропної дії іонів цезію

Як було зазначено раніше, іони Cs^+ відрізняються від ланки інших іонів IA -підгрупи за своїм МД, що, з низки причин, заслуговує на особливу увагу. По-перше, цезій, найбільший за радіусом з усіх хімічних елементів, має здатність добре проникати у живі організми та накопичуватися в них, особливо у рослинах [355]. На сьогодні радіоактивний цезій антропогенного походження

розповсюджений скрізь в оточуючому середовищі (в основному, у вигляді довгоіснуючих ізотопів ^{137}Cs та ^{134}Cs) та вносить основний внесок у загальний радіаційний фон [356]. Втім, біологічну небезпечність має й стабільний ^{133}Cs (IV категорія небезпечності [355]). Основними факторами токсичності нерадіоактивного цезію вважається його здатність ефективно зв'язувати тіолові групи (зокрема, у білках-ферментах) та вступати в конкуренцію із K^+ у процесах метаболізму та стабілізації макромолекул. В результаті при накопиченні цезію в організмі спостерігаються значні зміни іонного складу та кислотності тканин, клітин та систем, а також зміни кінетики декотрих важливих біохімічних процесів (гліколіз, цикл трикарбонових кислот тощо) [190, 191, 206, 350]. Між тим, у роботах з впливу Cs^+ на властивості ліпідних мембран [194, 195, 198, 222,] відзначається його аномально слабкий вплив у ряду одновалентних металів.

Отримані нами дані також свідчать на користь того, що МД Cs^+ не є екстраполяцією даних, отриманих для інших катіонів цієї групи (див. Рис. 3.1 та Рис. 3.2). В цілому нами встановлені такі радикальні відмінності дії галогенидів цезію (CsCl, CsBr, CsI) на термодинамічні властивості ліпідного бішару:

- істотно менші величини ΔT_m та ΔT_p, особливо для CsCl ($\Delta T_m \approx 0^o$ C; ΔT_p = -0,1° C, див. Табл. 3.1);

- більш похиле зниження ΔT_m у низці $Cl^- < Br^- < I^-$ (Рис. 3.3);

- підвищений розмір кооперативного домену, з тенденцією до зниження у послідовності $CsCl^- > CsBr^- > CsI^-$ (Табл. 3.1).

Таким чином, за своїми мембранотропними властивостями Cs^+ ніяк не є аналогом K^+ (як це прийнято вважати з точки зору електрофізіології [350] та метаболізму [190, 191, 206]), а також будь-якого іншого з іонів лужних металів. Певно, саме ця відмінність є однією зі складових його біологічної небезпечності.

Специфічність МД цезію може бути обумовлена як його фізико-хімічними властивостями [351, 357], так і параметрами мембрани, а саме:

а) значенням середньої відстані між сусідніми ліпідними молекулами у межах кооперативного домену (~ 4 Å [358]). Враховуючи, що радіус гідратованого Cs^+ теж становить 4 Å [351, 357], його розподілення у мембрану може бути ускладненим порівняно із меншими за розміром катіонами;

б) значенням ширини гідрофильно-гідрофобного інтерфейсу мембрани (4,6 Å у $L_{\beta'}$-фазі та 4,85 Å у L_{α}-фазі [359]), яке теж є близьким до радіусу гідратованого Cs^+, отже його взаємодія із карбонільними групами ФХ, яка описана в роботах [201, 202], теж здається ускладненою;

в) значенням вільної енергії гідратації іонів Cs^+ (ΔG_{hydr}^{Cs} = = -255 кДж/моль [360]), яка лише дещо більша за відповідне значення для води $\Delta G_{hydr}^{в} = -240$ кДж/моль [347].

г) координаційним числом Cs^+ (12 молекул води [361]), максимальним серед усіх одновалентних катіонів;

д) високою реакційною здатністю цезію, внаслідок чого у водному середовищі може утворюватися гідроксид цезію.

Усе вищевказане, разом із незначною МД Cs^+, дозволяє зробити висновок, що виведення Cs^+ з організму є ускладненим, особливо за відсутності достатнього водозабезпечення.

Висунуте припущення знаходить підтвердження у медичних та екологічних дослідженнях. Так, у [355] повідомляється про значні сезонні коливання вмісту $^{133}Cs^+$ у тканинах водних рослин: взимку (коли метаболізм уповільнений та більшість води у рослинах знаходиться у зв'язаному стані [362]) його значно більше, ніж улітку (коли рослини знаходяться у фазі росту, активного метаболізму та містять велику кількість вільної води [191, 362]). З медичних досліджень відомо, що ~ 90 % $^{137}Cs^+$, який потрапляє в організм людини, виводиться повільно [356]. Період біологічного виведення цезію у різних людей суттєво різний (від 30 до 200 діб) і, як відмічається у [356], залежить від характеру живлення та питного режиму людини. Тобто, можна зрозуміти, що за умов нестачі вільної води цезій легко дегідратується і, можливо, утворює менш розчинні сполуки, що ускладнює його виведення з організму.

Беручи до уваги, що у застосованих концентраціях солей катіон та аніон не є повністю незалежними один від одного, уявлялося доцільним дослідити гідратаційні властивості солей цезію в цілому. Для цього методами ТГА та ІТС (див. пп. 2.2.10, 2.2.13) було визначено низку структурних та термодинамічних параметрів гідратації галогенидів цезію (Табл. 3.2).

Параметри *m*, *n* та *l* таблиці характеризують розміри відповідних областей, або сфер гідратації [351]:

$$M^{Z}_{water} = \left\{ M^{Z} \overset{I}{\underset{I}{\vdots}} (H_2O)_n \overset{II}{\underset{II}{\vdots}} (H_2O)_m \right\} \overset{III}{\underset{III}{\vdots}} (H_2O)_k , \qquad (3.1)$$

де *M* – частинка із зарядом Z, *n* – кількість найсильніше зв'язаної води; *m* – кількість води у сфері ближньої гідратації; *l* – кількість води у сфері дальньої гідратації; I–I, II–II, III–III – умовні границі між різними областями гідратації.

Таблиця 3.2

Параметри гідратації галогенидів цезію, визначені методами ТГА та ІТС

Сіль	*n*, моль/моль	Область ближньої гідратації		Область дальньої гідратації	
		m, моль/моль	$\Delta\Delta H_{des}$, кДж/моль	*l*, моль/моль	$\Delta\Delta H_{des}$, кДж/моль
CsCl	2,1 ± 0,4	41 ± 1	–6,5 ± 0,5	> 80	–15,2 ± 0,2
CsBr	2,2 ± 0,5	86 ± 1	–1,4 ± 0,4	> 70	–10,3 ± 0,5
CsI	1,9 ± 0,4	100 ± 1	2,4 ± 0,4	> 85	–14,8 ± 0,6

Параметр *l* був отриманий методом ІТС як кількість води, адсорбованої сіллю протягом максимального часу термостатування (~ 60 діб). Як можна бачити, для галогенидів цезію за даних експериментальних умов величина *l*

становить 70 ÷ 85 моль/моль (для порівняння, ця величина для NaCl становить ~120 моль/моль, див. Рис. 5.29).

Параметри *m* та *n* були визначені методом ТГА у процесі термосканування максимально гідратованих зразків. Результати вимірювань представлені у вигляді залежностей кількості десорбованої води від зворотньої температури (Рис. 3.7) та відповідного ній вмісту води в системі. Вміст води, при якому відбуваються якісні зміни характеру залежностей, вказує на розмір відповідної області гідратації (Рис. 3.8). На підставі отриманих даних було розраховано зміни ентальпії десорбції води у досліджуваних зразках $\Delta\Delta H_{des}$ (див. п. 2.2.10).

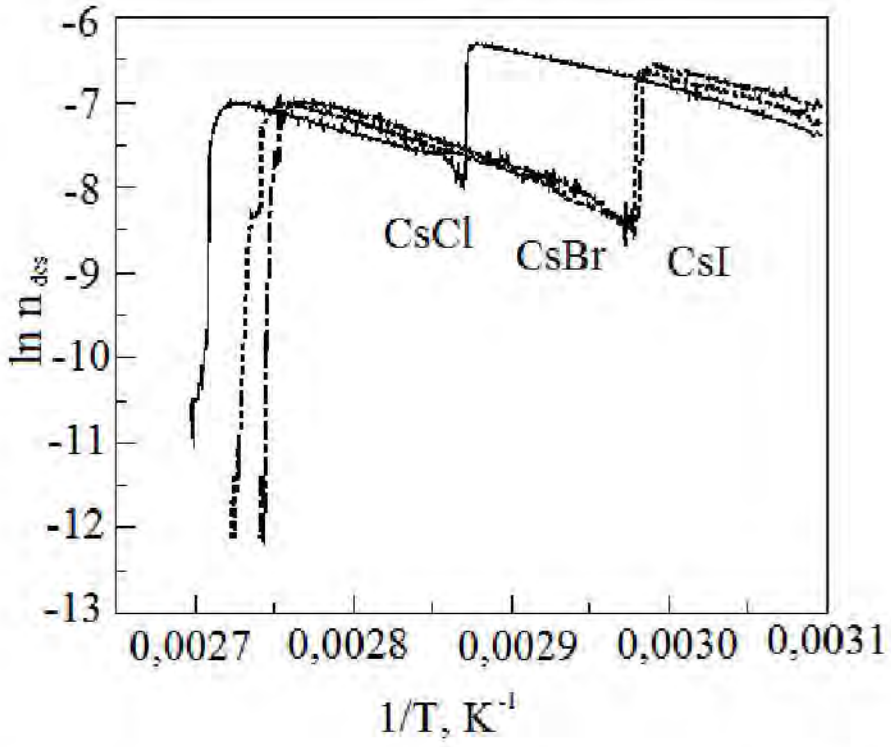


Рис. 3.7. Кількість води n_{des}, десорбованої з гідратованих зразків галогенидів цезію як функція зворотної температури *1/T*.

Як можна побачити з Табл. 3.2, величини *m* та $\Delta\Delta H_{des}$ у області ближньої гідратації зростають у порядку CsCl < CsBr < CsI, причому $\Delta\Delta H_{des}$ стає додатною величиною лише для CsI. Це підтверджує висунуте вище припущення

щодо слабкої здатності іонів цезію конкурувати за зв'язування води, яка перешкоджає його виведенню з організму.

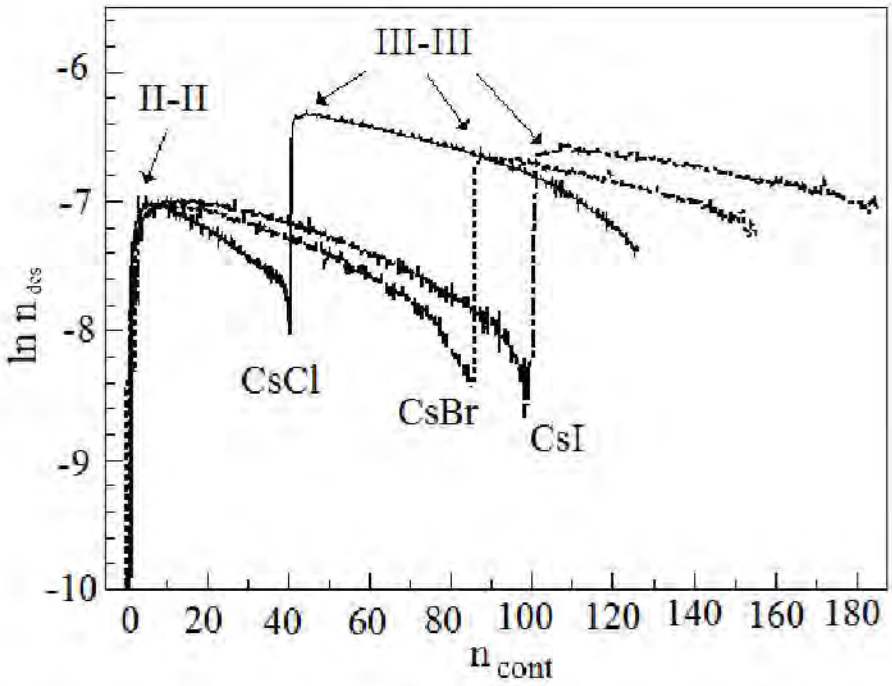


Рис. 3.8. Кількість води n_{des}, десорбованої з гідратованих зразків галогенидів цезію як функція мольного відношення вода/сіль n_{cont}. Римські цифри вказують на границі областей води різного ступеня зв'язку, згідно (3.1).

3.1.1.4. Багатозарядні катіони

Серед усіх лантанідів Ce^{3+} виділяється тим, що його катіонний радіус є найближчим до радіусу Ca^{2+} (0,10 нм) – отже, він є головним серед лантаноїдів антагоністом Ca^{2+} у зв'язуванні з біомолекулами. При цьому Ce^{3+} має такі переваги для зв'язування, як більше координаційне число, валентність та зв'язувальна здатність [208, 214, 363]. Беручи до уваги біологічну важливість такої конкуренції катіонів, уявлялось важливим порівняти параметри зв'язування вказаних іонів з ліпідною мембраною.

Завдяки встановленому вище незначному впливу хлорид-іону на мембрану ДПФХ (див. Рис. 3.1 та його обговорення), застосування хлоридів уможливлює безпосереднє порівняння МД іонів різної валентності. Для по-

рівняння мембранотропних властивостей Ce^{3+} та Ca^{2+} були досліджені ДСК-термограми фазових переходів мембран ДПФХ у розчинах $CeCl_3$ та $CaCl_2$ різних концентрацій (термограми для $CeCl_3$ наведені на Рис. 3.9). Як можна побачити, зі зростанням концентрації $CeCl_3$ обидва піки фазових переходів зсуваються у високотемпературну область та розмиваються.

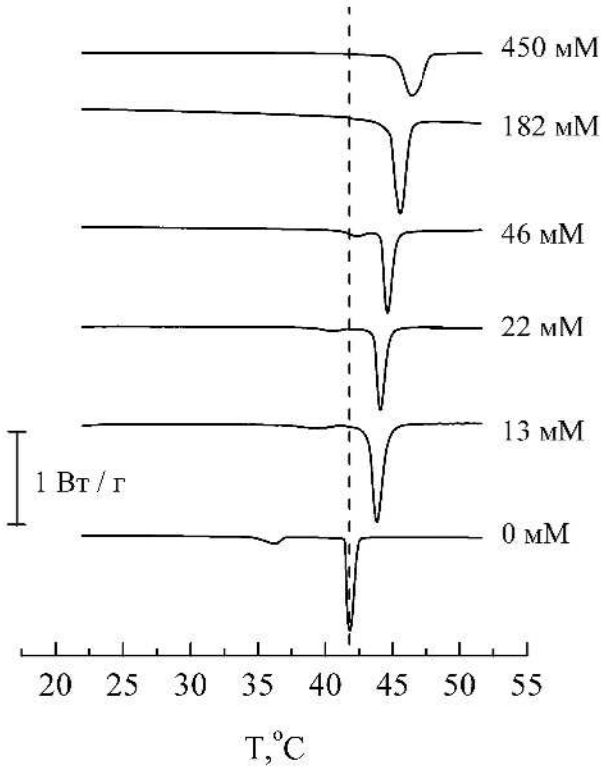


Рис. 3.9. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ із вмістом $CeCl_3$. У підписах вказана молярність водних розчинів $CeCl_3$.

Рис. 3.10 містить концентраційні залежності $\Delta T_m(c)$ для мембран ДПФХ із вмістом $CeCl_3$ або $CaCl_2$. Для кількісної характеристики отриманих залежностей був застосований аналог рівняння адсорбції Фрейндліха [364]:

$$\Delta T_m = \mathrm{k}c^{1/\mathrm{n}}, \tag{3.2}$$

де c – концентрація солі у водному розчині, k та n – феноменологічні константи.

Формально k відповідає зсуву ΔT_m для розчину одиничної концентрації, а 1/n – тангенсу куту нахилу вказаної залежності у подвійній логарифмічній шкалі (Рис. 3.11). Величина 1/n відповідає тангенсу куту нахилу вказаної залежності у подвійній логарифмічній шкалі. Щодо параметра k, то він k відповідає значенню ΔT_m для розчину одиничної молярної концентрації, яка, у свою чергу, залежить від константи зв'язування речовини з мембраною та коефіцієнта її розподілення у мембрану. У Табл. 3.2 наведені значення констант апроксимації рівнянням (3.2) k та n, а також коефіцієнт детермінації апроксимації R.

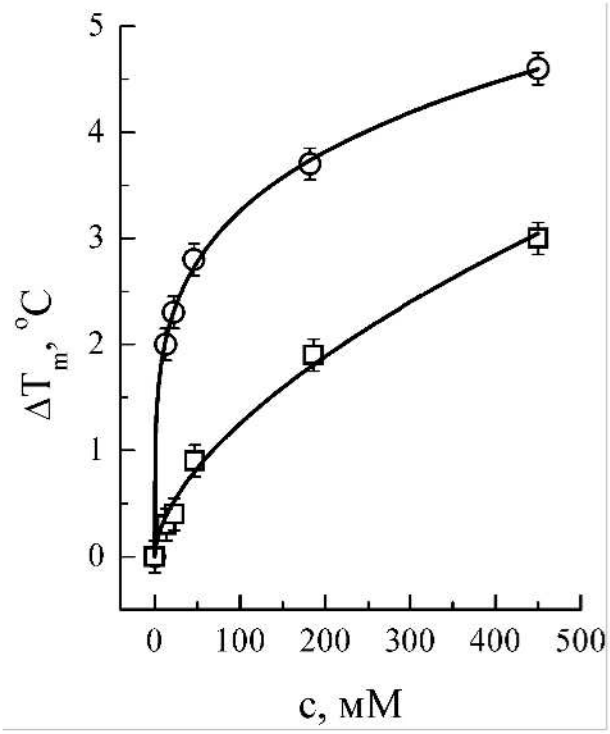


Рис. 3.10. Залежності ΔT_m для мембрани ДПФХ від концентрації $CeCl_3$ (кола) або $CaCl_2$ (квадрати).

Модель адсорбції Фрейндліха була обрана для параметризації отриманих даних з двох основних причин. По-перше, вона описує мономолекулярну адсорбцію на поверхні із розподіленням по енергіях зв'язування, що відповідає дослідженій системі. По-друге, апроксимація експериментальних даних такою формою залежності $\Delta T_m(c)$, на відміну від усіх інших моделей адсорбції, давала дуже високі значення коефіцієнту детермінації (див. Табл. 3.3).

Теоретичне обґрунтування моделі адсорбції Фрейндліха було дано радянським академіком Я. Б. Зельдовичем, який показав, що ця модель добре описує адсорбцію на поверхнях з немонотонним профілем енергій зв'язування [365], до яких належить і поверхня ліпідного бішару.

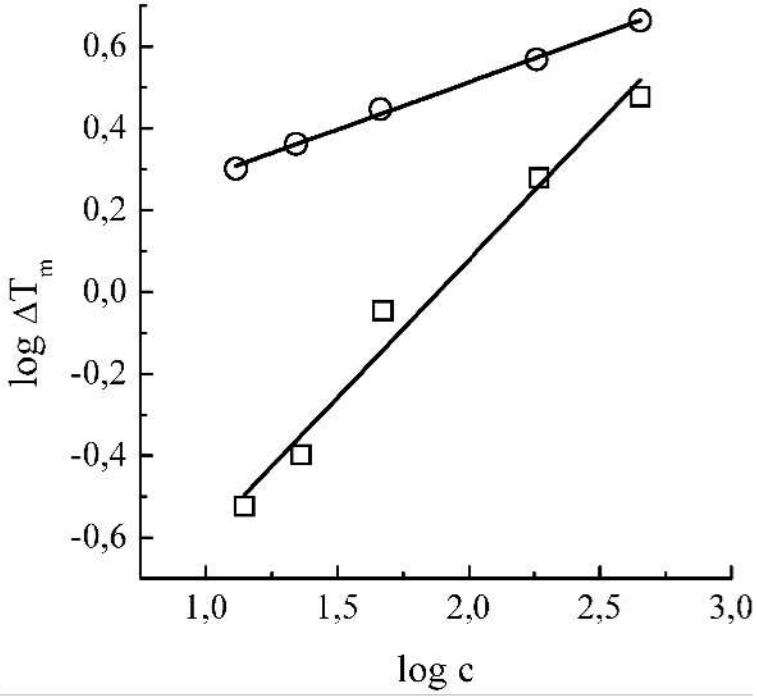


Рис. 3.11. Залежності ΔT_m для мембрани ДПФХ від концентрації $CeCl_3$ (кола) або $CaCl_2$ (квадрати) у подвійній логарифмічній шкалі.

Таблиця 3.3

Параметри апроксимації залежностей $\Delta T_m(c)$ мембран ДПФХ із вмістом $CaCl_2$ та $CeCl_3$ в рамках моделі адсорбції Фрейндліха

Речовина	*k*	*n*	*1/n*	*R*
$CaCl_2$	0,08 ± 0,02	1,7 ± 0,1	0,6	0,992
$CeCl_3$	0,13 ± 0,03	4,4 ± 0,1	0,2	0,999

На Рис. 3.10 можна також відмітити зростання T_m в усьому концентраційному діапазоні хлоридів церію та кальцію, що, певно, пов'язане з частковою дегідратацією цвіттеріонних голівок молекул ДПФХ та відповідною зміною електростатичної взаємодії між ними у присутності іонів [194, 203]. Слід відмітити, що підвищення T_m у присутності Ca^{2+} узгоджується з літературними даними щодо підвищення щільності упаковки ліпідів [366] та параметра порядку ліпідних ланцюгів [367]. Щодо дії церію, літературні дані повідомляють про збільшення у його присутності в'язкості мембрани [368] та зменшення межбішарової відстані [369], що може привести до утворення інвертованої гексагональної (H_{II}) фази замість ламелярної [214, 368, 369].

Як можна побачити з Табл. 3.3, величина k для церію на порядок вища, ніж для кальцію, тоді як величина n для кальцію втричі нижча, ніж для церію (а величина 1/n – відповідно, втричі більша). Тож, можна зробити висновок, що церій має значно сильніший мембранотропний ефект ніж кальцій, особливо за малих концентрацій, втім, з підвищенням концентрації цей ефект зростає повільніше, ніж для кальцію. В цілому при заміщенні Ca^{2+} на Ce^{3+} відбувається додаткове ущільнення мембрани, що може бути одним з факторів біологічної дії іонів Ce^{3+}.

3.1.2. Космотропні та хаотропні речовини

Терміни «космотропність» та «хаотропність» спочатку були внесенні для характеризації дії іонів на розчинність білків [218] (див. п. 3.1.1.1). Згодом ця концепція була застосована для широкого кола речовин, дія яких на воду якісно розрізнялася [206, 217, 218, 370-372]. Якісно протилежна дія космотропних та хаотропних речовин була встановлена також для ДНК [373]. На теперішній час тривають пошуки загальної трактовки та біологічної значущості цього явища [217, 218, 374-377], але вони залишаються в рамках концепції непрямого ефекту Гофмейстера, опосередкованого зміною структури води [218, 373, 378, 379].

У даній роботі у якості космотропного та хаотропного агентів були обрані, відповідно, диметилсульфоксид (ДМСО) та тилорону гідрохлорид (тілорон). ДМСО, широко відомий кріопротектор та посилювач проникності ЛР, має знеболюючу та протизапальну дію [380, 381]. Мембранотропна дія ДМСО вивчена досить детально [125, 178, 283, 309, 382-390]. Тилорон є інтерферон-індукуючим противірусним та імуномоделюючим засобом [391-394], до якого останніми роками пригорнуто особливу увагу фармакологів як до перспективного противірусного препарату. На відміну від ДМСО, інформації щодо МД тилорону у літературі не знайдено.

Як можна бачити (Рис. 3.12), дія вказаних ЛР на мембрани ДПФХ якісно протилежна: ΔT_m позитивне для ДМСО та негативне для тилорону. Це добре збігається з літературними даними [256], які свідчать про звуження температурного інтервалу існування $P_{\beta'}$-фази у присутності космотропних речовин та його розширення – у присутності хаотропних.

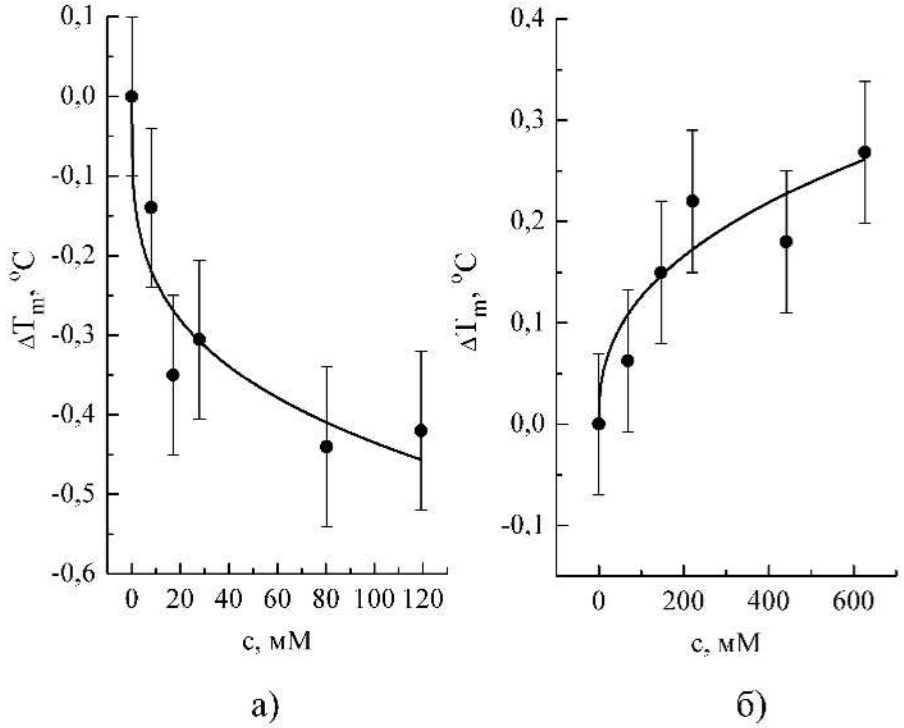


Рис. 3.12. Залежності ΔT_m мембрани ДПФХ від концентрації водного розчину тилорону (а) та ДМСО (б). Точки – експериментальні дані, лінії – апроксимація рівнянням (3.2).

Дегідратуюча дія ДМСО як космотропного агента на мембрану ДПФХ підтверджується тим, що у його присутності зменшується товщина водного прошарку в усіх фазах мембрани ДПФХ [309], а також інтенсивності смуг гідратованих фосфатних груп ДПФХ у порівнянні із негідратованими (дані не наведені). Параметри апроксимації експериментальних даних рівнянням (3.2) можна розуміти як сильнішу спорідненість до мембрани тилорону, ніж ДМСО, та водночас на його більший мембранотропний ефект (Табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Параметри апроксимації залежностей $\Delta T_m(c)$ рівнянням (3.2)

Речовина	*1/n*	*k*	*R*
Тилорон	0,27	-0,12	0,87
ДМСО	0,39	0,02	0,79
Сукцинілхолін	0,65	0,03	0,99

Іншим прикладом речовини, що зв'язується із поверхнею мембрани, був міорелаксант сукцинілхолін. В його структурі наявні два позитивно заряджених центри тетраметиламонійних залишків, що забезпечує його локалізацію на мембранній поверхні. Як можна побачити з Табл. 3.4, параметр k для сукцинілхоліну дуже близький до ДМСО, а значення *1/n* навіть вище, що, певно, зумовлено присутністю у його структурі центру позитивного заряду.

Для перевірки цієї гіпотези нами було досліджено тетраметиламоній хлорид (ТМА), який є зарядженим структурним фрагментом сукцинілхоліну (див. Табл. Б2 Додатку Б). Порівняння низки параметрів ТМА та сукцинілхоліну, розрахованих за формулами (2.5) та (2.20), висвітлює суттєво більше значення a_{wt} для ТМА при однаковому значенні a_{mol} (Табл. 3.5). З огляду на важливість гідратаційних параметрів ЛР, зокрема гігроскопічності [395, 396], здавалося інформативним провести їх порівняння для цих речовин. За результатами, отриманими методом ITC (див. п. 2.2.13), можна побачити, що

адсорбція води для ТМА на 30 % швидша при приблизно однаковому значенні N_{max}, що свідчить про його більшу гігроскопічність. Це, певно, обумовлене перерозподілом електронної щільності по з'єднувальнуму ланцюгу: за даними квантово-механічних розрахунків (п. 2.2.15), частковий заряд на атомах Оксигену становить близько –0,3 Кл, тоді як на атомах Карбону він коливається від –0,02 Кл до 0,3 Кл.

Таблиця 3.5

Параметри гідратації та мембранотропної активності сукцинілхоліну та ТМА

Речовина	a_{wt}, оС	a_{mol}, оС	$1/t_1$, $c^{-1} \cdot 10^{-7}$	N_{max}, моль/моль
ТМА	0,33	0,13	1,0	340
Сукцинілхолін	0,06	0,06	1,3	380

Висока гігроскопічність сукцинілхоліну та ТМА вказує на те, що внаслідок їх взаємодії з поверхнею мембрани відбувається її часткова дегідратація.

3.2. Взаємодія з неполярною внутрішньою частиною бішару мембрани

Взаємодія із об'ємом мембрани встановлена на сьогодні для багатьох речовин [80, 124, 273-277]. З метою висвітлення визначальних параметрів такої взаєміодії нами були обрані для дослідження представники гідрофобних речовин із відносно простою структурою та прогнозованим розташуванням у ліпідній мембрані – жирні кислоти та стерини.

3.2.1. Жирні кислоти

Встановлено, що антимікробна активність жирних кислот визначається довжиною та ступенем насиченості їх алкільних ланцюгів [397], що дозволяє простежити її безпосередній зв'язок із МД [137, 398, 399].

Для дослідження були обрані лауринова та стеаринова кислоти. Лауринова кислота є компонентном шкірних покривів людини та має протимікробну активність, зокрема проти пневмококів та стрептококів, найбільшу серед усіх насичених жирних кислот, що робіть її перспективною для медичних застосувань [397]. Стеаринова кислота широко використовується як з допоміжна речовина (любрикант) у твердих лікарських формах [400, 401].

Жирні кислоти містять великий гідрофобний фрагмент із гнучкою, конформаційно рухливою структурою, який локалізований у гідрофобному об'ємі мембрани. МД стеаринової та лауринової кислот полягає в збільшенні періоду повторюваності ламелярної структури d_L (Рис. 3.13), а також у підвищенні значень T_m та T_p (Рис. 3.14) та супроводжується звуженням піку переходу [124], тобто, підвищенням його кооперативності (див. п. 1.1.8).

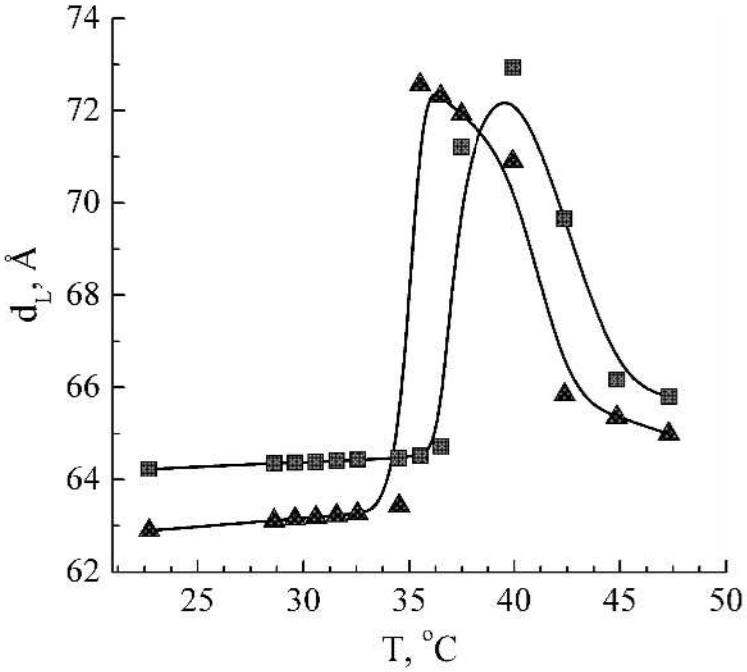


Рис. 3.13. Залежність періоду повторюваності мембрани ДПФХ без домішок (▲) та із вмістом стеаринової кислоти (■) від температури.

Сукупність цих параметрів свідчить про впорядковувальну МД цих кислот на мембрану ДПФХ, більш виражену для стеаринової кислоти. Втім, якщо результати для стеаринової кислоти можуть бути інтерпретовані в рамках

моделі гідрофільно-гідрофобної невідповідності (див. п. 1.2.5), механізм МД лауринової кислоти потребує пояснення.

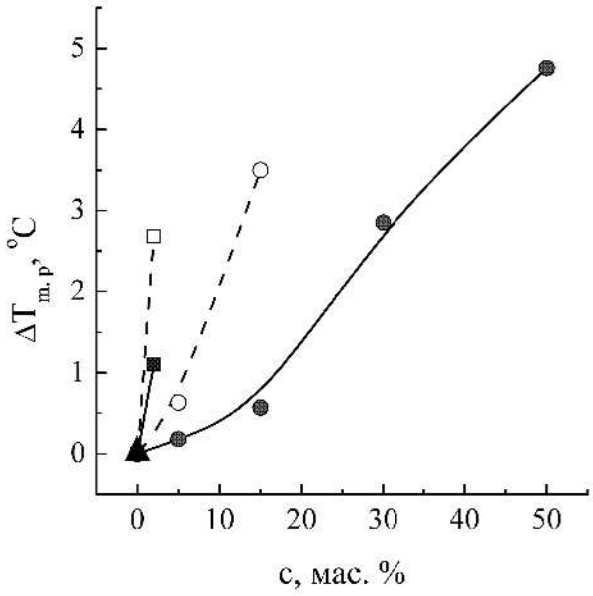


Рис. 3.14. Залежності зсувів температур фазових переходів мембрани ДПФХ від концентрації стеаринової (■, □) або лауринової (●, ○) кислот: суцільні лінії – основний перехід; (залежності ΔT_p (c) позначені пунктирні лінії – передперехід.

З'ясування ущільнюючої дії лауринової кислоти може бути здійснено на підставі даних дослідження ленгмюрівських моношарів на основі ЯЛ [402]. Для молекули ЯЛ значення площи перетину (A) при поверхневому тиску 20 мН/м становило 0,75 нм^2, що узгоджується з літературними даними [403, 404]. Оскільки стеаринова кислота не утворює стійких моношарів на поверхні вода – повітря, її структуру у роботі [402] було модифіковано шляхом з'єднання із гідрофільним фрагментом – залишком L-α-аланіну. Утворена сполука – стероїлаланін – в індивідуальному моношарі при поверхневому тиску 20 мН/м мáла площу перетину 0,36 нм^2, а у змішаному моношарі (ЯЛ з вмістом 11 мас. % стероїлаланіну) – 0,21 нм^2. При цьому середнє значення площі перетину у змішаному моношарі становило 0,63 нм^2. Таким чином, у моношарі ЯЛ із вмістом стероїлалалніну спостерігається від'ємне відхилен-

ня значень A від адитивності – вірогідно, завдяки зменшенню конформаційної рухливості вуглеводневих ланцюгів адитивності (причому змін зазнають площі перетинів обох сполук). Спостережуване відхилення від адитивності підвищується зі зростанням поверхневого тиску.

Зв'язок спостережуваної МД стеаринової кислоти з її конформаційною рухливістю, яка власно й забезпечує її здатність змінювати площу перетину у залежності від оточення, наочно ілюструється на прикладах олеїнової та лінолевої кислот. За кількістю метиленових ланок ці кислоти дорівнюють стеариновій, але наявність подвійних зв'язків C=C приводить до збільшення вільного об'єму мембрани при їх внесенні (див. Рис. 1.9 та Рис. 1.10) та якісно зворотного ефекту МД – зниження T_m [285, 312, 405]. Така МД відбивається у її підвищеній, порівняно із насиченими кислотами, проникності крізь мембрани олеїнової кислоти [406]. Таким чином, наявний вплив на МД як площі перетину жирних кислот, так і їх конформаційної рухливості та довжини їх гідрофобної частини – тобто, коефіцієнту анізометрії молекули (Табл. 3.6).

З усього вищевказаного випливає необхідність розширення принципу параметричної відповідности мембрани та екзогенної молекули не тільки стосовно розмірів гідрофобної області, а також площі перетину екзогенної молекули та, як буде показано нижче, низки інших параметрів (див. п. 3.3 та п. 6.3).

3.2.2. Стерини

Завдяки наявності системи конденсованих бензольних кілець, стерини мають жорстку ліпофільну молекулярну структуру (див. Табл. Б2, Дод. Б), що забезпечує їх взаємодію із об'ємом мембрани. Для дослідження нами були обрані холестерин, 7-дегідрохолестерин та холекальциферол. Треба зазначити, що вказані речовини входять до складу природних біомембран [56], втім не є власно ЛР. Але їх залучення до досліджень МД має великий сенс, оскільки на основі стеринів існують сотні ЛР, багато з яких віднесені до жит-

тєво важливих [407]. У роботах [408, 409] встановлено розташування неполярного стеринового фрагмента стеринів у гідрофобній області мембрани, тоді як його гідроксильна група спрямована до C=O-групи ліпіду, із можливим утворенням водневого зв'язку.

Табл. 3.6 містить параметри мембранотропної активності (a_{wt}, a_{mol}) досліджених гідрофобних сполук, а також деякі їх молекулярні параметри: коефіцієнти ліпофільності *logP* [89] та розраховані молекулярні параметри (див. п. 2.2.15). Для порівняння наведені відповідні параметри молекули ДПФХ.

Таблиця 3.6

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

№ з/п	Параметр / Речовина	a_{wt},° C	a_{mol},° C	*logP* [89]	*Конформаційна рухливість*	k_a $r_x \mid r_y \mid r_z$, нм
1.	Холестерин	–0,12	–0,07	8,7	0,18	0,30 1,56 | 0,84 | 0,59
2.	7-дегідро-холестерин	–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
6.	ДПФХ	–	–	13,5	0,80	0,62 3,19 | 0,75 | 0,74

Комплексний аналіз даних кореляцій параметра a_{wt} досліджених жирних кислот та стеринів в мембрані ДПФХ вказує на те, що *logP* не є єдиним визначальним параметром МД навіть для гідрофобних молекул. Як можна бачити (Рис. 3.15, а), для речовин, близьких за значенням *logP* (стеаринова кислота та холекальциферол), спостерігаються ефекти МД протилежних знаків. Взагалі для досліджених жирних кислот в мембрані ДПФХ $a_{wt} > 0$, тоді як для стеринів $a_{wt} < 0$, що визначається перш за все конформаційною рухливістю молекул. Жорстке стероїдне ядро викликає продукування вільного об'єму мембрани [410], тоді як конформаційно рухливі жирні кислоти при вбудовуванні в мембрану приводять до його зменшення [122].

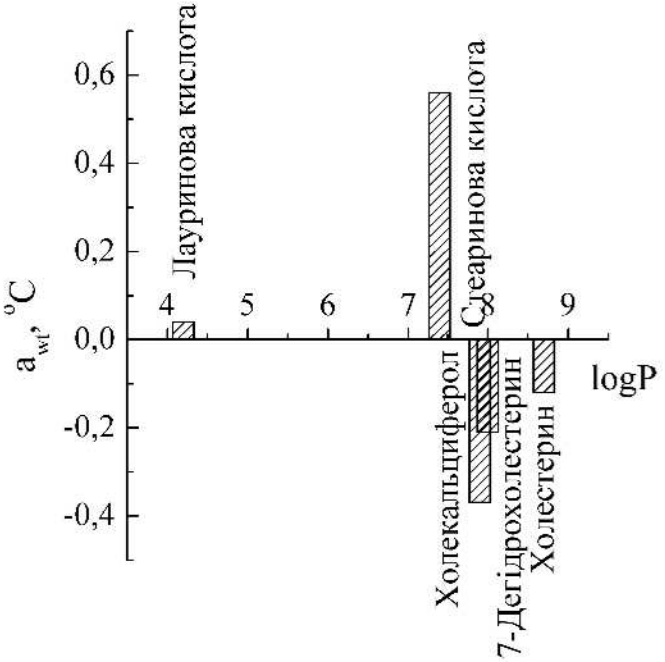


Рис. 3.15. Кореляції параметра мембранотропної активності a_{wt} досліджених жирних кислот та стеринів в мембрані ДПФХ з їх коефіцієнтами ліпофільності *logP*.

Вплив параметра молекулярної анізометрії k_a (див. (2.23), с. 83) можна простежити з Рис. 3.15, б: при підвищенні величини k_a ефекти кількісно зростають. Підвищення k_a фактично означає збільшення поверхні молекули при фіксованому об'ємі та еквівалентно підвищенню внеску дисперсійних сил у міжмолекулярні взаємодії (~ 20 мДж/м^2), що приводить до збільшення енергії

цих взаємодій та, відповідно, спостережуваного мембранотропного ефекта. Різниця у МД 7-дегідрохолестерину та холекальциферолу, певно, випливає з того, що розмикання бензольного кільця приводить до підвищення анізометрії та конформаційної рухливості молекули (див. Табл. 3.6).

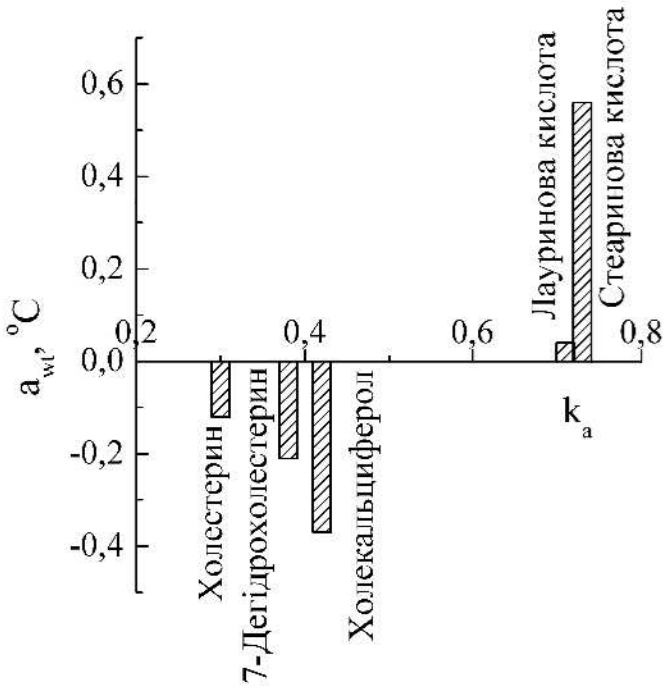


Рис. 3.16. Кореляції параметра мембранотропної активності a_{wt} досліджених жирних кислот та стеринів в мембрані ДПФХ з їх коефіцієнтами молекулярної анізометрії k_a.

3.3. Суперпозиція мембранотропної дії гідрофільних та гідрофобних структурних складових молекул лікарських речовин

Молекула ЛР, окрім основного фармакофорного фрагменту, який безпосередньо відповідає за її фармацевтичний ефект, має бути збалансованою за вмістом гідрофільних та гідрофобних фрагментів, які забезпечують її доставку до відповідної системи організму [154, 411]. Тому висвітлення зв'язку між МД даної ЛР та МД її структурних складових (тобто встановлення зв'язку «структура – властивості») є самостійною, дуже важливою задачею.

У Табл. 3.7 наведені значення a_{wt} та a_{mol} досліджених речовин, які містять фрагмент ТМА та деякі гідрофобні фрагменти. Перш за все, варто уваги, що значення a_{wt} та a_{mol} для сукцинілхоліну виявляється набагато нижчим, ніж для ТМА, незважаючи на вміст двох космотропних фрагментів. Це може бути пояснено невідповідністю відстані між центрами позитивних зарядів у молекулі сукцинілхоліну та на мембранній поверхні. За даними квантово-механічних розрахунків, ця відстань у молекулі сукцинілхоліну становить ~13 Å (з урахуванням розподілення заряду на метильну оболонку – близько 11 Å), тоді як середня відстань між молекулами ліпіду у бішарі становить 4 Å (Табл. 1.1). Згідно [412], розмір з'єднувального ланцюга між амонійними групами визначає ступінь зв'язування поліамфолітів з мембранами: від повного «ігнорування» до повноцінного вбудовування та латеральної сегрегації ліпідів. Вірогідно, зв'язування сукцинілхоліну з мембраною приводить до розштовхування голівок ліпідів, що й дає від'ємний внесок у його МД.

Таблиця 3.7

Параметри мембранотропної дії амонієвих сполук та їх компонентів у мембрані ДПФХ

Параметр / Речовина	a_{wt}, ° C	a_{mol}, ° C	*№ структурної формули (№ сторінки) у Додатку В*
ТМА	0,4	0,1	29 (с. 357)
Сукцинілхолін	0,1	0,1	28 (с. 357)
Етоній	–0,3	–0,3	12 (с. 352)
Тіоній	–0,4	–0,4	31 (с. 357)
Декаметоксин	–0,6	–0,6	8 (с. 351)
Ментол	–3,4	–0,8	17 (с. 353)

Втім, значення a_{wt} для декаметоксину, для якого відстань між фрагментами ТМА [396] практично така сама, як і для сукцинілхоліну, має протилежний знак. Це, певно, обумовлено внеском ментильних залишків у складі декаметоксину, які мають виражену розупорядковувальну дію. Таку ж дію мають, згідно літературним дани [80], залишки капринової кислоти у складі етонію. Окрім, у відмінностях МД декаметоксину та етонію є також внесок, обумовлений різницею довжини з'єднувальних ланцюгів. Тіоній структурно схожий на етоній, але до складу його з'єднувального ланцюга входить атом сірки, що різко підвищує гідрофільність цієї сполуки. На користь цього слугують отримані дані ТГА (Рис. 3.17), які вказують, на наявність у молекулі тіонію сильно зв'язаної води (~ 1,3 моль/моль) з максимумом її десорбції при ~ 80 °С.

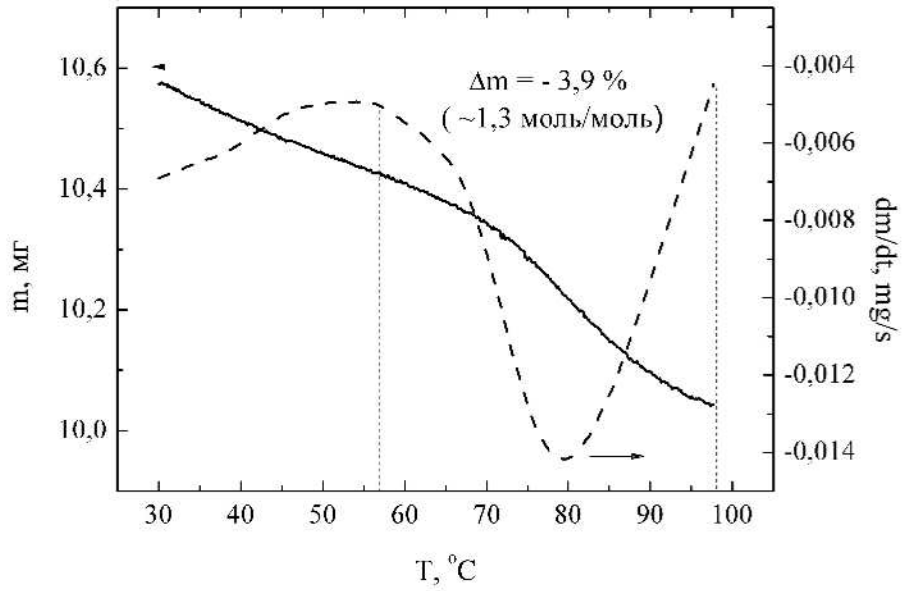


Рис. 3.17. Графіки ТГА (суцільна лінія) та ДТГ (пунктирна лінія) для тіонію.

Іншим наочним прикладом поєднання гідрофільних та гідрофобних структурних фрагментів є стеарати кальцію (CaSt) та магнію (MgSt). Як було показано вище, обидві структурні складові CaSt – стеаринова кислота та іони кальцію – мають ущільнюючу дію на мембрану (див. Табл. 3.6 та Рис. 3.13, Рис. 3.18, відповідно). Встановлено, що МД CaSt є теж ущільнюючою, втім суттєво меншою за адитивну (Рис. 5.23) – певно, внаслідок підвищення пло-

щини перетину молекули CaSt у порівнянні зі стеариновою кислотою. Дещо більший ефект MgSt у порівнянні CaSt може бути обумовлений його більшою поверхневою щільністю заряду, а також більшою гідратацією за даними методів ТГА та ITC (Табл. 5.8).

Таким чином, на підставі аналізу набору речовин, що містять гідрофільні та гідрофобні фрагменти (ТМА, жирні кислоти, ментол) показано, що МД даної ЛР не адитивна по значеннях МД її окремих структурних складових, втім, є їх суперпозицією, з урахуванням параметричної відповідності даної речовини та мембрани.

3.4. Утворення нової фази

При внесенні сторонніх речовин у ліпідну мембрану у деяких випадках спостерігаються якісні зміни ДСК-профілей: з'явлення додаткового піку T_m^* (або декількох піків) нижче або вище за температурною шкалою, ніж вихідний пік T_m. У разі відтворюваності розташування та форми таких піків можна говорити про утворення нової фази ліпідів, яка відрізняється від вихідної щільністю упаковки ліпідів. Слід зауважити, що утворювані фази не є новими з точки зору мезоморфізму щонайменш з двох причин. По-перше, термодинамічні фази, найближчі до L_α та $P_{\beta'}$, знаходяться за температурною шкалою на ~ 20 °C вище (інвертована гексагональна H_{II}-фаза) або нижче (кристалічна L_c-фаза) [256], тоді як спостережувана температурна різниця між T_m та новими піками має величину до декількох градусів. По-друге, для мембрани ДПФХ H_{II}-фаза за нормальних умов взагалі не характерна [256].

Фазове розділення у ліпідних мембранах при внесенні Хол детально описане у літературі (див. п. 1.1.7). В наших дослідженнях у присутності 10 мас. % Хол в мембрані ДПФХ спостерігалися два піки основного фазового переходу, зсунуті вниз за температурною шкалою на 0,5 °C та 0,1 °C. Згідно загальноприйнятим уявленням, вони відповідають плавленню Хол-збагаченої та Хол-збідненої фаз з температурами максимумів $T_m(+)$ та $T_m(-)$. Визначення

параметрів подібних близько розташованих піків можливе за допомогою процедури розкладання піків (див. п. 2.2.8).

Зрозуміло, що латеральне фазове розділення викликають не тільки стерини, а й речовини іншої хімічної будови. Зокрема, у присутності вітаміну Е теж спостерігалося фазове розділення ліпідів з утворенням доменів з різним вмістом цієї ЛР [413]. Нами у мембрані ДПФХ спостерігалося фазове розділення ліпідів при підвищенні концентрації стеаринової кислоти (Рис. 3.18).

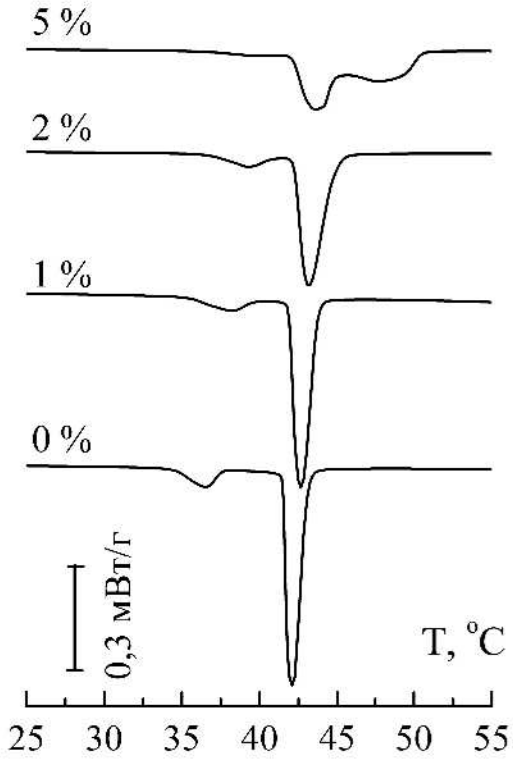


Рис. 3.18. Нормовані ДСК-термограми мембран ДПФХ із вмістом стеаринової кислоти. У підписах кривих позначено концентрацію стеаринової кислоти (мас. %).

Явні ознаки фазового розділення (з'явлення високотемпературного ендотермічного піку) спостерігаються за концентрацій кислоти вище 5 мас. %, про що свідчать і літературні дані [285]. Можна припустити, що в цій системі, як і у випадках Хол та вітаміну Е, утворюються фази із різним вмістом внесеної речовини.

В усіх вищевказаних прикладах утворення нової фази ліпідів відбувалося внаслідок взаємодії речовини з гідрофобним об'ємом мембрани. Втім, взаємодія з речовин з поверхнею мембрани теж може викликати такий ефект. Фазове розділення при внесенні одновалентних іонів до ліпідних мембран доповідалося в літературі для низки іонів лужних металів [414, 415]. Утворення нової фази внаслідок взаємодії з поверхнею мембрані спостерігалося нами для нітрату срібла $AgNO_3$ у мембрані ДПФХ (Рис. 3.19).

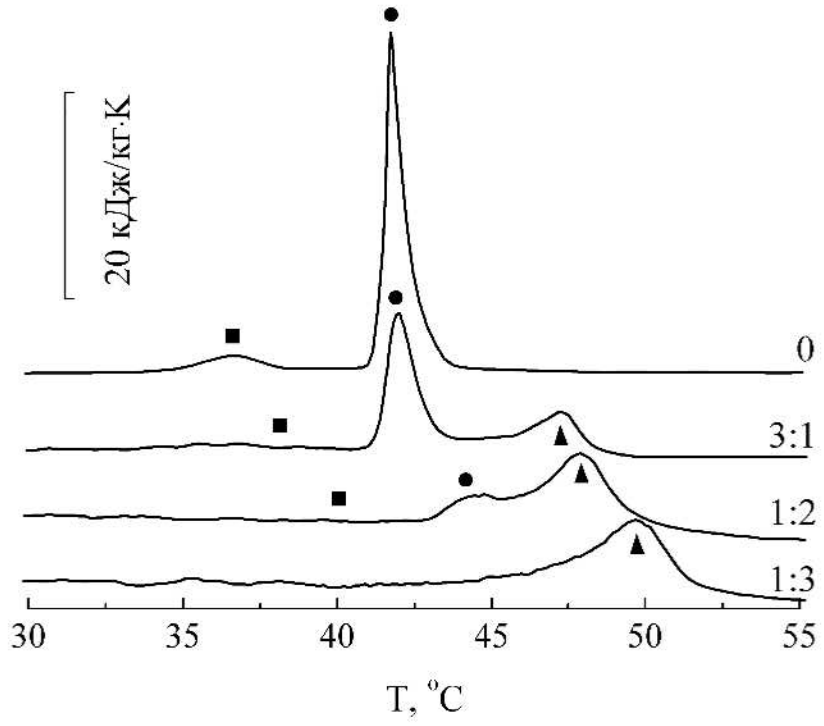


Рис. 3.19. Питома теплоємність мембрани ДПФХ із $AgNO_3$ (у режимі нагрівання) в області фазових переходів T_p (■), T_m (●) та T_m^* (▲). У підписах вказано мольні співвідношення ДПФХ : $AgNO_3$. Теплоємність зразків обчислено з оригінальних даних ДСК за формулою (2.6).

У водному середовищі $AgNO_3$ розчиняється з дисоціацією на нітрат-іони та іони срібла, відомі своїми антимікробними властивостями [416, 417]. Іон Ag^- має виражену ущільнюючу МД у мембрані ДМФХ, достовірно більшу, ніж у близького за розміром Na^- (див. Рис. 3.4, с. 92). При внесенні $AgNO_3$ у

мембрану поряд із піками T_m та T_p спостерігалося з'явлення додаткового піку фазового переходу T_m^* (Рис. 3.19), що свідчить про утворення нової, ущільненої фази ліпідів.

Залежно від концентрації $AgNO_3$, пік T_m^* розташовувася вище за основний (T_m) на 0,2 ÷ 8,5 °C. Як можна бачити, при підвищенні вмісту $AgNO_3$ спостерігався не тільки зсув піків T_m та T_m^*, але й перерозподіл їх інтенсивності на користь останнього. При мольному співвідношенні ДПФХ : $AgNO_3$ 1 : 3 залишався лише пік T_m^*. Спираючись на це, можна припустити, що при цьому співвідношенні усі молекули ДПФХ входять до складу нової фази. Нова фаза відрізняється від вихідної не тільки за щільністю упаковки ліпідів, а й за латеральною гетерогенністю. На Рис. 3.20, Рис. 3.21 наведені концентраційні залежності температур усіх фазових переходів в системі ДПФХ + $AgNO_3$, спостережуваних у режимах нагрівання та охолодження. Як можна бачити з Рис. 3.21, гістерезис додаткового піку суттєво збільшується із вмістом $AgNO_3$, що свідчить про підвищену латеральну гетерогенність упаковки ліпідів у новій фазі (див. п. 2.2.5).

Подібна індукована неоднорідність ліпідного бішару може бути одним з факторов ушкоджуючої дії срібла на бішар нейтральних фосфоліпідів. Втім, в області терапевтичних конентрацій срібла (2 мас. % [418]) суттєвих змін фазового стану ліпідного бішару не встановлено, що може пояснювати відсутність ушкоджуючої дії срібла на клітини організму-хазяїна при вираженому бактерицидному ефекті. Логічно припустити, що за терапевтичних концентрацій срібла основний біологічний ефект обумовлений його взаємодією з неліпідними компонентами бішару, зокрема, білками. Це, до речі, узгоджується з відомою різницею у дії препаратів срібла на мембрани прокаріот та еукаріот.

Утворення нової фази спостерігалося в даній роботі також для фенібуту (див. п. 5.5.1) та граміцидину S (див. п. 6.6).

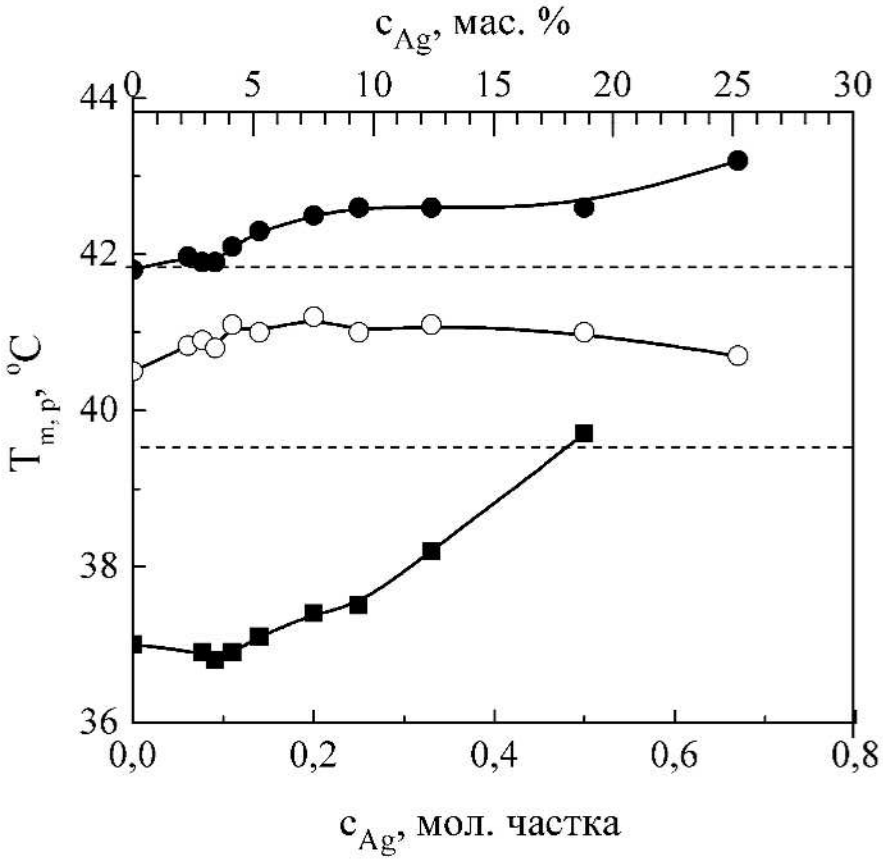


Рис. 3.20. Температури переходів мембрани ДПФХ із вмістом $AgNO_3$ T_p (■, □), T_m (●, ○) (відкриті символи відповідають значенням, отриманим у режимі охолодження). По нижній осі абсцис відкладена мольна частка $AgNO_3$ у ДПФХ, по верхній – відповідна масова концентрація $AgNO_3$ у водному розчині. Пунктирними лініями позначені величини T_m та T_p для мембрани ДПФХ без домішок.

Можливим фізичним механізмом утворення нової фази може бути обмежена розчинність сторонньої речовини у мембрані у поєднанні зі значною енергією її взаємодії із молекулами ліпідів. Це приводить до утворення ділянок ліпідів із суттєво зміненими термодинамічними властивостями, які відокремлюються від основної фази шляхом мінімізації меж розподілу. Ще одним фактором утворення нової фази є, згідно [109], стеричні перешкоді між ліпідами у оточенні сторонньої молекули та у вихідній мембрані.

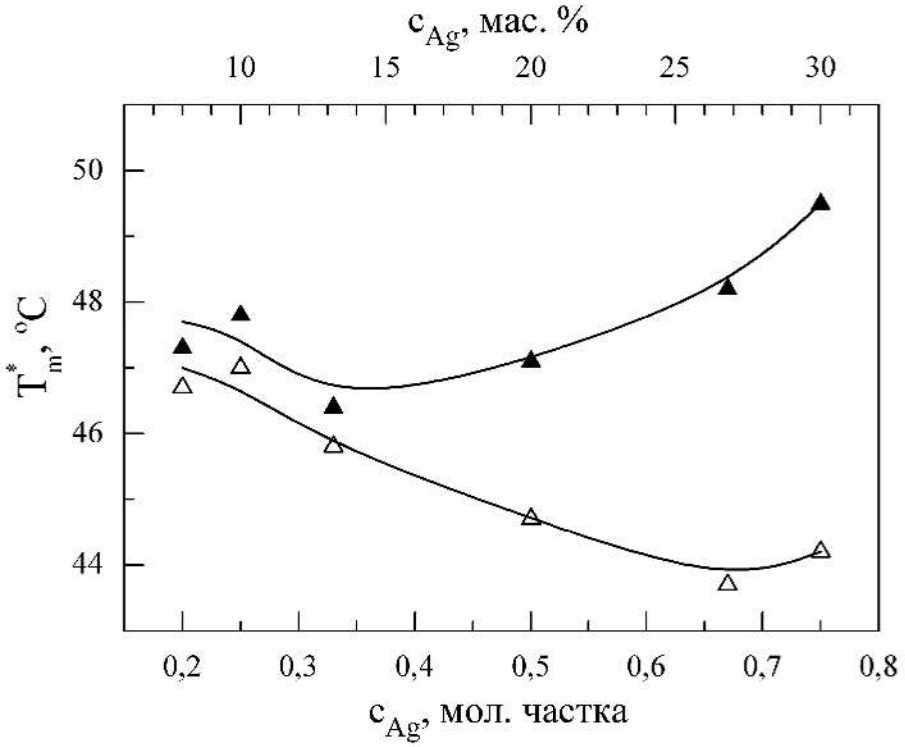


Рис. 3.21. Температура максимуму додаткового піку T_m^* фазових переходів мембрани ДПФХ із вмістом $AgNO_3$ при нагріванні (▲) та охолодженні (△). нижній осі абсцис відкладена мольна частка $AgNO_3$ у ДПФХ, по верхній – відповідна масова концентрація $AgNO_3$ у водному розчині.

Взаємодія компонентів ЛР та інших біологічно активних молекул може приводити до утворення якісно нової термодинамічної фази, яка не належить до жодної фази, характерної для недопованих мембран. Наприклад, індукована гліцерином інтердигітована L_I-фаза [419] утворюється як компенсаційний відгук мембрани на надмірне розширення полярної області у порівнянні з неполярною [420]. Утворення інтердигітованої фази у мембрані ДПФХ спостерігалося й для ЛР, наприклад, для гідрофільного анестетика енфлурану [100].

Таким чином, зрозуміло, що дія компонентів ЛП на ліпідні мембрани різноманітна, а спостережувані ефекти потребують класифікації, узагальнення та пояснення.

3.5. Висновки до розділу 3

У розділі 3 розглянуто індивідуальні взаємодії компонентів лікарських препаратів, а також їх окремих структурних складових з гідрофільною поверхнею бішару, його гідрофобною внутрішньою частиною (об'ємом), а також випадки утворення нової ліпідної фази внаслідок цих взаємодій:

1. На прикладі одновалентних іонів показано, що МД водорозчинних сполук визначається ступенем їх космотропності або хаотропності: космотропні іони підвищують T_m та T_p, тоді як хаотропні – знижують, причому кількісний ефект зростає у порядку розташування іонів за шкалою Гофмейстера ($Li^+ > Na^+$; $K^+ < Rb^+$; $Cl^- < Br^- < I^-$).

2. Встановлено, що для речовин, які локалізуються на полярній поверхні ліпідного бішару, суттєва роль у взаємодії з мембраною належить поверхневій щільності заряда. Оцінене критичне значення поверхневої щільності заряду (~ $5\cdot10^{-4}$ Кл/нм^2 для катіонів та ~ $3\cdot10^{-4}$ Кл/нм^2 для аніонів), при якому відбувається зміна знака ΔT_m мембрани ДМФХ. Відповідне критичне значення енергії гідратації становить ~350 кДж/моль як для катіонів, так і для аніонів.

3. 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 анізометрія, яка корелює з величиною ефекту.

4. Для низки речовин (амонієвих сполук, стеаратів кальцію та магнію тощо) показано, що їх мембранотропна дія є суперпозицією дії окремих компонентів (іонів, стеринів, жирних кислот), з урахуванням принципа параметричної відповідності мембрани та внесенної до неї речовини.

5. Розглянуто декілька випадків утворення додаткової фази ліпідів, більш чи менш щільної за вихідну, внаслідок взаємодії сторонньої речовини як з об'ємом (стеаринова кислота), так і з поверхнею мембрани (іони срібла).

6. Обґрунтовано необхідність узагальнення отриманих експериментальних даних та висвітлення загальних механізмів МД.

Результати, викладені в цьому розділі, опубліковані в роботах [3], [10], [13], [15], [16], [22]-27], [31]-[35], [47].

Розділ 4.
МОДЕЛІ Й ЗАКОНОМІРНОСТІ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ МЕМБРАНОТРОПНОЇ ДІЇ

4.1. Класифікація мембранотропних ефектів

Аналіз мембранотропних ефектів, наведений у розділі 3, а також у літературних джерелах (розділ 1), дозволив встановити, що основними причинами зміни параметрів мембрани при взаємодії із сторонніми речовинами є зміни в площі перетину її полярної та/або неполярної області. Зміни площини перетину гідрофільної частини молекули ліпіду відбуваються головним чином за рахунок гідратної оболонки (див. п. 1.1.5), а гідрофобної – за рахунок вільного об'єму (див. п. 1.1.6). Слід зауважити, що при взаємодії мембрани з унесеними до неї речовинами змінюються, власно, об'єми відповідних частин, втім для фазового стану ліпідів мають значення латеральні взаємодії (Рис. 1.5, с. 27) – тож, можна обмежитись розгляданням площ перетину ліпідних молекул. Зокрема, зниження енергії латеральної взаємодії між полярними частинами ліпідів приводить до підвищення їх гідратації [111]; зворотнє теж уявляється вірним. Інше зауваження стосується конформаційних змін полярної частини ліпіду, які, звісно, мають місце при вказаних взаємодіях. Втім, їх власний внесок у зміну площі перетину незначний (п. 1.1.3), а основний внесок можна віднести на рахунок перебудов гідратної оболонки.

На Рис. 4.1 наведена схема, яка ілюструє механізми виникнення описаних вище ефектів: підвищення або зниження T_m та утворення нової фази. Так, взаємодія з неполярною областю мембрани, що спричиняє зниження її вільного об'єму, приводить до підвищення T_m (як у випадку лауринової кислоти), тоді як збільшення вільного об'єму відбивається у підвищенні T_m (олеїнова кислота). З іншого боку, занадто сильна МД може приводити до утворення нової фази: у першому випадку прикладом є стеаринова кислота, у другому – іони Ag^+.

Можна побачити, що речовини, які зменшують об'єм полярної частини мембрани (наприклад, Li^+ та K^+), приводять до збільшення T_m. Навпаки: речовини, які сприяють гідратації ліпідів (тобто, збільшують об'єм полярної частини мембрани), спричиняють зниження T_m (як K^+ та NO_3^-).

4.2. Визначальні параметри мембранотропної дії речовин

Очевидно, що мембранотропна дія визначається структурою обох суб'єктів взаємодії – як власно речовин, так і мембрани. Зазвичай ЛР містять як гідрофільні, так і гідрофобні фрагменти, баланс яких важливий для забезпечення їх біодоступності [234]. З практичної точки зору уявляєтья доцільним встановлювати МД лікарських речовин на підставі їх структури, без тривалих та ресурсномістких досліджень. Як було показано вище (див. п. 3.3), кожний зі структурних фрагментів ЛР робить свій внесок у МД, у загальному випадку неадитивний. У декотрих роботах встановлено кореляцію T_m та *logP* для гідрофобних речовин подібної хімічної будови [309], а також зв'язок *logP* із проникністю мембрани для ЛР [421, 422]. Серед значущих молекулярних параметрів ЛР відзначають також іонний стан [234]. Втім на сьогодні в літературі відсутні не тільки відповідні теоретичні розробки, але й роботи щодо узагальнення звя'зків між МД сполук різної хімічної будови та їх молекулярними параметрами.

Як можна побачити з Рис. 4.1, на МД можуть впливати всі молекулярні параметри, що приводять до зміни об'єму полярної та неполярної областей мембрани. Як було зазначено вище, з усіх молекулярних параметрів лікарських речовин у літературі переважно використовується *logP* [421, 422]. Тому значення *logP* були розраховані для широкого кола досліджуваних речовин (див. п. 2.2.15) та зіставлені з параметром масової мембранотропної активності a_{wt}. Цей параметр, пропорційний ΔT_m (див. (2.5), с. 70), був обраний як найбільш характерний для МД.

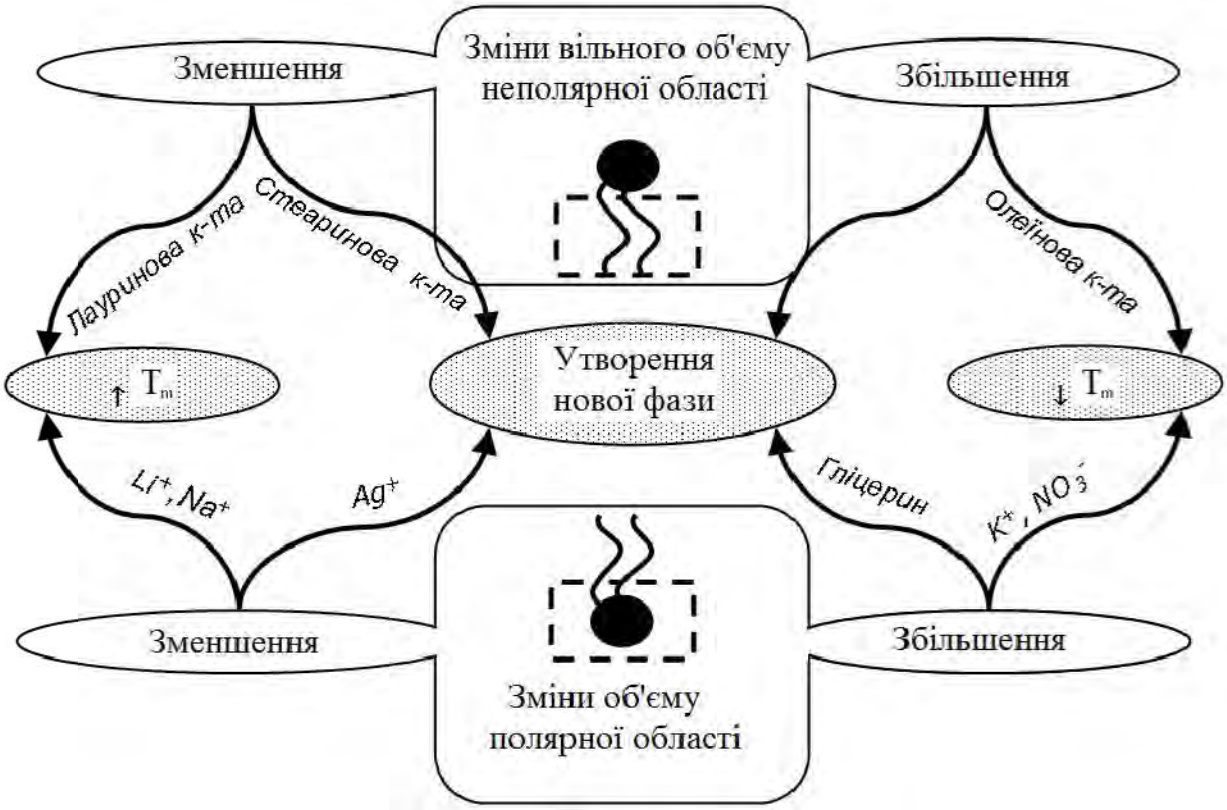


Рис. 4.1. Класифікація мембранотропних ефектів за механізмами виникнення.

На Рис. 4.2 наведені кореляції значень *logP* та a_{wt} для компонентів ЛП, що не викликали утворення нової фази. Додатково використані дані, отримані роботи [423] для холестерилолеїлкарбонату (ХОК), який застосовуєься як компонент косметичних засобів [89].

З усього розмаїття отриманих даних можна виділити щонайменш дві якісно різні групи: речовини з $logP < 0$ та речовини з $logP > 0$. Для групи речовин з $logP < 0$ встановлено позитивне значення a_{wt}, проте кореляція із a_{wt} зворотня ($r = -0{,}47$). тобто незначна. Для групи з $logP > 0$ ця кореляція пряма та висока ($r = 0{,}82$).

Такі відмінності, певно, відбиівають кардинально різні механізми взаємодії з мембраною гідрофільних та гідрофобних речовин, що обумовлює необхідність окремого розглядання взаємодій з поверхнею та об'ємом мембрани.

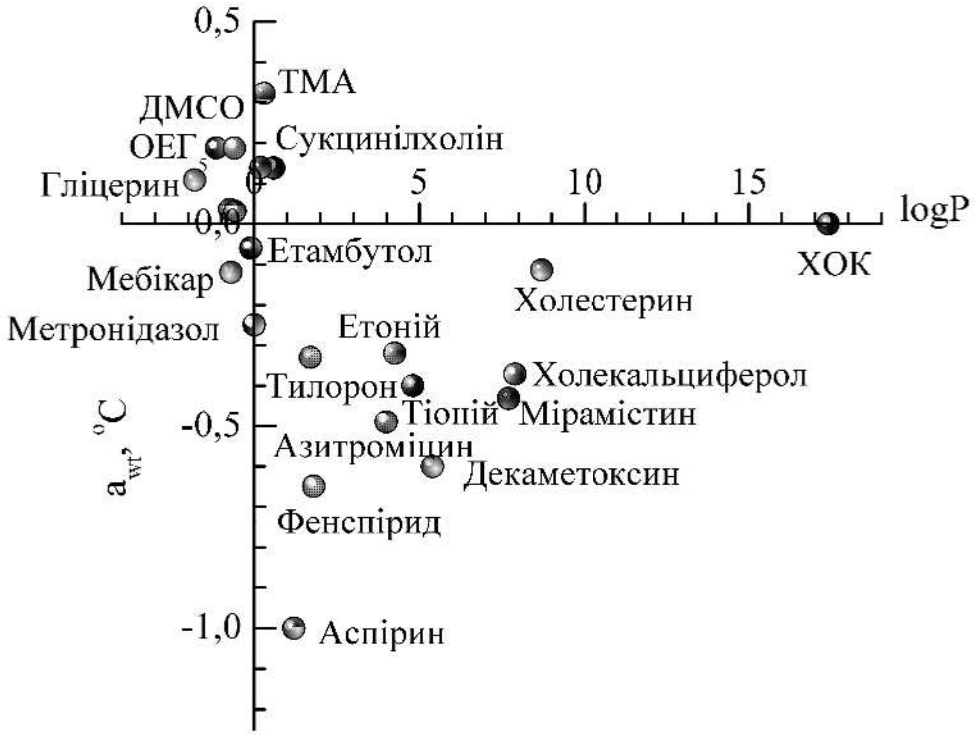


Рис. 4.2. Кореляції середніх значень *logP* досліджуваних речовин та параметра їх мембранотропної дії a_{wt}.

Рис. 4.3, побудований на підставі даних Рис. 4.2, демонструє середні значення a_{wt} у завданному інтервалі *logP* досліджуваних речовин. Як можна бачити, мембранотропний ефект наростає у інтервалі *logP* 0 ÷ 6, а вище цих значень починає зменшуватся. Це узгоджується з відомим у фармакології емпіричним правилом Ліпінськи [258], згідно якому для забезпечення терапевтичної активності ЛР їх значення повинно належати інтервалу –1 ÷ 5. Зрозуміло, що на це загальне правило накладаються численні обмеження, пов'язані, зокрема, зі шляхом уведення речовин в організм. Наприклад, проникність шкіряних покривів максимальна для ЛР зі значеннями *logP* від –1 до 3 [291]. Цікаво, що для ХОК, який має найвищу ліпофільність з усіх дослдіджувани речовин, у тому числі ліпідів (для ХОК значення *logP* 17,4, тоді як для ДПФХ *logP* 13,5) $a_{wt} \sim 0$, що, певно, пов'язане з його локалізацією у невпорядкованій частині метильних груп у середині бішару.

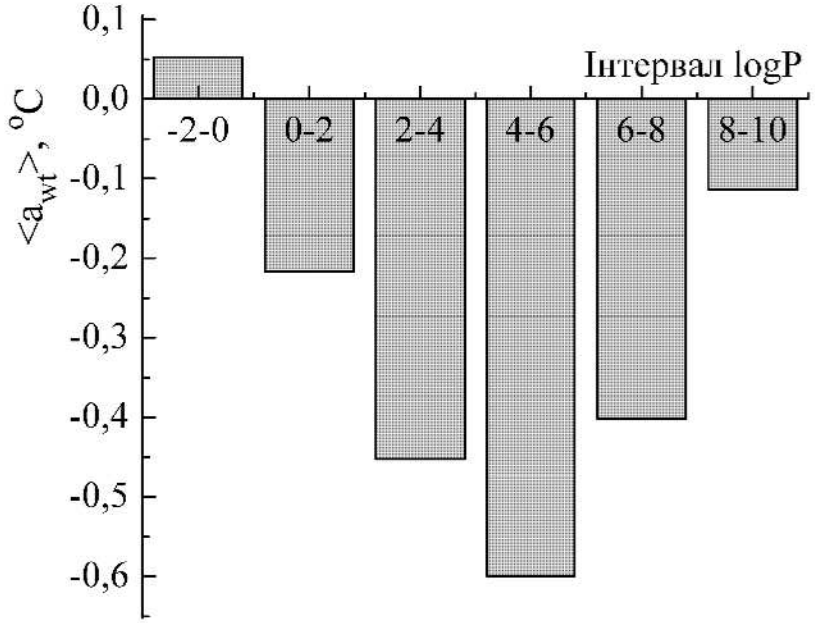


Рис. 4.3. Середні значення a_{wt} у завданному інтервалі *logP* досліджуваних компонентів ЛП.

Для повного набору досліджуваних речовин кореляція a_{wt} з *logP* слабка ($r = -0{,}26$), що є підтвердженням недостатньості застосування лише *logP* для опису МД речовини та необхідності пошуку інших визначальних параметрів.

З метою простежити зв'язок між МД досліджуваних речовин та іншими молекулярними параметрами було проведено квантово-хімічні розрахунки й визначено такі молекулярні параметри, як геометричні розміри (r_x, r_y, r_z), коефіцієнт анізометрії k_a, дипольний момент μ, молекулярний об'єм V_m, S_{total} площа поверхні S_{total} та частка полярної поверхні σ_{polar} (див. п. 2.2.15). Отримані результати наведені у Табл. 4.1 та Табл. Б2 Додатку Б. Як можна побачити, досліджувані речовини мають широкий діапазон молекулярних параметрів: молекулярну масу *M* від 75 до 750; значення k_a від 0,00 до 0,74; μ від 0,0 до 6,9; σ_{polar} від 0,0 до 0,49.

Таблиця 4.1

Молекулярні параметри та параметр мембранотропної дії досліджуваних речовин

Параметр / Речовина	a_{wt}, °C	S_{polar}, Å^2	S_{total}, Å^2	V_m, Å^3	r_x, Å	r_y, Å	r_z, Å	μ, Д	σ_{pola}	k_a
Азитроміцин	–0,5	180,0	596,9	907,4	14,27	13,86	8,52	6,68	0,30	0,01
Аспірин	–1,0	63,6	199,0	203,1	8,04	6,13	1,90	1,99	0,32	0,13
Гліцерин	0,1	60,7	124,6	113,9	4,81	3,49	3,18	0,74	0,49	0,16
7-Дегідрохолестерин	–0,2	20,2	451,4	544,0	1,63	0,74	0,62	2,71	0,04	0,38
Декаметоксин	–0,6	52,6	753,1	908,1	32,06	10,33	5,74	6,40	0,07	0,51
Етамбутол	–0,1	64,5	272,3	285,7	11,94	8,71	3,20	0,06	0,24	0,16
Лауринова кислота	0,04	37,3	290,8	292,6	1,68	0,28	0,24	2,41	0,13	0,71
Етоній	–0,3	52,6	668,2	729,9	36,85	6,24	4,80	0,26	0,08	0,71
Мебікар	0,0	47,1	213,5	236,0	7,44	7,26	3,32	1,76	0,22	0,01
Метронідазол	–0,3	83,9	205,5	215,6	7,40	7,39	2,59	4,79	0,41	0,00
Мірамістин	–0,4	29,1	528,5	585,9	27,25	7,33	3,89	2,24	0,06	0,58
$ОЕГ_5$	0,2	–	370,4	393,8	13,47	10,45	3,73	2,55	–	0,13
$ОЕГ_{25}$	0,0	–	1154,1	1511,7	41,03	10,87	5,60	3,44	–	0,52
$ОЕГ_{30}$	0,0	–	1389,4	1796,2	47,38	14,80	7,99	4,79	–	0,58
Стеаринова кислота	0,6	37,3	413,5	426,1	2,33	0,36	0,34	3,44	0,09	0,73
Сукцинілхолін	0,1	52,6	362,0	391,5	17,52	5,11	4,54	0,93	0,15	0,55
ТМА	0,3	0,0	129,0	124,3	4,27	4,27	3,02	0,00	0,00	0,00
Тилорон	–0,3	42,0	460,6	521,4	20,44	8,34	6,97	1,43	0,09	0,42
Тіоній	–0,4	77,9	729,4	804,0	39,76	5,85	5,01	5,58	0,11	0,74
Уроканова кислота	0,1	66,0	169,3	160,8	8,93	3,97	0,01	2,41	0,39	0,38
Фенспірид	–0,6	41,6	294,7	329,3	13,51	5,28	4,59	2,86	0,14	0,44
Холекальциферол	–0,4	20,2	451,4	544,0	1,89	0,78	0,55	2,11	0,04	0,42
Холестерин	–0,1	20,2	430,7	539,0	15,64	8,42	5,91	1,85	0,05	0,30

Впливовість вказаних параметрів для МД можна висвітлити за допомогою кореляційного аналізу. Табл. 4.2 містить матрицю коефіцієнтів r між цими параметрами та a_{wt} для гідрофобних речовин. Тут особливо можна виділити високу кореляцію між a_{wt} та σ_{polar} ($r \approx -0{,}8$) для групи речовин, що занурені у гідрофобний кор мембрани та мають $a_{wt} < 0$. Для цих речовин мембранотропний ефект зростає зі збільшенням σ_{polar}, що ілюструє Рис. 4.4.

Таблиця 4.2

Матриця коефіцієнтів лінійної кореляції між a_{wt} та деякими молекулярними параметрами досліджуваних гідрофобних речовин

	a_{wt}	<logP>	S_{total}	V_m	μ	k_a	σ_{polar}	S_k
a_{wt}	1,00	0,86	0,46	0,41	–0,40	–0,39	–0,83	0,43
<logP>		1,00	0,16	0,41	–0,38	0,41	–0,67	0,51
S_{total}			1,00	0,96	0,11	0,50	–0,25	0,79
V_m				1,00	0,22	0,27	–0,09	0,60
μ					1,00	-0,16	0,45	–0,13
k_a						1,00	-0,64	0,90
S_{polar}/S_{total}							1,00	-0,50
S_k								1,00

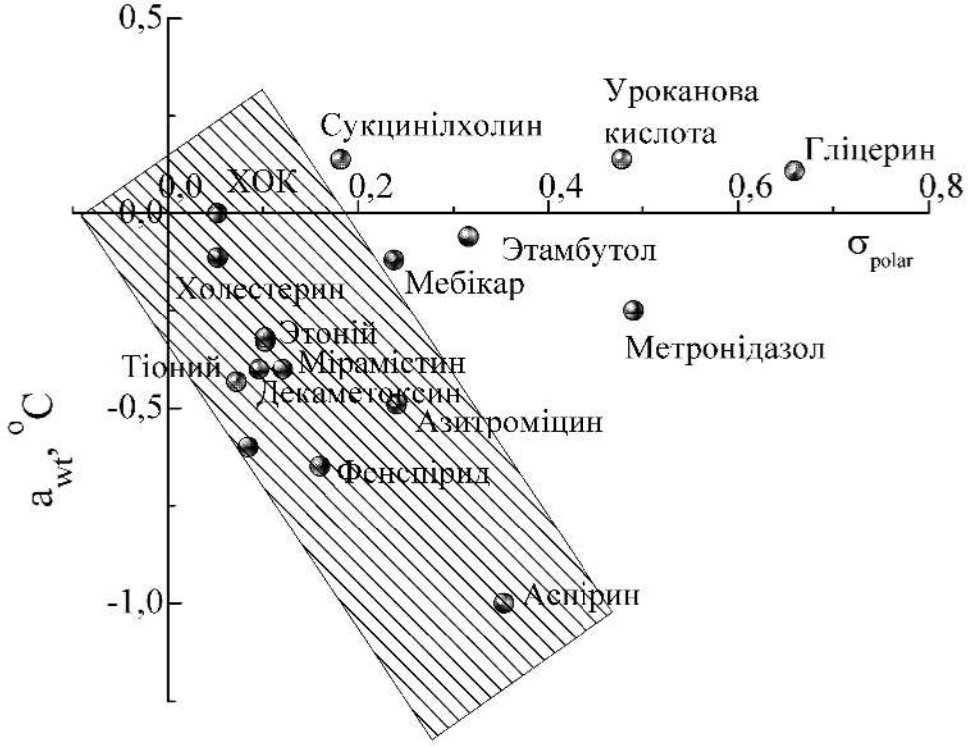


Рис. 4.4. Кореляції a_{wt} та σ_{polar} досліджуваних речовин. Заштрихована зона позначає групу ЛР, для яких існує зворотня кореляція між a_{wt} та σ_{polar}.

Втім, для речовин близької хімічної структури можна висвітлити додаткову низку впливових параметрів. Нижче наведені кореляційні матриці для

окремих хімічних груп: бісчетвертинних амонієвих сполук (БЧАС) декаметоксину, етонію та тіонію (Табл. 4.3) та ОЕГ$_n$ (Табл. 4.4). Для цих груп встановлена висока лінійна кореляція (r = –0,81 ÷ –0,99) з такими параметрами, як S_{total}, V_m та μ. Таким чином, окрім ліпофільності, великий вплив на МД мають розміри молекули, склад функціональних груп (визначальний для σ_{polar}) та електрофізичні властивості.

Таблиця 4.3

Матриця коефіцієнтів лінійної кореляції між a_{wt} та деякими молекулярними параметрами БЧАС

	a_{wt}	$<logP>$	S_{total}	V_m	μ	S_{polar}/S_{total}
a_{wt}	1,00	–0,86	–0,96	–0,81	–0,99	–0,29
$<logP>$		1,00	0,96	1,00	0,91	–0,25
S_{total}			1,00	0,94	0,99	0,02
V_m				1,00	0,88	–0,32
μ					1,00	0,17
S_{polar}/S_{total}						1,00

Таблиця 4.4

Матриця коефіцієнтів лінійної кореляції між a_{wt} та деякими молекулярними параметрами ОЕГ$_n$

	a_{wt}	$<logP>$	S_{total}	V_m	μ
a_{wt}	1,00	0,84	–0,81	–0,82	–0,87
$<logP>$		1,00	–1,00	–1,00	–0,92
S_{total}			1,00	1,00	0,94
V_m				1,00	0,93
μ					1,00

Зв'язки між молекулярною структурою та МД речовин, встановлені на підставі аналізу та узагальнення власних та літературних даних, схематично представлені на Рис. 4.5. Серед молекулярних параметрів ЛР визначальними

є хімічна структура, електростатичні властивості, геометричні параметри, а також їх відповідність структурі мембрани [273, 424]. Окрім того, для взаємодії із поверхнею мембрани важливі гідратаційні параметри (космотропність/хаотропність, енергія гідратації, поверхнева щільність заряду), а для взаємодії із об'ємом – конформаційна рухливість, анізометрія та частка полярної поверхні молекули.

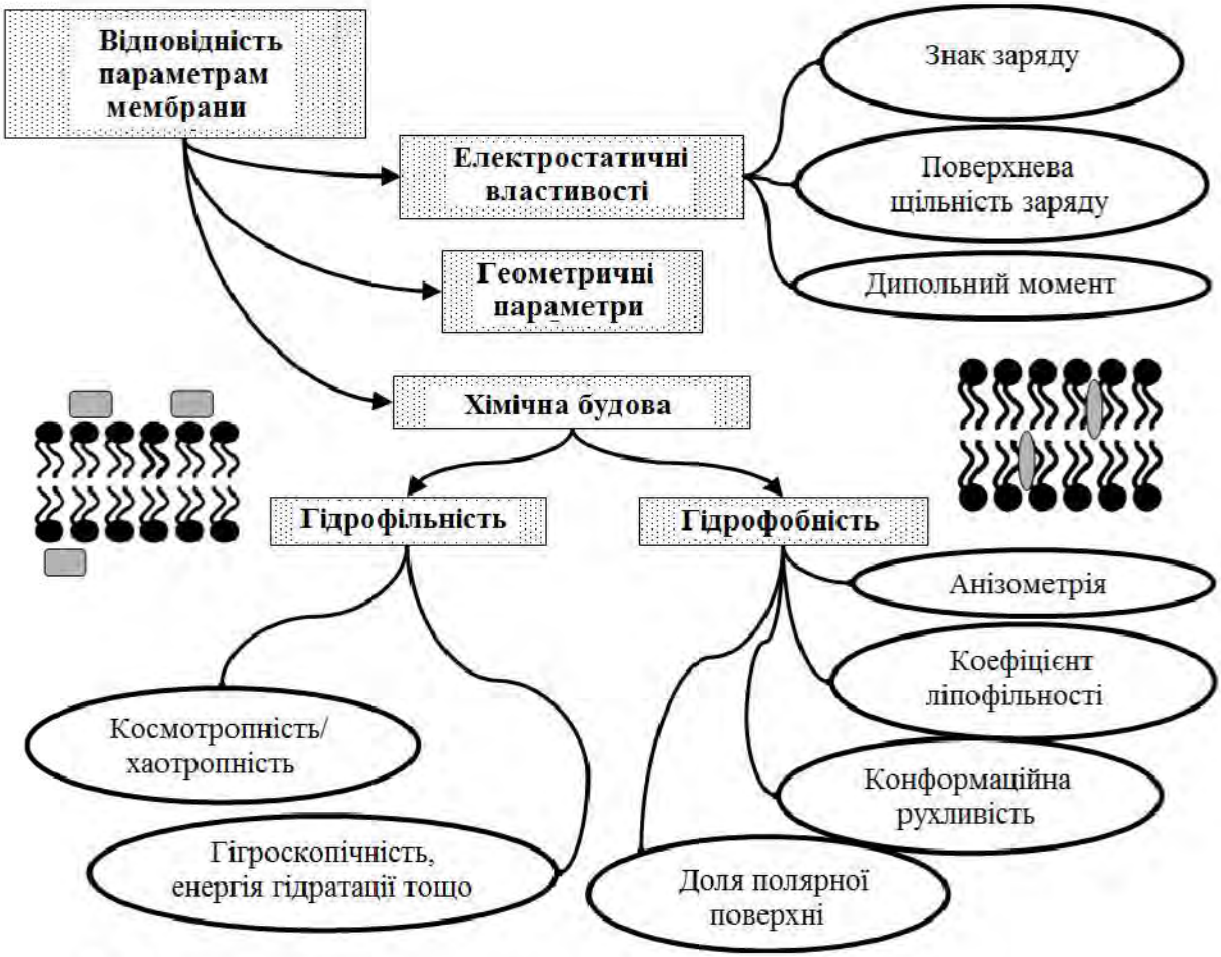


Рис. 4.5. Молекулярні параметри речовин, важливі для їх МД.

4.3. Модель взаємодії космотропних та хаотропних речовин з ліпідною мембраною

Основний фазовий перехід в ліпідній мембрані пов'язаний із конформаційним переходом вуглеводневих ланцюгів з стану *all-trans* (низькотемпературна фаза) до стану *trans-gaushe* (високотемпературна фаза) (див. п. 1.1.3).

Втім, кількість *гош*-конформерів на ланцюг, яка зрештою й визначає вільний об'єм мембрани та площу перетину ліпідної молекули, залежить також і від низки інших факторів. Так, конформація вуглеводневих ланцюгів компенсаційно змінюється внаслідок стеричних взаємодій при пакуванні молекул у бішарі за умов надлишку чи нестачі вільного об'єму (див. п. 1.1.6) – для зберігання планарності бішару (див. п. 1.1.3). Аналогічні зміни відбуваються й при докладанні до мембрани латерального тиску: при розтягуванні мембрани конформаційна рухливість ланцюгів підвищується (відповідно, значення T_m знижується), при її стисненні – зменшується (відповідно, значення T_m підвищується). Відомо, що космотропні речовини зменшують площу перетину ліпідних молекул, тоді як хаотропні її збільшують – за рахунок зміни параметрів гідратної оболонки мембрани (див. пп. 3.1.1.1, 3.1.2). З іншого боку, модуль стиснення бішару є пропорційним до флуктуацій площі ліпідної молекули [318], тому зміна параметрів гідратації бішару є суттєвим чинником, що впливає на стисливість бішару (див. Табл. 1.1). Нарешті, дані [59] свідчать про лінійність залежності T_m від тиску у мембрані ДПФХ.

На підставі вищезазначеного дію водорозчинних речовин на мембрану можна описати у термінах додаткового ефективного латерального тиску P_{eff}, позитивного для космотропних та негативного для хаотропних речовин*, що дало підстави для застосування рівняння Клапейрона-Клаузіуса. Це рівняння в загальному випадку придатне до описання усіх фазових переходів I роду. Оскільки, як було показано вище, визначальним фактором взаємодії ЛР з поверхнею мембрани є зміна площі перетину молекули, був застосований двовимірний випадок рівняння Клапейрона-Клаузіуса:

$$\frac{dT_m}{dP_{eff}} = \frac{T_m(A_2 - A_1)}{q} \qquad (4.1)$$

---

* Математичні моделі, наведені у п. 4.3, 4.4 та 7.3, розроблено у співавторстві з к. ф.-м. н. Бродським Р.Є. (Інститут монокристалів НАНУ)

де A_1 та A_2 – площі перетину ліпідних молекул, відповідно, до та після фазового переходу; q – молекулярна теплота переходу.

Для отримання залежності T_m від мольної концентрації розчину c скористаємось роботою [425], у якій досліджено зв'язок латерального тиску та значень A у присутності хаотропних іонів. З результатів цієї роботи випливає, що для отримання однакових значень A у моношарі ліпідів без іонів та з іонами необхідно прикласти різний латеральний тиск. Очевидно, що різниця цих тисків дорівнює P_{eff}. Подальший аналіз результатів роботи [425] (рис. 3) дозволяє встановити форму залежності $P_{eff}(c)$:

$$P_{\text{eff}} = Bc^{\beta}, \tag{4.2}$$

де B та β – константи, які, у заданих експериментальних умовах, залежать від природи внесенної до мембрани речовини (іону).

При внесенні сторонніх речовин відносні зміни A_1 та A_2, а також ΔH_m, невеликі (див. [425], рис. 1, 2), тому ці величини ми можемо вважати константами. Тоді з (4.1) отримуємо:

$$\ln\frac{T_m}{T_{m0}} = \frac{(A_2 - A_1)}{q} P_{\text{eff}}, \tag{4.3}$$

де T_{m0} – температура основного фазового переходу чистої мембрани.

Враховуючи, що $\Delta T_m << T_{m0}$, тобто $\ln(T_m / T_{m0}) \approx T_m / T_{m0}$, на основі (4.2) та (4.3) можемо записати:

$$\Delta T_m(c) \approx \left(\frac{T_{m0}(A_2 - A_1)}{q} B\right) c^{\beta}. \tag{4.4}$$

Отримане рівняння співпадає з емпірично встановленою формою залежності $T_m(c)$ – рівнянням (3.2) (с. 99), тобто має безпосереднє експериментальне підтвердження.

Якщо концентрація внесенної речовини достатньо мала, можна вважати що кожна з її молекул взаємодіє із мембраною незалежно. Тоді зв'язування сторонньої молекули з мембраною викликає додаткову зміну площі перетину ліпіду σ, яка залежить від структури молекули. Величина $\sigma > 0$ для космотропів (позитивний тиск) та $\sigma < 0$ для хаотропів (від'ємний тиск). При поверхневій концентрації речовини c_m відносна зміна площі мембрани становитиме $\Delta S/S = \sigma c_m S/S = \sigma c_m$. Тоді величину P_{eff}, пропорційну до $\Delta S/S$, можна записати як

$$P_{eff} = K\sigma c_m, \tag{4.5}$$

де K – коефіцієнт стисливості мембрани у латеральному напрямку, який визначається механічними властивостями мембрани.

Таким чином, степенева форма залежності $P_{eff}(c)$ обумовлена формою залежності $c_m(c)$, тобто степеневим законом адсорбції (див. (3.2), с. 99).

Рівняння (1.9) (с. 56) дає можливість встановити умови застосування рівняння (4.4). Для цього проведемо співставлення використаних фізичних величин:

$$\begin{gathered} x_2 - x_1 = \alpha(A_2 - A_1); \\ c = \rho\tilde{c}; \\ c_m = \tilde{c}_L x_1 \alpha, \end{gathered} \tag{4.6}$$

де α – число молекул води на одиницю площі мембрани; ρ – молярна щільність води.

Тоді (1.9) можна переписати як:

$$\frac{dT_m}{kT_m\left(1-\frac{\tilde{c}_L}{\tilde{c}}\right)\frac{\alpha}{\rho}dc}=\frac{T_m(A_2-A_1)}{q}. \qquad (4.7)$$

Рівняння (4.7) співпадає з (4.1) за умови

$$P'_{eff}(c)=kT_m\left(1-\frac{\tilde{c}_L}{\tilde{c}}\right)\frac{\alpha}{\rho}. \qquad (4.8)$$

Звідси, з урахуванням (4.5), отримаємо:

$$c'_m(c)=\frac{kT_m}{K\sigma}\left(1-\frac{\tilde{c}_L}{\tilde{c}}\right)\frac{\alpha}{\rho}. \qquad (4.9)$$

На підставі (4.9) та (4.6) для мембрани у низькотемпературній фазі отримаємо:

$$c'_m(c)=\frac{kT_m}{K\sigma}\left(1-\frac{\rho}{x_1\alpha}\frac{c_m}{c}\right)\frac{\alpha}{\rho}, \qquad (4.10)$$

або

$$c'_m(c)=a\left(1-b\frac{c_m(c)}{c}\right),$$

$$a=\frac{kT_{m0}}{K\sigma}\frac{\alpha}{\rho}=\text{const},\ b=\frac{\rho}{x_1\alpha}=\text{const}. \qquad (4.11)$$

Рішення рівняння (4.11) має вигляд:

$$c_m=C\cdot c^{-ab}+\frac{a}{1+ab}c, \qquad (4.12)$$

де C – довільна константа; $ab \neq 1$.

Знайдемо значення C. З виразів для a та b у (4.11) зрозуміло, що знак ab співпадає зі знаком σ. Для космотропів σ > 0, тож $ab > 0$. можна отримати з очевидної граничної умови $c_m(0) = 0$. Враховуючи, що $c^{-ab} \to \infty$ при $c \to 0$, єдине можливе значення C = 0. Тоді вираз (4.12) буде мати вигляд:

$$c_{\mathrm{m}} = \frac{a}{1+ab} c \propto c, \qquad (4.13)$$

тобто форму закону Генрі – характерного закону адсорбції для малих концентрацій.

Для хаотропів граничній умові $c_m(0) = 0$ буде відповідати й рішення з ненульовим значенням C. Однак, принаймні за малих концентрацій, повинна також мати місце лінійна залежність:

$$c_{\mathrm{m}} = \frac{a}{1+ab} c = -\frac{|a|}{1-|ab|} c \propto c, (\,|\,ab\,| > 1). \qquad (4.14)$$

Таким чином, рівняння (4.4) може бути застосоване за малих концентрацій речовини, коли її адсорбція на мембрані відбувається згідно із законом Генрі.

4.4. Модель ліпід-іонної взаємодії: залежність від іонного радіусу

Серед численних моделей ліпід-іонної взаємодії (див. п. 1.2.3) жодна не обґрунтовує лінійної знакозмінної залежності ΔT_m від радіусу іону r_{cation}, яку було отримано експериментально (див. Рис. 3.1, с. 86). Тож, доцільно було б розробити таку математичну модель ліпід-іонної взаємодії, з якої випливає лінійність $\Delta T_m(r_{cation})$.

Розглянемо симетричну елементарну комірку на поверхні мембрани (Рис. 4.6). Іон знаходиться у центрі комірки, тож, його взаємодія з усіма найближчими ліпідними молекулами однакова. Будемо вважати, що іон взаємо-

діє тільки з молекулами тієї комірки, за якою він зв'язаний (взаємодію із молекулами ліпідів з сусідніх комірок не розглядаємо). Якщо концентрація іонів на мембрані невелика, вони не взаємодіють один з одним та впливають на мембрану незалежно.

Як можна побачити з Рис. 4.6, зсув d дорівнює

$$d = R - R_H - r_{\text{cation}}, \tag{4.15}$$

де R_0 – відстань між центром комірки та центром голівки молекули ліпіду; R_H – «радіус» голівки ліпіду; r – радіус іона.

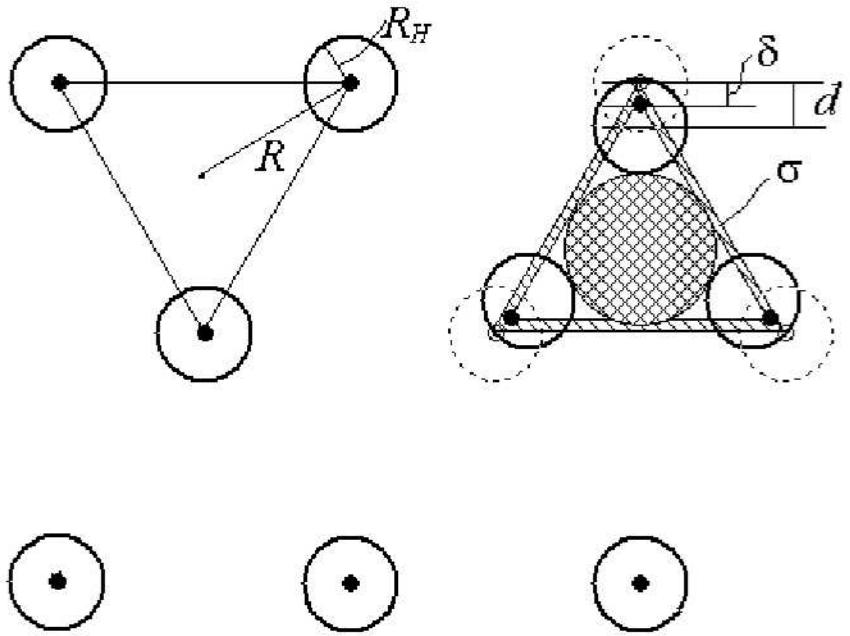


Рис. 4.6. Схематичне розташування голівок ліпідів (відкриті кола) на поверхні мембрани: вид зверху. Трикутник зліва – елементарна комірка ліпідів при гексагональному типі пакування. Трикутник справа – зміна параметрів комірки в результаті адсорбції іона (заштриховане коло) на поверхні мембрани: δ – зсув центрів ліпідних голівок до та після адсорбції іону; σ – зміна площі комірки в результаті адсорбції іону.

Для малих зсувів можна вважати, що

$$\delta = \gamma d = \gamma\left(R - R_H - r_{\text{cation}}\right),\ \gamma << 1. \tag{4.16}$$

Зауважимо, що величини d та δ можуть бути від'ємними, якщо $r_{cation} >$ $> R - R_H$ (тобто, якщо розміри іону перевищують характерний розмір ліпідної комірки).

Для малих зсувів можна записати

$$S = \alpha\left(R - \delta\right)^2 \approx \alpha\left(R^2 - 2R\delta\right) = \alpha\left(R^2 - 2R \cdot \gamma\left(R - R_H - r_{\text{cation}}\right)\right) \tag{4.17}$$

(α залежить від форми комірки, яка взагалі може відрізнятися від трикутної).

Тоді зміна площі комірки

$$\sigma = \alpha R^2 - S \approx 2\alpha R\gamma\left(R - R_H\right) - 2\alpha R\gamma \cdot r_{\text{cation}}. \tag{4.18}$$

Величина σ позитивна при зменшенні S.

Звідси, з урахуванням рівнянь (4.3) та (4.5), отримуємо лінійність залежності $\Delta T_m(r_{cation})$:

$$\Delta T_m \approx T_{m0}\frac{A_2 - A_1}{q}P_{eff} = \left[T_{m0}\frac{\left(A_2 - A_1\right)}{q}Kc_m \cdot 2\alpha R\gamma\right] \cdot \left(\left(R - R_H\right) - r_{cation}\right). \tag{4.19}$$

Додатково слід розглянути деякі аспекти запропонованої моделі.

1. При підвищенні заряду іону та, відповідно, сили кулонівської взаємодії величина R_H буде змінюватися внаслідок деформації ліпідної голівки. Крім того, слід враховувати, що іони з більшим зарядом можуть деформувати

більш, ніж 1 комірку [202]. Тому лінійність $\Delta T_m(r_{cation})$ буде мати місце тільки для набору іонів з однаковим зарядом.

2. Величина σ може бути від'ємною, якщо $\delta < 0$ (збільшення площі комірки). Згідно з рівнянням (4.19), у випадку, коли змін комірки не спостерігається ($\delta = 0$, $\Delta T_m = 0$), $r_{cation} = R - R_H$, тобто розмір іону точно відповідає розміру «вільного об'єму» комірки. Таким чином, на підставі залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ при $\Delta T_m = 0$ можна визначити характеристичний розмір «вільного об'єму» ліпідної комірки. Для мембрани ДПФХ він становить близько 0,12 нм (див. Рис. 3.1, с. 86). Ця величина досить добре збігається із розміром порожнини у структурі кластерної води 0,106 нм [218], який вважається критичним розміром, що розділяє однозарядні іони на космотропні та хаотропні [206, 218].

3. На залежність $\Delta T_m(r_{cation})$ має впливати константа зв'язування іонів із мембраною. Для іонів IA підгрупи значення констант зв'язування близькі [426], але в рамках іншої групи вони можуть суттєво відрізнятися, і це є однією з причин існування нелінійної залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ в рамках однієї групи.

4. Інші джерела нелінійності залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ пов'язані із анізотропією властивостей як іону, так і ліпідної комірки. Іонна анізометрія обумовлюється несферичною формою s-, p-, d-орбіталей та визначає їх переважну орієнтацію в комірці, яка, у загальному випадку, може відрізнятися від орієнтації іону при визначенні його радіусу [354]. З іншого боку, симетрія комірки визначає координаційне число іону, яке може відрізнятися від його власного координаційного числа – виникає «взаємодія анізотропій». Дійсно, лінійність залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ не спостерігається у випадку адсорбції одно- та двовалентних катіонів на мембранах тетрапальмітоїлкардіоліпіну [427].

4.5. Кореляція мембранотропної дії досліджених речовин та їх властивостей *in vivo*

Усі досліджені речовини взаємодіють з ліпідними мембранами *in vivo*, отже доцільно порівняти спостережувані ефекти МД з відомими властивостями вказаних речовин у живих організмах.

Зокрема, для Na^+, K^+ та Cl^- встановлена найменша МД серед усіх досліджених катіонів. Відомо, що саме ці іони мають найбільшу концентрацію в примембранному просторі, неоднакову по обидві боки мембрани й перемінну в ході клітинного циклу [190, 191, 197]. При незначній МД навіть великі зміни концентрацій цих іонів не мають суттєвого впливу на мембрану. Враховуючи протилежність ефектів (ущільнення – для Na^+ та розрідження – для K^+), а також розподіл Na^+ та K^+ у внутри- та міжклітинному просторі, можна дійти висновку, що ці іони підтримують форму ліпідної мембрани, зменшуючи її кривизну.

Для іонів Cs^+ встановлено вкрай незначне зв'язування з мембраною, що корелює з його накопиченням в живих організмах за даними медичних та екологічних досліджень [355, 356]. Для іону Ag^+ встановлене ущільнення упаковки ліпідів з індукуванням фазового розподілення ліпідів, що може бути одним з аспектів його неспецифічної бактерицидної дії [418]. В суміші AgNO3 : KNO3 у мольному співвідношенні 1 : 1 (бактерицидний препарат ляпіс [418]) вказані ефекти МД посилюються.

Для ментолу встановлене МД полягає у значному зниженні T_m (зниженню впорядкованості ліпідів у мембрані) разом із різким підвищенням їх кооперативності, що може бути пов'язане із його анестезуючими властивостями [49].

Декаметоксин, до складу якого входить ментол, також значно знижує T_m, що корелює з його здатністю індукувати сфероцитоз еритроцитів внаслідок підвищення неспецифічної проникності мембрани для води.

Зниження T_m, встановлене для фенібуту та тилорону, корелює із підвищенням неспецифічної проникності мембран сперматозоїдів коропа для води*.

Таким чином, для низки досліджених біомолекул показана кореляція між їх функціональним навантаженням в організмі та відгуком мембрани. Це, безумовно, свідчить на користь запропонованої гіпотези, що мембранотропна дія є невід'ємною частиною загальної біологічної дії молекули.

4.6. Висновки до розділу 4

У розділі 4 проведено узагальнення отриманих та літературних даних щодо взаємодії індивідуальних ЛР з ліпідними мембранами ДПФХ, на підставі якого:

1. Проведено класифікацію мембранотропних ефектів індивідуальних ЛР: підвищення T_m, зниження T_m, та утворення нової фази. Переважна більшість обговорюваних випадків проілюстрована прикладами з розділу 3 та узгоджується з численними літературними даними (див. пп. 1.2.3, 1.2.4).

2. Визначено, що однакові мембранотропні ефекти можуть бути викликані двома різними базовими механізмами мембранотропної дії речовин: модифікацією неполярної частини мембрани за рахунок зміни вільного об'єму або модифікацією полярної частини мембрани за рахунок зміни гідратації. В рамках кожного з механізмів можливе утворення нової фази ліпідів.

3. Виокремлені визначальні параметри мембранотропної дії речовин. Зокрема, для низки лікарських речовин різних фармакологічних груп (антимікробної, противірусної, протизапальної дії, антибіотиків тощо) встановлена немонотонна залежність параметра a_{wt} (зсуву T_m у розрахунку на одиничну концентрацію речовини) від коефіцієнта ліпофільності речовини: максимальне зниження температури фазового переходу відповідає значенню ліпофільності від 1 до 6. Для речовин, які взаємодіють переважно з гідрофобною внутрішньою частиною ліпідного бішару, встановлено високий

---

* Результати отримано к.б.н. Пуговкіним А.Ю. (Інститут проблем кріомедицини та кріобіології НАНУ) та к. ф.-м. н. Садченко А.О. (Інститут сцинтиляційних матеріалів НАНУ) та опубліковано у роботі [18].

коефіцієнт лінійної кореляції ($r = -0,8$) між зсувом температури основного фазового переходу та часткою полярної поверхні молекули. Додатково для речовин близької хімічної будови (оксиетильовані похідні гліцерину, амонійні сполуки) встановлені високі лінійні кореляції a_{wt} з такими параметрами, як S_{total}, V_m та μ ($r = -0,81 \div -0,99$).

4. Запропоновано феноменологічні математичні моделі взаємодії з мембраною космотропних та хаотропних речовин, а також іонів. Для опису взаємодії водорозчинних екзогенних речовин із поверхнею мембрани запропоновано модель на основі рівняння Клапейрона-Клаузіуса для двовимірного випадку.

5. Простежено кореляцію мембранотропної дії низки досліджених речовин та їх властивостей *in vivo*.

Основні результати цього розділу викладено в роботах [10], [12], [13], [22], [25], [33], [46], [47].

Розділ 5.
СПІЛЬНА МЕМБРАНОТРОПНА ДІЯ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

Останніми десятиріччями поширюється уявлення, що допоміжні речовини (ДР) не тільки виконують у ЛП функції стабілізаторів, наповнювачів, любрикантів тощо, але й можуть брати участь у специфічних взаємодіях ЛР-ДР, які, зокрема, впливають на проникність ЛР крізь мембрану [149, 151, 428] (див. також п. 1.2.6). Згідно [151], вирішальним механізмом спільної дії буде той, який відбувається на етапі найменшої швидкості; для деяких ЛП це етап розчинення, але це зовсім не загальне правило.

Як було показано на підставі аналізу літератури (п. 1.2.1), модельні ліпідні мембрани належать до об'єктів, які можуть надавати *in vitro* інформацію щодо фармакокінетичних взаємодій. Окрім того, оточення ліпідного бішару зазвичай містить велику кількість іонів та інших водорозчинних сполук. Усе це обумовило доцільність вивчення спільних взаємодій з ліпідною мембраною декількох ЛР, окремих компонентів ЛП (ЛР та ДР), а також іонів.

5.1. Метод квазібінарних фазових діаграм

Метод квазібінарних фазових діаграм був запропонований для встановлення ефектів спільної взаємодії з мембраною двох речовин*, тобто ефектів модуляції мембранотропної дії однієї речовини у присутності іншої, виявлення неадитивності спільної дії ЛР та встановлення стехіометрії утворюваних ними сполук або комплексів, якщо це має місце. Цей метод полягає у тому, що ліпідна мембрана розглядається як середовище, у якому відбувається взаємодія двох розчинених компонентів. Згідно [429, 430] при відсутності взаємодії між внесенними речовинами, екстенивні термодинамічні параметри такої системи, виражені у відповідних одиницях вимірювання, будуть адитив-

---

* Ідею дослідження спільної взаємодії двох речовин з ліпідною мембраною, а також застосування для цього методу квазібінарних фазових діаграм запропоновано науковим консультантом д. ф.-м. н., проф. Л.М. Лисецьким (Інститут сцинтиляційних матеріалів НАНУ).

ними за відносними концентраціями компонентів (тобто, належати прямій, яка з'єднує відповідні значення для індивідуальних компонентів). І навпаки, специфічна взаємодія між цими компонентами буде проявлятися як відхилення екстенсивних параметрів від адитивності. Максимум відхилення буде вказувати на найбільш енергетично вигідну стехіометрію комплексу [429]. Як зазначено у [12], подібні методики застосовувались для вивчення утворення міжмолекулярних комплексів у рідкокристалічних системах у ізотропному [431], холестеричному [432] та смектичному [433] середовищах.

При дослідженні методом квазібінарних діаграм загальна масова концентрація зберігається незмінною, а відносний вміст двох компонентів варіюють від 0 до 100 %. Суттєвим є питання вибору одиниць виміру концентрацій. У випадку, коли взаємодії досліджуваних речовин з мембраною є неспецифічними (без утворення ковалентних або водневих зв'язків, іонних комплексів тощо), ефекти МД можна вважати об'ємно-адитивними й користуватися масовими одиницями концентрацій.

5.2. Спільна мембранотропна дія іонів

Різноманітні іони входять до складу лікарських сполук зазвичай у якості протиіонів у складі солей. Втім, існує низка препаратів, у яких іони виступають у якості діючої речовини ЛП. Прикладом такого ЛП є протаргол, діючою речовиною якого є катіони Ag^+ (див. п. 5.2.4).

5.2.1. Суперпозиція мембранотропної дії катіонів і аніонів

Неорганічні солі у дисоційованому стані становлять сукупність катіонів та аніонів з відповідною МД. За умови відсутності міжкомпонентних взаємодій МД солі повинна становити суперпозицію МД катіонів та аніонів, що входять до її складу. Як можна побачити з Рис. 3.4 (с. 92), у випадку солей металів IA підгрупи залежності $\Delta T_m(r_{cation})$ для хлоридів та нітратів еквідистантні, тож має місце адитивність МД катіонів та аніонів. Треба зазначити, що в умовах даного експерименту концентрація солі була значно менша за їх

граничну розчинність у воді. У випадках, коли концентрація солі недостатня для повної дисоціації та гідратації окремо катіонів та аніонів, суперпозиція їх МД може бути неадитивною.

Застосування такого підходу дозволяє оцінити МД одного іону у складі солі на підставі відомої МД іншого іону та зробити відповідну корекцію отриманих даних. Це може стати до нагоди при виявлені специфічних ефектів спільної дії ЛР та ДР, які, згідно даним літератури [151], мають місце при зміні хімічної будови ЛР (наприклад, фосфату на сульфат тощо).

5.2.2. Особливості мембранотропної дії іонів церію з різними аніонами

Відомо, що специфічність іонних ефектів може залежати від природи протиіону [229, 434 та ін.]. Це наявно ілюструється на прикладі МД різних солей церію, який останніми роками активно пропонується для різноманітних біомедичних застосувань [435]. Для дослідження були обрані хлорид церію $CeCl_3$, нітрат церію гексагідрат $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$, а також амонійний нітрат церію $Ce(NH_4)_2(NO_3)_6$.

На відміну від адитивного ефекту нітрат-іону, який був описаний вище (див. п. 5.2.1), для нітратів церію спостерігалася якісно інша картина:

а) ДСК-термограми мембран ДПФХ замість одного піку основного фазового переходу містили набір піків (Рис. 5.1), які важко ідентифікувати;

б) замість поступового зсуву піку по температурній шкалі при зростанні концентрації солі спостерігався різкий зсув на ~ 20° С навіть за найнижчих концентрацій солі, який майже не залежав від концентрації;

в) форма піків не відтворювалася ані при зміні концентрацій, ані навіть при послідовних циклах термосканування одного й того ж зразка.

Увесь цей набір характеристик ДСК-термограм свідчить, на нашу думку, про окислення ліпідів в присутності нітрату церію. Можливою причиною цього є редокс-активність церію у парі із нітрат-іоном ($Ce^{3+} \rightarrow Ce^{4+}$ [435, 436]), що уможливлює окислювальні процеси у ліпідах. Спостережувані ДСК піки відповідають численним ліотропним мезофазам, утвореним ліпідними

фрагментами. При кожному термосканувані окислювальні процеси тривають – отже, набір ліпідних фрагментів (а, відповідно, і ДСК-піків) змінюється.

Усе зазначене стосується і $Ce(NH_4)_2(NO_3)_6$, для якого спостерігалася така сама картина. Цікаво, що для нітратів лантану та європію не повідомляється про їх окислювальну дію в мембрані [210, 227], тобто, ця властивість притаманна саме іонам церію у присутності нітрат-іонів.

Таким чином, МД іонів церію критично залежить від природи протиіону: у присутності хлорид-іону спостерігається його ущільнююча дія, притаманна багатозарядним катіонам, тоді як у присутності нітрат-іону має місце руйнування мембрани внаслідок окислення ліпідів. Зазначений ефект уявляється критичним з точки зору біомедичних застосувань церію.

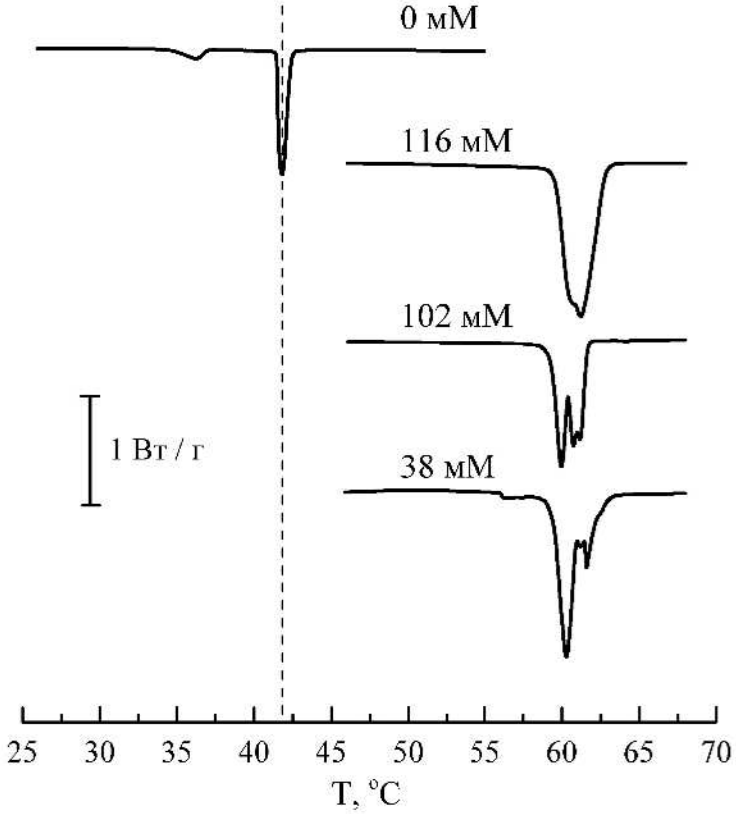


Рис. 5.1. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ із вмістом $Ce(NO_3)_3$. У підписах вказані концентрації водних розчинів $Ce(NO_3)_3$.

5.2.3. Неадитивна спільна мембранотропна дія катіонів лужних та перехідних металів

Ефекти спільної МД в умовах конкуренції речовин за зв'язування з мембраною були досліджені у мембранах ДПФХ, що містили нітрати срібла, натрію, калію та міді у па́рах $AgNO_3$ – $NaNO_3$, $AgNO_3$ – KNO_3 та $AgNO_3$ – $Cu(NO_3)_2$. Дослідження проводилося методом квазібінарних фазових діаграм (див. п. 5.1). Для кожної з досліджуваних систем мольна частка нітратів зберігалася постійною (0,35 відносно вмісту ліпідів), тоді як мольна частка $AgNO_3$ (x_{Ag}) варіювалася від 0,0 до 1,0.

При внесенні вказаних пар солей до мембрани ДПФХ спостерігалося відхилення від адитивності значень ΔT_m та ΔT_p в усіх досліджуваних па́рах (Рис. 5.2). Для ΔT_m максимальне відхилення від адитивності складало 0,5 °С, для ΔT_p – 2,7 °С. Для величин h_m та $\Delta T_{m1/2}$ відхилення складало до 30 % (дані не наведені).

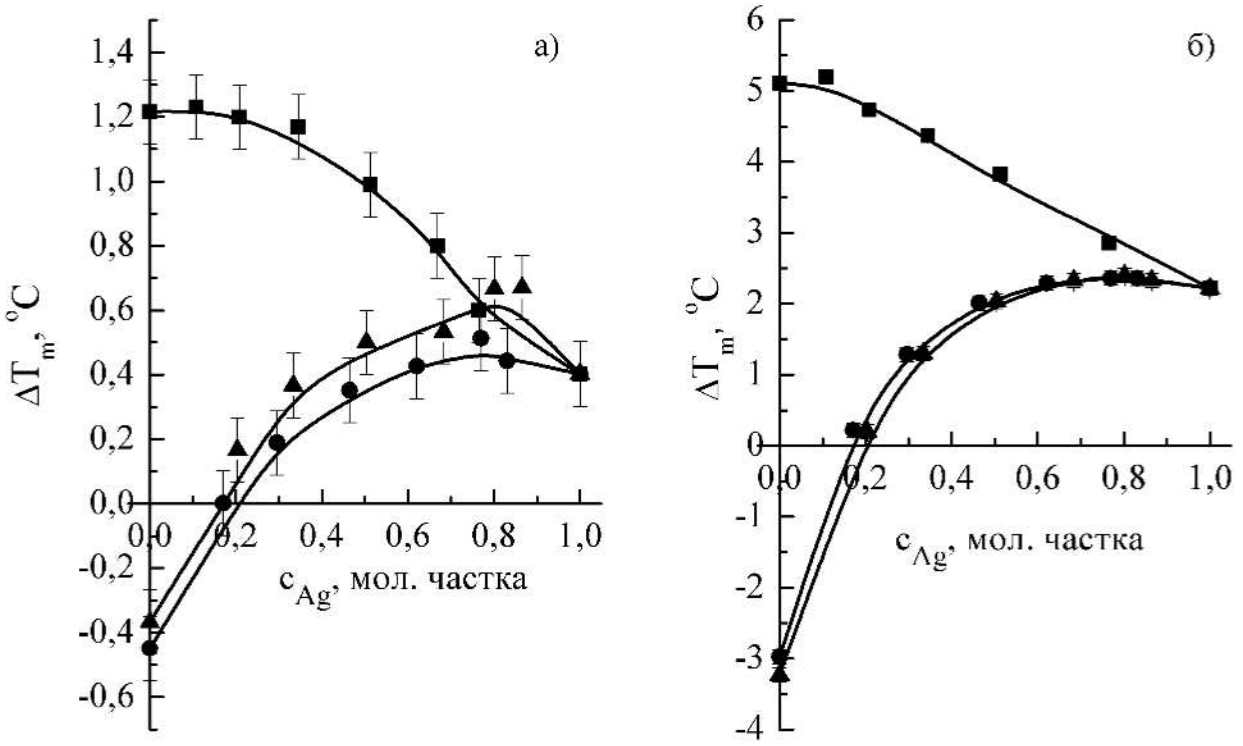


Рис. 5.2. Відхилення від адитивності ΔT_m (а) та ΔT_p (б) мембрани ДПФХ при внесенні солей у парах $AgNO_3$ – $NaNO_3$ (▲), $AgNO_3$ – KNO_3 (●) та $AgNO_3$ – $Cu(NO_3)_2$ (■).

Оскільки досліджувані солі мають спільний аніон NO_3^-, спостережувані ефекти доцільно віднести на рахунок спільної дії катіонів. Зважаючи на те, що комплексоутворення між катіонами не уявляється можливим, можна зробити висновок, що механізм їх спільної МД опосередкований їх зв'язуванням з мембраною.

Класифікація ефектів спільної дії ЛР, прийнята в літературі (див. Табл. 1.2), не може бути безпосередньо застосована для опису ефектів спільної МД, оскільки остання, на відміну від терапевтичного ефекту, може бути як позитивною, так і негативною (див. Табл. 4.1). Тож, класифікація ефектів спільної МД має бути проведена з урахуванням цих відмінностей.

Для цього було зручно ввести параметр спільної МД J_{AB}, який водночас відбиває і знак, і величину ефекту та дозволяє кількісно порівнювати однотипні ефекти:

$$J_{AB} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\Delta T_m^{add} - \Delta T_m^{i} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(1-c_i)\Delta T_m^{A} + \Delta T_m^{B} - \Delta T_m^{i}, \qquad (5.1)$$

де $\Delta T_m{}^{A}$ — МД речовини А; $\Delta T_m{}^{Б}$ — МД речовини Б; $\Delta T_m{}^{адд}$ — адитивна МД речовин А та Б; $\Delta T_m{}^{i}$ — МД системи i, що містить речовини А и Б; n — кількість таких систем c_i — мольна (або масова) частка компонента Б відносно загальної кількості А та Б.

Параметр J_{AB} відповідає середньому відхиленню ΔT_m від адитивного значення та має розмірність температури. Знак параметра J_{AB} у співставленні зі знаками ΔT_m речовин А та Б відбиває тип ефекту їх спільної дії (Табл. 5.1). Ефекти 1 та 6 є класичними ефектами синергізму, ефекти 2 та 5 – антагонізму (див. Табл. 1.2, с. 61). Ефекти 3 та 4 не є, власно, ані антагонізмом, ані синергізмом та, у загальному випадку, відбивають перевагу МД одного з компонентів при їх спільному внесенні до мембрани.

Значення J_{AB}, отримані на підставі даних Рис. 5.2, наведені у Табл. 5.2. Як можна бачити, для системи $AgNO_3$ – $Cu(NO_3)_2$ значення J_{AB} зіставне з екс-

периментальним похибками визначення ΔT_m та ΔT_p, втім, для двох інших систем воно суттєво більше.

Спираючись на Табл. 5.1 та Табл. 5.2, зрозуміло, що відхилення ΔT_m в у бік певного катіона вказує на його перевагу у конкурентному зв'язуванні із мембраною. Так, в парі Ag^+ – Cu^{2+} перевагу мають катіони Cu^{2+}, що пояснюється більшим значенням σ_q (див. Рис. 3.6, с. 93). Тут необхідно відзначити, що подвійний вміст нітрат-іонів у складі $Cu(NO_3)_2$, який робить додатковий від'ємний внесок у ΔT_m (див. п. 3.1.1.2), враховується у індивідуальному МД $Cu(NO_3)_2$ (див. Рис. 5.2, а, $x_{Ag} = 0$), й тому не повинен розглядатися як самостійний фактор.

Таблиця 5.1

Визначення ефектів спільної МД за знаками ΔT_m^A, ΔT_m^B та J_{AB}

№ з/п	Знаки ΔT_m^A ; J_{AB} ; ΔT_m^B	Ефект
1.	+ + +	синергізм
2.	+ – +	антагонізм
3.	– – + або + + –	перевага А
4.	– + + або + – –	перевага Б
5.	– + –	антагонізм
6.	– – –	синергізм

.

Таблиця 5.2

Значення J_{AB} для пар $AgNO_3$ – $NaNO_3$, $AgNO_3$ – KNO_3 та $AgNO_3$ – $Cu(NO_3)_2$

Система	Основний перехід	Передперехід
$AgNO_3$ – $NaNO_3$	0,4	1,9
$AgNO_3$ – KNO_3	0,3	2,0
$AgNO_3$ – $Cu(NO_3)_2$	0,1	0,2

Загалом у досліджених системах спостерігається перевага зв'язування з мембраною іонів з більшою поверхневою щільністю заряду. Окрім того, конкурентна взаємодія у пáрах Ag^+ – Na^+ та Ag^+ – K^+ може бути пояснена емпіричним правилом Пескова-Фаянса. Згідно цьому правилу, перевагу у конкурентній адсорбції має, зокрема, той іон, який може утворювати з одним з іонів адсорбенту малорозчинну сполуку [437]. Таким іоном на поверхні мембрани є залишок ортофосфорної кислоти. Оскільки розчинність фосфату срібла у воді суттєво менша за розчинність фосфатів калію та магнію, у вказаних пáрах перевагу зв'язування мають катіони Ag^+.

5.2.4. Спільна мембранотропна дія іонів срібла з білковою структурою

У ЛП протаргол катіони Ag^+ виступають у якості ЛР. У складі цього ЛП Ag^+ використовується у вигляді колоїдної сполуки срібла з протеїном (желатином, сироватковим альбуміном, казеїном тощо). Рис. 5.3 демонструє відмінності МД іонів Ag^+ у складі нітрату (збільшення T_m) та протарголу (зменшення T_m).

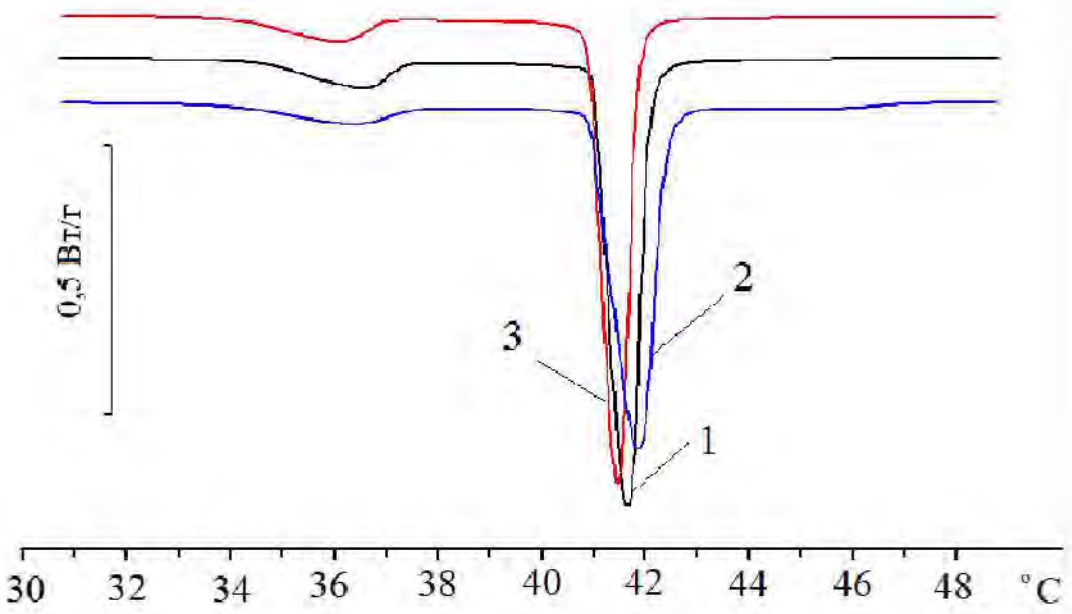


Рис. 5.3. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ: без домішок (1), із вмістом $AgNO_3$ (2) та протарголу (3).

Згідно п. 5.2.1, від'ємний знак ΔT_m характеризує МД білкової структури, що входить до складу протарголу. Така МД відбиває зниження щільності пакування ліпідів, що є фактором, сприятливим для проникнення іонів Ag^+ крізь ліпідну мембрану.

5.3. Спільна мембранотропна дія лікарських речовин із різними типами локалізації у бішарі

В літературі добре відомий механізм спільної МД, при якому зв'язування з мембраною речовин, які мають ущільнюючу дію (наприклад, жирні кислоти), змінює розподілення в мембрану інших речовин [122] – принаймні, шляхом конкуренції за вільний об'єм. В даному розділі розглядається спільна дія ЛР з різними типами зв'язування з мембраною: як з об'ємом, так і з поверхнею.

Як було встановлено вище (див. п. 3.5), параметр T_m є однією з найголовніших характеристик МД. Знак ΔT_m (позитивний або негативний) свідчить про якісно протилежний характер впливу речовин на бішар. Іншим важливим параметром для МД є хімічна будова речовини, яка визначає її розташування, відповідно, на поверхні або в об'ємі бішару. Зважаючи на це, доцільним здавалося дослідження комбінацій пар речовин із різним знаком ΔT_m та різними варіантами розташування у бішарі.

Після серії попередніх досліджень, були підібрані такі пари речовин із різними типами МД: речовини з $\Delta T_m > 0$ (сукцинілхолін / повідон), речовини з $\Delta T_m < 0$ (азитроміцин / Хол) та речовини з протилежними знаками ΔT_m (сукцинілхолін / Хол та азитроміцин / повідон). Холестерин був залучений до низки досліджуваних речовин не тільки як природний компонент біомембран й активний учасник метаболізму, але й як речовина, що має вплив на фармакокінетику ЛР [438].

Відомо, що гідрофобні Хол та азитроміцин локалізуються здебільшого в об'ємі бішару [439-441], тоді як дикатаіон сукцинілхолін та гідрофільний полімер повідон, очевидно, залишаються на її поверхні. Такими чином, у піді-

браних па́рах були реалізовані усі варіанти взаємного розташування речовин у бішарі: різне (одна речовина локалізована на поверхні, інша – в об'ємі бішару) або однакове (обидві речовини локалізовані на поверхні або в об'ємі бішару).

Значення ΔT_m індивідуальних речовин та їх пар представлені на Рис. 5.4, Рис. 5.5. Табл. 5.3 містить характеристики МД речовин та спостережувані ефекти їх спільної МД, визначені за Табл. 1.2, Табл. 5.1.

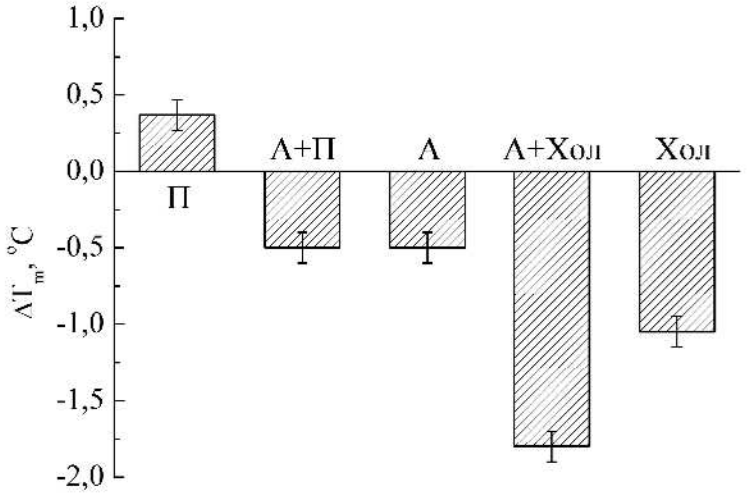


Рис. 5.4. Значення ΔT_m у присутності 5 мас. % азитроміцину (А), 10 мас. % повідону (П) та 10 мас. % холестерину (Хол), індивідуально та у па́рах.

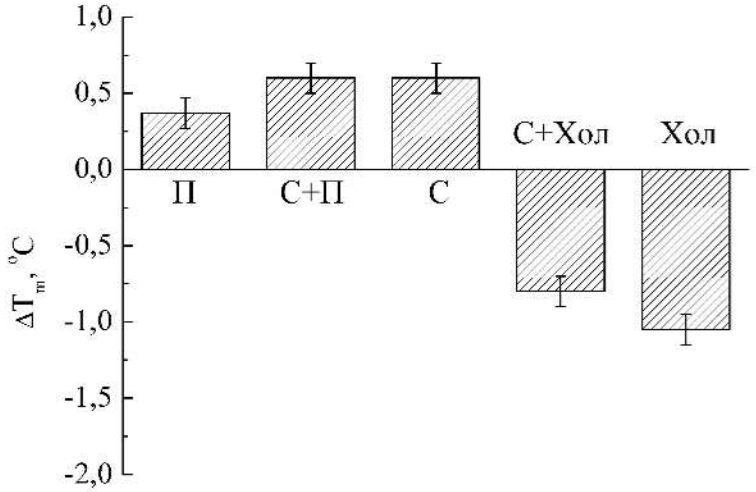


Рис. 5.5. Значення ΔT_m у присутності 5 мас. % сукцинілхоліну (С), 10 мас. % повідону (П) та 10 мас. % холестерину (Хол), індивідуально та у па́рах.

Таблиця 5.3

Ефекти спільної дії пар речовин із різними типами МД

№	Пара	Знак ΔT_m	Взаємна локалізація у бішарі	Ефект
1	Азитроміцин / повідон	– / +	різна	Антагонізм
2	Азитроміцин / Хол	– / –	однакова (об'єм)	Адитивність
3	Сукцинілхолін / повідон	+ / +	однакова (поверхня)	Антагонізм
4	Сукцинілхолін / Хол	+ / –	різна	Адитивність

Як можна побачити, ефекти спільної МД однакові для гідрофобного азитроміцину (Рис. 5.4) та гідрофільного сукцинілхоліну (Рис. 5.5): для обох речовин спостерігався антагонізм МД з повідоном та адитивність – з Хол. Тож, можна зробити висновок, що ефекти спільної дії можуть проявлятися незалежно ані від взаємної локалізації речовин у бішарі, ані від характеру їх індивідуальної МД.

5.4. Встановлення спільної мембранотропної дії лікарських речовин із застосуванням методу квазібінарних діаграм

Реалії сучасної фармакотерапії полягають у одночасному застосуванні великої кількості ЛР. Взаємодія між цими речовинами у багатьох випадках має велике значення завдяки виникненню ефектів спільної дії як позитивного, так і негативного характеру [442, 443]. Разом із тим, поширюється уявлення, що взаємодія ЛР відбувається у організмі на різних системних рівнях: метаболічному, тканинному, клітинному тощо. Ефекти спільної дії ЛР у ліпідному бішарі є, мабуть, одним з найменш вивчених на сьогодні, втім наявні дослідження вказують на те, що й на цьому рівні прояви спільної дії можуть бути суттєвими. Для вивчення парних ефектів спільної взаємодії двох ЛР з

ліпідною мембраною дуже інформативним виявляється застосування методу квазібінарних фазових діаграм (п. 5.1).

5.4.1. Спільна мембранотропна дія бісчетвертинних амонійових сполук з органічними кислотами

Бісчетвертинні амонійові сполуки (БЧАС), зокрема, етоній, тіоній та декаметоксин, широко використовуються у якості антимікробних препаратів. Одним з основних механізмів їх терапевтичної дії вважається взаємодія з плазматичними мембранами мікроорганізмів, внаслідок якої виникає порушення їх функціонування [418, 444]. Окрім того, такі сполуки застосовують для створення ліпосом у генній терапії [445].

У роботах [402, 446-451] проводилося систематичне вивчення фізико-хімічних властивостей та молекулярних механізмів дії БЧАС із застосуванням низки експериментальних та теоретичних методів. в результаті чого було, зокрема, встановлено, що вказані БЧАС взаємодіють з модельними фосфоліпідними мембранами, викликаючи їх розупорядкування, як і більшість катіонних сурфактантів [122].

Вивчення спільної МД БЧАС з іншими речовинами було започатковано на підставі результатів роботи [451], де методом мас-спектрометрії було встановлене зв'язування декаметоксину та 2,5-дигідроксибензойної (гентизинової) кислоти (ДГБК). Замість БЧАС у парі с ДГБК була також використана речовина, яка моделює заряджені амонійні центри БЧАС, – тетраметиламонію хлорид (ТМА).

Нами було показано, що спільне уведення БЧАС декаметоксину та етонію з ДГБК, а також ТМА з ДГБК приводить до підвищення T_m відносно адитивного значення (Рис. 5.6 та Рис. 5.7). Таким чином, з отриманих даних випливає зменшення дестабілізуючого ефекту БЧАС на мембрани, тобто модуляція їх МД у присутності ДГБК.

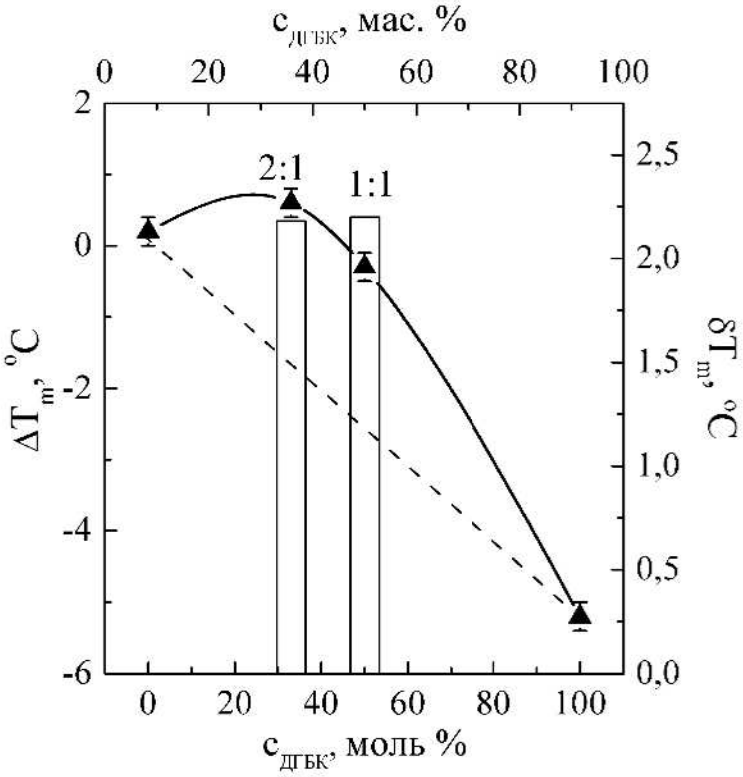


Рис. 5.6. Значення ΔT_m мембрани ДПФХ залежно від масової концентрації ДГБК у па́рах з ТМА – ДГБК. Загальний вміст досліджуваних компонентів у мембрані 5 мас. %. У підписах вказані мольні співвідношення ТМА : ДГБК. Пунктиром позначено лінію адитивності значень ΔT_m. Стовпчиками показано відхилення від лінії адитивності δT_m.

Методом квазібінарних діаграм (п. 5.1) визначено мольні співвідношення компонентів, які відповідають максимальному відхиленню ΔT_m від лінії адитивності та вказують на найбільш вірогідну стехіометрію зв'язування цих речовин. Як можна бачити з Рис. 5.7, для БЧАС : ДГБК це співвідношення становило 2 : 1 моль/моль, тоді як для ТМА : ДГБК вираженого максимума не спостерігалося, на що вказують однакові, у межах експериментальної похибки, значення δT_m при співвідношеннях ТМА : ДГБК 2: 1 та 1 : 1 (Рис. 5.6). При цих співвідношеннях значення $\Delta T_m \sim 0$, що свідчить про нейтралізацію МД індивідуальних компонентів при їх спільному внесенні до мембрани.

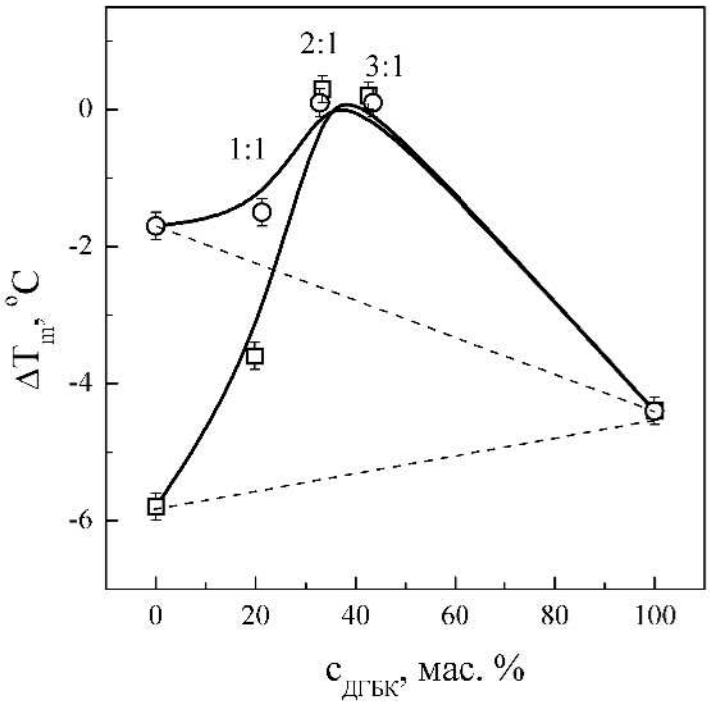


Рис. 5.7. Значення ΔT_m мембрани ДПФХ залежно від масової концентрації ДГБК у па́рах з БЧАС: декаметоксин + ДГБК (□); етоній + ДГБК (○). Загальний вміст досліджуваних компонентів у мембрані 5 мас. %. У підписах вказані мольні співвідношення БЧАС : ДГБК. Пунктиром позначено лінії адитивності значень ΔT_m.

Для дослідження спільної взаємодії БЧАС з іншими ЛР було застосовано нестероїдну протизапальну речовину ацетилсаліцилову кислоту (АСК), ЛР препарату «Аспірин», оскільки вона, як і ДГБК, є органічною кислотою. Більш того, ДГБК є метаболітом АСК та теж має протизапальну й жарознижувальну дію [452]. Щодо АСК, то її здатність моделювати фармакологічну дію інших ЛР відома у літературі [453, 454]. Останнім часом дослідження МД АСК поширилися у зв'язку із необхідністю детальнішого вивчення молекулярних механізмів її дії [455].

Квазібінарні фазові діаграми мембран ДПФХ із вмістом БЧАС та АСК наведено на Рис. 5.8. Як можна побачити, при спільному внесенні АСК у па́рах з БЧАС спостерігається відхилення від адитивності (0,3 ÷ 0,9 °C у різ-

них наборах БЧАС – АСК) у діапазоні стехіометричних співвідношень АСК : БЧАС від 1 : 8 до 1 : 1 (для наочності відносні концентрації компонентів виражені у мольних одиницях, але аналогічний хід залежностей спостерігається й при застосуванні масових одиниць концентрації). Оскільки зміни параметрів фазових переходів мембран за даними ДСК стосуються виключно тих процесів, які відбуваються саме у мембрані, ненульові значення a_{mol} (або a_{wt}) для індивідуальних ЛР є незаперечним свідоцтвом їх зв'язування з мембраною [459].

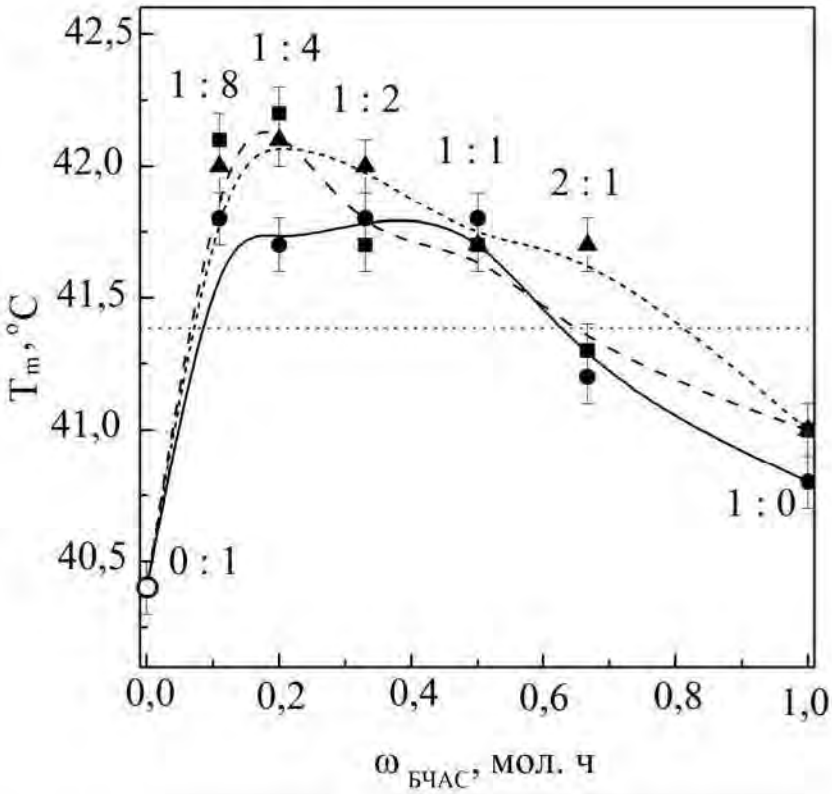


Рис. 5.8. Значення T_m мембрани ДПФХ залежно від вмісту БЧАС та АСК у пáрах: декаметоксин + АСК (●), етоній + АСК (▲), тіоній + АСК (■) при загальному вмісті 1 мас. %. У підписах вказані мольні співвідношення АСК : БЧАС. Горизонтальною лінією позначено T_m мембрани ДПФХ без домішок; відкрите коло позначає T_m мембрани, що містить 1 мас. % АСК.

Як можна бачити з Рис. 5.8, ці значення негативні для індивідуальних БЧАС та АСК, тоді як при спільному внесенні спостерігається позитивне ΔT_m. Зміна знаку ΔT_m вказує на те, що при спільному внесенні БЧАС та АСК з мембраною взаємодіють не окремі ЛР, а їх сполука або комплекс. Виходячи зі структури БЧАС та АСК, логічно припустити утворення двоосновної солі АСК, яка й взаємодіє з мембраною ДПФХ.

Нами також було досліджено спільну МД декаметоксину з іншими органічними кислотами – урокановою та аскорбіновою. Табл. 5.4 містить параметри взаємодії вказаних БЧАС та органічних кислот з мембранами ДПФХ, а також характеристики їх спільної дії, визначені на підставі Табл. 5.1. Як можна бачити, основним ефектом спільної дії вказаних сполук на мембрану є антагонізм, вітм для пари декаметоксин – уроканова кислота спостерігається адитивність МД.

Таблиця 5.4

Параметри мембран ДПФХ із вмістом БЧАС та органічних кислот

№ з/п	Речовина	*CN*	a_{wt}, °C	a_{mol}, °C	J_{AB}, °C	Ефект спільної дії
1.	Декаметоксин	128	-0,56	-0,56	0,9 (АСК)	антагонізм
2.	Етоній	71	-0,32	-0,27	1,1 (АСК)	антагонізм
3.	Тіоній	31	-0,36	-0,32	0,9 (АСК)	антагонізм
4.	АСК	30	-0,80	-0,21	див. рядки 1-3	
5.	ДГБК	81	-1,54	-0,36	0,9 (декаметоксин)	антагонізм
					0,4 (етоній)	
6.	Уроканова кислота	–	0,19	0,05	0,1 (декаметоксин)	адитивність
7.	Аскорбінова кислота	–	-0,12	-0,3	0,3 (декаметоксин)	антагонізм

Примітки: значення h_m за ф. 2.9, значення *CN* розраховане за (2.11), значення a_{wt} та a_{mol} – за (2.5), значення J_{AB} – за (5.1). Для параметру J_{AB} речовина А вказана у відповідному рядку, а речовина В – у дужках. Загальний вміст речовин в мембрані – 1 мас. %.

Значення напівширини піків фазових переходів $\Delta T_{m1/2}$ мембран ДПФХ із вмістом БЧАС та АСК наведені на Рис. 5.9. Як можна побачити, усі ЛР викликають збільшення $\Delta T_{m1/2}$, що відбивається й у зниженні *CN* (Табл. 5.4). Додаткове зростання $\Delta T_{m1/2}$ при спільному внесенні двох ЛР на 20 ÷ 50 % свідчить про підвищення неоднорідності мембрани що, можливо, обумовлене одночасним зв'язуванням з нею як окремих ЛР, так і їх солі. Це припущення узгоджується з [460], де доповідається про одночасну реєстрацію зв'язування АСК з ДПФХ (ДПФХ·АСК·Na^+), БЧАС з ДПФХ (nДПФХ·БЧАС$^{2+}$, n = 1 ÷ 4), а також АСК та БЧАС між собою (БЧАС$^{2+}$·АСК) для систем БЧАС – АСК – ДПФХ у оточенні метанолу та у вакуумі.

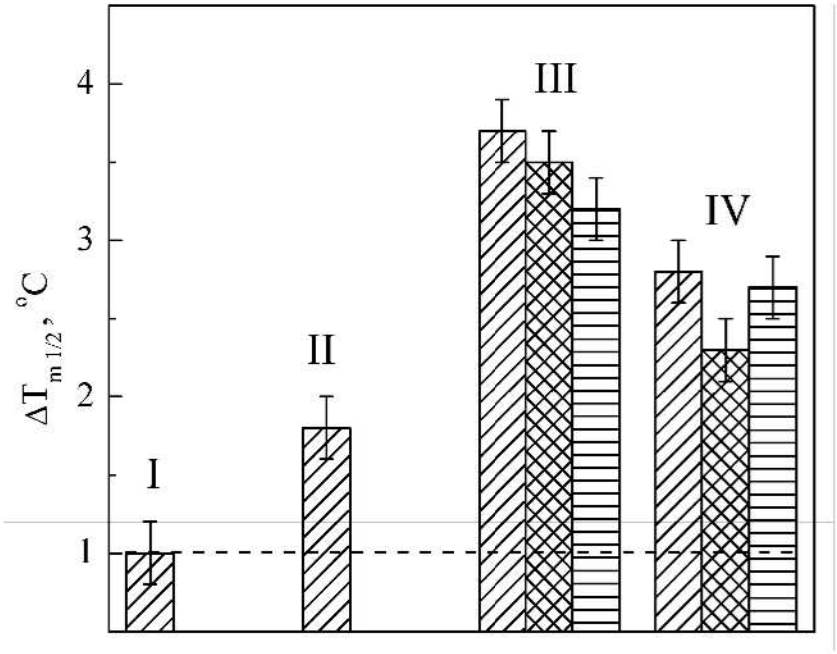


Рис. 5.9. Напівширина піку основного фазового переходу в мембрані ДПФХ без ЛР (I) та мембран з вмістом 1 мас. % ЛР: АСК (II), АСК+БЧАС (III) або БЧАС (IV). Коса штриховка відповідає даним, отриманим для декаметоксину, сітчаста – для етонію, горизонтальна – для тіонію. Пунктирна лінія позначає величину $\Delta T_{m\,1/2}$ для мембрани ДПФХ без домішок.

Міжмолекулярні взаємодії декаметоксину та АСК можна простежити навіть у механічній суміші цих речовин. На Рис. 5.10 наведені дані ДТГ (див.

п. 2.2.10), отримані для зразків декаметоксину, АСК та їх суміші у мольному співвідношенні 1 : 1. Як можна бачити, характерний ДТГ-пік АСК відповідає температурі 155 °С (крива 1), а ДТГ-пік декаметоксину розташовується близько 190 °С (крива 2). Обидва піки вказують на температуру термодеструкції зразків у даних експериментальних умовах. У механічній суміші АСК та декаметоксину (крива 3), характерний пік декаметоксину залишається, характерний пік АСК зникає, втім у системі з'являється додатковий пік ДТГ при ~ 250 °С. Цей результат свідчить про утворення у системі сполуки з більшою термостабільністю, ніж декаметоксин та аспірин, тобто про їх зв'язування навіть у механічній суміші.

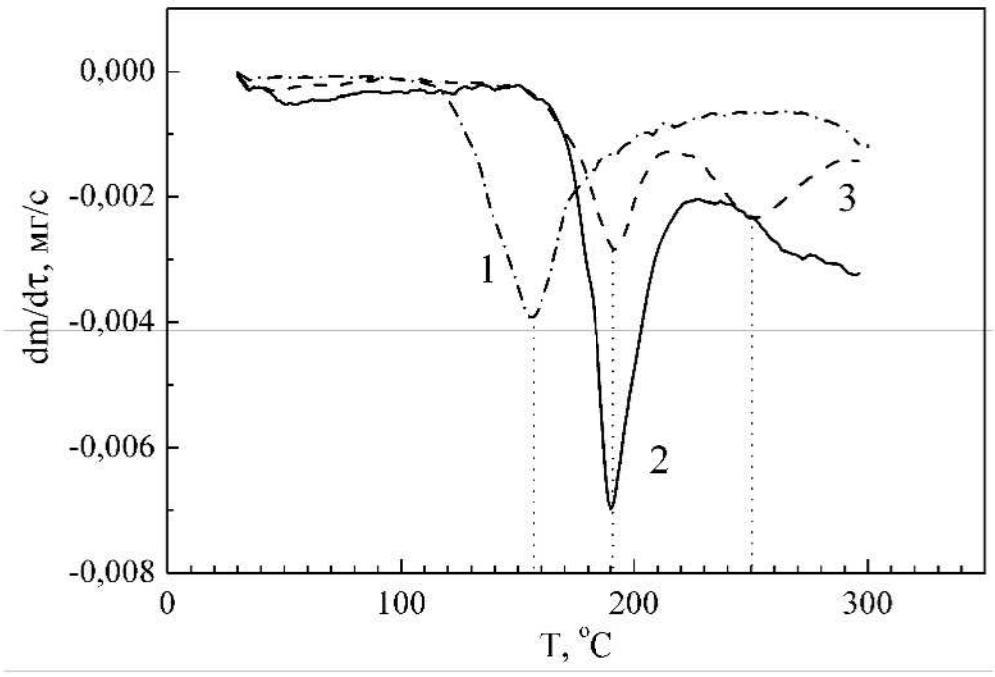


Рис. 5.10. Термограми ДТГ зразків АСК (1), декаметоксину (2) та механічної суміші декаметоксин : АСК 1 : 1 моль/моль (3). Вертикальні пунктирні лінії позначають температури максимумів піків ДТГ.

Таким чином, факт модуляції МД даних ЛР методом ДСК встановлений безперечно, втім прямих доказів зв'язування вказаних ЛР між собою саме у мембранному середовищі нами в літературі не знайдено.

Для висвітлення спільної взаємодії БЧАС та АСК на клітинному рівні було проведено дослідження на еритроцитах та клітинах дріжджів. На сьогодні еритроцити широко й дуже ефективно використовуються для модельних досліджень [461-463].

Препарати еритроцитів (див. п. 2.1.4), приготовані на основі розчинів декаметоксину, АСК або їх суміші 1 : 2 моль/моль було досліджено у кінетичному режимі за методикою, описаною у пп. 1.2.6 та 2.2.12. Треба зазначити, що при змішуванні водних розчинів декаметоксину та АСК спостерігалося помутніння (опалесценція) утвореного розчину. Це може розглядатися як свідоцтво утворення солі декаметоксину та АСК, яка слабкокорозчинна у воді та не схильна до седиментації, а у водному середовищі може існувати у вигляді колоїдної суспензії. Таке спостереження узгоджується з літературними даними мас-спектрометрії, отриманими співавторами роботи [45], щодо зв'язування декаметоксину з ДГБК у водній фазі та слугує аргументом на користь висунутої вище гіпотези про утворення солей БЧАС та АСК у мембрані ДПФХ, враховуючи присутність у ній фази вільної води [52]. Варто уваги, що у фармакології здатність АСК утворювати солі з органічними кислотами, зокрема з лізином (ЛР ацелізин), успішно використовується для модуляції фармакологічної дії АСК – підвищення його біодоступності [407].

Встановлено, що уведення до препаратів еритроцитів навіть дуже розведених розчинів декаметоксину приводило до гемолізу еритроцитів, в результаті якого вони ставали непомітними у полі мікроскопа. Механізм цього процесу нами детально не вивчався, але з літератури відомо, що у присутності катіонних сурфактантів подібні процеси в мембранах мають місце, причому їх перебіг дуже жвавий (декілька секунд) [168]. При спільному уведенні розчинів декамектосину та АСК до зразків еритроцитів відбувалося уповільнення декаметоксин-індукованого гемолізу (Рис. 5.11).

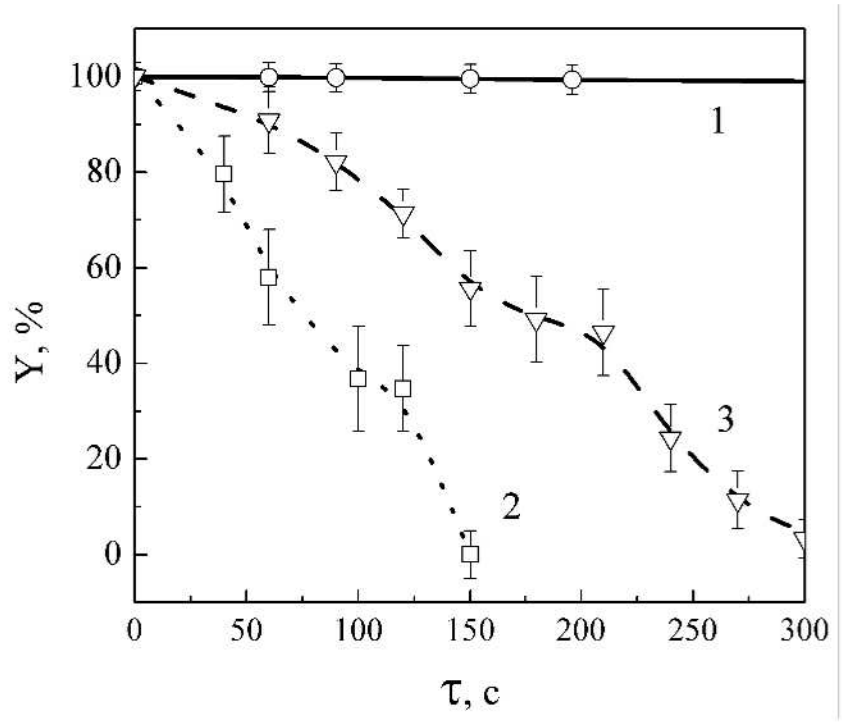


Рис. 5.11. Кінетика гемолізу еритроцитів в фізіологічному розчині із вмістом 0,05 мас. % АСК (1), 0,05 мас. % декаметоксину (2) або їх суміші у мольному співвідношенні АСК : декаметоксин 2 : 1. *Y* – питома частка еритроцитів, видимих в полі мікроскопу через проміжок часу τ після додавання ЛР.

Швидкість декаметоксин-індукованого гемолізу визначали як $dY/d\tau$, тобто як похідну параметру *Y* (питомої кількості еритроцитів у полі мікроскопа відносно їх вихідної кількості) за часом τ (Рис. 5.12). Отримані дані вказуть на те, що при уведенні декаметоксину максимальна швидкість гемолізу відповідає часу 50 с, тоді як при уведенні декаметоксину разом із АСК спостерігаються два максимуми – при 125 с та 240 с (Рис. 5.12). Таке ускладнення кінетичного профілю гемолізу, певно, віддзеркалює конкурентне зв'язування декаметоксину як з мембранами еритроцитів, так і з АСК.

Уповільнення декаметоксин-індукованого гемолізу та зміна його кінетичного профілю узгоджується з гіпотезою щодо утворення солі декаметоксину та АСК. Подібний ефект доповідався у [287], де показано, що безпосередня міжмолекулярна взаємодія протимікробних антибіотиків граміцидину S та

сурфактину ослаблює антибактеріальну дію граміцидину S та підвищує резистентність бактерій до нього.

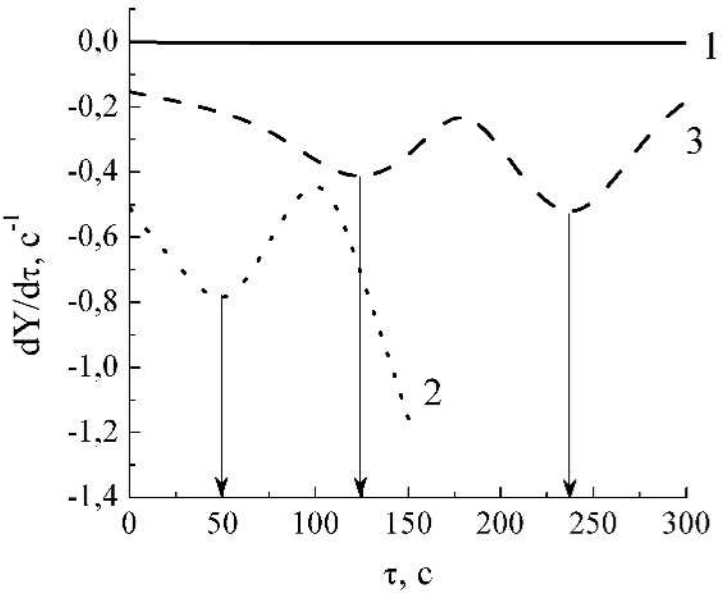


Рис. 5.12. Швидкість перебігу гемолізу еритроцитів $dY/d\tau$ в фізіологічному розчині із вмістом 0,05 мас. % АСК (1), 0,05 мас. % декаметоксину (2) або їх суміші у мольному співвідношенні АСК : декаметоксин 2 : 1. Y – питома частка еритроцитів, видимих в полі мікроскопу через проміжок часу τ після додавання ЛР. Стрілки вказують значення часу, які відповідають максимумам швидкості гемолізу.

Варто уваги, що навіть насичений розчин декаметоксину не чинив літичної дії на клітини дріжджів. Цей факт можна пояснити наявністю у складі біомембран дріжджових грибків пептидоглюканів, олігосахаридів та хітину, які утворюють т. зв. клітинну стінку [464]. На наш погляд, ці кардинальні відмінності у чутливості клітин до декаметоксину ілюструють можливість диференціації мембранотропних ефектів залежно від складу біомембран, що є одним з потужних механізмів варіювання мембранотропної та, загалом, терапетичної дії ЛР на клітини різних типів.

5.4.2. Спільна мембранотропна дія водорозчинних лікарських речовин тилорону та диметилсульфоксиду

Тилорон та ДМСО як представники водорозчинних речовин із якісно різним механізмом МД (див. п. 3.1.2) були обрані для дослідження спільної МД з двох причин. По-перше, ліпідна мембрана живої клітини знаходиться у оточенні водорозчинних речовин різної природи. По-друге, навіть у складі одного ЛП можуть бути присутні як космотропні, так і хаотропні речовини.

Методом квазібінарних фазових діаграм (див. п. 5.1) було досліджено мембрани ДПФХ, приготовані на субфазі водних розчинів тилорону та ДМСО (5 мас. %) (Рис. 5.13).

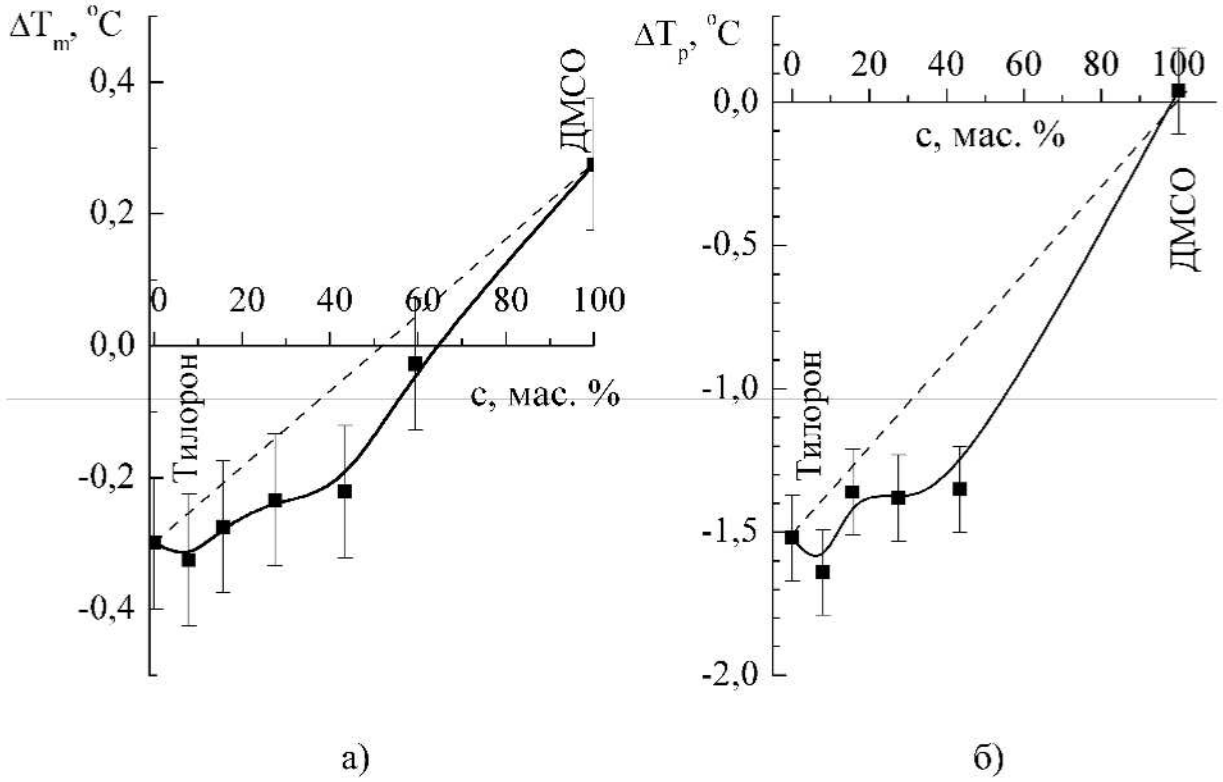
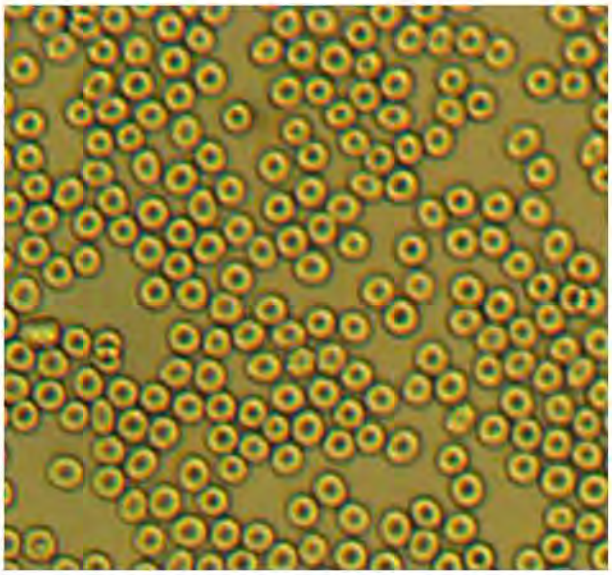


Рис. 5.13. Значень ΔT_m (а) та ΔT_p (б) при спільному внесенні тилорону та ДМСО у мембрану ДПФХ. Пунктиром позначено лінії адитивності.

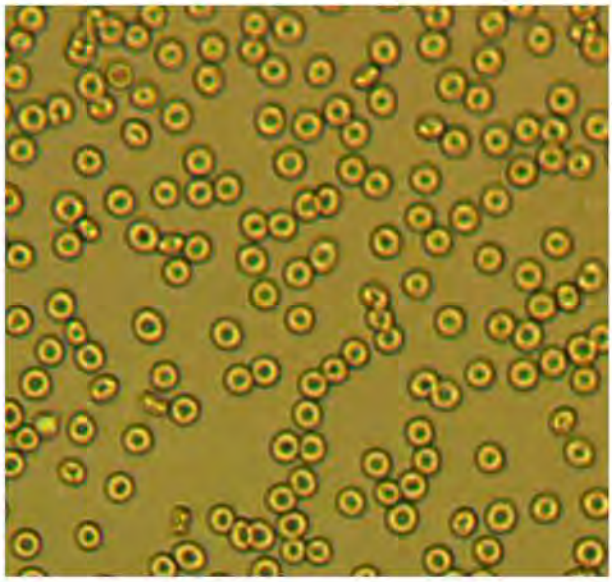
Було встановлено, що відхилення від адитивності для ΔT_m та ΔT_p відбувається у бік МД тилорону (J_{AB} = –0,2° С). Згідно Табл. 5.1, це відповідає переважному зв'язуванню тилорону з мембраною. Треба відмітити, що у моль-

ний одиницях концентрації вказаний ефект відхилення $\Delta T_m(c)$ від адитивності якісно зберігається й виражений сильніше (дані не наведені). Спостережуваний ефект переважного зв'язування тилорону з мембраною був встановлений також на еритроцитах людини. Для цього до препаратів еритроцитів (див. 2.1.4) додавали 10 мкл розчинів тилорону, ДМСО або їх суміш. Концентрації розчинів у суміші були обрані із таким розрахунком, щоб забезпечити мольне співвідношення тилорон : ДМСО 1 : 1. Контролем слугували еритроцити у фізіологічному розчині.

Отримані мікрофотографії свідчать, що у присутності тилорону морфологія еритроцитів майже не змінювалася (Рис. 5.14). У присутності ДМСО, на відміну від тилорону, спостерігалися морфологічні перетворення еритроцитів по типу ехіноцитозу (рис. Рис. 5.15, а).



а)



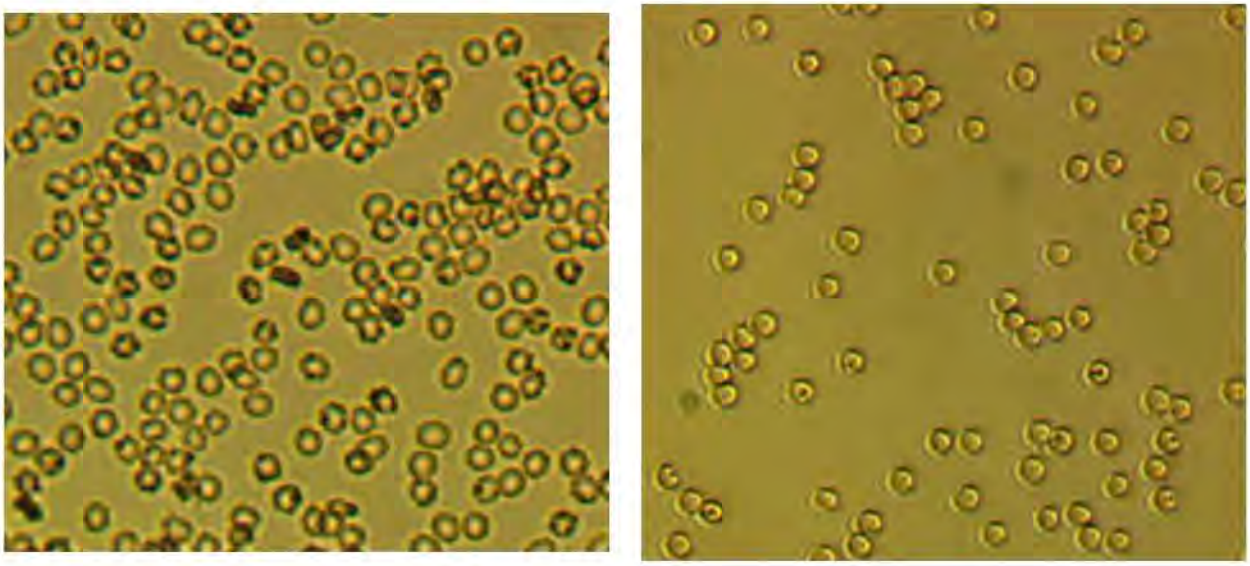
б)

Рис. 5.14. Мікрофотографії еритроцитів людини у фізіологічному розчині (а) та із додаванням розчину тилорону 5,5 мас. % (б).

Слід зазначити, що в літературі явище ехіноцитозу еритроцитів людини спостерігалося також і у присутності інших космотропних молекул, зокрема, манніту та сахарози у концентрації 260 мМ [465]. Ця концентрація вдвічі пе-

ревищує застосовану у нашому експерименті концентрацію ДМСО, але слід також враховувати й вищі космотропні властивості ДМСО.

Одночасне внесення тилорону та ДМСО частково усувало первинний ефект ДМСО (рис. Рис. 5.15, б), що вказує на перешкоджання його зв'язування з мембраною еритроцитів з боку тилорону. Треба зазначити, що в усіх системах індуковані морфологічні зміни еритроцитів були стабільними протягом усього часу спостереження (до 10 хвилин).



а) б)

Рис. 5.15. Мікрофотографії еритроцитів людини з додаванням розчинів ЛР: (а) ДМСО 1,5 мас. %; (б) тилорон 5,5 мас. % та ДМСО (1,5 мас. %) .

5.5. Спільна мембранотропна дія компонентів лікарських препаратів

Переважна більшість сучасних ЛП є багатокомпонентними системами, що містять ЛР та набір ДР [169]. Останнім часом міжкомпонентні взаємодії у препаратах на різних етапах застосування пригортають до себе особливу увагу, оскільки можуть суттєво впливати на біодоступність та ефективність ЛР [105, 169, 178, 428, 466-468]. Незважаючи на те, що вивчення взаємодії ЛР з ліпідними мембранами є актуальним напрямком сучасної біофізики, що досить стрімко розвивається [77, 105, 106, 167, 181, 232], в літературі практично

відсутні роботи, присвячені спільній дії ЛР та ДР або порівнянню дії ЛП та його ЛР. У зв'язку із цим, було проведено низку досліджень з встановлення характеристик спільної дії ЛР та ДР у модельних ліпідних мембранах.

5.5.1. Спільна дія тилорону та азитроміцину з окремими допоміжними речовинами з їх лікарських препаратів

При визначенні ефектів спільної МД за відхиленням від адитивності закономірним є питання лінійності відповідних залежностей $\Delta T_m(c)$ для індивідуальних речовин. Тому вказані залежності були отримані для кожної з розглянутих ЛР, що дало можливість обрати концентрацію ЛР для досліджень спільної дії за критеріями максимального зсуву ΔT_m при збереженні лінійності. Зокрема, для тилорону та азитроміцину такі концентрації відповідали 2,5 мас. % та 5 мас. %, відповідно (Рис. 5.16, Рис. 5.17). Слід зазначити, що при уведенні тилорону до мембрани пік передпереходу зберігається в усьому концентраційному діапазоні.

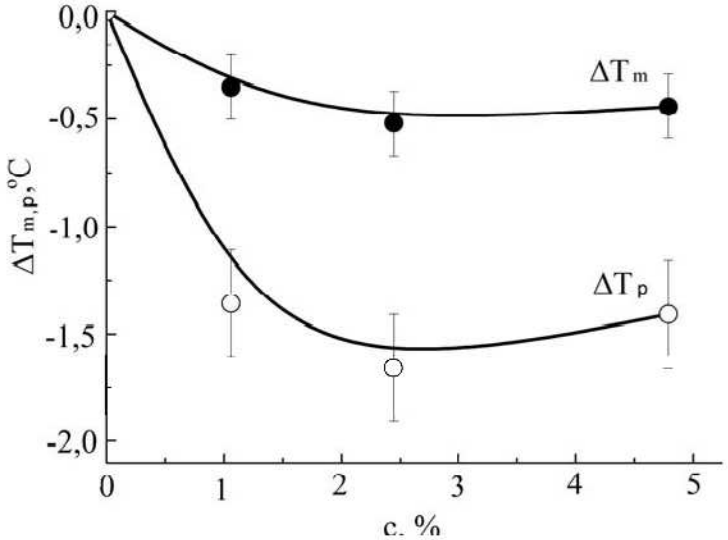


Рис. 5.16. Концентраційні залежності ΔT_m та ΔT_p для тилорону в мембрані ДПФХ (концентрації ЛР виражені у масових відсотках відносно безводного ДПФХ).

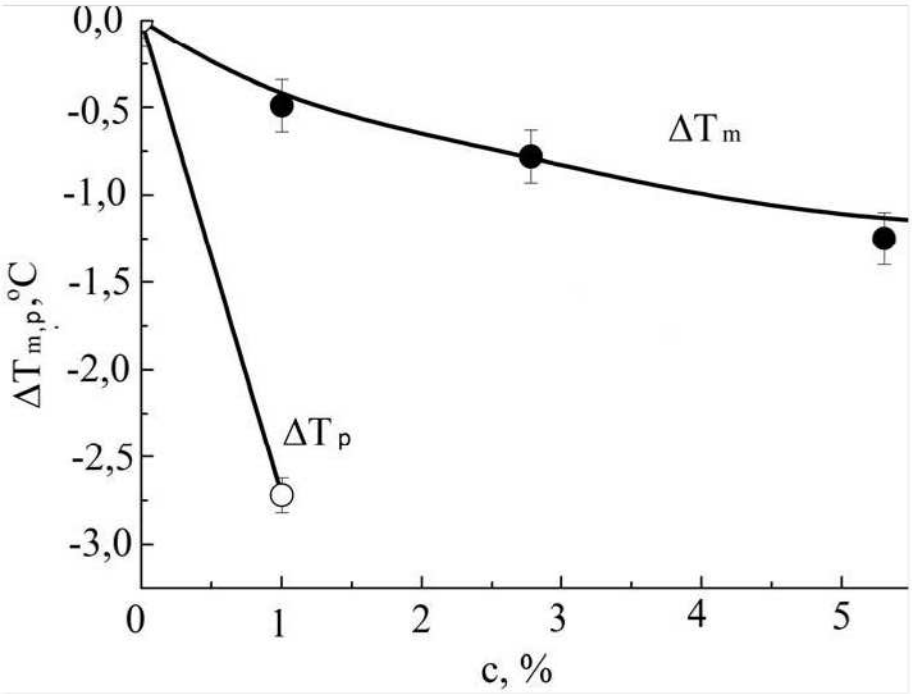


Рис. 5.17. Концентраційні залежності ΔT_m та ΔT_p для азитроміцину в мембрані ДПФХ (концентрації ЛР виражені у масових відсотках відносно безводного ДПФХ).

Спільна МД вказаних ЛР з ДР, що входять до складу ЛП була досліджена на прикладі пар «тилорон – гіпромелоза» та «азитроміцин – лактоза». Обидві ДР є представниками вуглеводів та гідрофільними, водорозчинними сполуками (див. Табл. Б2 Додатку Б).

Отримані результати представлені на Рис. 5.18 та Рис. 5.19, відповідно. Як можна бачити, спостережувані ефекти спільної взаємодії з мембраною вказаних ЛР та ДР виявилися різними. Для па́ри «тилорон – гіпромелоза» (Рис. 5.18) суттєвого відхилення від лінійності не спостерігалося, тож можна говорити про адитивність їх МД. Цікаво, що полісахарид гіпромелоза, який зазвичай використовується як ДР, що уповільнює вивільнення ЛР з ЛП [468], не викликає неадитивних ефектів МД з ЛР тилороном.

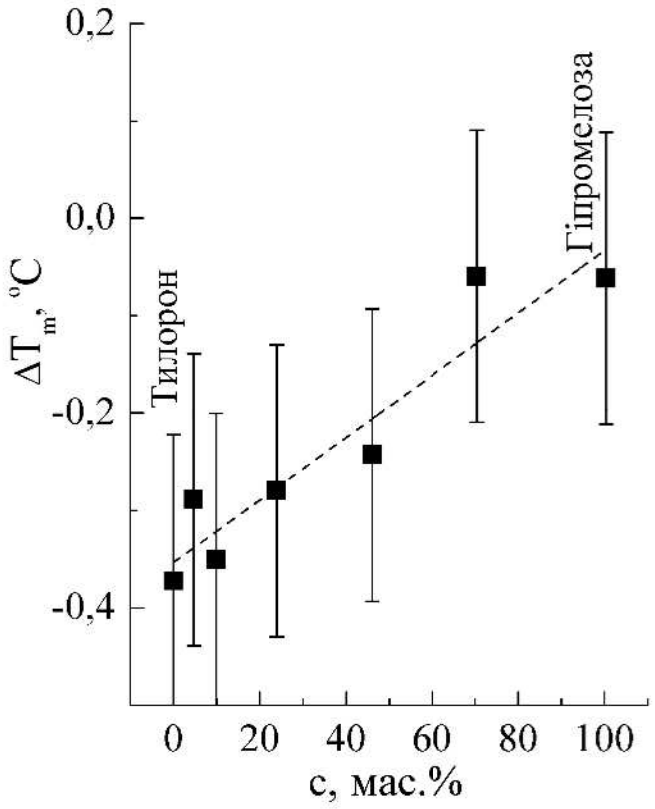


Рис. 5.18. Залежності ΔT_m від вмісту ДР у парі тилорон – гіпромелоза. Пунктиром позначена лінія адитивності ΔT_m по концентрації ДР.

Для пáри «азитроміцин – лактоза» (Рис. 5.19) спостерігається відхилення від лінії адитивності у бік МД азитроміцину (J_{AB} = –0,3 °C). Враховуючи, що азитроміцин є гідрофобною речовиною (*logP* 4,0), а лактоза – гідрофільною (*logP* –4,7), можна зрозуміти, що місця їх локалізації у мембрані рознесені. Таким чином, можна говорити про непряму, мембрано-опосередковану взаємодію гідрофільних та гідрофобних компонентів ЛП у мембрані, що добре узгоджується з висновками п. 5.3. Слід зазначити, що прояви такої опосередкованої взаємодії доповідаються у літературі, але залишаються невизначеними. Так, у [178] встановлено підвищення проникности мембран ЯЛ для кальцеїну (logP -3,1 [89]) на порядок у присутності ДР Span 20 (logP 3,7 [89]).

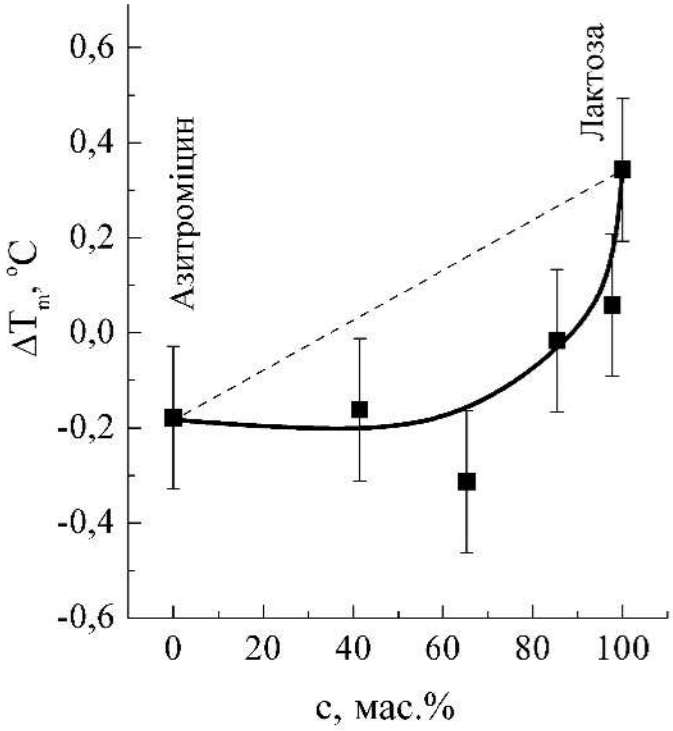


Рис. 5.19. Залежності ΔT_m від вмісту ДР у парі азитроміцин – лактоза. Пунктиром позначено лінію адитивності ΔT_m по концентрації ДР.

Встановлення механізму неадитивної МД азитроміцину та лактози, звісно, не може бути здійснено без низки додаткових досліджень, але з загальних підстави можна зробити деякі припущення. З огляду на те, що прості сахариди, такі як лактоза, часто несумісні із ЛР, які мають у своєму складі аміногрупу [468], як і азитроміцин (див. Табл. Б2 Додатку Б), можливо припустити утворення в даній системі нековалентного комплексу ЛР-ДР. Втім, не можна виключати й непрямої взаємодії між вказаними речовинами, опосередкованої ліпідною мембраною, що приводить до переваги зв'язування одної речовини перед іншою (див. Табл. 5.1).

Таким чином, з отриманих даних випливає необхідність детальнішого вивчення зв'язку ефектів спільної МД із їх хімічною будовою.

5.5.2. Спільна мембранотропна дія антибіотика циклосерину зі стеариновою кислотою, стеаратами магнію та кальцію

Для деталізації спостережуваних ефектів гідрофільно-гідрофобної взаємодії та висвітлення їх зв'язку з хімічною будовою речовин нами був обраний водорозчинний антибіотик циклосерин (CyS). Цей антибіотик є високоефективною ЛР, яка широко використовується при лікуванні туберкульозу [469], але має низку важких побічних ефектів, пов'язаних із його нейротоксичністю [469-473]. Ця особливість, разом із низькою біодоступністю, взагалі характерні для багатьох протитуберкульозних засобів [238, 239], тому потребує детального вивчення.

Серед ДР-любрикантів у ЛП CyS зазвичай використовують кальцію стеарат (CaSt) або магнію стеарат (MgSt). Останній використовується найчастіше [400], але й найчастіше вступає у різноманітні взаємодії із ЛР [151, 468, 474, 476]. Зокрема, взаємодія MgSt з ЛР цетилпіридинійхлоридом знижує антибактеріальну активність цієї ЛР [151]. Стеаринова кислота (StA), яка є структурним елементом стеаратів, також використовується замість них у якості ДР [469]. З літератури відомо, що взаємодії амфіфільних ДР з ЛР суттєво залежить від хімічної будови обох компонентів та впливають на ефективність ЛР як у бік її підвищення, так і зниження, зокрема шляхом утворення сполук або комплексів [303, 477]. Зокрема, комплексоутворення спостерігалося для ДР любриканту лаурилсульфату та ЛР нейролептику хлорпромазину.

Для встановлення ефектів спільної дії пари CyS-CaSt, CyS-MgSt або CyS-StA загальним вмістом 2 мас. % вносили до мембрани ДПФХ. При спільному внесенні CyS з кожним зі стеаратів спостерігалося відхилення від лінійності у бік підвищення температур фазових переходів, тоді як у парі CyS-StA мала місце адитивність ефектів – як за ΔT_m, так і за ΔT_p (Рис. 5.20). Оскільки для кожного з компонентів у пáрах CyS зі стеаратами $\Delta T_m > 0$, спостережуваний ефект можна класифікувати як синергізм (див. Табл. 5.1, с. 148).

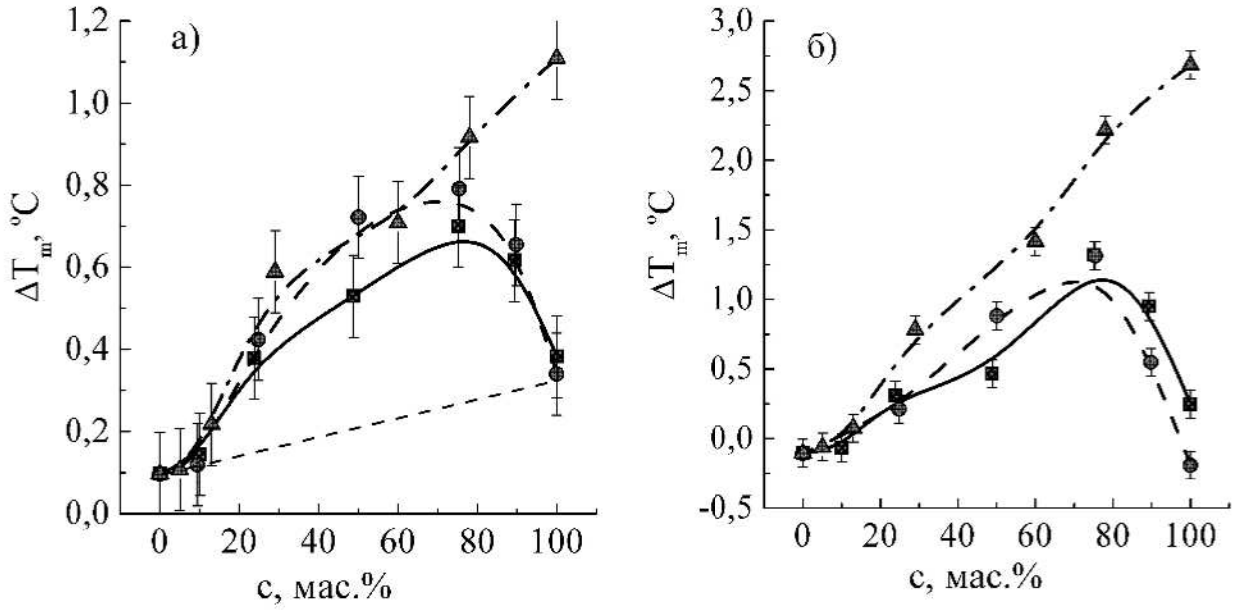


Рис. 5.20. Зсуви температур основного (а) та передпереходу (б) мембран ДПФХ із вмістом CyS-CaSt (●), CyS-MgSt (■) та CyS-StA (▲) від концентрації ДР у парі. Пунктиром позначена лінія адитивності $\Delta T_m(c)$.

Табл. 5.5 містить значення параметру спільної дії J_{AB} для обох фазових переходів за різних концентрацій речовин. Як можна бачити, синергізм для передпереходу виражений значно більше, ніж для основного, та зростає з концентрацією. Окрім того, ефект спільної МД для CaSt дещо перевищує такий для MgSt. З отриманих даних випливає, що зміна природи іону у складі ЛР, навіть при збереженні його валентності, є суттєвою для ефектів спільної МД.

Таблиця 5.5

Значення J_{AB} для мембрани ДПФХ, що містить циклосерин та ДР у загальній концентрації речовин 2 % та 5 %

ЛР – ДР	*Основний перехід*		*Передперехід*	
	2 %	5 %	2 %	5 %
CyS – CaSt	0,4	0,5	0,9	2,2
CyS – MgSt	0,3	0,4	0,5	1,4
CyS – StA	~ 0	–	~ 0	–

У вказаних системах спостерігалися відмінності у концентраційних залежностях інших параметрів. Так, значення гістерезису фазових переходів для пар CyS-MgSt та CyS-CaSt знижувалися, особливо для передпереходу (Рис. 5.21), що свідчить про підвищення однорідності пакування ліпідів, а у присутності CyS-StA – зростали. При цьому параметр кооперативності *CN* (1.4) для пар зі стеаратами практично не змінювався, тоді як для CyS-StA мав немонотонну концентраційну залежність із мінімумом близько 74 % StA у загальному вмісті ЛР, що відповідає мольному співвідношенню CyS-StA 1 : 1 (Рис. 5.22). Вкупі із підвищенням гістерезису спостережуваний ефект може бути маркером незалежного зв'язування вказаних компонентів із мембраною, що й приводить до зростання її неоднорідності

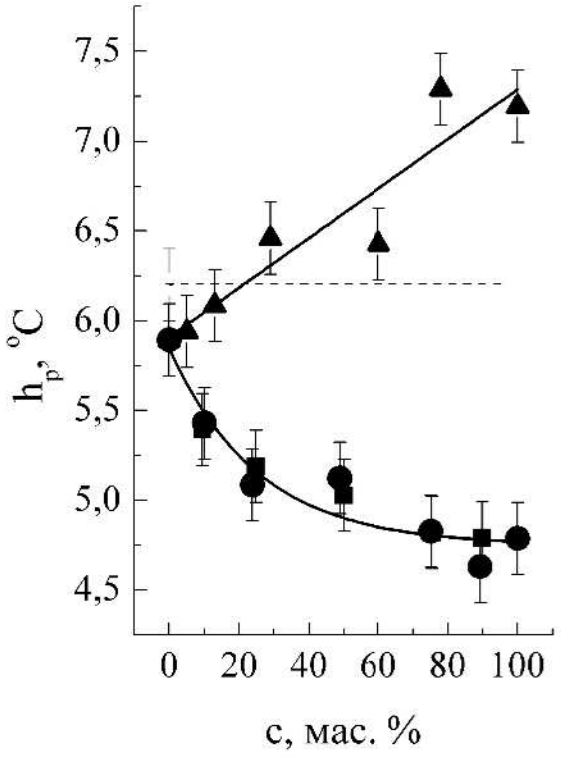


Рис. 5.21. Гістерезис передпереходу мембран ДПФХ із вмістом CyS-CaSt (●), CyS-MgSt (■) та CyS-StA (▲) у залежності від концентрації ДР у парі. Пунктирна лінія вказує на відповідне значення для вихідної мембрани.

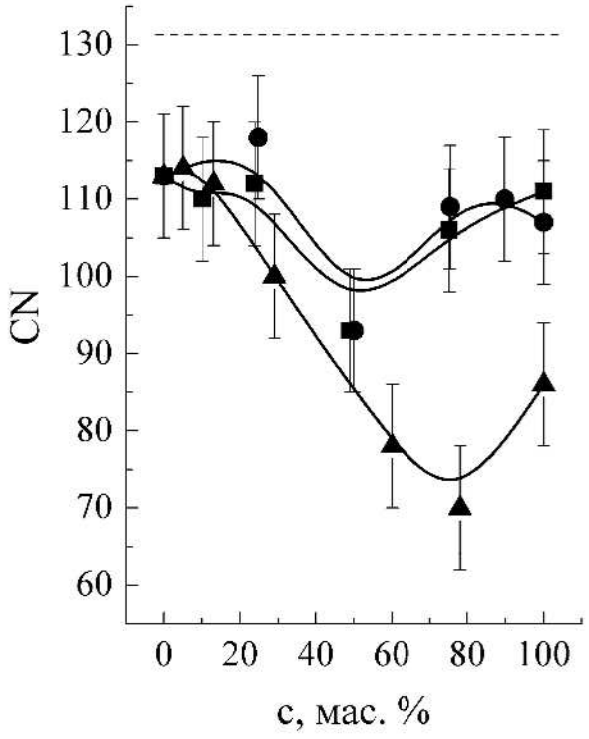
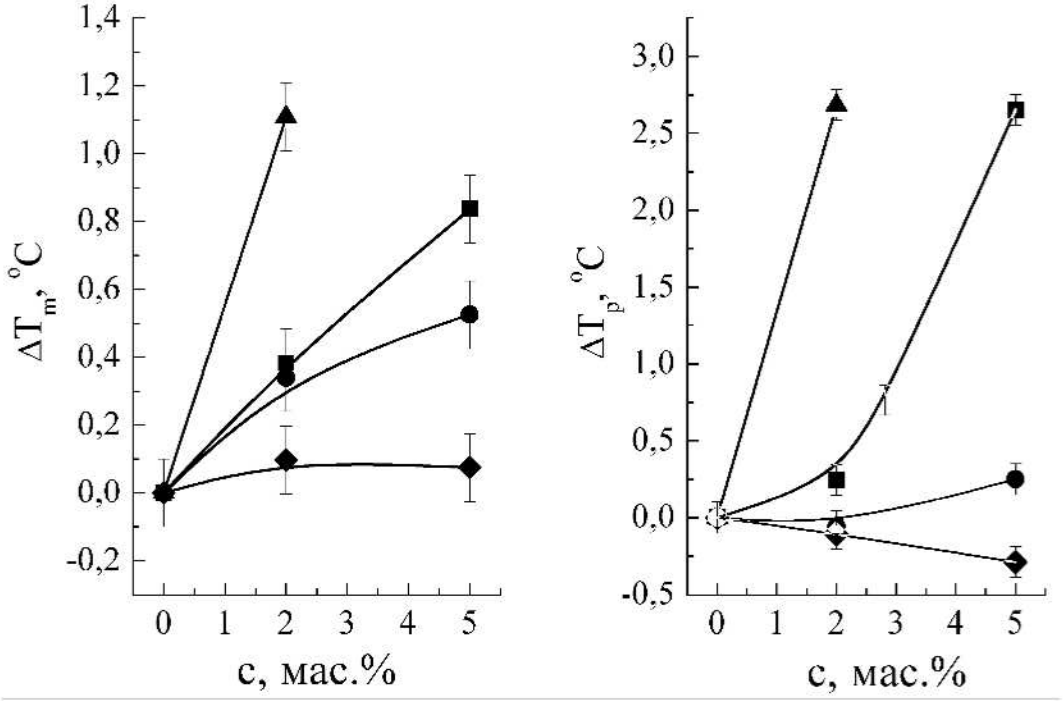


Рис. 5.22. Параметр кооперативності основного переходу мембран ДПФХ із вмістом CyS-CaSt (●), CyS-MgSt (■) та CyS-StA (▲) у залежності від концентрації ДР у парі. Пунктирна лінія вказує на відповідне значення для вихідної мембрани.

Очевидно, що спостережувані відмінності пов'язані із хімічною структурою ДР, яка має відбиватися й в їх МД. Дійсно, індивідуальна МД CyS, StA, MgSt та CaSt має очевидні відмінності за низкою параметрів (Рис. 5.23). Цікавою особливістю індивідуальної МД CyS є розширення температурного діапазону існування $P_{\beta'}$-фази, тобто стабілізація складчастої фази мембрани (див. п. 1.1.2). Спираючись на результати, представлені у роботі [75], можна зробити припущення, що зв'язування гідрофільної молекули CyS з поверхнею мембрани зсуває рівновагу між гідрофобними та гідрофільними складовими міжліпідних взаємодій у бік останніх.



а) б)

Рис. 5.23. Зсув температур основного (а) та передпереходу (б) у мембранах ДПФХ із вмістом CaSt (●), MgSt (■) StA (▲) та CyS (◆) у залежності від концентрації ЛР відносно сухого ДПФХ.

На відміну від CyS, для всіх досліджених ДР характерне підвищення T_m та T_p. Аналіз отриманих залежностей за допомогою рівняння (3.2) дозволяє встановити, що для обох стеаратів k = 0,2, тоді як значення $1/n$ становить 0,8 для MgSt та 0,5 для CaSt, що свідчить про відносне зменшення зв'язування CaSt із ростом його концентрації.

Для деталізації та порівняння МД був застосований комплексний аналіз інших термодинамічних параметрів фазових переходів досліджуваних систем – ентальпії, напівширини та гістерезису (Рис. 5.24). Такий підхід виявився зручним у задачах візуалізації та порівняння ефектів МД для структурно близких речовин. На підставі даних Рис. 5.23 та Рис. 5.24 можна встановити, що МД досліджуваних ДР збільшується у низці CaSt < MgSt < StA.

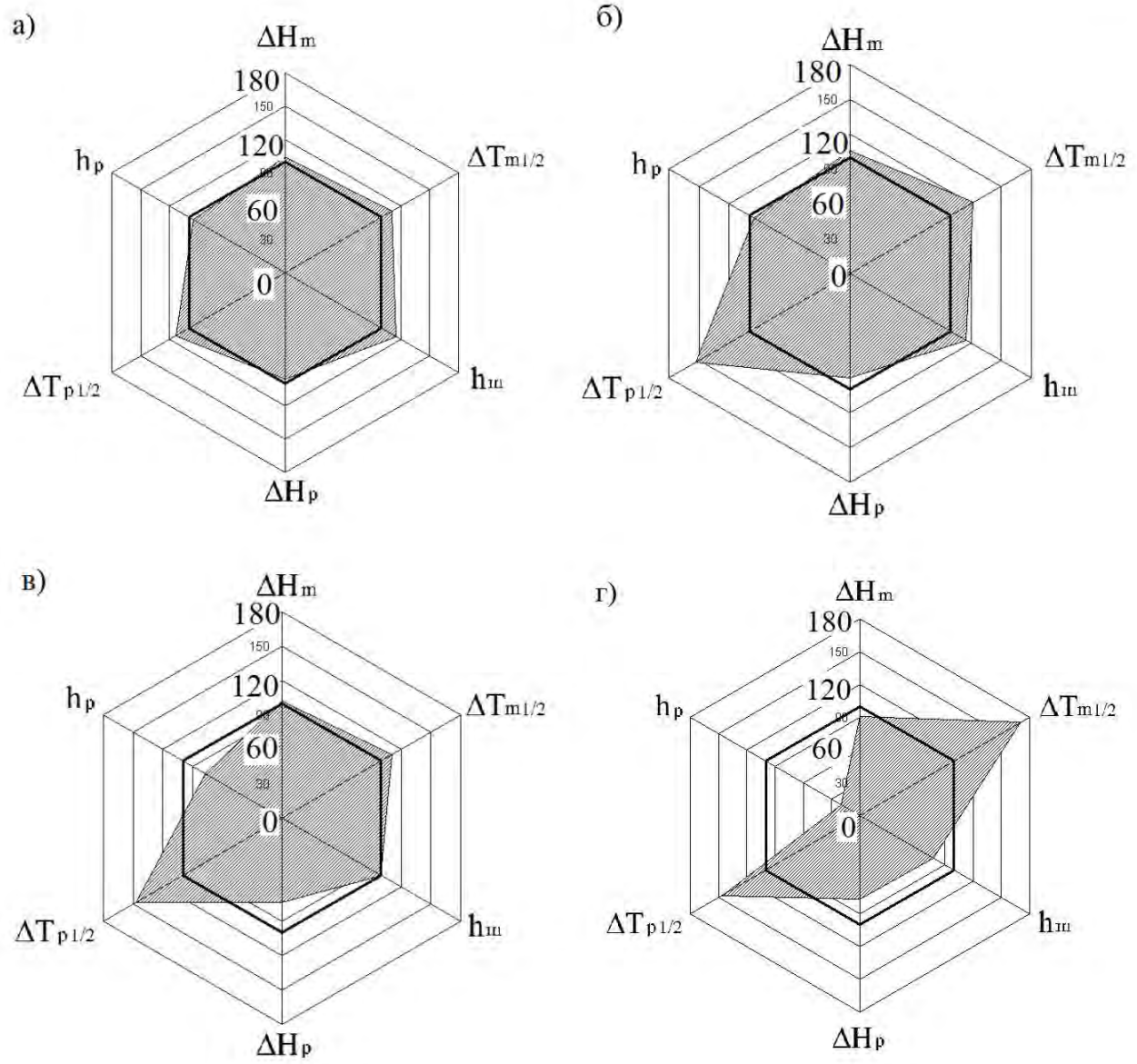


Рис. 5.24. Відносні зміни термодинамічних параметрів фазових переходів ДПФХ у мембранах ДПФХ із вмістом 2 % CyS (а), CaSt (б), MgSt (в) та StA (г). Товстою лінією позначені параметри вихідної мембрани.

Структурні параметри мембран ДПФХ із вказаними па́рами ЛР – ДР, отримані методом МКРР (Табл. 5.6), свідчать, що у $L_{\beta'}$-фазі ДПФХ усі ДР підвищують період повторюваности d_L у послідовності CaSt < MgSt < StA, тобто, в тому ж порядку, що й підвищення T_m та T_p. При цьому CyS індивідуально практично не впливає на величину d_L; у парі CyS-StA це значення адитивне в усіх фазах (Рис. 5.25). Значення напівширини дифракційного піку ($q_{1/2}$) у парі CyS-StA суттєво збільшується, що, вкупі з підвищенням гістере-

зису (див. Рис. 5.21), може свідчити про співіснування ділянок бішару, пов'язаних з кожним компонентом індивідуально. З Табл. 5.6 також можна побачити, що індивідуально CaSt та MgSt в L_α-фазі знижують d_L у L_α-фазі, тоді як при внесенні разом із CyS – підвищують його, що свідчить про неадитивність МД.

Таблиця 5.6

Період повторюваності d_L ламелярних структур та напівширина дифракційного піку $q_{1/2}$ для мембран ДПФХ з CyS та ДР

Компоненти ЛП	d_L, Å	$q_{1/2}$, Å^{-1}	d_L, Å	$q_{1/2}$, Å^{-1}
	$L_{\beta'}$-фаза (22,7° C)		L_α-фаза (47,3° C)	
–	62,8	0,0036	65,0	0,0036
StA	64,1	0,0035	65,8	0,0036
MgSt	63,9	0,0052	64,4	0,0067
CaSt	63,4	0,0048	64,4	0,0059
CyS	62,9	0,0046	65,7	0,0048
CyS – StA	63,6	0,0046	65,6	0,0075
CyS – MgSt	63,6	–	66,5	0,0042
CyS – CaSt	63,1	–	65,7	0,0052

Усі отримані дані вказують на можливість утворення досліджуваними компонентами ЛП міжмолекулярних комплексів. Така можливість була вивчена за допомогою квантово-хімічних розрахунків у вакуумі та наближенні водного оточення (див. п. 2.2.14). Аналіз 20 комплексів з найбільшими абсолютними значеннями E_{int} по кожній групі (CyS – CaSt, CyS – MgSt та CyS – StA) виявів такі основні складові енергії комплексоутворення: (1) міжмолекулярні водневі зв'язки; (2) взаємодії з катіоном металу; (3) неспецифічні дисперсійні взаємодії гідрофобних фрагментів

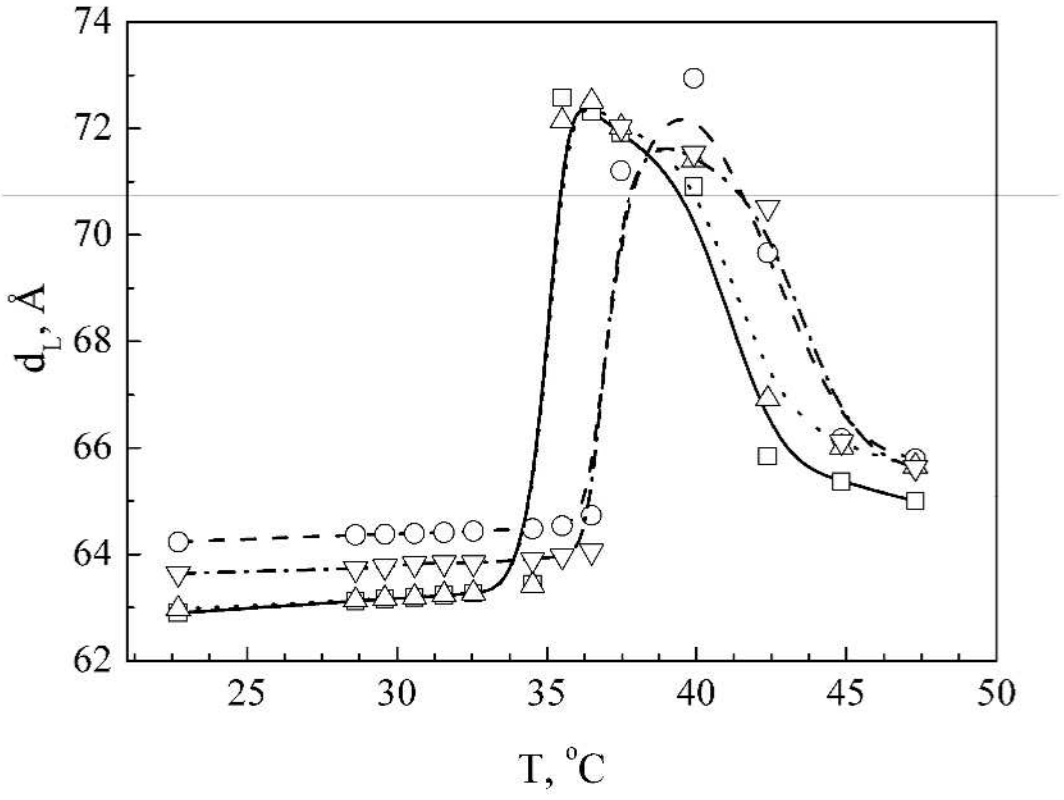


Рис. 5.25. Профілі МКРР для мембран ДПФХ із вмістом CyS та CaSt: без домішок (□), з CyS (△), з StA (○), з CyS-StA (▽).

Структури найбільш стабільних міжмолекулярних комплексів наведені на Рис. 5.26 (CyS – StA), Рис. 5.27 (CyS – CaSt) та Рис. 5.28 (CyS – MgSt). Як можна бачити, у комплексах CyS – StA до міжмолекулярних взаємодій утягнуті карбонільні та аміногрупи молекули CyS, а також карбонільні та метиленові групи молекули StA (Рис. 5.26). У комплексах CyS – CaSt та CyS – MgSt найбільший внесок в енергію комплексу дають взаємодії: (1) карбонільної групи молекули CyS з атомами кальцію та магнію молекул стеаратів; (2) ефірної групи та NH-групи CyS з метиленовими групами стератаів; (3) NH_2-групи CyS з карбонільними групами стератаів (Рис. 5.27, Рис. 5.28). Аналіз отриманих результатів показує, що найбільшу енергію мають комплекси, до створення яких утягнуті як протоно-донорні, так і протоно-акцепторні функціональні групи молекули CyS.

Середні та максимальні значення E_{int} по кожній парі ЛР – ДР наведені у Табл. 5.7. Як можна бачити, середня енергія комплексоутворення CyS – CaSt та CyS – MgSt (у водному середовищі – відповідно, 78 кДж/моль та 98 кДж/моль) значно перевищує таку для комплексів CyS – StA (49 кДж/моль), що, певно, обумовлене залученням до міжмолекулярних взаємодій атомів відповідних металів.

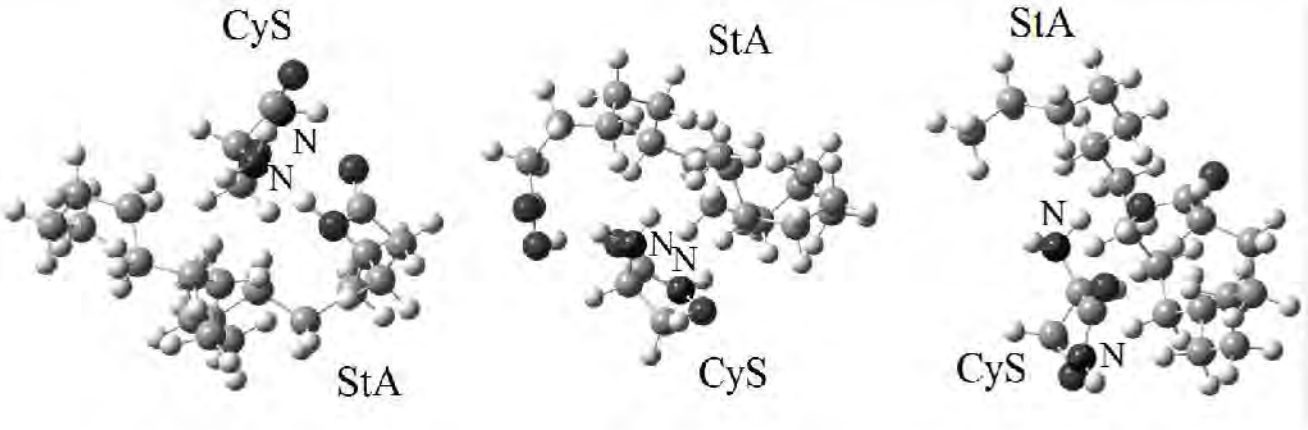


Рис. 5.26. Структури найбільш стабільних міжмолекулярних комплексів CyS – StA. Позначення елементів: H – білий; C – світло-сірий; O – темно-сірий; інші елементи вказані.

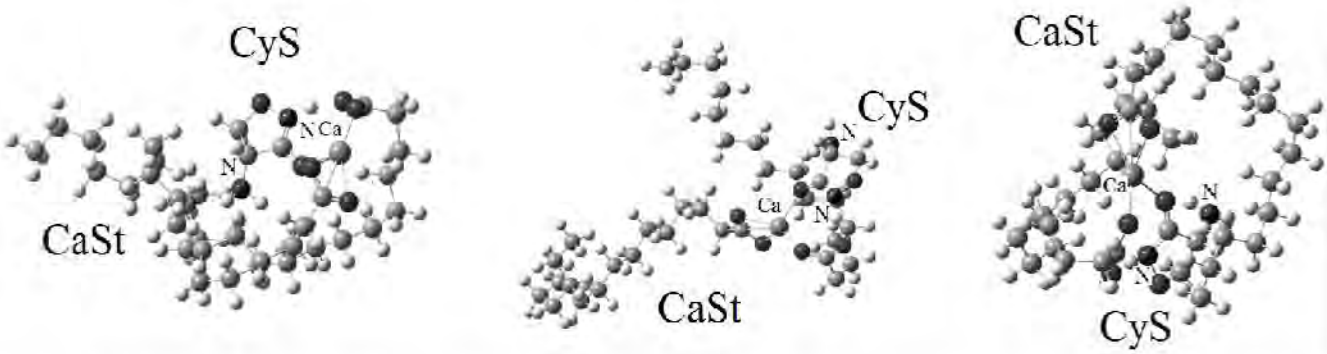


Рис. 5.27. Структури найбільш стабільних міжмолекулярних комплексів CyS – MgSt. Позначення елементів – див. Рис. 5.26.

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.

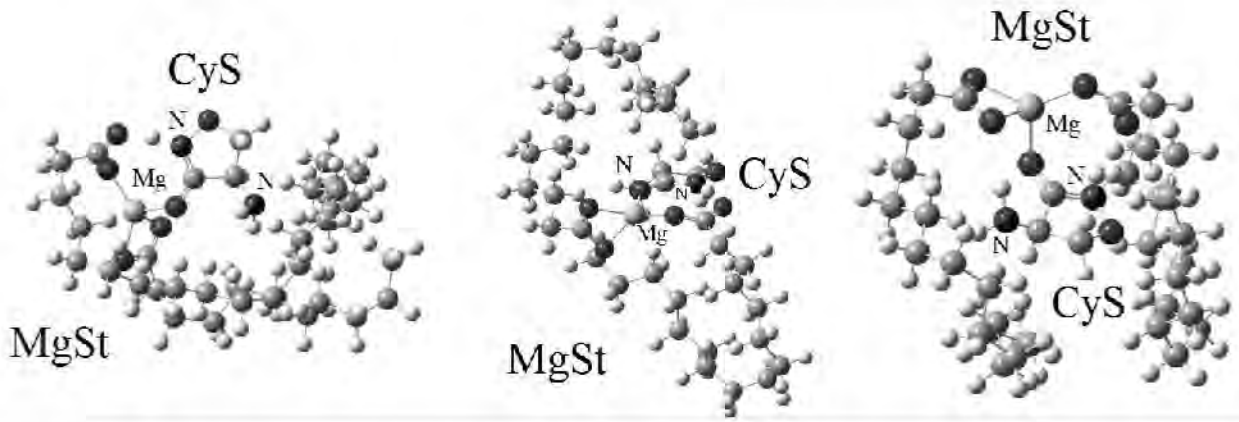


Рис. 5.28. Структури найбільш стабільних міжмолекулярних комплексів CyS – CaSt. Позначення елементів – див. Рис. 5.26.

Таблиця 5.7

Середні (<E_{int}>) та максимальні (E_{int}^{max}) значення енергії взаємодії у міжмолекулярних комплексах циклосерину з ДР

Комплекс	*in vacuo*		PCM (водне оточення)	
	<E_{int}>, кДж/моль	E_{int}^{max}, кДж/моль	<E_{int}>, кДж/моль	E_{int}^{max} кДж/моль
CyS – StA	-51,9	-81,7	-49,0	-74,8
CyS – CaSt	-110,1	-239,3	-77,5	-188,8
CyS – MgSt	-134,4	-276,2	-98,0	-220,9

Однією з важливих складових механізмів взаємодії компонентів ЛР з мембранами є їх взаємодії ЛР з водним оточенням [105]. Відмінності у структурі полярної частини досліджуваних ДР мають відбиватися у їх гідратаційних властивостях. Рис. 5.29 демонструє різницю у гігроскопічності стеаратів та стеаринової кислоти за значенням N_{max}, розрахованих за (2.21) для різних значень тиску водяної пари P_{H2O} (для порівняння наведені дані щодо NaCl в

тих самих експериментальних умовах). Як можна бачити, обидва стеарати слабко гігроскопічні (CaSt дещо більше за MgSt), тоді як StA майже не гігроскопічна.

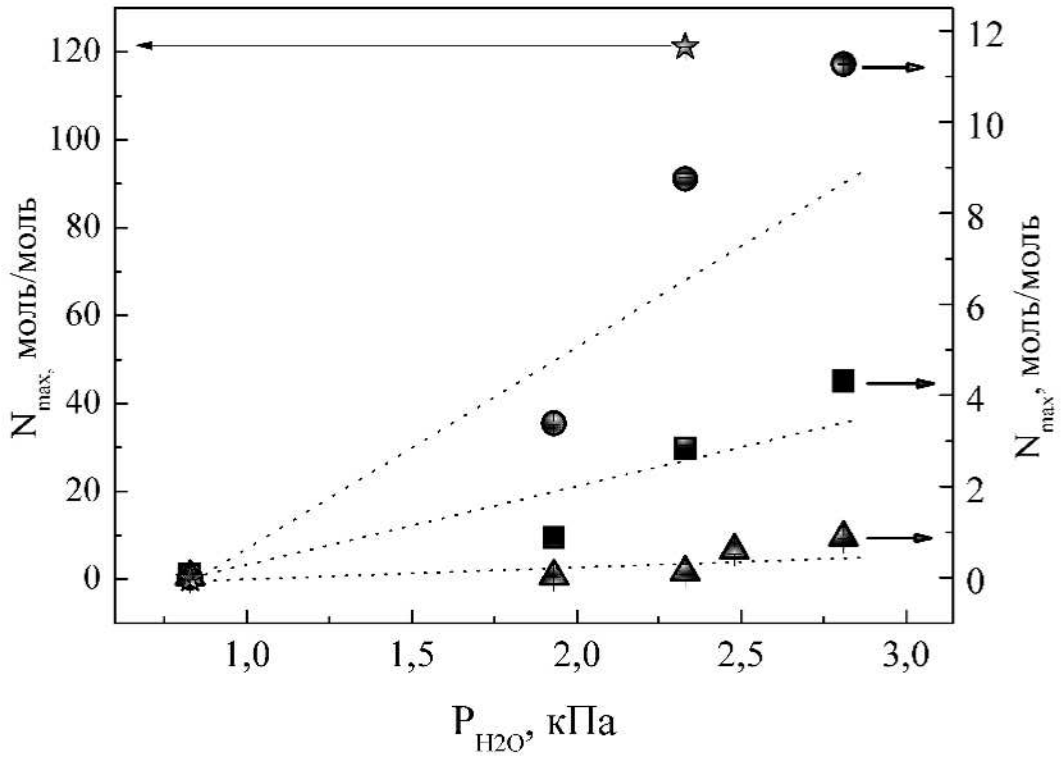


Рис. 5.29. Кількість гігроскопічної води у залежності від парціального тиску водної пари у зразках StA (▲), MgSt (■), CaSt (●) та NaCl (★). Пунктирні лінії вказують тенденції ходу залежностей.

Методами ТГА, ДСК та ІТС визначено низку гідратаційних параметрів стеаратів (Табл. 5.8), які підтверджують істотну різницю між властивостями їх гідратних оболонок. Так, для CaSt усі параметри, що характеризують енергію зв'язування води вищі, ніж для MgSt, що має бути важливим у їх взаємодії як із ліпідною мембраною, так і з CyS. Треба зазначити, що параметри у ланках 1-3 Табл. 5.8 добре збігаються з літературними даними [478], тоді як інші параметри визначені вперше.

На підставі сукупності отриманих даних механізми індивідуальної та спільної МД досліджуваних речовин можна якісно охарактеризувати наступ-

ним чином. Різницю у індивідуальній МД стеаратів та стеаринової кислоти визначає структура їх полярної частини, зокрема її розмір та гідратаційні властивості: з їх зниженням МД стеаратів наближається до МД StA.

Таблиця 5.8

Параметри гідратації та МД для CaSt та MgSt

Параметр \ Речовина		MgSt	CaSt	Метод (формула)
1.	Кристалогідратна вода, моль/моль	2,0 ± 0,08	1,2 ± 0,2	ТГА (2.16)
2.	Температура дегідратації, °С	76,3 ± 0,2	90,2 ± 0,2	ТГА, ДСК
3.	Ентальпія дегідратації, кДж/моль	48,2 ± 4,2	79,7 ± 7,5	ДСК (2.7)
4.	Ентальпія дегідратації, кДж/моль·К	138 ± 14	219 ± 22	ДСК (2.8)
5.	Енергія активації дегідратації, кДж/моль	268 ± 5	359 ± 36	ТГА (2.17)
6.	N_{max} (2,8 кПа), моль/моль	4 ± 0,5	11 ± 1,4	ІТС (2.21)
7.	Ентальпія десорбції гігроскопічної води, кДж/моль	–	32 ± 4	ТГА (2.14)

Примітка: експериментальна похибка визначена для 5 паралельних вимірів

Разом усі спостережувані параметри спільної МД свідчать про можливість комплексоутворення між циклосерином та дослідженими ДР, які можуть відбуватися також і за участю молекул води [468]. При комплексоутворенні молекули кристалогідратної води стеаратів або заміщуються молекулами CyS, або утворюють з'єднувальні містки між молекулами цих речовин. Це у будь-якому випадку приводить до ослаблення гідратаційних властивостей комплексу у порівнянні із стеаратами та узгоджується із літературними даними, які засвідчують підвищення ліпофільності компонетів ЛП при утворенні ними водневих зв'язків [479]. Можливо, що для CaSt синергічний ефект

спільної МД виражений сильніше саме за рахунок більш розвинутої гідратної оболонки.

5.5.3. Порівняння мембранотропної дії лікарської речовини та лікарського препарату

У літературі встановлений безпосередній зв'язок між біодоступністю ЛР та його проникністю крізь мембрани [480]. Біодоступність ЛР, що визначається як ефективність його надходження у кровотік, є інтегральною характеристикою процесів його абсорбції та дифузії в живому організмі та одним з найважливіших критеріїв якості ЛП [481]. Однією за найголовніших причин відмінностей у біодоступності ЛР у складі різних ЛП (а отже, й у терапевтичному ефекті цих ЛП) називають набір ДР [480, 481]. Тому наступним етапом дослідження спільної дії ЛР та ДР було порівняння МД індивідуальної ЛР та готового ЛП на його основі.

Запропоновано методологію порівняння МД ЛР та ЛП на його основі, а також висвітлення внеску ДР у МД ЛП. Для цього до мембрани додавали водні розчини ЛР або ЛП, приготовані таким чином, що концентрація ЛР була однаковою. Результати, отримані в режимі нагрівання, представлені на Рис. 5.30. Як можна бачити, для фенспіриду, на відміну від інших ЛР, зареєстровано підвищення ΔH_m (Рис. 5.30, г). В цілому можна відмітити, що в кожній групі ЛР – ЛП існує якісна подібність МД, хоча й з кількісними відмінностями. Враховуючи, що порівняння проводиться для систем з однаковими концентраціями ЛР, зрозуміло, що спостережувані відмінності обумовлені присутністю ДР, внесок яких у МД може виражатися як з у підвищенні ΔT_m (Рис. 5.30, а-в), так і у його зниженні (Рис. 5.30, д). Запропонована методологія дозволяє також порівнювати МД препаратів-аналогів. Так, на підставі Рис. 5.30, д,є, можна встановити, що «Метрагіл» має найбільш виражену МД серед усіх препаратів-аналогів ЛР метронідазолу.

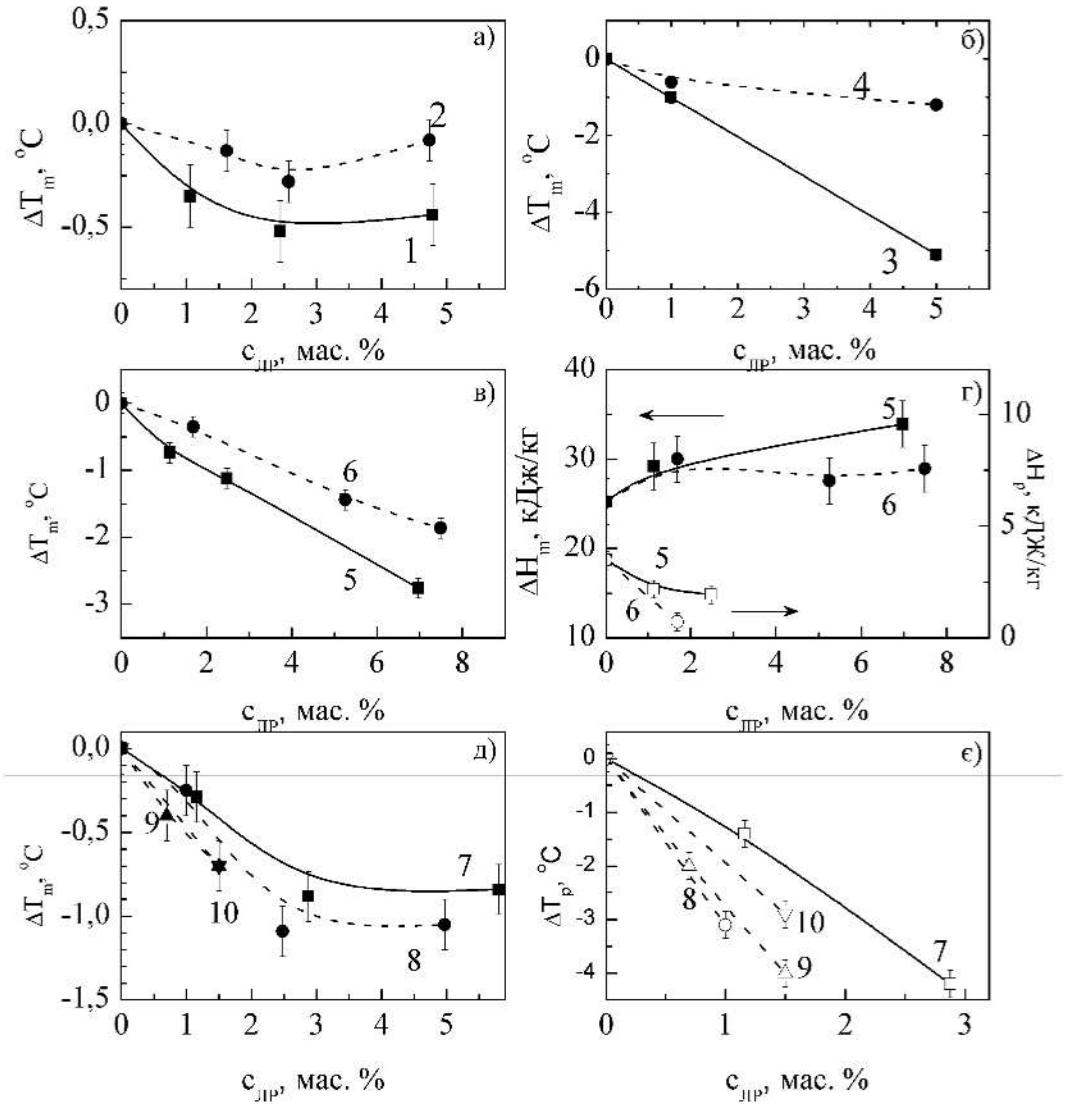


Рис. 5.30. Концентраційні залежності параметрів основного фазового переходу (суцільні символи) та передпереходу (відкриті символи) для мембран ДПФХ із вмістом ЛР та ЛП: а) 1 – тилорон, 2 – «Аміксин ІС»; б) 3 – аспірин, 4 – «Аспірин Комплекс»; в, г) 5 – фенспірид, 6 – «Ереспал»; д,є) 7 – метронідазол, 8 – «Метрагіл», 9 – «Метронідазол Юрія-Фарм», 10 – «Трикасайд». Суцільні лінії – залежності для ЛР, пунктирні лінії – залежності для ЛП.

Для антибіотика азитроміцину та низки його препаратів-аналогів хід залежності $\Delta T_m(c_{ЛР})$ в усіх системах зберігався параболічним (Рис. 5.31), але мав параметричні відмінності залежно від конкретного ЛП.

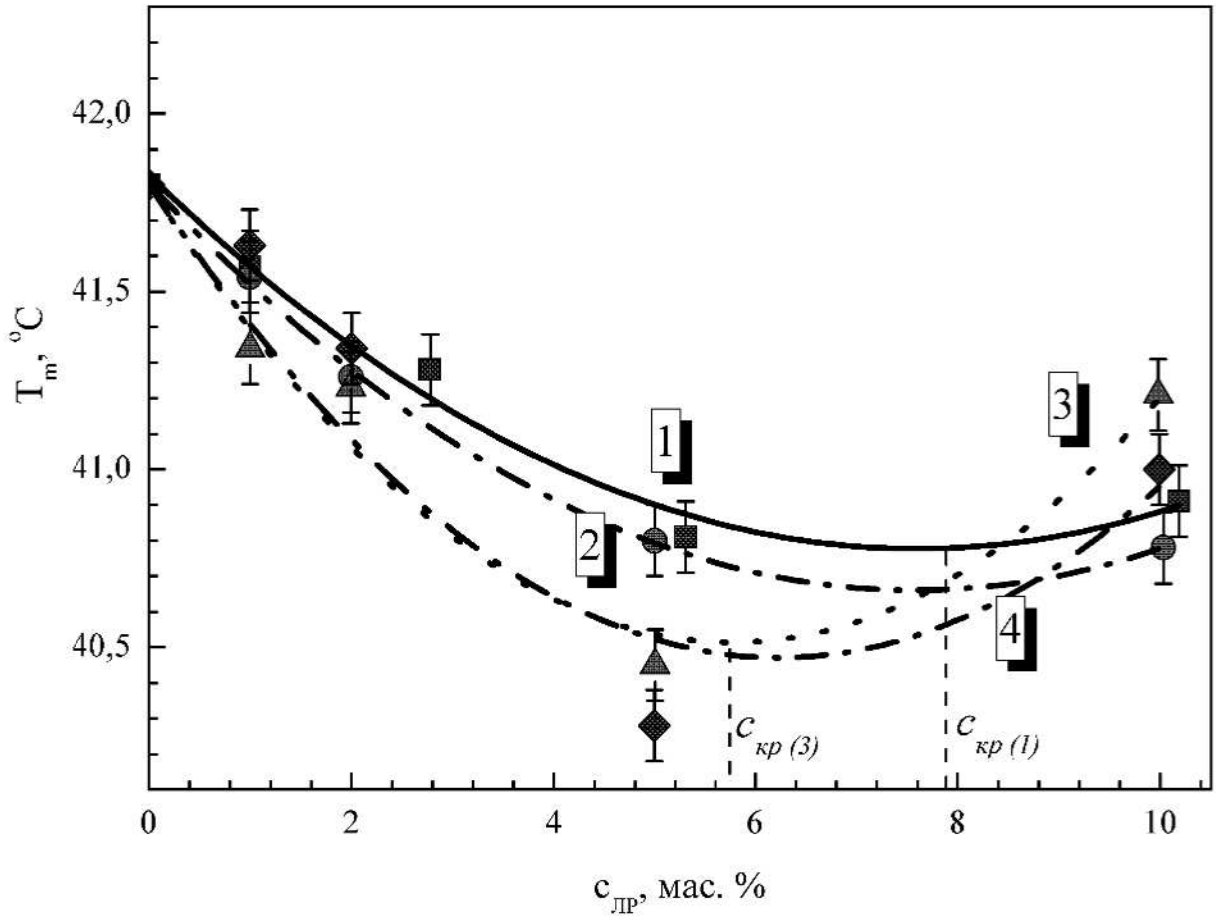


Рис. 5.31. Концентраційні залежності T_m мембрани ДПФХ ЛР азитроміцину (1) та його ЛП: «Азицин» (2), «Азитроміцин» (3) и «Хемоміцин» (4). Лініями позначений хід параболічної апроксимації отриманих даних. Вертикальні пунктирні лінії позначаютьі величини $c_{кр}$ для ЛР азитроміцину (крива 1) та ЛП «Азицин» (крива 3).

Табл. 5.9 містить параметри параболічної апроксимації концентраційних залежностей, представлених на Рис. 5.31, та розраховані на підставі них значення $c_{кр}$.

Отримані залежності дозволяють зробити припущення щодо двостадійного концентраційно-залежного механізму зв'язування азитроміцину з мембраною ДПФХ, який залежить від складу ДР. У випадку, якщо ДР при зв'язуванні з мембраною модифікують її у бік зниження щільності пакування ліпідів, розподілення азитроміцину в мембрану за однакової концентрації водного розчину буде відбуватися ефективніше.

Таблиця 5.9

Параметри параболічної апроксимації залежностей $\Delta T_m(c)$ мембран ДПФХ із вмістом ЛР азитроміцину та його ЛП

№	Назва	*A*	*B*	*C*	$c_{кр}$
1	Азитроміцин	41,83	-0,28	0,018	7,7
2	«Азицин»	41,80	-0,30	0,020	7,5
3	«Азитроміцин»	41,80	-0,45	0,038	5,9
4	«Хемоміцин»	41,80	-0,43	0,034	6,3

Це виражається у підвищенні абсолютних значень коефіцієнтів B та C параболічної апроксимації (див. Табл. 5.9). При цьому критичне значення концентрації азитроміцину $c_{кр}$, при якому має місце зміна ходу залежності, має бути тим більшим, чим щільнішим є бішар. Дійсно, $c_{кр}$ для ЛР азитроміцину та «Азицину» складає ~ 7,5 мас. %, тоді як для «Азитроміцину» та «Хемоміцину» – відповідно, 5,9 мас. % та 6,3 мас. %. На користь такого припущення свідчать також дані [482] щодо залежності локалізації ЛР у мембрані від її концентрації. Аналіз складу досліджуваних препаратів показав, що єдиною ДР, спільною для «Азитроміцину» та «Хемоміцину», є кукурудзяний крохмаль, що використовується у ЛП як дезінтегрант [151]. Цей гідрофільний полімер завдяки своїй структурі адсорбується на поверхні мембрани, без проникнення до її об'єму, втім, здатний модифікувати біодоступність ЛР [305]. В той же час, гідрофобний азитроміцин ($logP$ = 4) легко долає мембранні бар'єри [483], умовою чого є його здатність проникати у об'єм мембрани. Подібний ефект доповідався для гіалуронової кислоти в мембрані ДПФХ у присутності іонів Ca^{2+} [292]. Тож, у цьому випадку також має місце непряма взаємодію гідрофобної ЛР із гідрофільною ДР у ліпідний мембрані.

Слід зазначити, що для азитроміцину ліпідна мембрана вважається однією з терапевтичних мішеней [152, 484], тож спостережувані зміни МД можуть безпосередньо відбиватися на ефективності ЛП.

При внесенні до мембрани ДПФХ ЛР фенібуту на ДСК-термограмі спостерігалося поява одразу двох додаткових піків, вище та нижче за вихідний. Таких характер термограм був добре відтворюваний в усіх експериментах, тож, було зроблено припущення щодо фенібут-індукованого латерального фазового розподілення ліпідів із утворенням доменів зниженої та підвищеної щільності. На підставі цього усі ДСК-профілі, отримані для мембран ДПФХ з фенібутом, були розкладені на 3 піки (див. п. 2.2.8), для яких визначені температури максимумів ($T_m^н$, T_m, $T_m^в$), а також частка теплового ефекту (питома площа) кожного піку ($x^н$, x^0, $x^в$). Визначення вказаних величин наведено у графічному вигляді на Рис. 5.33.

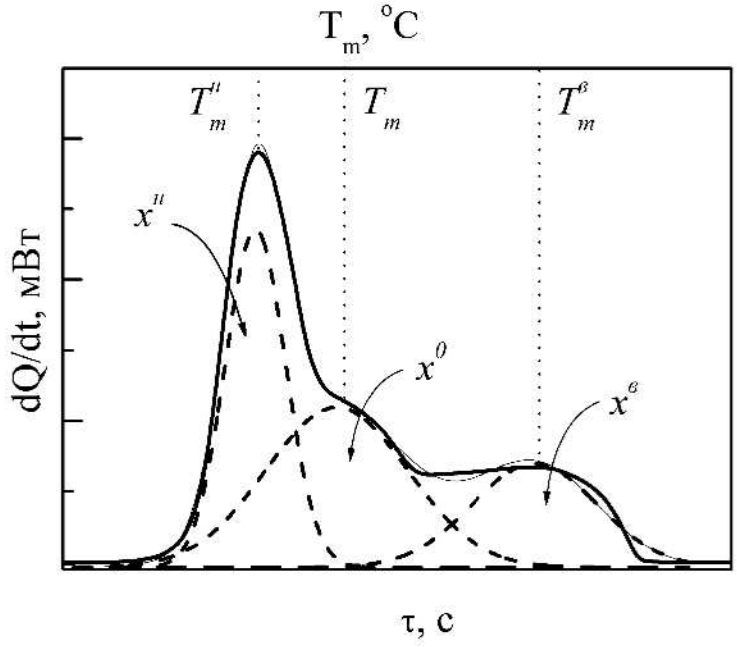


Рис. 5.32. Розкладання ДСК-піку мембрани ДПФХ із вмістом фенібуту на складові.

Залежності кожного з цих параметрів від концентрації фенібуту представлені на Рис. 5.33. Перш за все треба відмітити, що ДСК-термограми та концентраційні залежності усіх вказаних параметрів у присутності фенібуту та «Нообуту ІС» мають схожий вигляд.

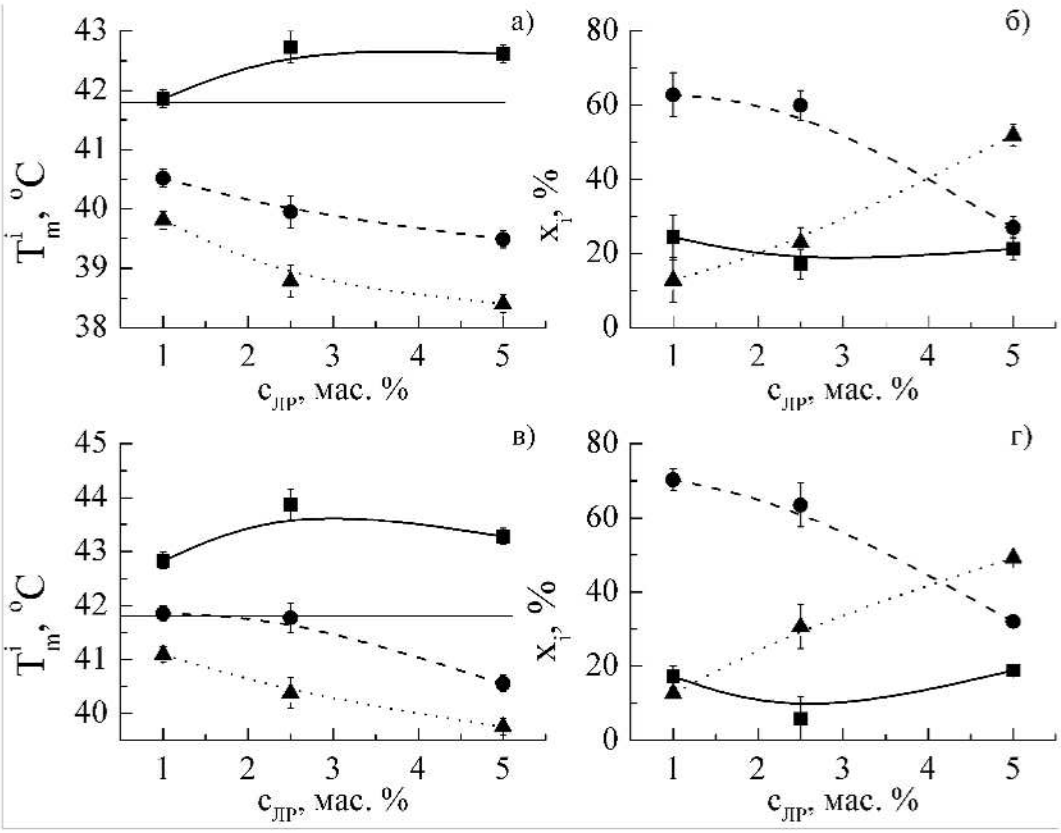


Рис. 5.33. Максимуми (T_m^i) та частка теплового ефекту (x_i) ДСК-піків, отриманих для мембран ДПФХ, що містять фенібут (а, б) та «Нообут ІС» (в, г) в режимі нагрівання: суцільні лінії – високотемпературний пік ($T_m^в$, $x^в$); пунктирні лінії – низькотемпературний пік ($T_m^н$, $x^н$); штрихові лінії – середній пік (T_m, x^0); горизонтальна лінія – значення T_m для вихідної мембрани.

Так, в усіх системах спостерігається підвищення $x^н$ за рахунок x^0, при цьому значення $x^в$ залишається в цілому незмінним. Якісні відмінності мембран полягають у підвищенні значень $T_m^н$, T_m, $T_m^в$ для мембран із «Нообутом ІС» на 0,7 ÷ 1,0 °C (Рис. 5.33, а, в), а також у деякому збільшенні x, за раху-

нок $x^н$ и $x^в$ (Рис. 5.33, б, г), тобто у перерозподілі ліпідів між доменами різної щільності.

Таким чином, в усіх шести досліджених групах ЛР – ЛП загальний вигляд концентраційних залежностей термодинамічних параметрів, характерних для ЛР, зберігається й для його ЛП, що говорить про визначальний внесок ЛР у МД даного 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 – тож, є модулювальним. Додатково треба відмітити, що вказана закономірність спостерігається незалежно від вмісту ЛР у ЛП, яке варіює у широких межах: від 83 % («Трикасайд») та 63 % («Нообут ІС») до 0,5 % («Метрогіл», «Метронідазол Юрія-Фарм»).

Підсумовуючи викладені результати, можна зазначити, що одним з механізмів, що визначають біодоступність ЛР у присутності ДР, може виступати їх спільна взаємодія з ліпідною мембраною.

5.6. Вплив лікарських речовин та лікарських препаратів на гідратацію мембран

Для зразків мембран ДПФХ із вмістом ЛР або ЛП, досліджених у п. 5.5.3, були отримані Фур'є-ІЧ-спектри за методикою, описаною у п. 2.2.9. Співвіднесення смуг ІЧ поглинання було виконано на підставі даних літератури [485-488].

Загалом у ІЧ-спектрах мембран ДПФХ із вмістом вказаних ЛР та ЛП не визначено суттєвих зсувів характерних смуг поглинання заряджених груп ДПФХ, що може свідчити про невеликі енергії їх взаємодій з мембраною. Виключення складали ЛР фенібут та його ЛП «Нообут ІС», у присутності яких зареєстрований батохромний зсув на 2 $см^{-1}$ смуги симетричних валентних коливань фосфатних груп ДПФХ ν_sP=O 1087 $см^{-1}$, що є маркером збурення поверхні мембрани при взаємодії з фенібутом.

Разом із тим, важливість процесів та параметрів гідратації ліпідного бішару (див. п. 1.1.5), а також їх безпосередній вплив на фазові переходи у мембранах (див. п. 3.1.1.1) обумовлюють задачу вивченя змін смуги поглинання води νOH ~ 3400 $см^{-1}$. Вказана смуга, згідно [489, 490], є комбінацією симетричних валентних коливань ν_sOH ~ 3150 $см^{-1}$, антисиметричних валентних коливань ν_{as}OH ~ 3400 $см^{-1}$, а також смуги т. зв. «мультимерної» води ν_mOH ~ 3600 $см^{-1}$, надмолекулярна структура якої порушена.

Оскільки у структурі молекули ДПФХ OH-групи відсутні, смуга 3400 $см^{-1}$ відбиває виключно стан води у модельних ліпідних мембранах. Близьке розташування смуг валентних коливань метиленових груп ДПФХ, $\nu_s CH_2$ 2916 $см^{-1}$ та $\nu_{as} CH_2$ ~ 2850 $см^{-1}$, обумовлює необхідність одночасного виокремлення 5 смуг, як це показано на Рис. 5.34. Критерієм коректності розкладання слугували високі коефіцієнти детермінації ($R \geq 0{,}995$) разом із адекватними значеннями $\nu_s CH_2$ та $\nu_{as} CH_2$. Якщо деякі з цих параметрів суттєво відхилялися від вказаних значень, результати розкладання не розглядалися. Подібне мало місце для деяких мембран із вмістом ЛП, що обумовлено, певно, внеском смуг поглинання ДР у їх складі.

Слід зазначити, що внесення ЛР або ЛП до мембрани практично не змінює розташування смуги $\nu_s CH_2$ молекули ДПФХ, тоді як смуга $\nu_{as} CH_2$ зазнає гіпсохромного зсуву на 2 ÷ 4 $см^{-1}$, що свідчить про підвищення вмісту *гош*-конформацій метиленових груп ДПФХ [485, 488]. Це добре корелює зі зниженням T_m та T_p у ДСК-експериментах (див. Рис. 5.30). Цікаво, що для ЛР фенібуту спостерігається така сама тенденція, на тлі співіснування ліпідних доменів різної щільності (див. Рис. 5.33).

Оскільки OH-групи у складі молекули води не можуть бути залучені водночас до симетричних та антисиметричних валентних коливань, зміни відносного внеску смуги коливань певного типу э важливим параметром, який вказує на структурні перебудови водного оточення у присутності ліпідних мембран, ЛР та ЛП.

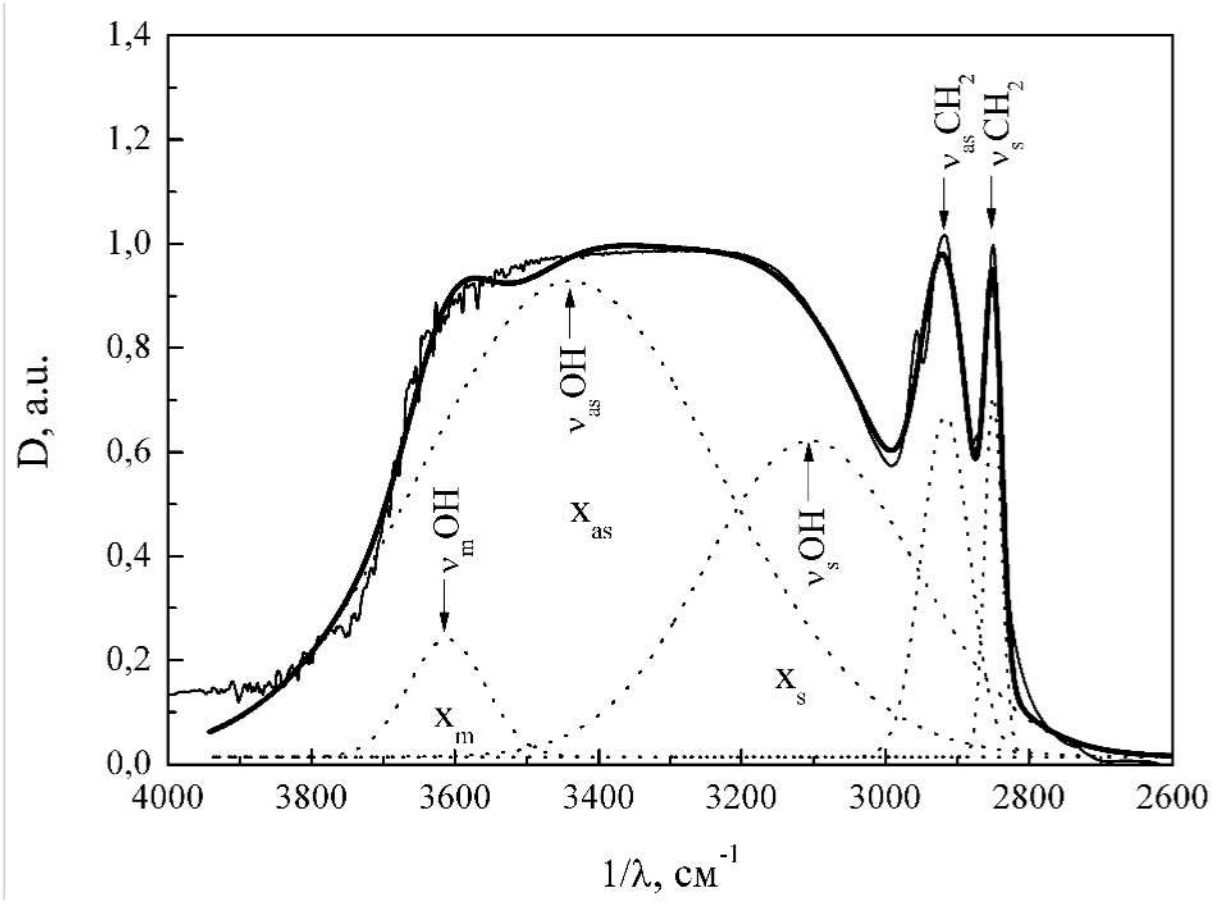


Рис. 5.34. Смуги валентних коливань ОН-груп води та CH_2-груп ДПФХ (x_s, x_{as}, x_m – питомі площі відповідних піків у загальні площі піку νОН).

В області 3600 ÷ 2800 $см^{-1}$ можуть мати місце внески від поглинання функціональних груп компонентів ЛП: СН-груп (3200 ÷ 2900 $см^{-1}$), а також NH-груп (~ 3300 $см^{-1}$). Втім, невеликий вміст компонентів ЛП у водних розчинах (~ 10^{-3} за масою) дозволяє віднести отримані результати переважно на рахунок змін стану води.

Результати аналізу смуги νОН ~ 3400 $см^{-1}$ у різних системах наведено на Рис. 5.35 та Рис. 5.36. Перш за все, слід зазначити, що смуги ν_sОН та ν_{as}ОН та ν_mОН у мембрані ДПФХ виявляються суттєво більш високочастотними, ніж у воді. При цьому можна відмітити низку закономірностей, що спостерігаються як у водному, так і у ліпідному середовищі:

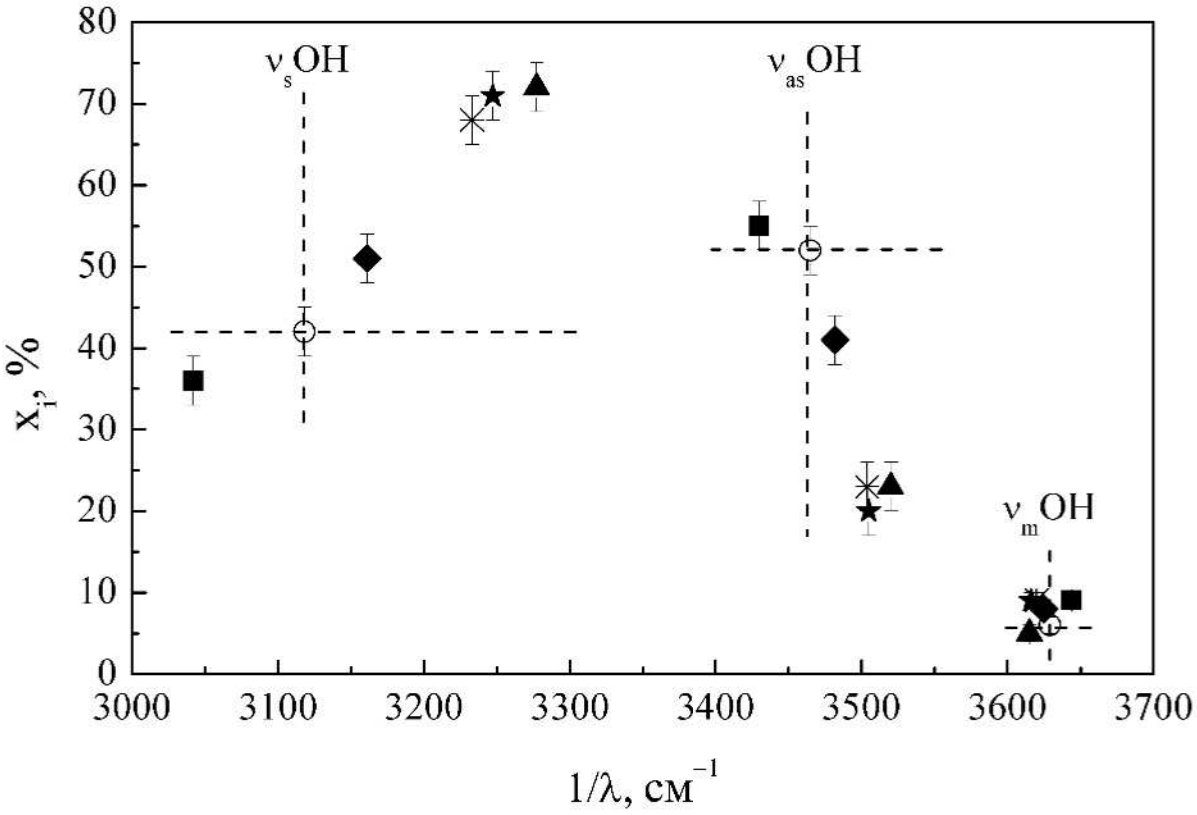


Рис. 5.35. Параметри смуг поглинання ν_sOH, ν_{as}OH та ν_mOH у водних розчинах ЛР: аспірину 1 % (■); метронідазолу 1 % (♦); тилорону 2,6 % (✳); фенібуту 2,6 % (★); фенспіриду 2,5 % (▲); вода без ЛР (○). По осі абсцис відкладений максимум відповідного піку, по осі ординат – доля піку.

– для аспірину спостерігається батохромний зсув ν_sOH та ν_{as}OH, тоді як для інших ЛР цей зсув гіпсохромний;

– у присутності ЛР частка смуги, яка відповідає симетричним валентним коливанням ОН-груп (x_s) змінюється за рахунок частки антисиметричних коливань (x_{as}) при практично незмінному значенні x_m;

– найменших змін у присутності ЛР зазнає смуга ν_mOH, найбільших – смуга ν_sOH, причому ці зміни більш виражені у водному середовищі, ніж у ліпідному;

Усі зазначені відмінності вказують щонайменш на те, що параметри валентних коливань води у розчинах ЛР, а також у мембранах із вмістом ЛР залежать від хімічної будови ЛР.

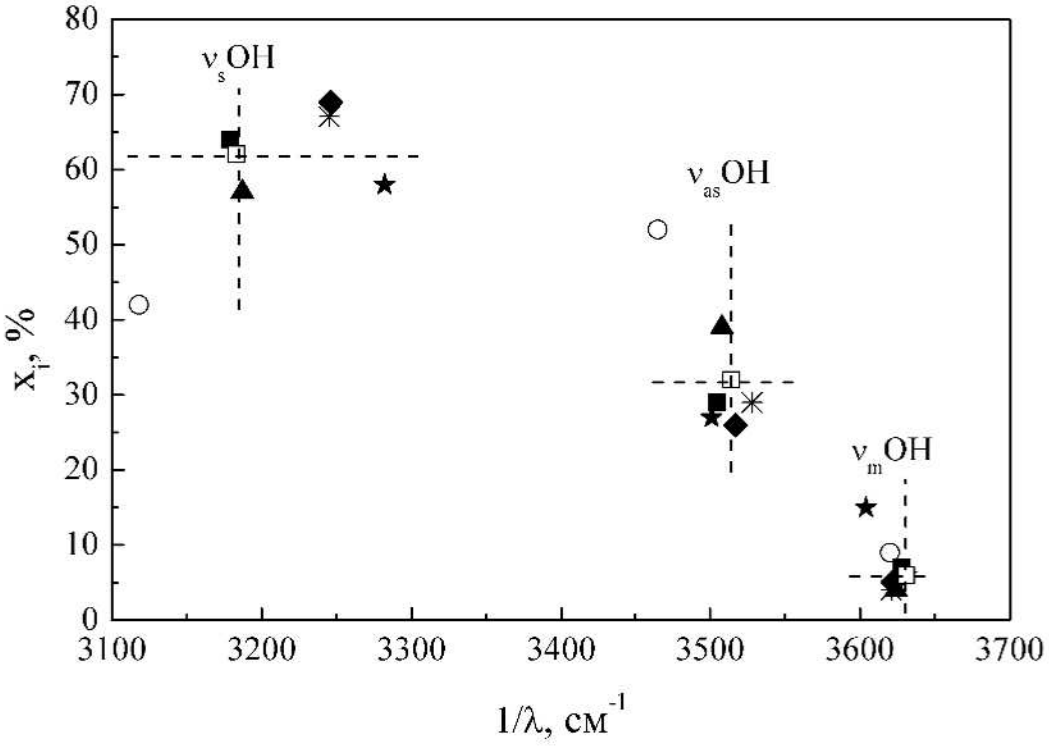


Рис. 5.36. Параметри смуг поглинання ν_sOH, ν_{as}OH та ν_mOH у мембранах ДПФХ, що містять ЛР аспірин (■); метронідазол (♦); тилорон (✳); фенібут (★); фенспірид (▲). Додатково наведені дані для води без ЛР (○) та мембрани ДПФХ без ЛР (□). Інше див. Рис. 5.35.

Відносні зміни x_s та x_{as} можуть відрізнятися у водному та ліпідному середовищах, як це спостерігається для фенспіриду та фенібуту. Окрім того, у присутності фенібуту найбільшою мірою змінюються значення ν_mOH та x_m у мембрані ДПФХ, що може бути наслідком суттєвого збурення властивостей мембрани при латеральному фазовому розділенні ліпідів (див. Рис. 5.33). Вказані параметри смуги ν_sOH 3400 см$^{-1}$ для мембран із вмістом ЛП (тобто ЛР та ДР разом) відрізняються від таких, що містять тільки ЛР, що цілком зрозуміло. Так, для ЛП «Аспірин-Комплекс» та «Ереспал» було зареєстровано підвищення ν_sOH у порівнянні з відповідними ЛР аспірином та фенспіридом, та підвищення x_{as} за рахунок x_s. Разом із тим, для ЛП «Нообут ІС» та «Метронідазол-Юрія-Фарм» спостерігалися зворотні ефекти.

Таким чином, проведена кількісна характеризація станів води у водних розчинах ЛР та мембранах із вмістом ЛР дозволяє виявити такі зміни: а) у ліпідній мембрані порівняно з водой; б) ліпідному та водному середовищі при додаванні ЛР; в) викликані присутністю ДР у складі ЛП.

5.7. Класифікація та механізми спільної мембранотропної дії

Різноманітність отриманих результатів щодо спільної дії компонентів ЛП у модельних мембранах потребує узагальнення. Перш за все, можна виділити три основні види спільної дії: пряма, непряма та відсутність взаємодії (Рис. 5.37). У останньому випадку спостерігається адитивність МД (Рис. 5.19). До прямої взаємодії можна віднести ефекти, які виникають внаслідок безпосередньої взаємодії компонентів ЛП – утворення сполук та комплексів (див. пп. 3.1.1.4, 5.2.4, 5.4.1, 5.5.2). Ідея непрямої взаємодії обговорюється в літературі в аспектах мембрано-опосередкованої та водно-опосередкованої взаємодії [299, 468]. Основними спостережуваними механізмами непрямої взаємодії є участь у різних компонентів ЛП у одному процесі, наприклад, адсорбції на мембрані, у якій один з них має перевагу перед іншим (див. Рис. 5.13 та п. 5.2.3) або у здатності однієї речовини змінювати властивості мембранного середовища, що у свою чергу впливає на зв'язування з нею іншої (див. Рис. 5.21, а також пп. 6.6 та 7.2).

Окремо варто обговорити механізми спільної МД з урахуванням гідрофільності та гідрофобності ЛР, які визначають їх локалізацію у мембрані. Одним з основних параметрів, що визначає спільну МД, уявляється вільний об'єм мембрани (див. Рис. 4.1, с. 124). У випадку двох гідрофобних речовин, що розташовуються у об'ємі мембрани, відбувається або конкуренція за існуючий вільний об'єм, або його продукування.

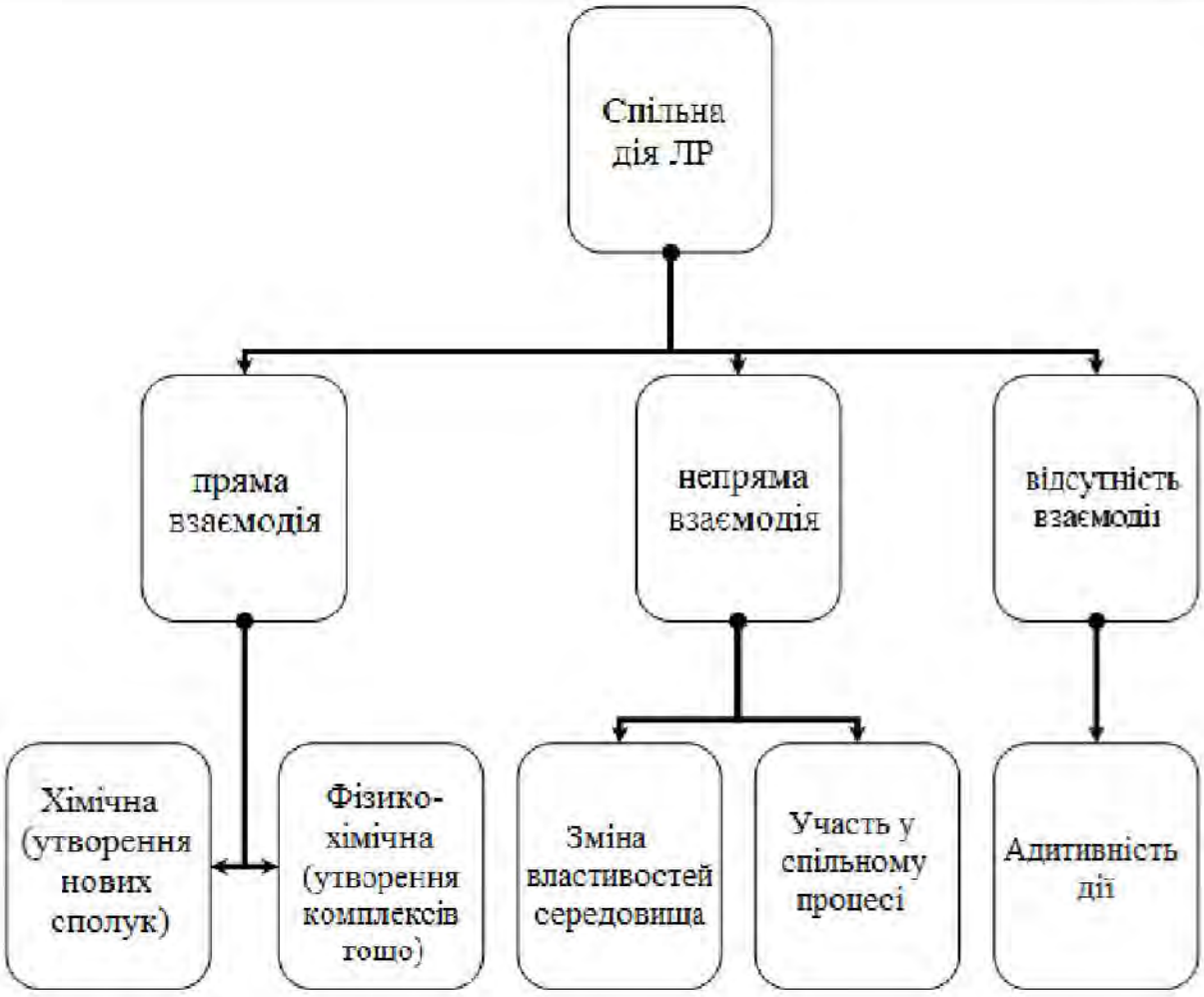


Рис. 5.37. Класифікація спільної дії ЛР.

Наприклад, Хол у концентраціях близько 40 % викликає зменшення вільного об'єму мембрани [126, 439], що перешкоджає розподіленню у мембрану іншої речовини [244, 491, 492]. Втім, вищесказане стосується високих концентрацій Хол, тоді як низькі (до 10 – 12 моль %) викликають фазове розділення ліпідів та, відповідно, підвищення вільного об'єму мембрани на межах фаз, що може приводити до зворотнього ефекту – підвищення розподілення речовини в мембрану. Такий ефект буде описано нижче (п. 6.6).

Для полярних речовин, основним механізмом зв'язування яких з мембраною є адсорбція на її поверхні, визначальним є об'єм полярної області мембрани, зумовлений здебільшого змінами її гідратаційних параметрів. Як було показано (див. п. 4.3), для таких речовин однією з найважливіших ха-

рактеристик є ступінь хаотропності або космотропності ЛР, яка безпосередньо пов'язана із її здатністю до збільшення або зменшення площі перетину елементарної комірки ліпідів – фактично, ліпідної молекули.

Втім, треба докладніше зупинитися на модифікації бішару при його взаємодії з гідрофільною молекулою. Якщо ступінь гідратації поверхні плаского бішару, утвореного ліпідами циліндричної форми, підвищується, тобто збільшується площа перетину ліпідної голівки, ефективна форма ліпідної молекули змінюється з циліндричної на конусоподібну. На рівні бішару це приводить до втрати планарності, що є енергетично невигідним внаслідок збільшення поверхневого натягу [52]. Отже, відбувається мінімізація поверхневого натягу мембрани шляхом модифікації, у свою чергу, полярної частини за рахунок підвищення конформаційної рухливості вуглеводневих радикалів ліпідів. Тож, відбувається індукована зміна площі перетину гідрофобної області, необхідна для надання молекулі циліндричної форми. Треба зазначити, що такий безпосередній зв'язок між гідрофобною та гідрофільною частинами бішару реалізується у однокомпонентних планарних ліпідних структурах [84, 114], але не є універсальним для усіх типів мембран [126].

За вказаним механізмом, зокрема, може реалізуватися спільна МД гідрофобної та гідрофільної речовини. За певного початкового розподілення c_{lipid}/c_{water} система знаходиться у стані динамічної рівноваги. При внесенні гідрофільної молекули та її взаємодії з поверхнею бішару останній зазнає модифікацій, внаслідок яких вільний об'єм бішару збільшується. Внаслідок цього розподіл гідрофобної речовини зсувається в бік ліпідної фази, тобто $c'_{lipid} > c_{lipid}$, а $c'_{water} < c_{water}$. Таким чином, при незмінній загальній концентрації гідрофобної ЛР у системі її вміст в бішарі може змінюватися навіть у присутності гідрофільного компоненту ЛП. Саме такий механізм, вірогідно, реалізується у випадку азитроміцину та лактози (див. Рис. 5.18, с. 168).

Виходячи з принципу параметричної відповідності мембрани та екзогенної молекули, стає очевидним, що всі ефекти МД визначаються не тільки параметрами компонентів ЛП, але й параметрами мембрани – її товщиною,

щільністю пакування ліпідів, властивостями поверхні тощо, які залежать від ліпідного складу мембрани та її іонного оточення. До того ж, у багатокомпонентних мембранах можуть реалізовуватися специфічні ефекти спільної МД з окремими компонентами мембрани. Тому наступним кроком у дослідженнях є дослідження дії компонентів ЛП у багатокомпонентних мембранах.

5.8. Висновки до розділу 5

У п'ятому розділі досліджено ефекти спільної взаємодії з мембраною двох або декількох компонентів ЛП.

1. Запропоновано класифікацію ефектів спільної МД у термінах антагонізму, синергізму, адитивності та конкуренції. Для якісного аналізу ефектів спільної МД уведений параметр сумісної дії J_{AB}, який водночас відбиває знак і величину ефекту.
2. Встановлено неадитивні ефекти спільної дії у пáрах ЛР (антагонізм – для БЧАС та аспірину, конкуренція – для тилорону та ДМСО), які відбиваються на клітинному рівні у впливі на гемоліз та морфологію еритроцитів.
3. У пáрах іонів встановлено конкуренцію іонів срібла з іонами калію або натрію; у пáрах ЛР – ДР встановлений синергізм МД циклосерину зі стеаратами кальцію та магнію, адитивність МД тилорону з гіпромелозою, а також конкуренцію за зв'язування з мембраною для азитроміцину та лактози.
4. Запропоновано нову методологію порівняння 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.
5. Встановлено, що визначальний внесок у мембранотропну дію препаратів азитроміцину, метронідазолу, тилорону, аспірину, фенспіриду та фенібу-

ту належіть лікарській речовині, тоді як внесок допоміжних речовин є модулювальним.

6. Кількісно охарактеризовано зміни параметрів ІЧ-смуг валентних коливань гідроксильних груп води у мембранах та водних розчинах, що містять вищевказані лікарські речовини.
7. Проведено класифікацію спостережуваних ефектів спільної дії та визначені механізмі 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.
8. На підставі отриманих даних обґрунтовано доцільність застосування багатокомпонентних мембран для подальших досліджень МД різних компонентів ЛП.

Основні результати цього розділу викладено в роботах [1]-[5], [9], [14], [17], [18], [23], [28-30], [38], [39], [41], [45].

Розділ 6.
ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН З БАГАТОКОМПОНЕНТНИМИ МЕМБРАНАМИ

Враховуючи існування у клітинній мембрані доменів різного ліпідного складу [90] й різної фазової поведінки [53], здавалося доцільним дослідити МД одних й тих самих речовин у ліпідних мембранах різного складу. І хоча відтворення складу природних мембран, який налічує тисячі різновидів ліпідів [50], є недосяжним у модельних дослідженнях, деякі їх важливі ознаки (наприклад, латеральне фазове розділення) можуть бути промодельовані у штучних мембранах зі значно простішим ліпідним складом [90].

Варіації ліпідного складу мембран різних типів клітин неминуче впливають на їх фізичні властивості (щільність, проникність, поверхневий заряд тощо) – отже, й на їх взаємодію з компонентами ЛП. З іншого боку, наявні дані про незалежність зв'язування екзогенних речовин (зокрема, катіонів [493]) від ліпідного складу мембрани. Ліпідний склад мембран є важливим впливовим фактором для метаболізму та транспорту й відіграє суттєву роль у різноманітних захворюваннях [494], а також є одним з механізмів адаптації до дії ЛР [246, 247]. Встановлено також, що підбір ліпідного складу ліпосом є дуже суттєвим фактором оптимізації доставки ЛР [263, 495-497]. Усе це обумовлює поширення робіт у напрямках розробки та дослідження ліпідних мембран різного складу [498-500].

6.1. Характеристики багатокомпонентних мембран

В загальному випадку на зв'язування молекул компонентів ЛП із ліпідною мембраною впливає як структура мембранної поверхні, так і властивості внутрішньої гідрофобної частини [264], тому МД компонентів ЛП у нативних мембранах може суттєво відрізнятися від такої у модельних однокомпонентних мембранах. Задача ускладнюється великою різноманітністю ліпідів у складі нативних мембран, що обумовлює доцільність розробки низки модель-

них мембран, наближених за своїм ліпідним складом до тих чи інших типів біомембран. З цією метою у наших дослідженнях розроблена та використана низка модельних ліпідних мембран різного ліпідного складу (Табл. 6.1); структури ліпідів наведені у Табл. Б1 Додатку Б. Вміст води в наведених мембранах становив 60 мас. % від маси фосфоліпідів. ДСК-термограми використаних багатокомпонентних мембран представлені на Рис. 6.1 та Рис. 6.2, а їх термодинамічні параметри – у Табл. 6.2.

Таблиця 6.1

Склади модельних ліпідних мембран, розроблених та використаних для дослідження МД компонентів ЛП

№ з/п	Назва та співвідношення ліпідних компонентів (мас. %)	Опис
1.	ДПФХ або ДМФХ (100)	Широко використовуються у модельних дослідженнях та розглядаються як стандартні [254]
2.	ДПФХ-Цб (90 : 10)	Імітує ліпідний склад шкіряних покривів, а також деяких бактерій [56, 501]
3.	ДПФХ-ДПФГ (50 : 50)	Наближення до ліпідного складу грам-позитивних бактерій [52, 56]
4.	ДПФХ-КЛ (90 : 10)	Імітує ліпідний склад кардіоміоцитів та внутрішніх мембран мітохондрій [55]
5.	ДПФХ-Хол (90 : 10)	Наближення до ліпідного складу мембран ссавців [56]
6.	ДПФХ-ДПФЕ-Хол (45 : 45 : 10)	Імітує ліпідний склад ентероцитів людини [109, 502]

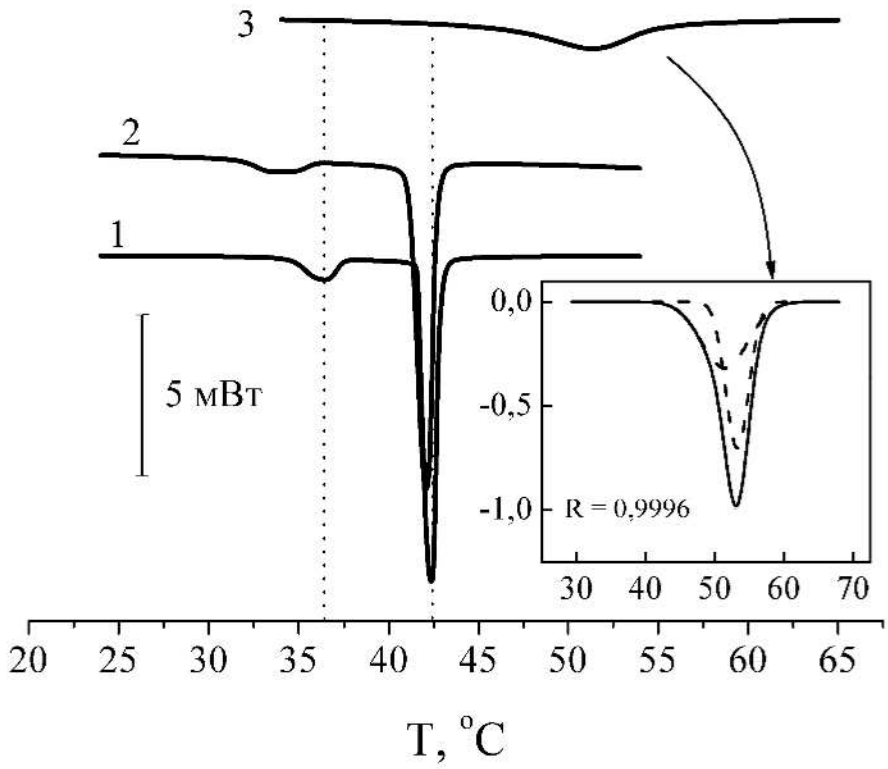


Рис. 6.1. ДСК-термограми модельних ліпідних мембран: 1 – ДПФХ, 2 – ДПФХ-Цб, 3 – ДПФХ-ДПФЕ-Хол. На вставці: розкладення пику фазового переходу мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол на 2 компоненти (широкий та вузький піки).

Цереброзіди (Цб) та фосфоліпіди широко використовуються як у лікарських препаратах, так і в косметології, тому їх композиції інтенсивно вивчають за допомогою сучасних біофізичних методів [498]. Фазові стани, індуковані ЛР в мембранах з Цб, вважають важливою складовою їх дії на шкірні покриви [499, 500]. Як можна бачити з Табл. 6.1, при додаванні Цб спостерігається зниження T_m та, особливо, T_p, що, певно, відбиває збільшення ступеню гідратації мембранної поверхні завдяки підвищеній гідратації сахаровмісних ліпідів [111]. Таке припущення добре узгоджується зі зниженням енергії міжмолекулярної взаємодії між різними типами ліпідів у сумішах ДПФХ-Цб та підвищенням середньої площі перетину молекули [503, 504], а також зі збільшенням вільного об'єму бішару ДПФХ у присутності Цб [120]. Незнач-

не уширення ДСК-піку є характерним для ліпідних сумішей [313] та відбиває зменшення розміру кооперативного домену [136, 141]. У вказаних літературних джерелах також встановлена добра змішуваність Цб із ДПФХ з утворенням однофазної ліпідної системи в усьому концентраційному діапазоні – тому мембрану ДПФХ-Цб можна розглядати як однофазну.

Мембрана ДПФХ-ДПФЕ-Хол, згідно [109, 313, 505], має трифазну структуру, характерну для таких сумішей: L_α, $L_{\beta'}$ (або L_β) та L_o (див. пп. 1.1.2, 1.1.7), причому гетерогенність спостерігається в усіх термодинамічних фазах [188]. Як показано у [506], при еквімолярному співвідношенні ДПФЕ та ДПФХ кооперативність фазового переходу знижується на порядок, а T_m практично не відхиляється від адитивності. У випадку еквівалентних вуглеводневих радикалів такі суміші щільніші за вихідні мембрани, що відбивається у підвищенні поверхневого тиску та зменшенні площі перетину ліпідних молекул [507]. Таким чином, ДПФЕ має ущільнюючу дію на мембрану ДПФХ, що приводить до підвищення T_m. Слід додати, що ФЕ належать до ліпідів, що стимулюють утворення доменів в мембрані [508]; зокрема у сумішах ДПФХ-ДПФЕ утворюються домени з характерним розміром десятки мікрометрів [268, 269].

ДСК-термограма мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол містить два калориметричних піки, практично рівні за площею (див. Табл. 6.2). При застосованому співвідношенні компонентів у цій мембрані співіснують ДПФХ-збагачена L_α-фаза (вузький пік, 53,2 °C) та Хол-збагачена L_o-фаза (широкий пік, 51,4 °C) [109]. На користь цього свідчить і дуже високий коефіцієнт детермінації ($R > 0{,}999$) розкладення вихідного піку цієї системи (див. вставку на Рис. 6.1). Таким чином, є підстави аналізувати характеристики кожного піку окремо.

Мембрани складу ДПФХ-ДПФГ використовуються як модельні композиції у біомедичних дослідженнях [509-511]. Для негативно зарядженої мембрани ДПФХ-ДПФГ температури обох фазових переходів були дещо вищими за мембрану ДПФХ (див. Рис. 6.2, крива 2), що добре збігається з літературними даними [134, 136].

Таблиця 6.2

Термодинамічні параметри модельних мембран різного ліпідного складу, отримані методом ДСК у режимі нагрівання

№ з/п	Мембрана	Температура переходу, ° С	Ентальпія, кДж/моль	Напівширина, °С	Гістерезис, °С	Асиметрія, °С
1.	ДПФХ	42,0 / 36,3	34,0 / 4,5	0,8 / 1,8	1,3 / 5,9	-0,1 / 0,3
2.	ДПФХ-ДПФГ	42,2 / 37,2	84,0 / 12,6	0,8 / 1,6	0,9 / 8,7	-0,1 / 0,2
3.	ДПФХ-КЛ	40,0 / 38,1	17,3 / 24,5	1,8 / 5,4	0,8 / 2,7	– / –
4.	ДПФХ-Цб	41,7 / 33,4	36,5 / 3,6	0,9 / 3,0	1,4 / 5,3	0 / -0,3
5.	ДПФХ-Хол	41,4 / 40,1	18,9 / 5,0	5,0 / 0,4	– / 0,4	– / –
6.	ДПФХ-ДПФЕ-Хол	51,4 / 53,2	25,0 / 33,6	11,8 / 3,3	0,7 / 0,6	– / –

Примітки: для мембран ДПФХ, ДПФХ-Г та ДПФХ-Цб наведені значення у форматі «основний перехід/передперехід»; для мембран ДПФХ-КЛ та ДПФХ-ДПФЕ-Хол значення наведені у форматі «вузький пік / широкий пік»; значення асиметрії для піків, отриманих внаслідок процедури розщеплення, не наведено, оскільки є неінформативним.

Негативно заряджені мембрани, що містять КЛ, вважаються адекватними моделями для внутрішніх мітохондріальних мембран. Треба зазначити, що бичачий КЛ, використаний в даній роботі, на відміну від більшості інших застосованих ліпідів, не є індивідуальною речовиною, а становить суміш ліпідів з композицією жирнокислотних залишків, яка залежить від виду тварини, з якої була отримана [512]. Для мембрани ДПФХ-КЛ на ДСК-термограмах детектується широкий пік (Рис. 6.2), доцільність розкладання якого на дві складові підтверджується літературними даними та високим коефіцієнтом детермінації (R ≈ 0,99). На підставі аналізу літературних даних [127, 512, 513], вузький високотемпературний пік (T_m = 40,2 °С) відповідає

КЛ-збідненій фазі, тоді як широкий низькотемпературний пік (T_m^* = 38,1 °C) відопвідає КЛ-збагаченій фазі ліпідів (див. вставку на Рис. 6.2).

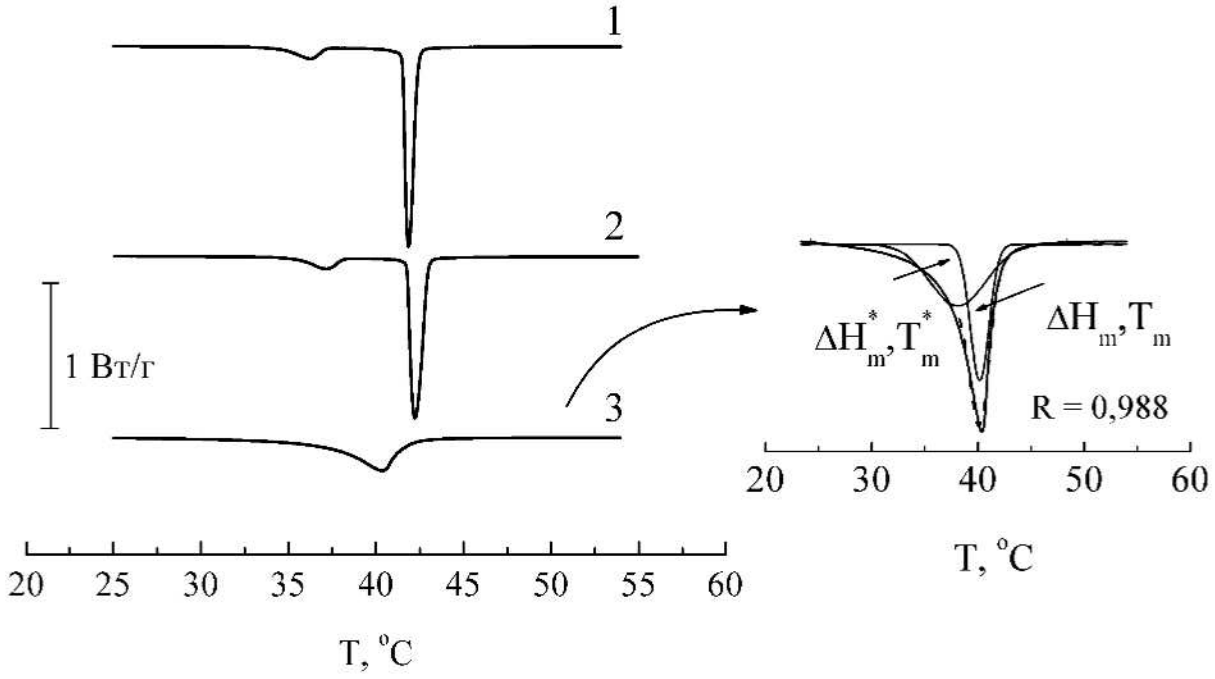


Рис. 6.2. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ (1), ДПФХ-ДПФГ (2) та ДПФХ-КЛ (3). На вставці: розкладення ДСК-піку мембрани ДПФХ-КЛ (пунктирна лінія – огинальна крива).

6.2. Лауринова кислота

Лауринова кислота відзначається найбільшою серед усіх насичених жирних кислот протимікробною активністю, зокрема проти пневмококів та стрептококів, що робить її перспективною для використання у медичних застосуваннях [397]. Варто уваги, що антимікробна активність жирних кислот визначається довжиною та ступенем насиченості їх вуглеводневих радикалів, що дозволяє припустити її безпосередній зв'язок з МД (наприклад, проти *Staphylococcus aureus* (золотистий стафілокок) активні саме насичені жирні кислоти з довжиною 8 – 16 метиленових ланок). Наявні дані щодо півищення проникності шкіри для ЛР у присутності лауринової кислоти [291]. Відомо, що лауринова кислота локалізується в об'ємі мембрани й утворює водневий

зв'язок з карбонільною групою ліпідів у зоні гідрофільно-гідрофобного інтерфейсу мембрани [124] – тобто не взаємодіє з мембранною поверхнею.

У мембранах ДПФХ та ДПФХ-Цб дія лауринової кислоти виявилася типовою для усіх довголанцюгових жирних кислот у мембранах фосфатидилхолінів [285, 514]: підвищення температур фазових переходів (Рис. 6.3).

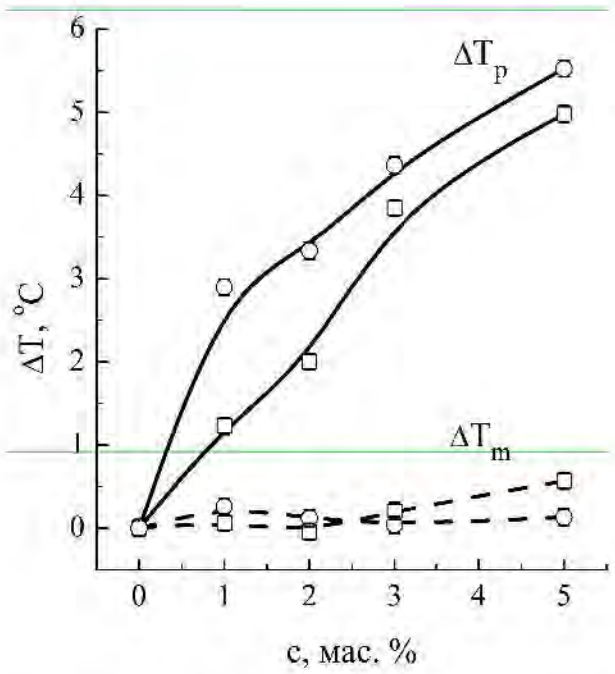


Рис. 6.3. Залежності зсувів температур основного (ΔT_m) та передпереходу (ΔT_p) в мембранах ДПФХ (□) и ДПФХ-Цб (○) від вмісту лауринової кислоти, отримані у режимі нагрівання.

Разом із суттєвим підвищенням T_p, напівширина передпереходу в обох типах мембран зменшується (Рис. 6.4), що свідчить про збільшення однорідності та щільності пакування ліпідів. Варто уваги, що значення ΔT_p у присутності лауринової кислоти у мембрані ДПФХ-Цб більші, ніж у мембрані ДПФХ в усьому дослідженому концентраційному діапазоні, що, певно, свідчить про значніші зміни гідратації мембрани ДПФХ-Цб. При цьому значення ΔT_m для цієї мембрани дещо нижчі.

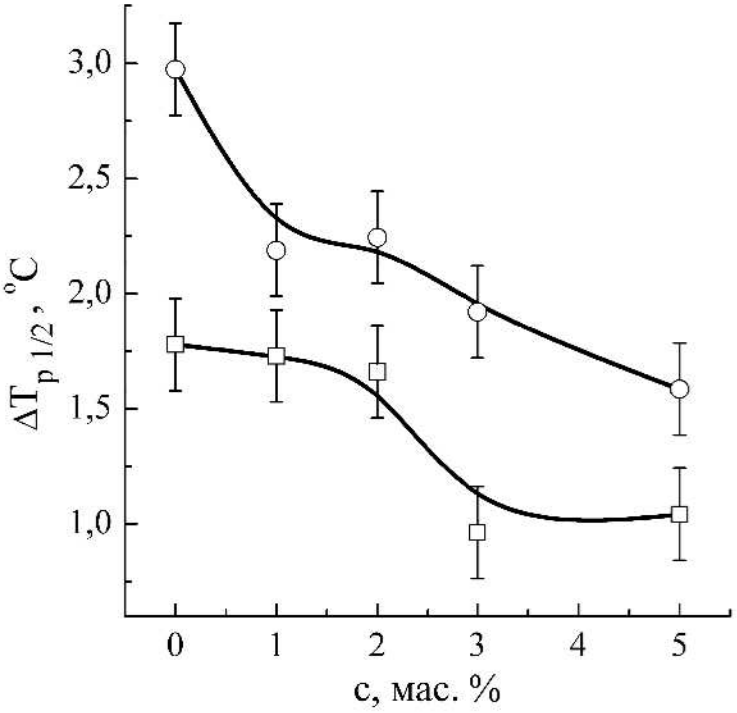


Рис. 6.4. Залежності напівширини передпереходу ($\Delta T_{p\ 1/2}$) в мембранах ДПФХ (□) и ДПФХ-Цб (○) від вмісту лауринової кислоти, отримані у режимі нагрівання.

Рис. 6.5 демонструє зміни асиметрії піку передпереходу ДПФХ, визначеної зігдно (2.10). Цікаво, що у присутності Цб форма піку передпереходу суттєво порушується за рахунок збільшення високотемпературної частини піку (що, певно, пов'язане зі зміною кінетики утворення $P_{\beta'}$-фази [515]), тоді як при додаванні лауринової кислоти – відновлюється (Рис. 6.5). Таким чином, Цб та лауринова кислота у якості компонентів шкірного покриву [501], взаємно компенсують МД один одного. Про подібні взаємодії повідомляється у [516], де вказується на розташування Цб та жирних кислот у у протилежних моношарах мембран шкірних покривів, причому з можливістю часткової інтергдігітації вуглеводневих радикалів жирних кислот з одного напівшару до іншого.

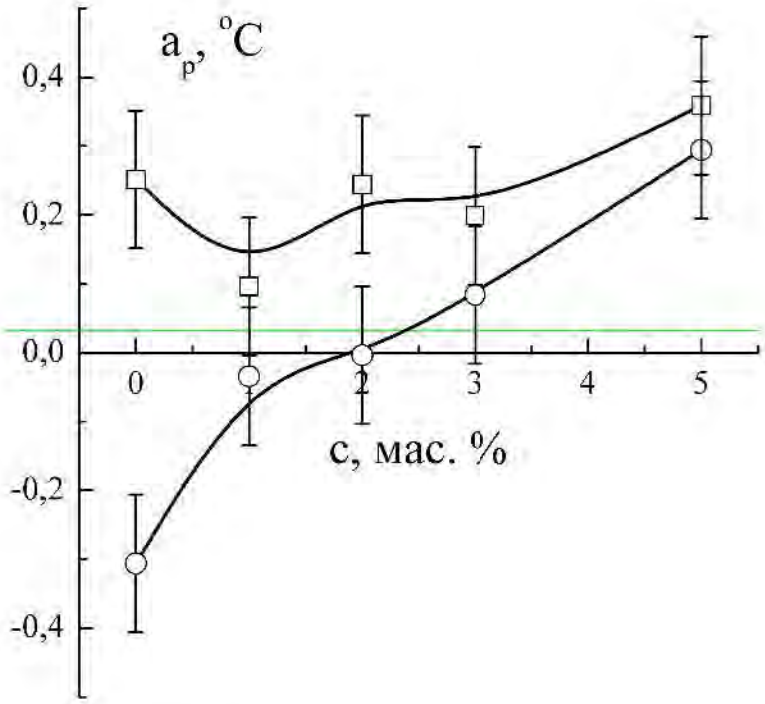


Рис. 6.5. Залежності асиметрії передпереходу ($\Delta T_{p\,1/2}$) в мембранах ДПФХ (□) и ДПФХ-Цб (○) від вмісту лауринової кислоти, отримані у режимі нагрівання.

Лауринова кислота у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол по-різному змінює вузький та широкий піки, які відповідають Хол-збагаченій та Хол-збідненій ліпідним фазам (див. п. 6.1). Для вузького піку спостерігається немонотонна залежність $T_m(c)$ з мінімумом при 2 %, тоді як для широкого піку ця залежність за вказаних концентрацій виходить на насичення (Рис. 6.6, а). З підвищенням концентрації лауринової кислоти напівширина вузького піку зростає, а широкого – зменшується (Рис. 6.6, б). Отримані дані свідчать, що лауринова кислота вбудовується в обидві ліпідні фази, але має на них якісно різний вплив: підвищення однорідності Хол-збагаченої фази та зниження однорідності Хол-збідненої фази. Вказані процеси можна пояснити латеральним перерзподілом ліпідів, – наприклад, перерозподілом Хол з Хол-збагаченої до Хол-збідненої фази. Втім, враховуючи, що ДПФХ має спорідненість до Хол та розташовується поруч з ним у мембрані, на відміну від ДПФЕ (див. п. 1.1.4), вказаний варіант перерозподілу не є виключиним.

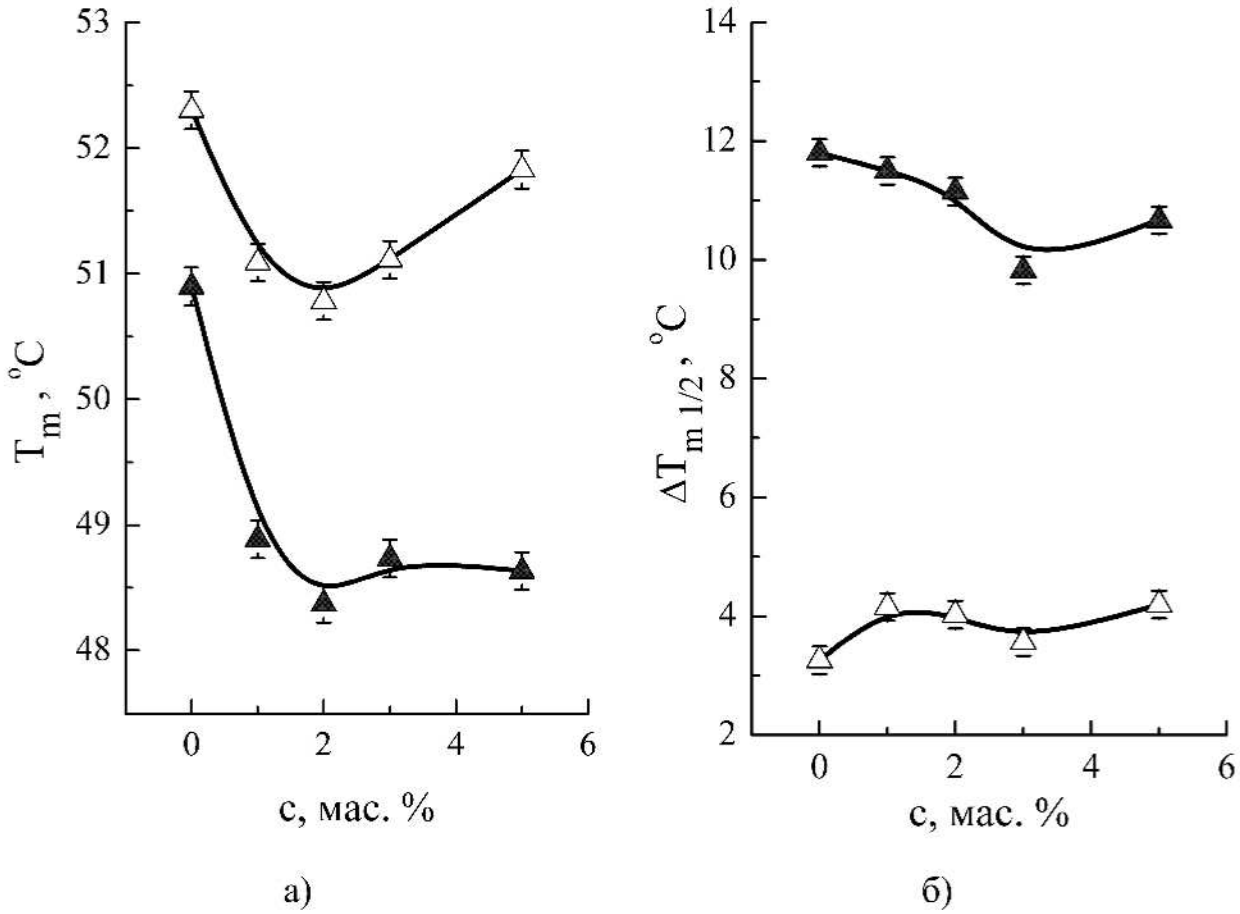


Рис. 6.6. Вплив лауринової кислоти на температуру (а) та напівширину (б) піків фазових переходів у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол залежно від вмісту лауринової кислоти (▲ – широкий пік, Δ – вузький пік). Стовпчиками показані значення загальної ентальпії ДСК-піку ΔH_m^{total}.

Ентальпія широкого піку у цих системах зростає за рахунок вузького, тоді як сумарна ентальпія обох піків у межах експериментальної похибки додержується тенденції ходу вузького піку (Рис. 6.7). Це, на нашу думку, відбиває перерозподіл ліпідів між вказаними фазами у присутності лауринової кислоти, що узгоджується також з висновками Рис. 6.6. Найбільш виражені зміни термодинамічних параметрів для вузького піку дозволяють припустити, що лауринова кислота більш вірогідно вбудовується у високотемпературну фазу ліпідів, збагачену ДПФХ. Це добре узгоджується із [517], де повідомля-

ється про більшу спорідненість жирних кислот до фосфатидилхолінів у порівнянні з фосфатидилетаноламінами.

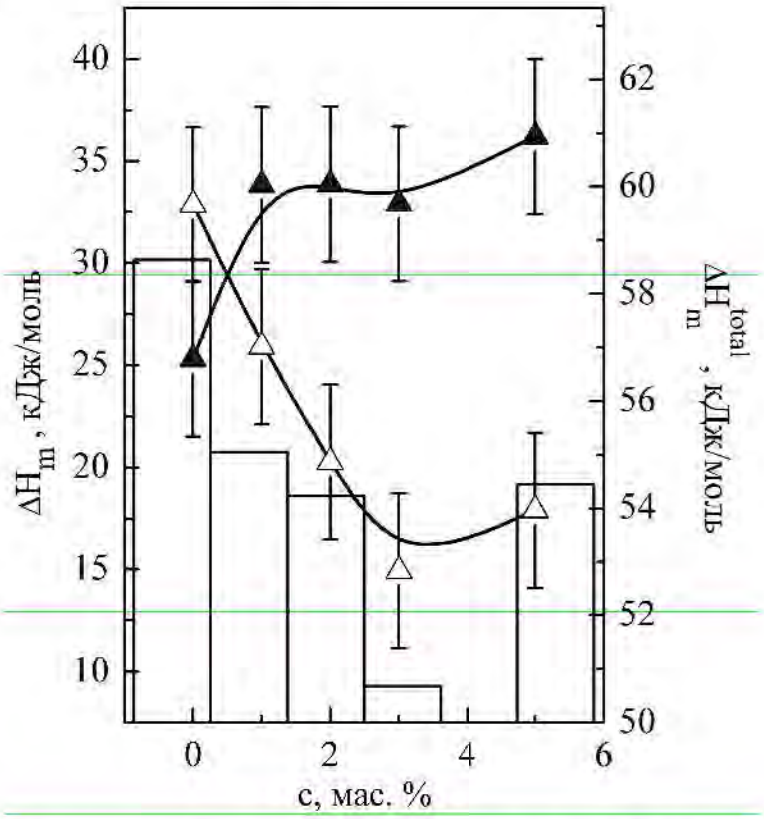


Рис. 6.7. Вплив лауринової кислоти на ентальпію піків фазових переходів у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол залежно від вмісту лауринової кислоти (▲ – широкий пік, Δ – вузький пік). Стовпчиками показані значення загальної ентальпії ДСК-піку ΔH_m^{total}.

6.3. Каолін

Каолін – тонкодисперсна глиниста порода, що складається в основному з каолініту $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ (Al_2O_3 39,5 % ; SiO_2 46,5 % ; H_2O 14,0 % за масою [518]). Каолін використовується в ЛП як ЛР (сорбент) та ДР [418]. Внаслідок адсорбції на каоліні ЛР нейролептику хлорпромазину проникність мембрани для нього зменшується [151]. Відомо, що у ЛП із вмістом каоліну може відбуватися як фізична, так і хімічна адсорбція ЛР на ньому [428]. Частинки каоліну добре адсорбують на своїй поверхні ДПФХ, в результаті чого біологіч-

на дія каоліну суттєво змінюється [519-521]. Каолін має розвинуту гідратну оболонку (щонайменш 3 шари сильно зв'язаної води [522]).

Встановлено, що МД каоліну якісно розрізняється для мембран ДПФХ та ДПФХ-Цб: у мембрані ДПФХ спостерігається зниження T_m та T_p, тоді як у мембрані ДПФХ-Цб – підвищення цих параметрів (Рис. 6.8).

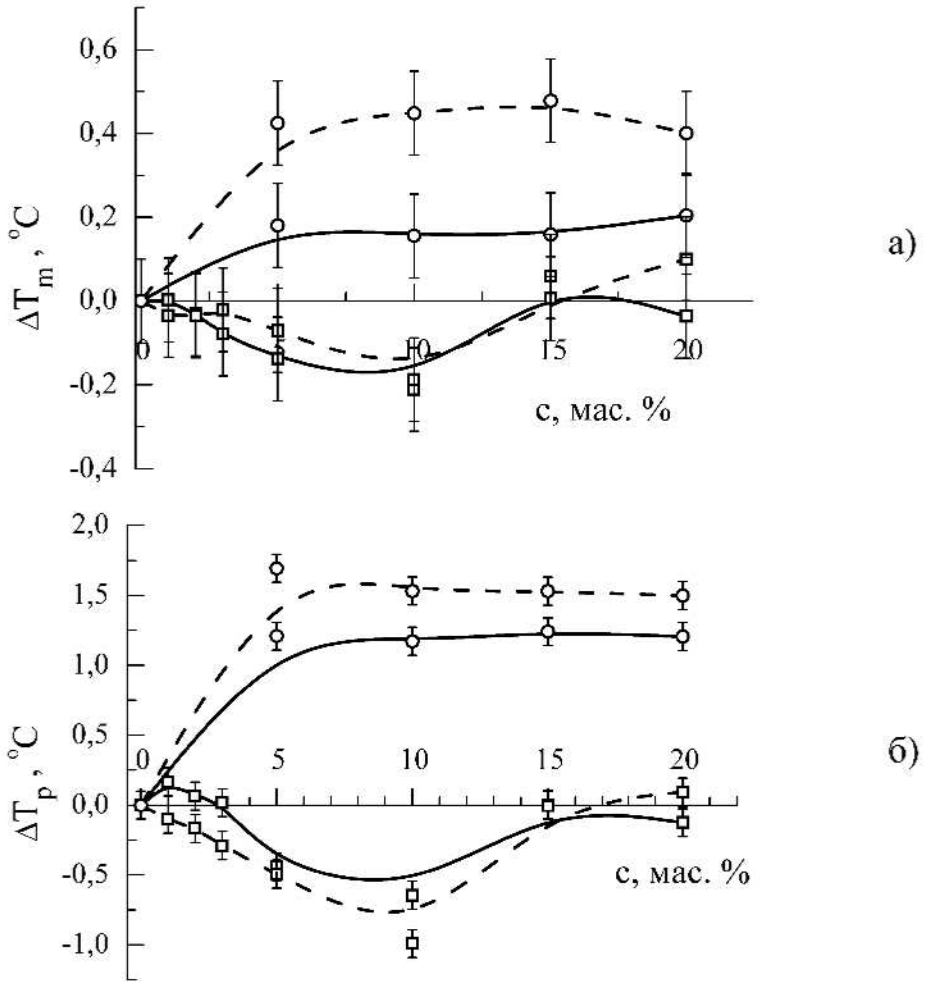


Рис. 6.8. Зсуви температур основного (а) та передпереходу (б) залежно від вмісту каоліну в мембранах ДПФХ (□) та ДПФХ-Цб (○): суцільна лінія – нагрівання, пунктирна лінія – охолодження.

При цьому напівширина піків переходів у мембрані ДПФХ не змінюється, а у мембрані ДПФХ-Цб має тенденцію зсуву до значень для ДПФХ, тоді як гістерезис та асиметрія залишаються незмінними (дані не наведені). На основі закономірностей, встановлених для водорозчинних сполук (див. п. 3.1.2), спостережувану якісну різницю МД каоліну у мембранах ДПФХ та

ДПФХ-Цб можна пояснити якісно різними змінами гідратації мембран внаслідок адсорбції каоліну: підвищенням для мембрани ДПФХ та зниженням – для мембрани ДПФХ-Цб. Таким чином, стає зрозумілою відносність термінів «хаотропність» та «космотропність». Одна й та й сама речовина може бути космотропною по відношенню до однієї гідратної структури і хаотропною – по відношенню до іншої. Це підтверджується даними [227], які свідчать, що F^-, космотропний по відношенню до води та мембрани ДПФХ, є хаотропом по відношенню до мембрани ДПФЕ. Цей ефект можна теж вважати проявом принципу параметричної відповідності (див. п. 3.2.1). В мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол каолін викликає зміни в обох ліпідних фазах (Рис. 6.9).

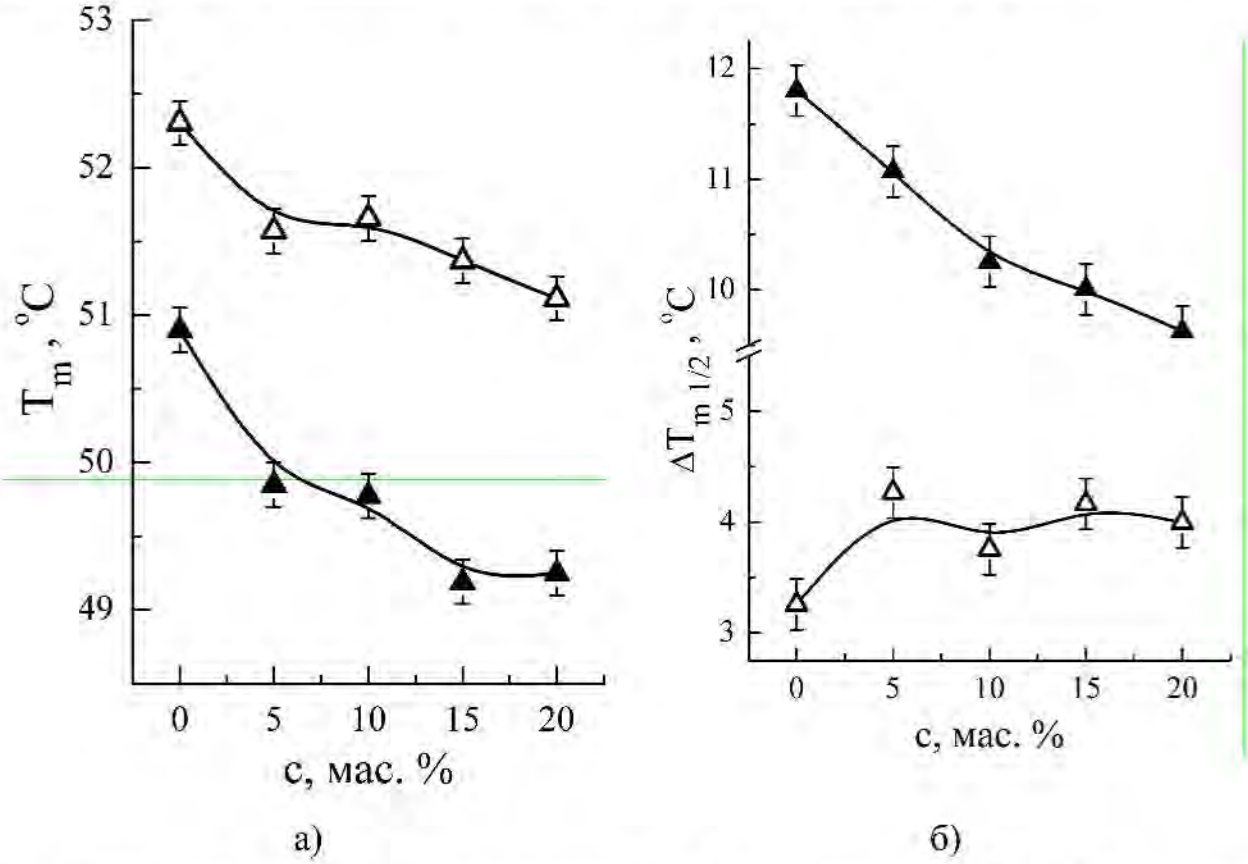


Рис. 6.9. Вплив каоліну на температуру (а) та напівширину (б) піків фазових переходів у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол залежно від вмісту каоліну (▲ – широкий пік, Δ – вузький пік).

Як можна бачити, максимуми температури вузького та широкого піків у присутності каоліну знижувалися набагато сильніше (–1,2 °C та –1,6 °C, від-

повідно, при 10 мас. %), ніж для мембрани ДПФХ (–0,2 °С при 10 мас. %). Ці залежності в цілому узгоджуються з наведеною трактовкою зміни гідратації мембрани у процесі адсорбції каоліну, втім, треба враховувати неоднорідність гідратації мембранних композицій [111]. При цьому напівширина вузького піку зростала, а широкого – суттєво зменшувалася (Рис. 6.9, б). З підвищенням концентрації каоліну спостерігалося зростання ентальпії широкого піку та зменшення ентальпії вузького піку з такою ж тенденцією для загальної ентальпії ДСК-піку (Рис. 6.10) – так само, як і в присутності лауринової кислоти (див. Рис. 6.7, с. 207). Усе це говорить про неоднаковий вплив каоліну на ліпідні фази різного складу та перерозподілення ліпідів між фазами, як і у присутності лауринової кислоти. При цьому Хол, який переважно знаходився у низькотемпературній фазі (широкий пік), частково перерозподіляється у високотемпературну (вузький пік). Таким чином, перерозподіл ліпідів в мембрані можливий як у разі взаємодії компонентів ЛП з об'ємом мембрани, так і випадку адсорбції ЛР на мембранній поверхні.

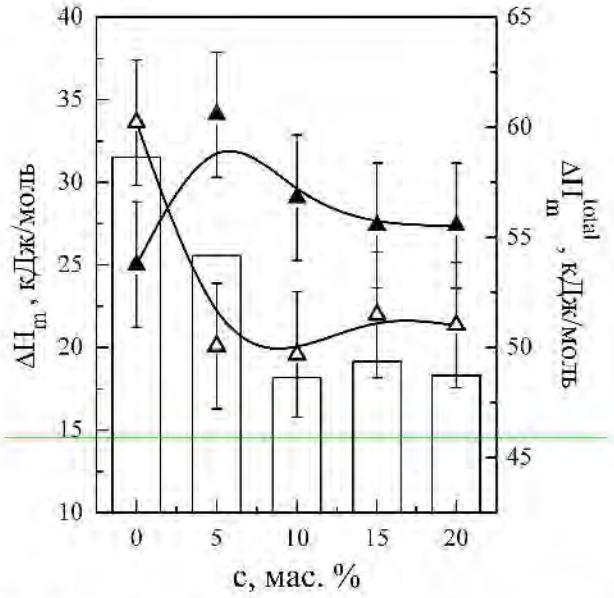
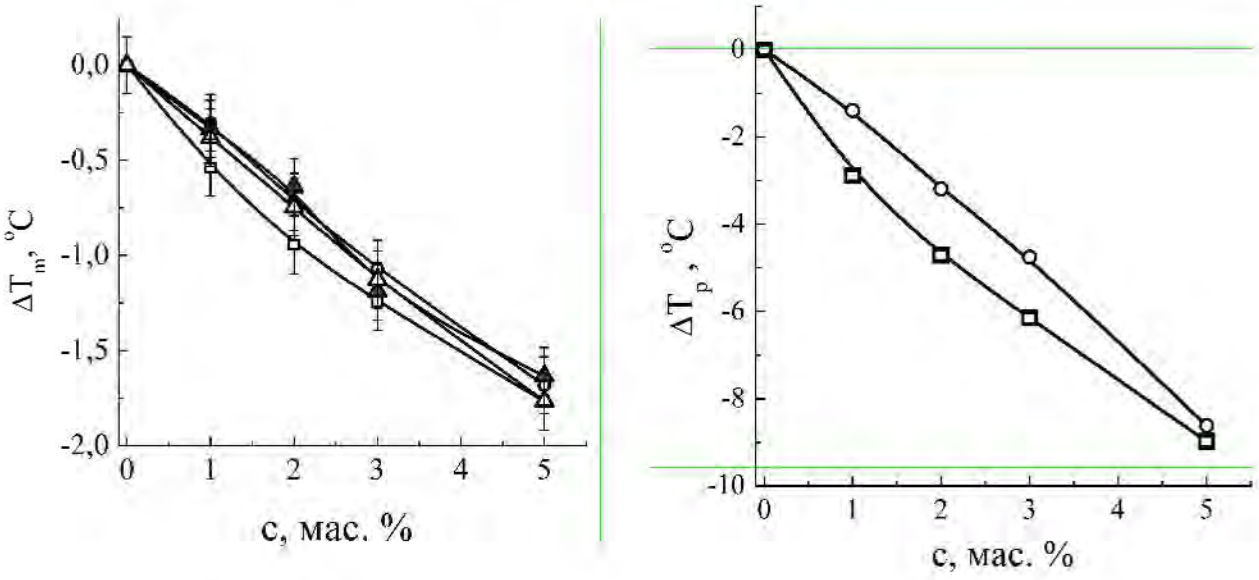


Рис. 6.10. Вплив каоліну на ентальпію піків фазових переходів у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол залежно від вмісту каоліну (▲ – широкий пік, Δ – вузький пік). Стовпчиками показані значення загальної ентальпії ДСК-піку ΔH_m^{total}.

6.4. Фенспірид

Фенспірид – протизапальна ЛР, яка добре всмоктується при пероральному застосуванні [418], що свідчить про її здатність ефективно долати мембранні бар'єри. Така властивість, очевидно, обумовлена балансом гідрофільних та гідрофобних груп даної ЛР [411, 234], які забезпечують його взаємодію як з поверхнею, так і з об'ємом мембрани.

Для фенспіриду в усіх досліджуваних мембранах отримані приблизно однакові лінійні концентраційні залежності ΔT_m та ΔT_p (Рис. 6.11), що може бути пов'язане з його спорідненостю до ДПФХ. Така МД фенспіриду добре корелює з його високою проникаючою здатністю та подібна до впливу низки циклічних сполук (зокрема, біфенілу) на термотропні рідкі кристали, яке обумовлене зниженням ступеню рідкокристалічного впорядкування [523]. При цьому система зберігає однорідність, про що свідчать невисокі значення гістерезису: в усіх типах мембран з фенспіридом він залишався у межах 1 °С.



а) б)

Рис. 6.11. Зсуви температур основного (а) та передпереходу (б) залежно від вмісту фенспіриду при нагріванні в мембранах: ДПФХ (□); ДПФХ-Цб (○); ДПФХ-ДПФЕ-Хол (▲ – широкий пік, Δ – вузький пік).

Виражена деструктуруюча дія фенспіриду може бути пов'язана з особливостями його хімічної структури (див. Табл. Б2, Додаток Б). Як можна бачити, фенспірид – напівжорстка молекула, за розміром дещо менша за Хол. Структура полярної частини фенспіриду дає підстави припустити, що він, як і Хол [516], розташовується під поверхнею мембрани, але не досягає її центра. При цьому розташований нижче жорсткий бензольний фрагмент молекули на гнучкому алкільному ланцюгу має високу свободу обертальних рухів, що, певно, й викликає руйнування рідкокристалічної структури мембрани.

6.5. Кон'югати метотрексату та бетулонової кислоти

Кон'югати протипухлинної ЛР метотрексату (МТ) та імуномодулятору бетулонової кислоти (БК) було синтезовано з метою зниження токсичності МТ та підвищення ефективності такої ЛР за рахунок синергічної дії двох складових. Для дослідження були обрані кон'югати SA-1, SA-9 та SA-188, які відрізнялися видом та розташуванням замісників карбонільних груп (див. Табл. Б2, Додаток Б): SA-1 та SA-9 є ізомерами, тоді як SA-188 додатково містить β-фенілетиламіновий фрагмент, внесенний для підвищення його ліпофільності. Додатково було досліджено МД складових кон'югатів – власно МТ та БК. Дослідження проводилося у мембранах ДПФХ та ДПФХ-ДПФЕ-Хол. У якості субфази для приготування мембран був використаний буферний розчин Хенкса без фенолового червоного (pH 7,0).

Як можна бачити з Рис. 6.12, МТ, на відміну від інших сполук, практично не змінює термодинамічних властивостей мембрани ДПФХ, що може вказувати на відсутність його зв'язування з мембраною, обумовлену, певно, низькою розчинністю МТ у воді. БК, навпаки, має виражену МД: вона розмиває пік основного фазового переходу та усуває пік передпереходу. Тож, БК як структурна частина кон'югату, сприяє його взаємодії з мембраною та виникненню розупорядкування ліпідів.

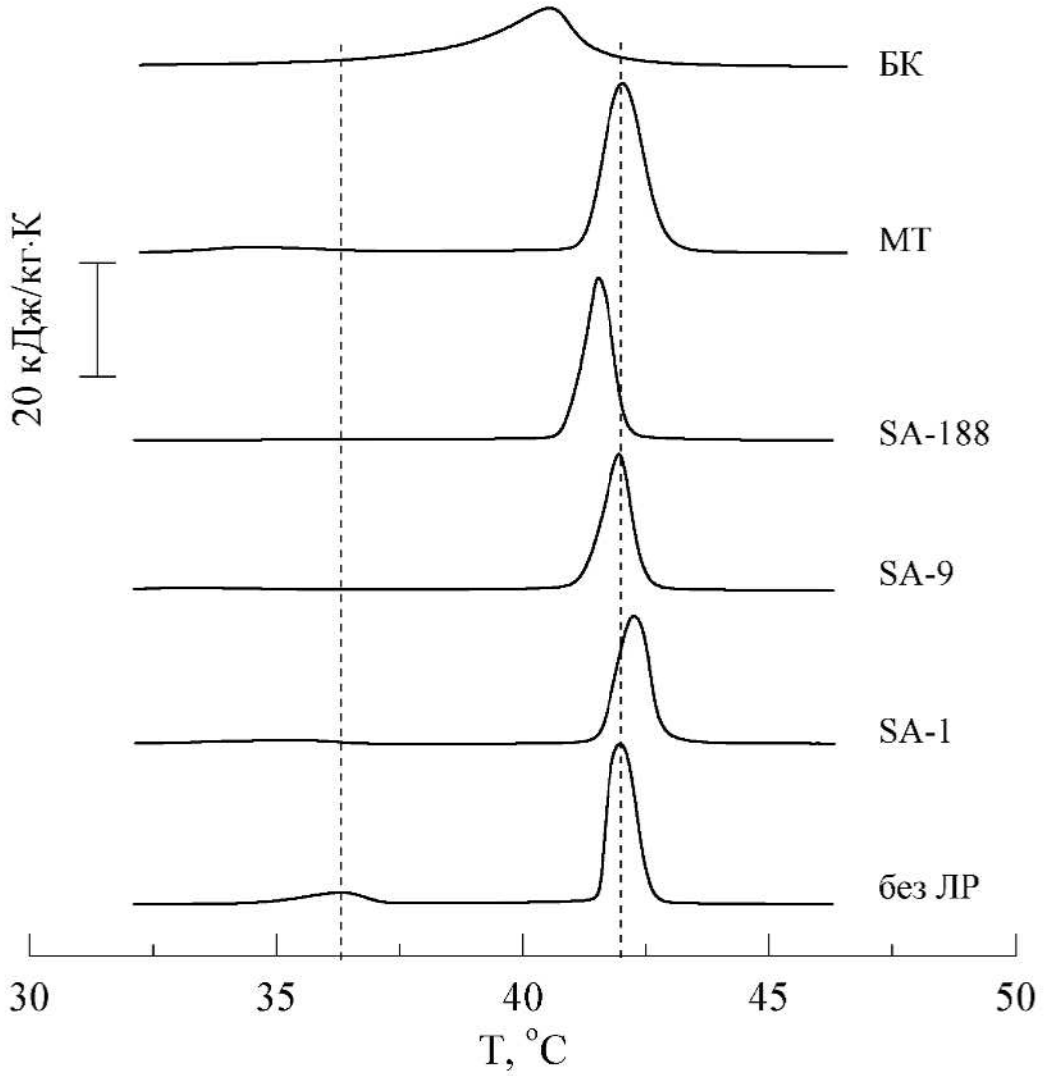


Рис. 6.12. ДСК-термограми мембран ДПФХ із вмістом метотрексату (МТ), бетулонової кислоти (БК) та кон'югатів. Вміст кон'югатів становив 2 мас. %, вміст МТ та БК – 5 мас. %. від маси фосфатидилхолінів. Пунктирними лініями відмічено значення температур фазових переходів мембрани без ЛР.

У низці досліджуваних кон'югатів значення T_m достовірно зменшувалося у присутності SA-188 (Рис. 6.13). Загалом, для цього кон'югату усі параметри ДСК набували найбільших змін (Табл. 6.3). Аналізуючи отримані дані, можна сказати, що всі кон'югати, на відміну від МТ, зв'язуються з мембраною, зменшуючи щільність пакування й кооперативність ліпідів та збільшуючи латеральну неоднорідність мембрани ДПФХ.

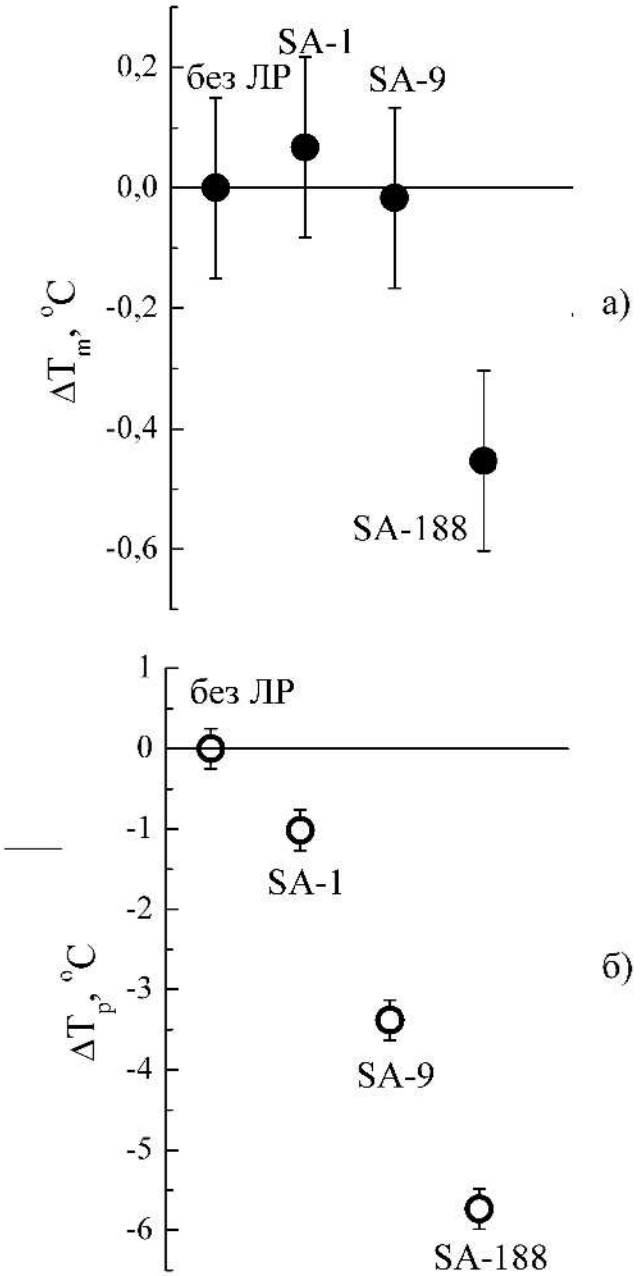


Рис. 6.13. Зсуви температур основного переходу (а) та передпереходу (б) мембрани ДПФХ у присутності кон'югатів.

У мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол зміни профілей ДСК у присутності кон'югатів не були настільки виражені, як у мембрані ДПФХ. У цій мембрані при уведенні кон'югатів не спостерігалося суттєвих зсувів ДСК-піків, втім наочні були зміни асиметрії та напівширини піків. Зважаючи на те, що мем-

брана вказаного складу є двофазною (див. п. 6.1), доцільно було застосувати процедуру розкладання ДСК-піків на дві складові (див. п. 2.2.8).

Розкладення вихідного піку на компоненти (див. вставку на Рис. 6.1, с. 200) 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 (Рис. 6.14). На цій підставі був зроблений висновок щодо переважного зв'язування кон'югатів з Хол-збагаченою фазою. Це можна пояснити структурною подібністю бетулонового фрагменту до холестерину, що обумовлює існування стекінг-взаємодій стероїдних складових холестерину та кон'югатів.

Таблиця 6.3

Термодинамічні параметри мембран кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти

Параметр \ Речовина	Без ЛР	SA-1	SA-9	SA-188
ΔT_m, °C	0	0,3	~ 0,0	-0,3
ΔT_p, °C	0	-0,8	-1,9	-5,8
a_m, °C	-0,03	-0,091	-0,07	-0,06
a_p, °C	0,38	0,66	0,17	0,22
h_m, °C	0,9	1,6	1,3	1,2
h_p, °C	5,6	6,4	6,2	–
ΔH_m, кДж/моль	34,6	34,3	37,6	39,4
ΔH_p, кДж/моль	5,5	3,3	3,1	0,6
CN	179	102	98	86

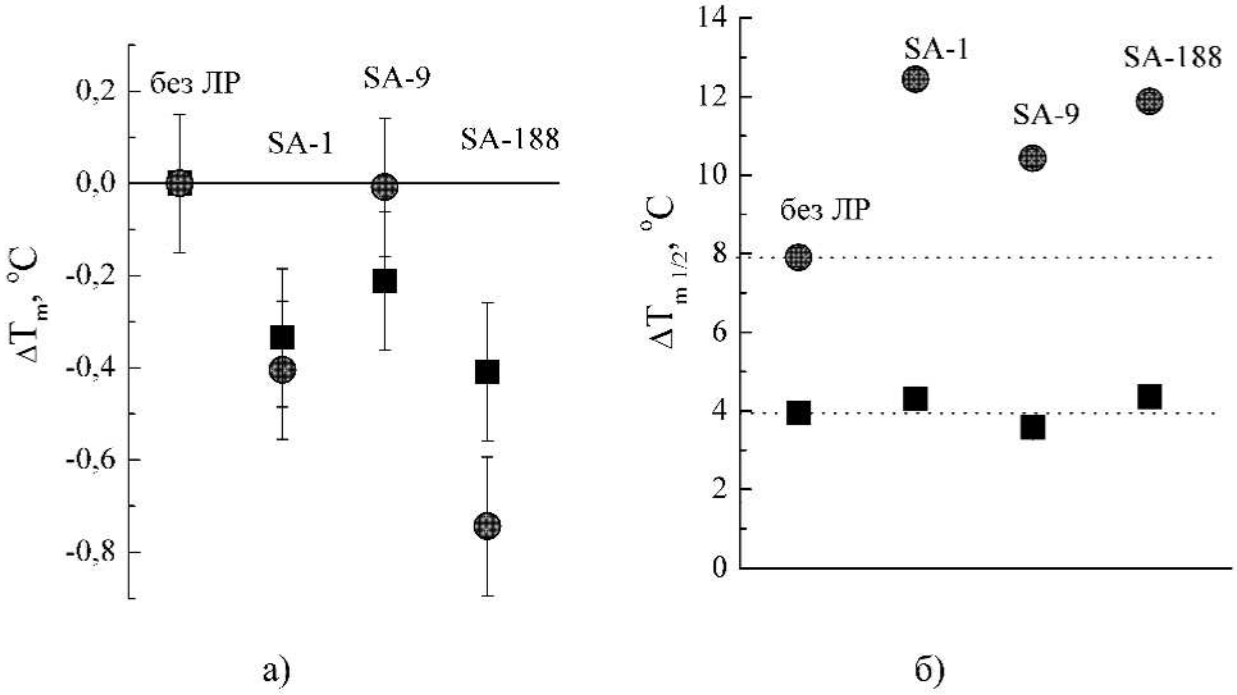


Рис. 6.14. Зсуви температур фазових переходів (а) та зміни напівширини (б) мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол у присутності кон'югатів: заштриховані стовпчики – широкий пік, незаштриховані – вузький. Пунктирні лінії – значення для мембрани без ЛР.

Очевидно, що спостережувана різниця МД кон'югатів зумовлена їх молекулярними параметрами. Розраховані молекулярні параметри досліджуваних кон'югатів (див. п. 2.2.15), наведені у Табл. 6.3. Отримані значення параметра *logP* для кон'югатів були проаналізовані у аспекті кореляцій *logP* та a_{wt}, отриманих вище для широкого кола компонентів ЛП різної хімічної структури (Рис. 4.2). Як можна бачити (Рис. 6.15), значення a_{wt} для БК виявляється дещо нижчим, ніж для структурно подібного до нього холекальциферолу, який має такий самий *logP* 7,9. Значення a_{wt} для кон'югату SA-188 (*logP* 6,3) менше за холекальциферол, при цьому для SA-1 (*logP* 5,3) и SA-9 (*logP* 5,4) $a_{wt} \sim 0$, що свідчить про наявність інших суттєвих факторів, визначальних для взаємодії кон'югатів з мембраною, окрім їх ліпофільності.

Таблиця 6.4

Молекулярні параметри кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти

Речовина / Параметр	SA-1	SA-9	SA-188
V_m, *нм*^{3}	1,261	1,276	1,400
S_m, *нм*^{2}	10,11	10,01	10,94
μ, *Д*	9,53	6,43	11,28
logS	-5,25	-5,31	-5,69
logP	5,33	5,36	6,31
k_a	0,43	0,39	0,25

Для встановлення цих факторів був проведений кореляційний аналіз молекулярних параметрів кон'югатів з параметрами їх МД у мембранах ДПФХ та ДПФХ-ДПФЕ-Хол (див п. 2.2.16). До аналізу було залучено низку молекулярних параметрів кон'югатів (див. п. 2.2.15), а також різноманітні параметри мембранотропної дії: зсуви оснвного та передпереходу для мембрани ДПФХ (ΔT_m та ΔT_p); значення мембранотропної активності, розраховане для мембрани ДПФХ на підставі (2.5); зсуви широкого та вузького піків мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол (ΔT_m^* та ΔT_m). Додатково до аналізу залучені дані щодо проникності до кон'югатів мембран *Caco-2*-клітин (P_{app})*.

* Дані отримано співробітниками НВП «Єнамін» (Київ) С.А. Зозулею, О.В. Журавель та В.В. Юрченком; в дисертаційній роботі не використовуються.

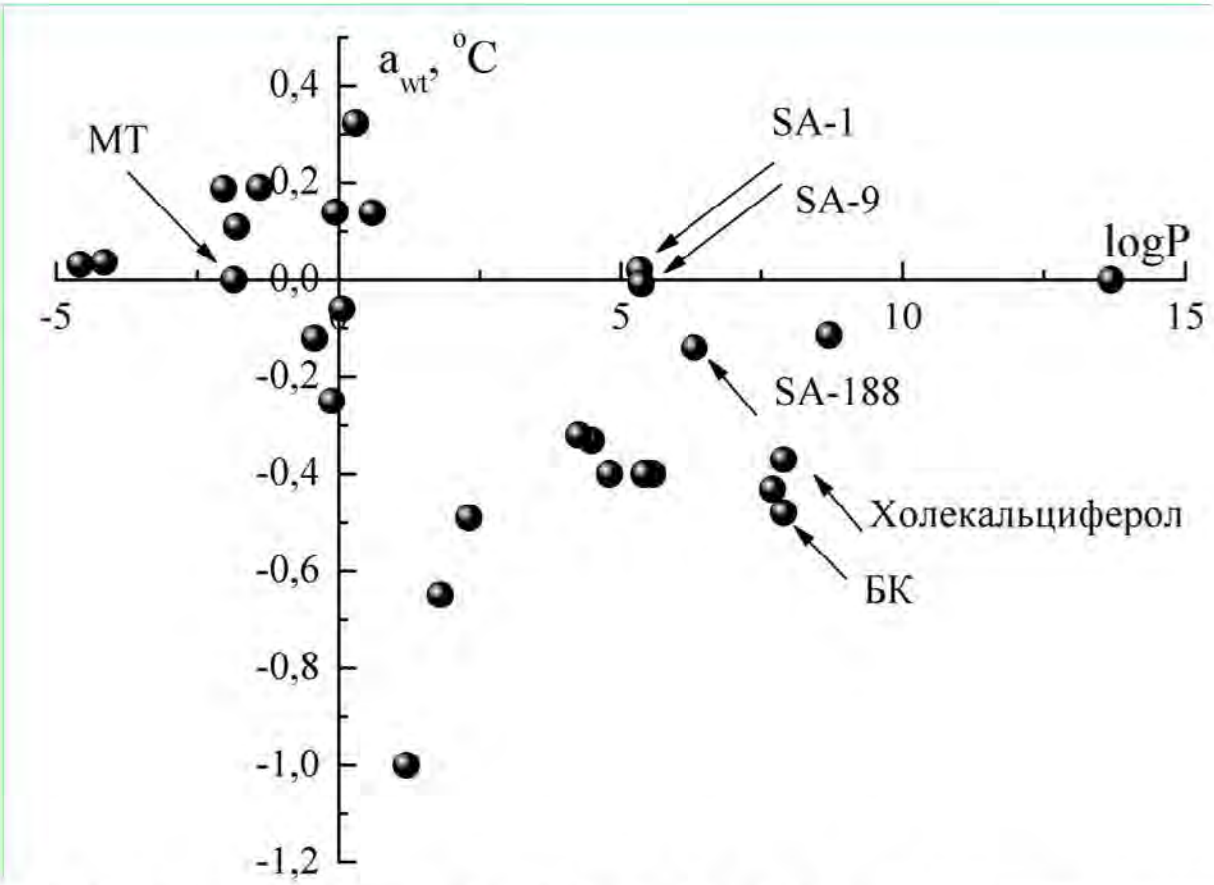


Рис. 6.15. Кореляції параметрів *logP* та a_{wt} (ф. (2.5)) для бетулонової кислоти (БК), метотрексату (МТ) та кон'югатів.

Серед отриманих даних перш за все слід відзначити зворотну кореляцію *logP* та P_{app} ($r = -0{,}78$), що може бути пов'язане з підвищенням розчинності кон'югатів у мембрані зі зростанням їх ліпофільності. Високий коефіцієнт кореляції був встановлений між коефіцієнтом молекулярної анізометрії k_a та такими параметрами МД, як P_{app} ($r = 0{,}87$) та ΔT_m ($r = 1{,}00$). Тобто, з підвищенням анізометрії молекули підвищується проникність клітин до них та зменшується значення ΔT_m (Рис. 6.16). Окрім цього, високі лінійні кореляції ($|r| \sim 1$) були отримані для коефіцієнтів a_{wt} та ΔT_m мембрани ДПФХ з коефіцієнтами *logS* (пряма кореляція) та *logP* (зворотня кореляція).

Втім, параметри ΔT_m та ΔT_m^* мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Хол мають нижчі покажчики кореляції з молекулярними параметрами кон'югатів, хоча зворот-

ній характер залежностей зберігається. Зокрема, з *logP* коефіцієнти лінійної кореляції становлять -0,83 та -0,87, а з k_a – відповдіно, 0,73 та 0,66.

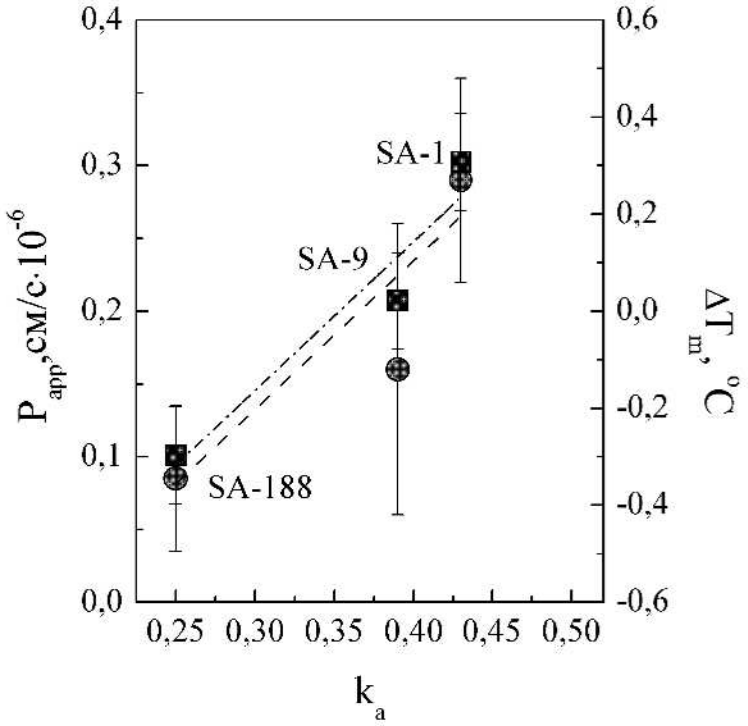


Рис. 6.16. Кореляції ΔT_m мембрани ДПФХ (■) та проникності Caco-2 клітин (●) з коефіцієнтом анізометрії k_a кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти. Точки – експериментальні дані; лінії – лінійні апроксимації.

6.6. Граміцидин S

Граміцидин S (GS), антимікробний пептид широкого спектру дії, характеризується безпосереднім зв'язуванням з ліпідним бішаром бактеріальних та еукаріотичних клітин [162, 226, 272, 299, 287, 524-531]. Конформаційна структура GS наведена на Рис. 6.20. Згідно канонічним уявленням, зв'язування GS з мембраною приводить до утворення пір у ліпідному бішарі, що різке підвищення проникності мембрани та, як наслідок, її лізіс. Втім, новітні дані вказують на те, що у мембранах бактеріальних клітин *in vivo* у присутності GS власно пори не утворюються, проте відбуваються зміни локалізації периферичних білків та утворення великих доменів L_α-фази [532].

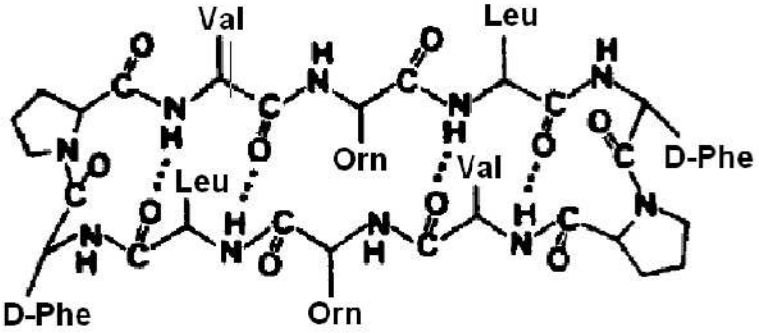


Рис. 6.17. Конформаційна структура GS [533].

Встановлено, що зв'язування GS із мембраною обумовлено ентропійним фактором [527], причому GS розташовується під полярною поверхнею ліпідної мембрани таким чином, що його полярні групи обернені у бік водного прошарку [272, 299, 531]. При зв'язуванні з GS підвищується площа перетину ліпідної молекули у мембрані, зменшується впорядкованість її вуглеводневих ланцюгів, відбувається зменшення товщини гідрофобної частини мембрани на ~ 1 Å, а d_L – на 5 Å [299]. Тож, можна зробити висновок про розупорядковувальну та дегідратуючу дію GS у ліпідній мембрані. Встановлено також, що за концентрацій GS близько 2 мол. % відбувається утворення додаткової фази ліпідів й поява додаткового піку ДСК, на 3° С нижчого за основний [272]. Цей пік пов'язують з вбудовуваням у мембрану олігомерів GS [528]. Саме за цих концентрацій спостерігається й бактерицидний ефект GS [529]. На зв'язування GS із мембранами ФХ впливає присутність інших речовин. Зокрема, у роботі [289] показане ослаблення антимікробної активності GS у присутності сурфактину внаслідок утворення неактивного комплексу між катіонним GS та аніонним сурфактином. Відомий вплив на активність GS іонів Ca^{2+} у концентрації близько 100 мМ та вище [226, 529].

Втім, молекулярний механізм дії GS розкритий далеко не повністю, й одним з важливих його аспектів є залежність ефекту GS від ліпідного складу мембран, особливо від гідрофільної частини ліпідів та присутності холестерину [162, 272, 526-528]. Зокрема, в [527] показано, що вміст холестерину 40 мол. % зменшує ентропійну складову вільної енергії зв'язування GS із

мембраною, тож, перешкоджає цьому процесу. У той же час, вміст холестерину близько 10 мол. %, навпаки, сприяє зв'язуванню GS із мембраною [528].

Відомо, що мембрани бактеріальних та еукаріотичних клітин суттєво розрізняються за ліпідним складом: принциповими відмінностями останніх є вміст ФХ та стеринів [56]. Тож, інформація щодо взаємодії GS із мембранами різного складу могла б стати до нагоди у вирішенні питання диференціації терапевтичної (антибактеріальної) та негативної побічної (гемолітичної) дії GS.

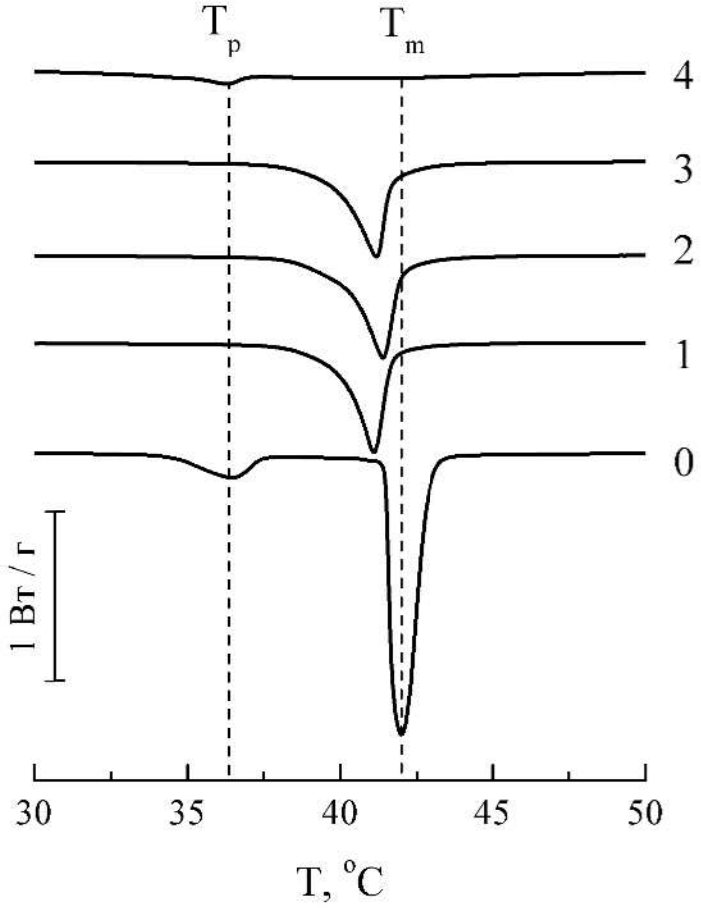


Рис. 6.18. Нормовані ДСК-термограми плавлення модельних ліпідних мембран, що містять 5 % GS: 1 – мембрана ДПФХ; 2 – мембрана ДПФХ-ДПФГ; 3 – мембрана ДПФХ-Цб; 3 – мембрана ДПФХ-Хол (0 – вихідна мембрана ДПФХ без ЛР). Вертикальні пунктирні лінії позначають T_m та T_p для мембрани ДПФХ.

У зв'язку з цим були отримані дані та проведено порівняння МД GS у 4-х типах модельних мембран різного складу: ДПФХ, ДПФХ-ДПФГ, ДПФХ-Цб та ДПФХ-Хол (див. п. 6.1). Нормовані ДСК-термограми, отримані для вказаних мембран із вмістом GS, наведені на Рис. 6.18. Як можна бачити, GS в усіх мембранах сприяв низькотемпературному зсуву піку плавлення та усуненню піку передпереходу. Найбільш виражені зсув та розмивання ДСК-піку спостерігалися для мембрани ДПФХ-Хол (крива 4). Як можна побачити за допомогою діаграми (Рис. 6.19), зсув температури плавлення ліпідної мембрани при індивідуальному внесенні GS (5 мол. %) становить –1,5 ± 0,15 ˚С; при індивідуальному внесенні Хол (10 мас. %) $\Delta T_m = -1{,}7 \pm 0{,}15$ ˚С. Спільне додавання GS та Хол у вказаних концентраціях спричиняє суттєво більший ефект: $\Delta T_m = -5{,}3 \pm 0{,}15$ ˚С. Як можна бачити, спільний мембранотропний ефект GS та Хол у мембрані ДПФХ достоврно перевищує їх сумарну індивідуальну дію. Цей ефект цілком узгоджується з даними ^{19}F ЯМР [528] щодо підвищення зв'язування GS з мембраною ДМФХ із вмістом 10 моль % Хол.

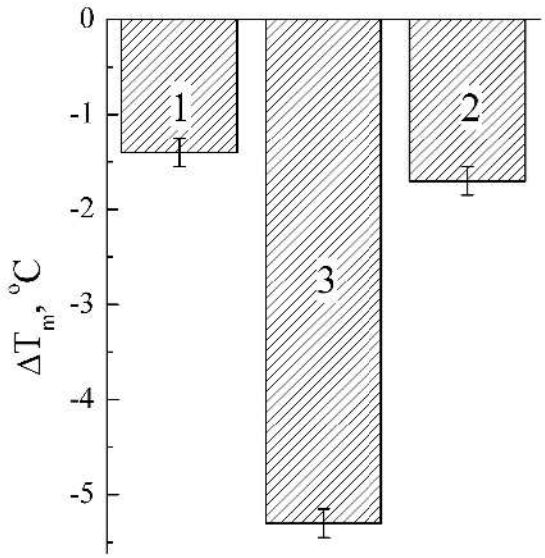


Рис. 6.19. Зсув температури плавлення мембрани ДПФХ при додаванні 5 мол. % GS (1); 10 мас. % холестерину (2); 10 мас. % холестерину та 5 мол. % GS (3).

В присутності GS у мембрані ДПФХ спостерігалося зростання асиметрії піку T_m (див. п. 2.2.6), що дало підстави припустити появу калориметричного піку нової фази. За допомогою процедури розкладання піків (див. п. 2.2.8) було показано, що додатковий пік T_m^* спостерігається при концентрації GS вище 2 моль % (Рис. 6.20, а). Базуючись на літературних даних [528], можна співвіднести додатковий пік із взаємодією з мембраною олігомерів GS.

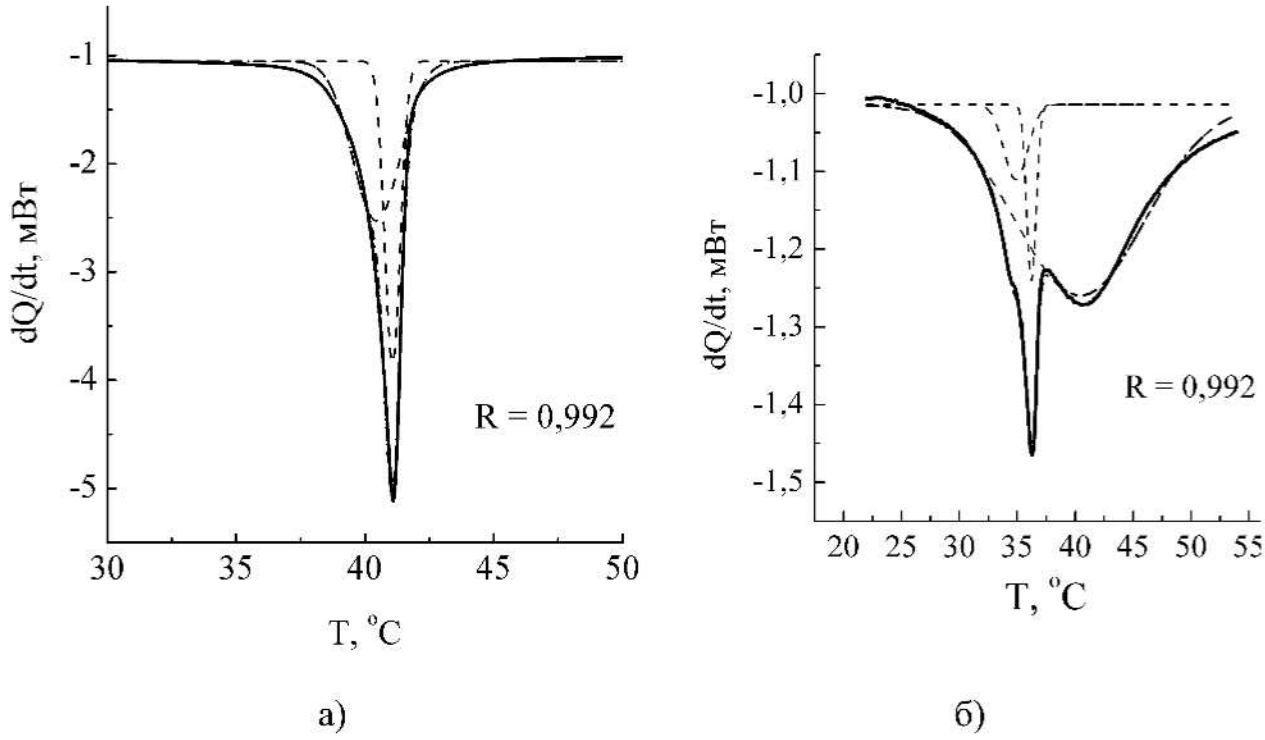


Рис. 6.20. Розщеплення піку ДСК на компоненти для мембрани ДПФХ із вмістом 5 моль % GS (а) та ДПФХ-Хол + 5 мол. % GS (б): суцільна лінія – оригінальна термограма; штрихова лінія – складові піки; штрих-пунктирна лінія – огинальна крива.

Суттєве підвищення напівширини піку T_m^* із концентрацією GS (Рис. 6.21) свідчить про зростання неоднорідності упаковки ліпідів в мембрані у присутності даної ЛР.

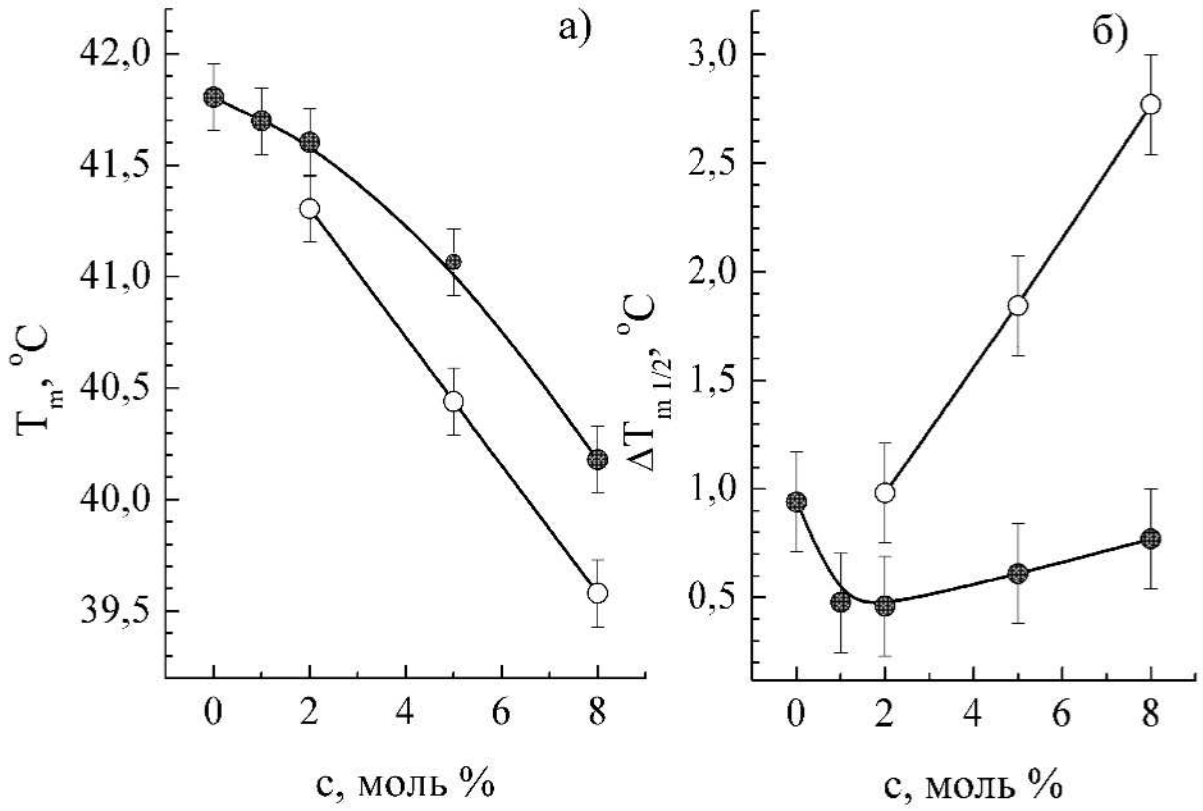


Рис. 6.21. Значення температури та напівширини основного фазового переходу мембрани ДПФХ із вмістом GS: забарвлені символи – вихідний пік, відкриті символи – додатковий пік.

Слід зазначити, що поява широкого низькотемпературного піку T_m^* у присутності GS спостерігалася в усіх типах досліджуваних мембран, але його термодинамічні властивості, як і основного піка, залежали від ліпідного складу мембрани (Табл. 6.5). Для мембран ДПФХ-Хол враховували фазове розділення ліпідів у присутності холестерину, із утворенням Хол-збагаченої та Хол-збідненої фаз [127-130] (відповідно, піки $T_m(+)$ та пік $T_m(-)$). Тому розщеплення (Рис. 6.20, б) і характеризація термограм (Табл. 6.5) для мембрани ДПФХ-Хол було проведено для трьох піків. Концентраційні залежності $\Delta T_m(c)$ було проаналізовано за допомогою аналога адсорбційного рівняння Фрейндліха (рівняння (3.2)), окремо по кожному піку.

Таблиця 6.5

Дія GS у багатокомпонентних модельних мембранах за даними ДСК

	1	2		3		4	5
Параметр / Мембрана	a_{mol}, °C	основний пік (T_m)		додатковий пік (T_m^*)			
		k	1/n	k	1/n	$\Delta T_{m1/2}$, °C	$\Delta\Delta H_{m1/2}$, кДж/моль
ДПФХ	-0,3	-0,09	1,3	-0,22	1,1	1,9	-12
ДПФХ-ДПФГ	-0,2	–	–	-0,14	1,2	2,2	-14
ДПФХ-Цб	-0,2	–	–	–	–	2,1	-15
ДПФХ-Хол	-1,5	-0,11 / -2,11	1,2 / 0,3	-2,76	0,3	11,2	-17

Примітки: 1 – мембранотропна активність (ф. 2.5); 2,3 – параметри апроксимації рівнянням (3.2); 4, 5 – відповідно, напівширина та зміна ентальпії основного фазового переходу у порівнянні із мембраною без GS; вміст GS 5 мол. % відносно фосфоліпідів.

Результати апроксимації рівнянням Фрейндліха для мембрани ДПФХ-Хол із GS представлено на Рис. 6.22. Однак, подібна апроксимація дала адекватні результати не для усіх систем, тому для порівняння МД був також застосований параметр мембранотропної активності a_{mol} (2.5).

Як можна бачити з Табл. 6.5, в цілому GS сприяв низькотемпературному зсуву піків фазових переходів усіх досліджуваних типів мембран. Найсуттєвіші зміни усіх досліджуваних термодинамічних параметрів під впливом GS спостерігаються в мембрані ДПФХ-Хол, причому GS у цій мембрані переважно змінює параметри піку T_m(+). Це можна розуміти як підвищення спорідненість GS до мембрани ДПФХ у присутності Хол, що приводить до посилення його мембранотропного ефекту.

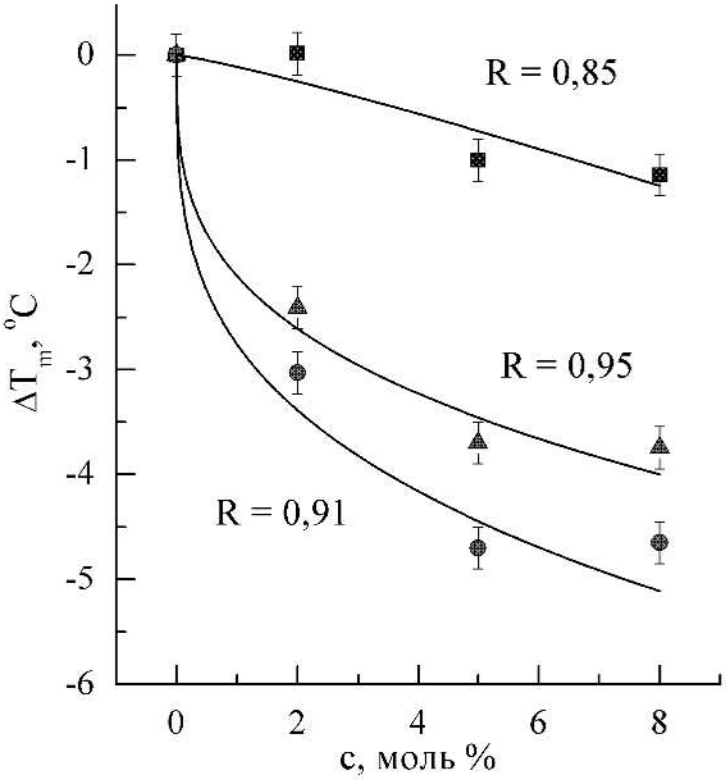


Рис. 6.22. Концентраційні залежності зсуву температури плавлення мембрани ДПФХ-Хол + GS: квадрати – пік T_m(–); трикутники – пік T_m(+); кола – пік T_m^*. Суцільні лінії – апроксимація аналогом рівнянням Фрейндліха (3.2). У підписах вказані значення коефіцієнтів детермінації апроксимації.

Таким чином, наявний синергізм МД GS та холестерину у мембрані ДПФХ.

Подібний специфічний ефект холестерину у модельних фосфоліпідних мембранах спостерігався в літературі для структурного білку спектрину [265] та пояснювався збільшенням кількості міжфазних границь, які можуть слугувати місцями зв'язування спектрину з мембраною. Згідно даним [111], 10 % холестерину не викликає фазового розділення мембрани ФХ, але приводить до неоднорідності упаковки ліпідів. На межах цих неоднорідностей гідратація мембрани підвищується, що узгоджується з продукуванням вільного об'єму мембрани і може становити механізм полегшення розподілу GS у мембрану.

Цінну інформацію щодо взаємодій GS з мембрано на субмолекулярному рівні можна отримати за допомогою ІЧ-спектроскопії. Тут слід відмітити, що на ІЧ-спектрах досліджуваних систем спостерігалися лише смуги поглинання ДПФХ та води, охарактеризовані на підставі даних літератури [485-488]. Смуги поглинання інших компонентів систем (ліпідів та GS), визначені на спектрах відповідних індивідуальних речовин, не простежувалися. Тим не менш, у випадку незначних, але важливих спостережуваних змін спектрів можливий вплив смуг поглинання компонентів системи був ретельно простежений.

У присутності GS у мембранах ДПФХ-ДПФГ, на відміну від мембран ДПФХ, спостерігається зміна відносної інтенсивності смуг поглинання νP=O 1220 $см^{-1}$ та 1240 $см^{-1}$. Ці смуги є найбільш чутливими до зміни гідратації поверхні мембрани, тому слугують інформативним маркером перебудови структури гідратної оболонки мембрани при зв'язуванні з екзогенними компонентами [111, 534]. Згідно [535], смуги поглинання 1220 $см^{-1}$ та 1240 $см^{-1}$ належать асиметричним валентним коливанням, відповідно, зв'язаних з водою та «вільних» фосфатних груп.

Спостережуване підвищення відносної інтенсивності смуги 1220 $см^{-1}$ (Рис. 6.23) свідчить про збільшення частки фосфатних груп, не зв'язаних з водою, – тобто, про дегідратацію поверхні мембрани ДПФХ у присутності GS та/або зв'язування P=O-груп з GS [272]. Треба відмітити, що спостережувані зміни не пов'язані із суперпозицією спектрів поглинання компонентів системи, оскільки найближчі смуги поглинання GS розташовані досить далеко, на 1150 та 1260 $см^{-1}$.

Індивідуальна дія холестерину щодо дегідратації P=O груп виявилась якісно аналогічною до дії GS. Втім, у мембрані ДПФХ-Хол спостерігався зворотний ефект GS, тобто компенсація первісного ефекту холестерину.

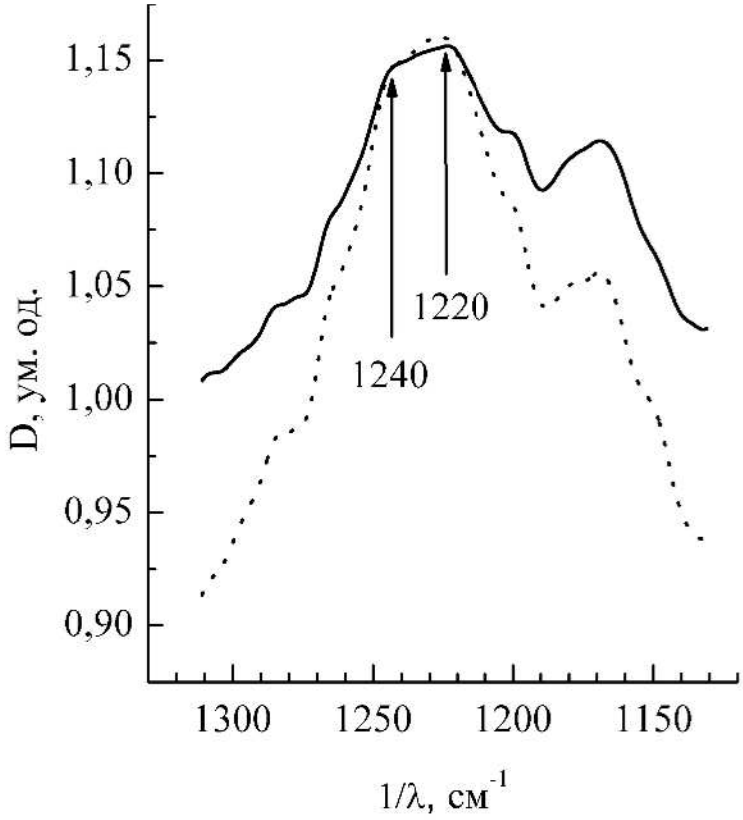


Рис. 6.23. Полоса поглинання νP=O на ІЧ-спектрах мембрани ДПФХ-ДПФГ без домішок (суцільна лінія) та із вмістом 8 мол. % GS (точкова лінія). Стрілками позначені смуги поглинання гідратованих та «вільних» P=O груп.

Для отримання характеристик коливань метальних груп, відповідні смуги було розкладено на 3 (для δCH_2) або 4 (для νCH_2) піки, для кожного з яких було визначено значення максимуму та напівширини (Рис. 6.24). Високий коефіцієнт детермінації ($R > 0{,}99$) слугував аргументом коректності такого розкладання. Як можна побачити (Рис. 6.24) внесення холестерину приводило до зменшення напівширини усіх вказаних смуг νCH_2, а додавання GS підсилювало цей ефект. Таким чином, обидві речовини підвищували гомогенність упаковки метиленових ланок, особливо у напрямку нормалі мембрани. Аналіз смуг поглинання карбонільних груп ДПФХ був проведений на підставі розщеплення основної смуги νC=O 1734 см$^{-1}$ на дві компоненти: груп, зв'язаних з водою (низькочастотна компонента) та не зв'язаних (високочастотна компонента). Згідно [536, 537], співвідношення площ цих компонент

відбиває вміст гідратованих та негідратованих карбонільних груп. Для мембрани ДПФХ-Хол встановлено, що як Хол, так і GS викликають гіпсохромний зсув смуг νC=O. При цьому GS додатково збільшує число гідратованих карбонільних груп, що разом може свідчити про підвищення доступу води в область інтерфейсу мембрани (Рис. 6.25).

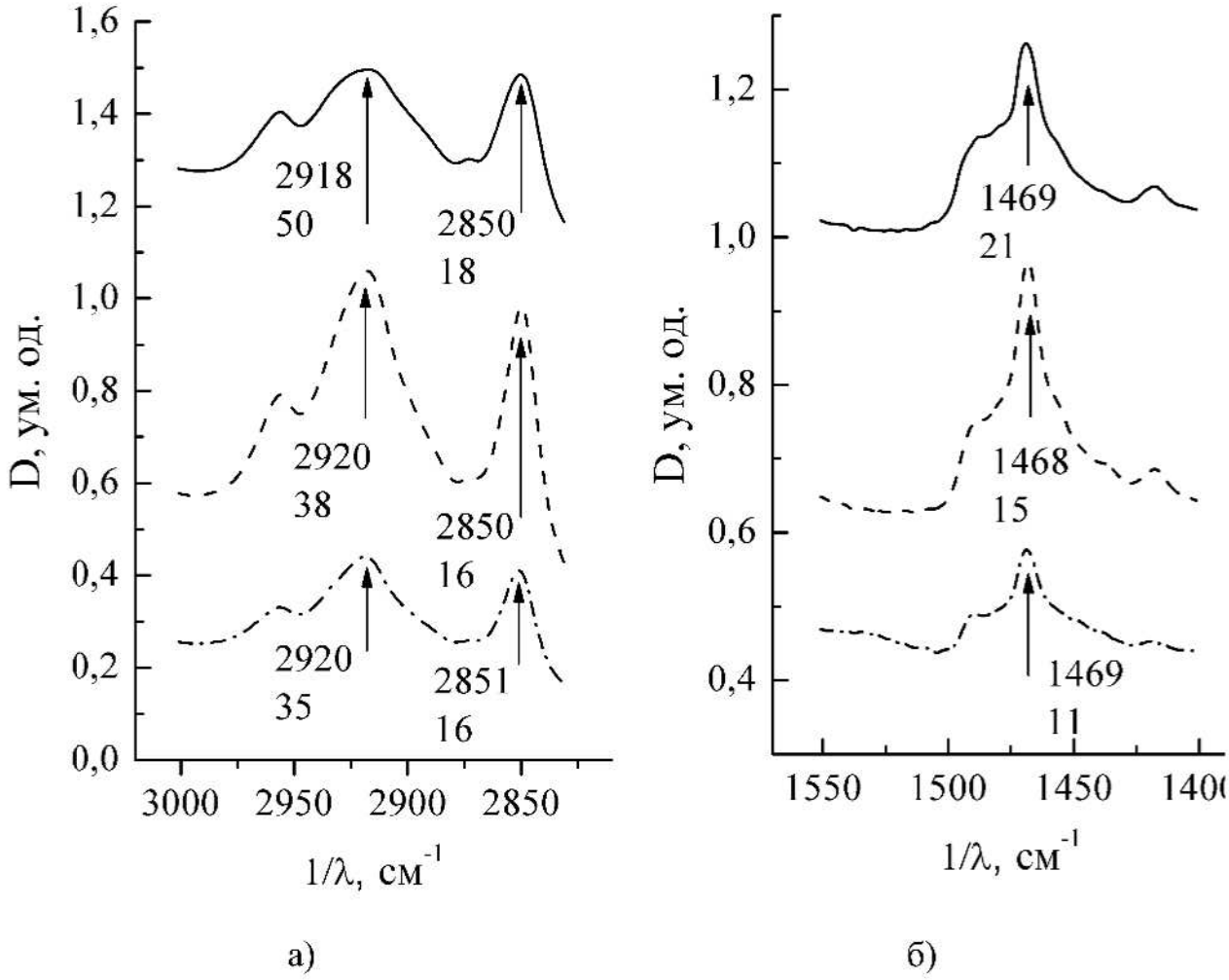


Рис. 6.24. Характеристики смуг поглинання ДПФХ $\nu_s CH_2$ (2850 см$^{-1}$), $\nu_{as} CH_2$ (2918 см$^{-1}$), та δCH_2 (1469 см$^{-1}$): суцільна лінія – мембрана ДПФХ без домішок; пунктирна лінія – мембрана ДПФХ-Хол без домішок; штрих-пунктирна лінія – мембрана ДПФХ-Хол із вмістом 8 мол. % GS. У підписах стрілок: верхнє число – максимум піку, нижнє – напівширина піку.

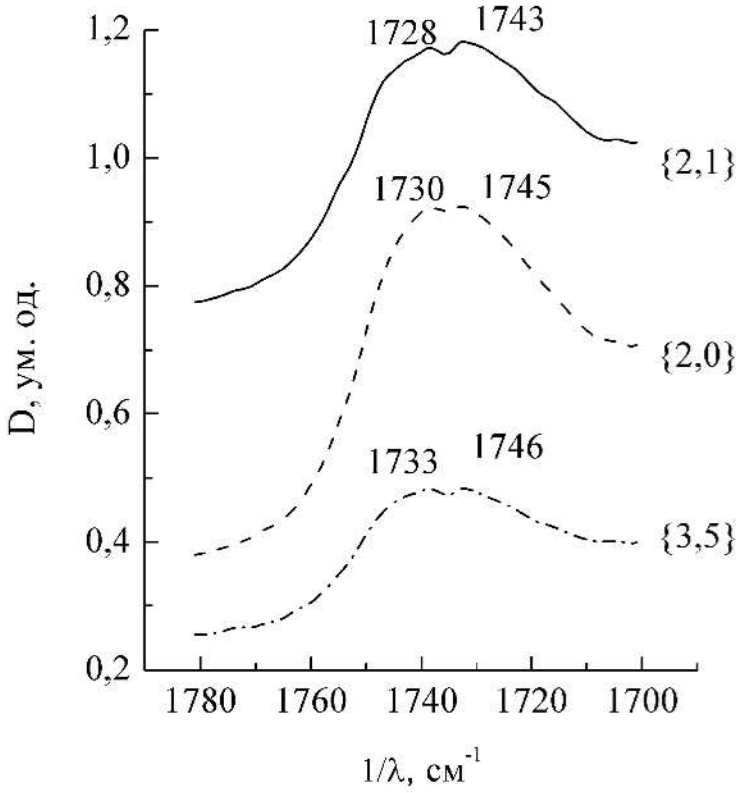


Рис. 6.25. Характеристики смуг поглинання C=O груп ДПФХ (1734 $см^{-1}$): суцільна лінія – мембрана ДПФХ без домішок; пунктирна лінія – мембрана ДПФХ-Хол без домішок; штрих-пунктирна лінія – мембрана ДПФХ-Хол із вмістом 8 мол. % GS. У підписах над спектрами – хвильові числа максимумів складових піків; у фігурних дужках – значення співвідношення площ низькочастотної та високочастотної компоненти.

В цілому дані ІЧ-спектроскопії свідчать, що GS має якісно та кількісно різний вплив на мембрани різного ліпідного складу (Табл. 6.6). 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. Таким чином, у багатокомпонентних мембранах не простежується чіткої кореляції між впорядкуванням алкільних ланцюгів та гідратацією поверхні мембрани, що також відмічається у літературі [115] та свідчить, вірогідно, про існування додаткових керуючих механізмів в таких системах. Здатність ліпідного складу мембрани модулювати

антибактеріальну активність GS та іншних амфіфільних антимікробних пептидів відзначається також в літературі [528].

Таблиця 6.6

Дія GS у багатокомпонентних ліпідних мембранах: зміни смуг поглинання ДПФХ за даними ІЧ-спектроскопії

Група / Мембрана	CH_2	C=O	P=O
ДПФХ-ДПФГ	напівширина $\nu_{as}CH_2$ и $\delta CH_2 \uparrow$	без змін	гідратація ↓
ДПФХ-Цб	напівширина $\nu CH_2 \downarrow$ $\delta CH_2 \uparrow$	без змін	без змін
ДПФХ-Хол	напівширина νCH_2 и $\delta CH_2 \downarrow$	гідратація ↑ гіпсохромний зсув	гідратація ↓ (компенсація ефекту холестерину)

Іони Ca^{2+}, окрім їх інших важливих функцій в організмі, можуть виступати регуляторами взаємодії екзогенних речовин з мембраною та упаковки ліпідів у мембрані [110, 292]. Для виявлення впливу Ca^{2+} на взаємодію GS з мембраною ДПФХ були отримані ДСК термограми мембрани ДПФХ із різним вмістом GS в водних розчинах $CaCl_2$. На Рис. 6.26 наведено температури фазових переходів вихідного та додаткового піків. Як можна бачити, з підвищенням іонної сили розчину $CaCl_2$ відбувається підвищення температур обох піків, втім характер концентраційних залежностей не змінюється. Еквідистантність наведених залежностей за різних концентрацій розчину $CaCl_2$ вказує на адитивність ефектів GS та $CaCl_2$ у мембрані ДПФХ.

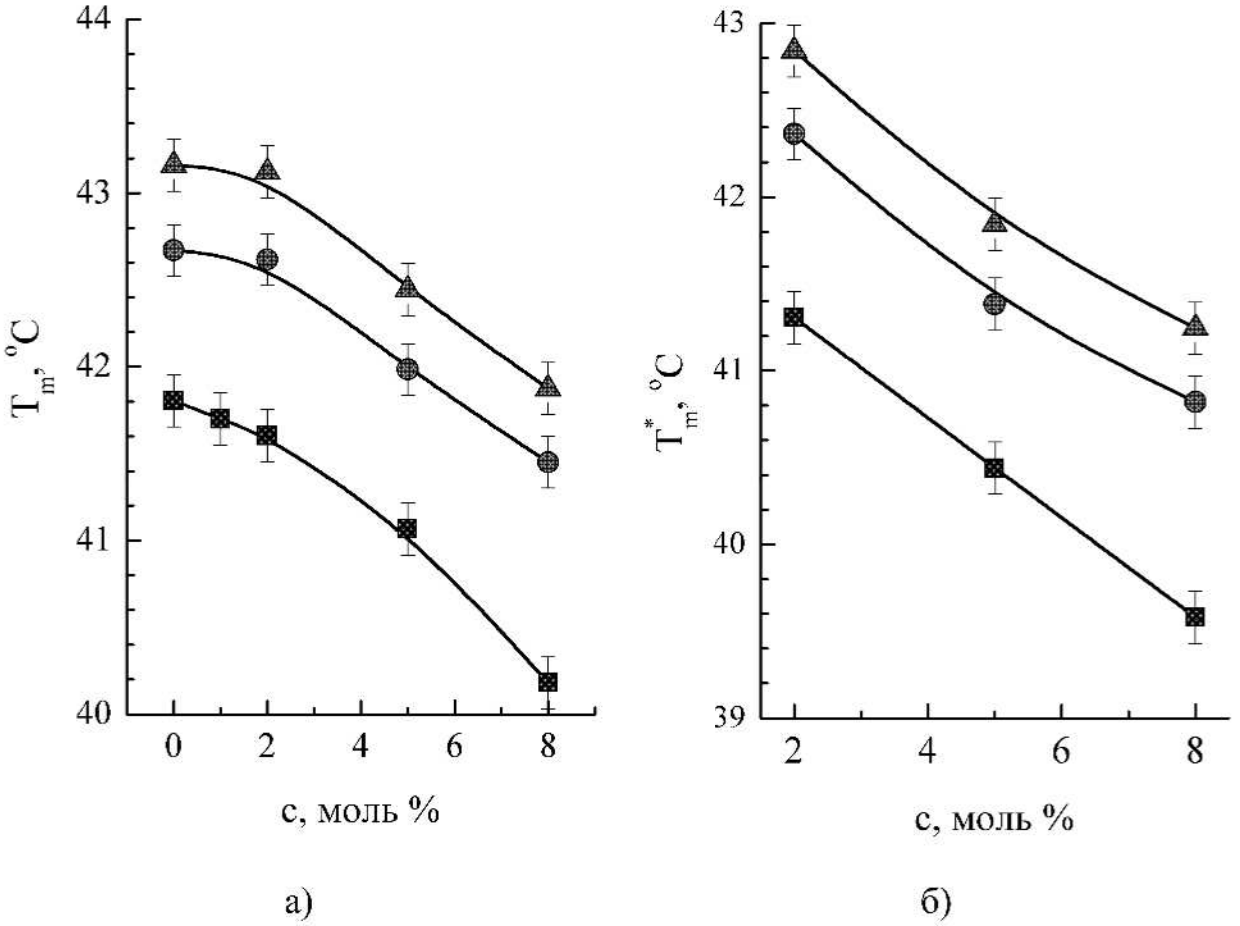


Рис. 6.26. Концентраційні залежності значень температури вихідного (а) та додаткового (б) піків фазових переходів мембрани ДПФХ із вмістом GS на різних субфазах: вода (□, ■), 100 мМ $CaCl_2$ (○, ●), 200 мМ $CaCl_2$ (Δ, ▲).

Проте одночасне зв'язування GS та $CaCl_2$ із ліпідним бішаром (кожного – зі своїєю ділянкою мембрани) викликає підвищення його неоднорідності, що відбивається у розширенні ДСК-піків (Рис. 6.27). Ентальпії обох піків не набувають суттєвих змін у межах експериментальної похибки (дані не наведені). Дещо нижчі значення ΔT_m для мембран ДПФХ на Рис. 6.26 у порівнянні з Рис. 3.10, можливо, обумовлені застосуванням у мембранах с GS комерційного препарату (див. п. 2.1.3), у якому реальна концентрація $CaCl_2$ нами не контролювалася.

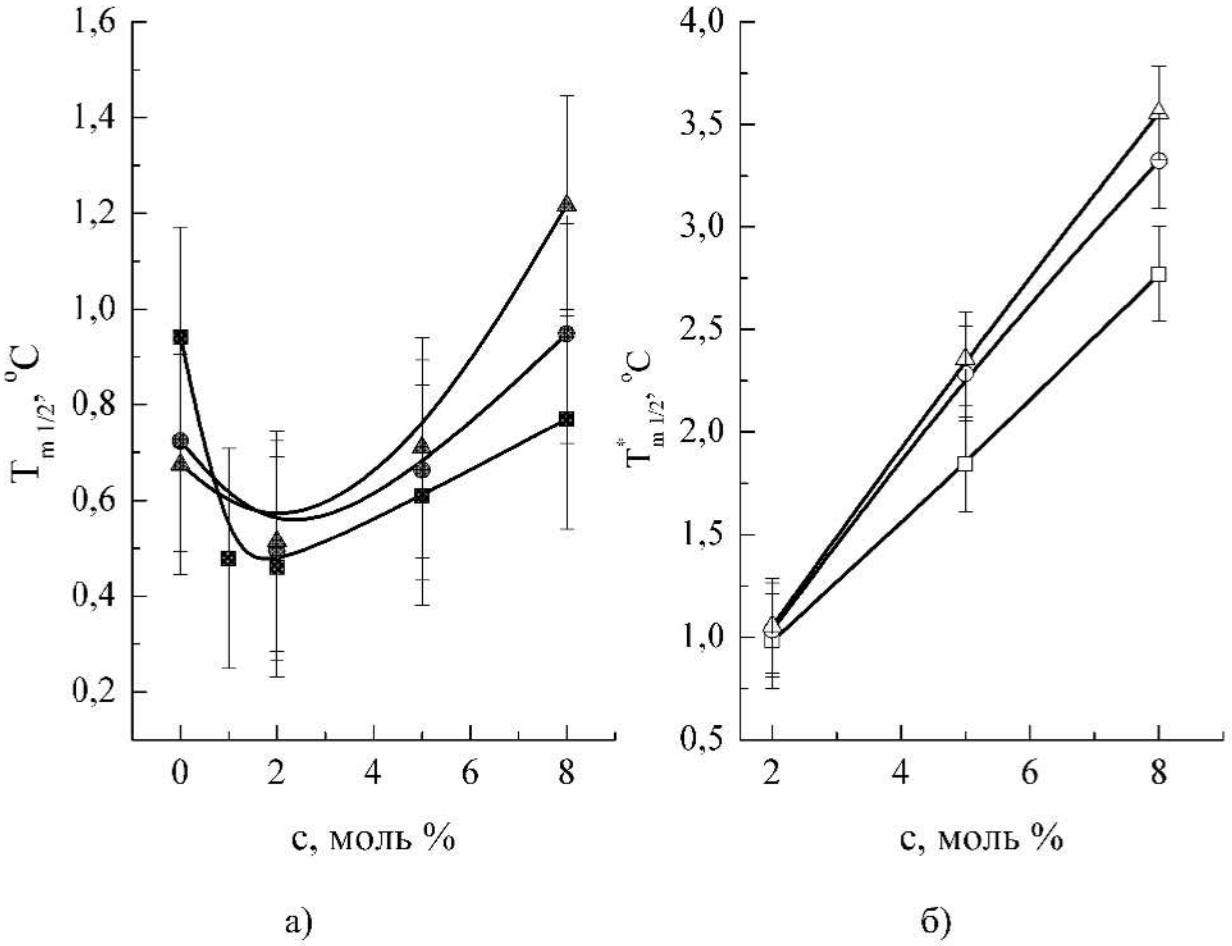


Рис. 6.27. Концентраційні залежності значень напівширини вихідного (а) та додаткового (б) піків фазових переходів мембрани ДПФХ із вмістом GS на різних субфазах: вода (□, ■), 100 мМ $CaCl_2$ (○, ●), 200 мМ $CaCl_2$ (Δ, ▲).

6.7. Декстран-поліакриламідні сополімери

Використання полімерів у якості допоміжних речовин – один з сучасних напрямків фармації, спрямований на створення препаратів пролонгованої дії. Внесення лікарської речовини на полімері-носії покращує фармакокінетичні та фармакодинамічні властивості препарату, значно пролонгуючи його дію та дозволяючи контролювати його подачу в організм завдяки уповільненій дифузії лікарської речовини з місця унесення [155]. Зрозуміло, що у таких препаратах взаємодія із мембранами відбувається, в першу чергу, з макромолекулами полімерів, тож їх МД необхідно ретельно вивчати.

Зіркоподібні декстран-поліакриламідні сополімери з різними поверхневими властивостями були синтезовані* як носії для доставки ЛР [538]. Комплекси ліпосом із такими зіркоподібними полімерами вважаються перспективними носіями ЛР [513]. Теоретичні [539, 540] та експериментальні [541] дослідження довели, що ці розгалужені полімери мають високу локальну концентрацію функціональних груп, здатних зв'язувати молекули ЛР або інші речовини. Досліджувані полімери розрізнялися за своїми поверхневими властивостями: нейтральна форма D-g-PAA та поліаніонна форма D-g-PAA(PE) (встановлено, що перша форма у дослідженнях *in vivo* виявилася ефективнішою за другу [542]). Кожна з форм додатково містила наночастинки золота (D-g-PAA-AuNPs та D-g-PAA(PE)AuNPs) або срібла (D-g-PAA-AgNPs та D-g-PAA(PE)AgNPs), що мало забезпечити синергічний ефект й запобігти агрегації наночастинок [543-545]. Виходячи з цього, актуальним уявлялося встановлення та порівняння МД зіркоподібних полімерів із різними поверхневими властивостями у мембранах різного ліпідного складу.

Для досліджень були обрані мембрани із вмістом аніонних ліпідів, що забезпечували негативний заряд мембранної поверхні, який має місце у біомембран нативних клітин: ДПФХ-ДПФГ та ДПФХ-КЛ (див. Табл. 6.1, с. 220). Паралельне взначення мембранотропних властивостей вказаних полімерів у електронейтральній мембрані ДПФХ здавалося доцільним, оскільки саме ця мембрана є стандартною («реперною») як у літературі, так і у даному дослідженні.

Виявилося, що в мембрані ДПФХ полімери D-g-PAA та полімери D-g-PAA(PE) – як чисті, так і навантажені наночастинками Ag – в основному не викликали суттєвих змін параметрів фазових переходів, що вказує на відсутність значних взаємодій між цією мембраною та досліджуваними полімерами. Єдиним винятком було певне підвищення температури передпереходу T_p у мембрані D-g-PAA(PE).

---

* Декстран-поліакриламідні сополімери синтезовано д. х. н., проф. Н. В. Куцевол (Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка).

На тлі цього здаються суттєвими зміни термодинамічних параметрів мембрани ДПФХ, які спостерігалися при внесенні полімерів із вмістом наночастинок Au (Рис. 6.28). Як можна бачити, для цієї системи спостерігаються протилежні зсуви температур T_p та T_m, які у сукупності свідчать про стабілізацію складчастої $P_{\beta'}$-фази за рахунок L_α- та $L_{\beta'}$-фаз. Так, при внесенні до мембрани ДПФХ D-g-PAA-AuNPs розширення температурного діапазону існування $P_{\beta'}$-фази складає 2,1 °C, а при внесенні D-g-PAA(PE)-AuNPs – близько 1,0 °C. Такий стабілізуючий ефект уявляється істотним, враховуючи, що у мембрані ДПФХ без домішок діапазон існування $P_{\beta'}$-фази складає 5,6 °C

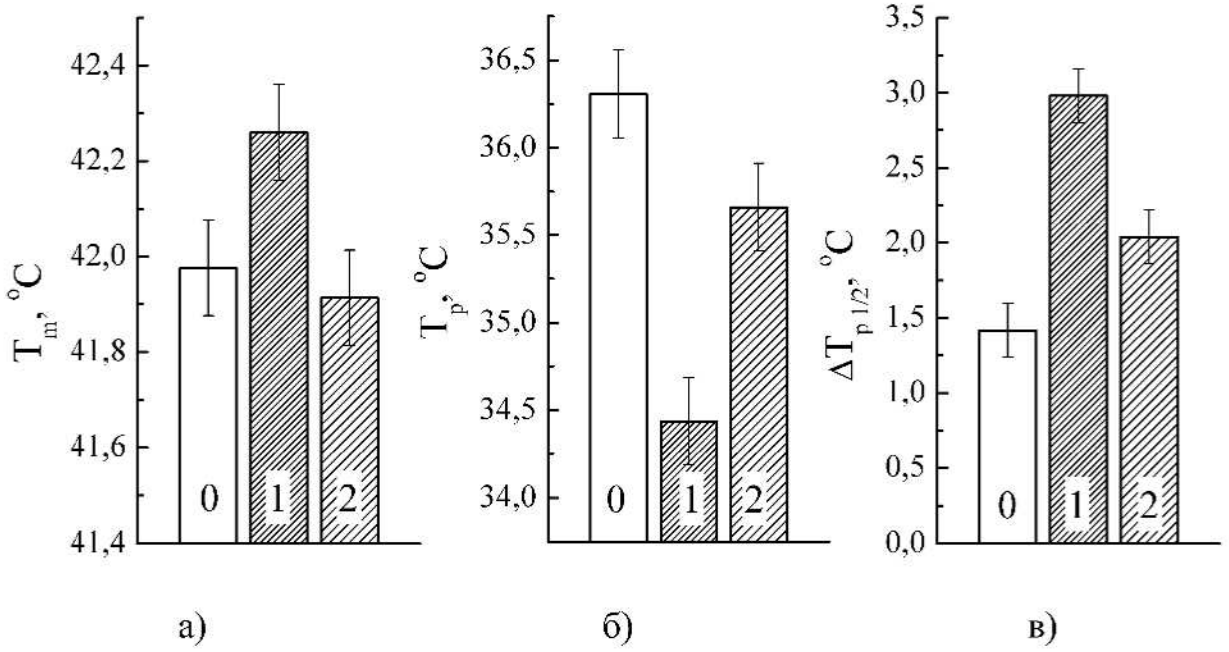


Рис. 6.28. Температура основного фазового переходу (а), передпереходу (б) та напівширина піку передпереходу мембран ДПФХ без домішок (0), а також із вмістом D-g-PAA-AuNPs (1) та D-g-PAA(PE)-AuNPs (2).

При внесенні полімерів D-g-PAA-AuNPs та D-g-PAA(PE)-AuNPs до мембрани ДПФХ спостерігається збільшення напівширини передпереходу (Рис. 6.28, б), що вказує на підвищення неоднорідності складчастої фази при зв'язуванні з полімерами, який також більш виражений для полімеру D-g-PAA-AuNPs, ніж для D-g-PAA(PE)-AuNPs. Можливо, вказаний ефект спосте-

рігається внаслідок співіснування ділянок мембрани, властивості яких модифіковані в результаті взаємодій з полімером, та тих ділянок мембрани, які не залучені до цих взаємодій. Така фізична картина уявляєтся вірогідною з огляду на те, що мультибішарові ліпідні структури взаємодіють з полімерами лише тими частинами, які обернені у водне середовище, тоді як внутрішні бішари залишаються незбуреними. Для системи ДПФХ + D-g-PAA-AuNPs разом із підвищенням $\Delta T_{p\ 1/2}$ спостерігалося також зниження гістерезису приблизно на 20 % відносно вихідної мембрани ДПФХ, що, як показано у п. 2.2.5, підтверджує підвищення неоднорідності цієї мембрани при уведенні вказаного полімеру.

У мембрані ДПФХ-ДПФГ, поверхня якої заряджена від'ємно за рахунок присутності ліпіду ДПФГ, також найбільш вираженими виявилися ефекти, що пов'язані з передпереходом. На відміну від ефекту стабілізації $P_{\beta'}$-фази у мембрані ДПФХ, у мембрані ДПФХ-ДПФГ спостерігалося зиження температури передпереходу на 0,9 ÷ 1,5 °C, тобто дестабілізація $P_{\beta'}$-фази. Ненавантажені полімери до того ж знижували ΔH_p та ΔH_m (дані не наведені). У цій мембрані, як і у мембрані ДПФХ, полімери з наночастинками Ag мали незначний ефект у порівнянні із полімерами з наночастинками Au. Полімери D-g-PAA-AuNPs та D-g-PAA(PE)-AuNPs підвищували напівширину переходу на 18 ÷ 45 %, що є індикатором зниження його кооперативності.

Мембрана ДПФХ-КЛ відрізнялася від попередніх перш за все двофазним характером (див. вставку на Рис. 6.2), тому взаємодію з полімерами вивчали окремо для КЛ-збагаченої та КЛ-збідненої фаз. До того ж, на ДСК-термограмах цієї мембрани не ідентифікувався пік передпереходу. У цій мембрані, на відміну від вищеописаних, взаємодії з полімерами відбивалися також і у параметрах піків плавлення, особливо сильно виражених для КЛ-збагаченої фази (низькотемпературний пік) (Рис. 6.29). У мембрані такого ліпідного складу, як можна бачити, МД D-g-PAA виражена сильніше за МД D-g-PAA(PE).

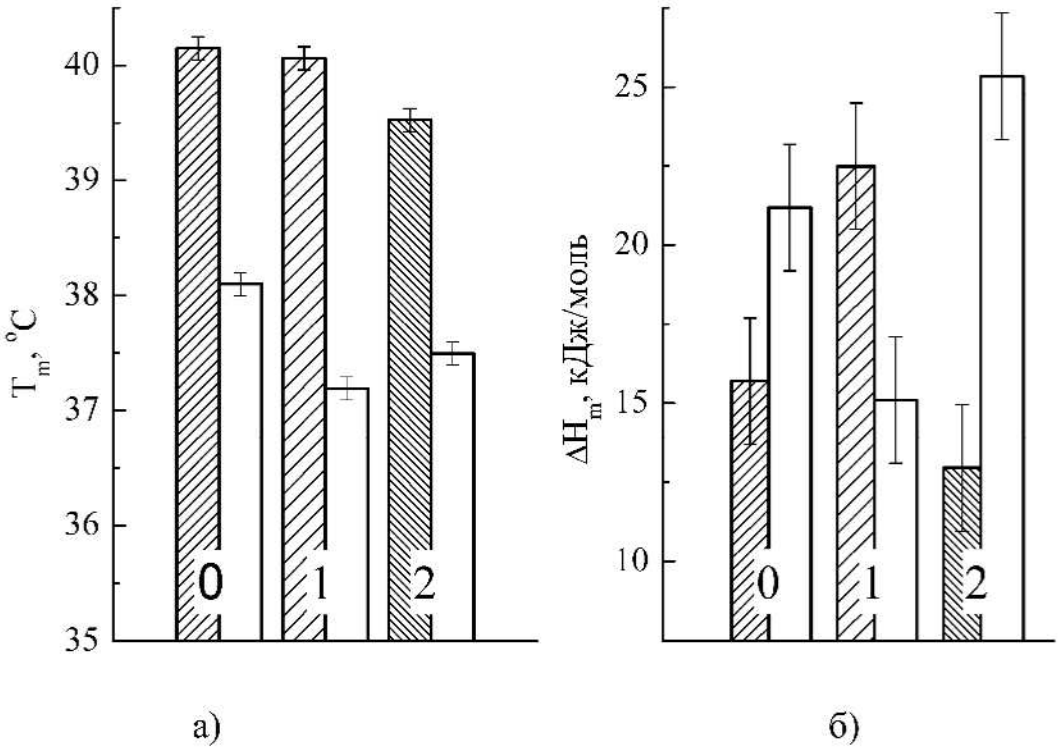


Рис. 6.29. Значення температури (а) та ентальпії (б) фазових переходів у мембрані ДПФХ-КЛ без домішок (0), а також із вмістом D-g-PAA (1) та D-g-PAA(PE) (2). Незаштриховані стовпчики відповідають КЛ-збагаченій ліпідній фазі, заштриховані – КЛ-збідненій ліпідній фазі мембрани.

Полімер D-g-PAA(PE) при внесенні до мембрані ДПФХ-КЛ викликав підвищення температури плавлення та кооперативності фазового переходу КЛ-збагаченої фази, тоді як усі полімери із вмістом наночастинок спричиняли зворотній ефект. Полімери з наночастинками Ag додатково знижували й температуру КЛ-збідненої фази. Варто уваги, що взаємодія електронейтрального полімеру D-g-PAA з від'ємно зарядженою поверхнею мембрани ДПФХ-КЛ приводить до якісно протилежного перерозподілення ентальпії піків у порівнянні з від'ємно зарядженим полімером D-g-PAA(PE). В цілому параметри КЛ-збагаченої фази виявилися чутливішими до внесення полімерів, що дозволяє зробити висновок про переважне зв'язування полімерів саме з цією мембранною фазою.

Усі отримані дані щодо змін термодинамічних властивостей мембран різного складу у присутності декстран-поліакриламідних сополімерів підсумовані у Табл. 6.7. Як можна бачити, D-g-PAA та D-g-PAA(PE), як ненавантажені, так і навантажені наночастинками срібла, не спричиняли значних ефектів у мембрані ДПФХ, що, певно, свідчить про слабку взаємодію у даній системі. У той же час, значні зміни спостерігаються у цій при внесенні полімерів з наночастинками золота, найбільші – для D-g-PAA-AuNPs, який, до того ж, розширює температурний діапазон існування $P_{\beta'}$-фази.

Таблиця 6.7

Мембранотропна дія зіркоподібних декстран-поліакриламідних сополімерів у модельних ліпідних мембранах різного складу

Мембрана / Полімер	ДПФХ	ДПФХ-ДПФГ	ДПФХ-КЛ
D-g-PAA	–	$T_p\downarrow$; $\Delta H_p\downarrow$; $\Delta H_m\downarrow$	–
D-g-PAA-AgNPs	–	$T_p\downarrow$	$T_m\downarrow$; $T_m^*\downarrow$; $CN\downarrow$; $\Delta H_m^*\downarrow$
D-g-PAA-AuNPs	$T_p\downarrow$; $\Delta T_{p\ 1/2}\uparrow$ розширення діапазону існування $P_{\beta'}$- фази	$T_p\downarrow$; $\Delta T_{p\ 1/2}\uparrow$	$T_m^*\downarrow$; $CN\downarrow$; $\Delta H_m\uparrow$
D-g-PAA(PE)	$T_p\uparrow$	$T_p\downarrow$; $\Delta H_p\downarrow$; $\Delta H_m\downarrow$	$T_m^*\uparrow$; $CN\uparrow$
D-g-PAA(PE)-AgNPs	–	$T_p\downarrow$	$T_m\downarrow$; $T_m^*\downarrow$
D-g-PAA(PE)-AuNPs	$T_p\downarrow$; $\Delta T_{p\ 1/2}\uparrow$ розширення діапазону існування $P_{\beta'}$- фази	$T_p\downarrow$; $\Delta T_{p\ 1/2}\uparrow$	$T_m^*\downarrow$

Примітки: позначки ↑ та ↓ вказують, відповідно, на збільшення або зменшення параметра, позначка «–» – на відсутність ефекту при внесенні полімерів)

Як було зазначено вище (див. Рис. 6.2, с. 203), у мембрані ДПФХ-КЛ пік передпереходу відсутній, а пік основного фазового переходу є суперпозицією двох піків: КЛ-збідненої фази (T_m, $\Delta T_{m\ 1/2}$, ΔH_m) та КЛ-збагаченої фази (T_m^*, $\Delta T_{m\ 1/2}^*$, ΔH_m^*). Ефекти D-g-PAA в цій мембрані виявилися більш вираженими у порівнянні з D-g-PAA(PE). На відміну від інших полімерів, D-g-PAA(PE) у цій мембрані викликав збільшення T_m^* та кооперативності переходу, тоді як усі інші полімери мали протилежний ефект, а полімери з наночастинками срібла, до того ж, знижували T_m. Варто уваги, що D-g-PAA-AgNPs викликав зниження ΔH_m^*, тоді як D-g-PAA-AuNPs – підвищення ΔH_m, що може свідчити про їх чутливість до доменів різного ліпідного складу.

В цілому, можна сказати, що негативно заряджені мембрани ДПФХ-ДПФГ та ДПФХ-КЛ виявилися більш чутливими до внесення полімерів у порівнянні з мембраною ДПФХ. Окрім того, спостережувані зміни передпереходу були виражені сильніше у порівнянні із основним, що є ознакою суттєвої ролі поверхневих взаємодій у досліджуваних системах.

6.8. Висновки до розділу 6

У розділі 6 отримані дані щодо взаємодії лікарських речовин з багатокомпонентними ліпідними мембранами різного складу:

1. Розроблено та охарактеризовано низку багатокомпонентних ліпідних мембран, що наближаються до ліпідного складу мембран ентероцитів, кардіоміоцитів, мембран шкіряних покривів, бактеріальних мембран.
2. 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 може 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 ДПФХ-ДПФЕ-Хол мембрани. У той же час фенспірид

(змішаний тип зв'язування) в мембранах ДПФХ, ДПФХ-Цб та ДПФХ-ДПФЕ-Хол мав якісно та кількісно однакову МД.

3. В присутності антимікробного пептиду граміцидину S у мембранах різного ліпідного складу було відзначено появу додаткового ДСК-піку фазового переходу мембран, який, згідно даним літератури, відповідає взаємодії з мембраною олігомерів GS. При внесенні граміцидину S до мембрани ДПФХ-Хол встановлене додаткове суттєве зниження температур фазових переходів мембрани, 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 Хол-збагаченої та Хол-збідненої фаз (механізм продукування вільного об'єму мембрани).
4. Розглянуто МД низки кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти, які розрізняються видом та розташуванням замісників карбонільних груп. Взаємодія кон'югатів з мембраною ДПФХ приводить до змін низки її термодинамічних параметрів, особливо виражених для кон'югату SA-188. Встановлено, що у багатокомпонентній мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Хол кон'югати переважно зв'язуються з Хол-збагаченою фазою ліпідів. На підставі аналізу розрахованих молекулярних параметрів кон'югатів встановлено, що проникність *Caco-2*-клітин має високу пряму кореляцію з їх анізометрією та зворотну – з ліпофільністю.
5. Для групи зіркоподібних декстран-поліакриламідних сополімерів (нейтральних та поліаніонних, ненавантажених та навантажених наночастинками золота або срібла) встановлено, що негативно заряджені мембрани ДПФХ-ДПФГ та ДПФХ-КЛ є більш чутливими до внесення полімерів, ніж мембрана ДПФХ. При цьому зміни параметрів передпереходу були значнішими, ніж основного переходу, що свідчить про важливий внесок поверхневих взаємодій у досліджуваних системах.

Основні результати цього розділу викладено в роботах [6], [19], [37], [40], [42]-[44].

РОЗДІЛ 7.
КІНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН

Усі процеси в клітині та мембрані, як її невід'ємній частині, розгортаються у часі й мають свої важливі кінетичні характеристики. Тож, здавалося доцільним розглянути досліджувані системи, щонайменш їх найсуттєвіші особливості, у кінетичному режимі.

7.1. Визначення величини кооперативного домену методом диференціальної скануючої калориметрії

Величина кооперативного домену досить рідко застосовується при аналізі даних калориметрії, незважаючи на його велику біологічну значущість (див. п. 1.1.8). Можливою причиною цього є його висока чутливість цього параметру до різноманітних факторів, у тому числі, іонної сили розчину [133], кривизни ліпідного бішару [546], властивостей підкладки тощо, що приводить до суттєвих відмінностей у отриманих значеннях *CN*.

Однією з важливих експериментальних умов для вивчення фазових переходів методом калориметрії є швидкість термосканування. Відомо, що для коректного визначення термодинамічних параметрів фазових переходів у модельних ліпідних мембранах потрібні дуже низькі швидкості сканування x, менші за 0,1 К/хв, які забезпечують мінімізацію інструментального розширення піку ДСК [313]. Разом із тим, на сьогодні широко використовується методика отримання ДСК-термограм при суттєво більших швидкостях (до 5 К/хв), що забезпечує чіткість ДСК-піку та значно скорочує час вимірювання [181].

Для відповіді на питання щодо суттєвості величини x для визначення *CN* нами була проведена серія термосканувань у широкому діапазоні швидкостей ($x = 0{,}1 \div 40$ К/хв). Розраховані значення *CN*, разом із літературними даними, представлені на Рис. 7.1. Як можна бачити, при $x \to 0$ значення *CN* різ-

ко зростає; окрім того, при $x \sim 0$ розкид значень стає дуже великим, більш ніж на порядок.

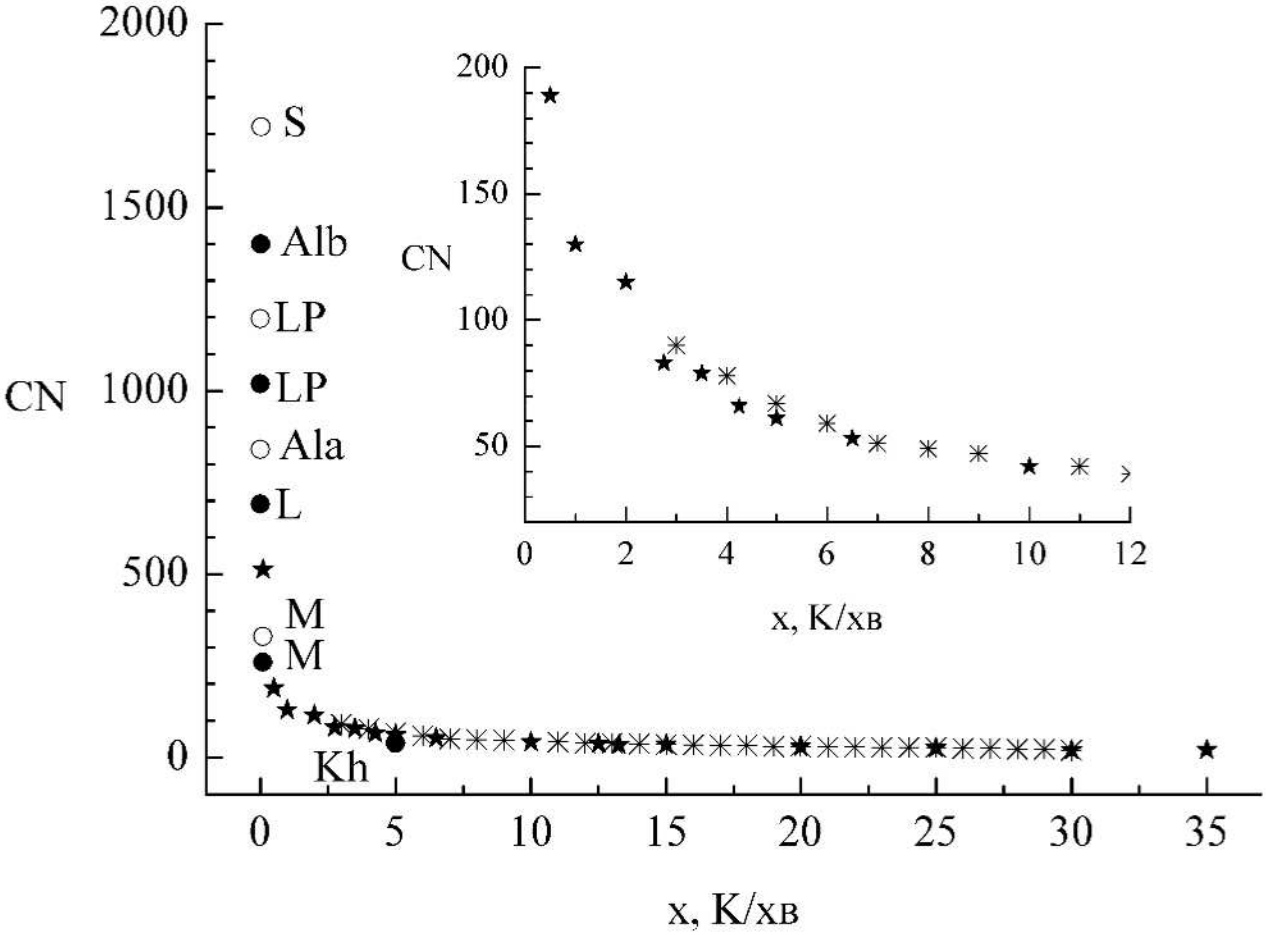


Рис. 7.1. Величина *CN* (ф. 2.12) у мембранах ДПФХ (★, ●) и ДМФХ (✳, ○), визначена при різних швидкостях термосканування *x*. Кола позначають літературні дані: Ala [546], Alb [132], Kh [547], L [134], LP [136], M [137], S [548], Tr [549]. На врізці – збільшений масштаб графіку для демонстрації різниці в значеннях *CN* для мембран ДПФХ та ДМФХ.

Отримані залежності $CN(x)$ добре апроксимуються гіперболічним рівнянням виду:

$$CN = c + b/(x+a), \tag{7.1}$$

де a, b, c – константи.

Параметри апроксимації залежності $CN(x)$ рівнянням (7.1) для мембран ДПФХ та ДМФХ наведені у Табл. 7.1. Очевидно, що залежність $CN(x)$ визначається відповідною залежністю термодинамічних параметрів, які використовуються для її визначення (див. (2.11) та (2.12)). Тому здавалося доречним експериментальне встановлення таких залежностей. Залежність $T_m(x)$, побудована на основі власних та літературних даних, представлена на Рис. 7.2.

Таблиця 7.1

Параметри гіперболічної апроксимації залежності $CN(x)$ для мембран ДПФХ та ДМФХ рівнянням (7.1)

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

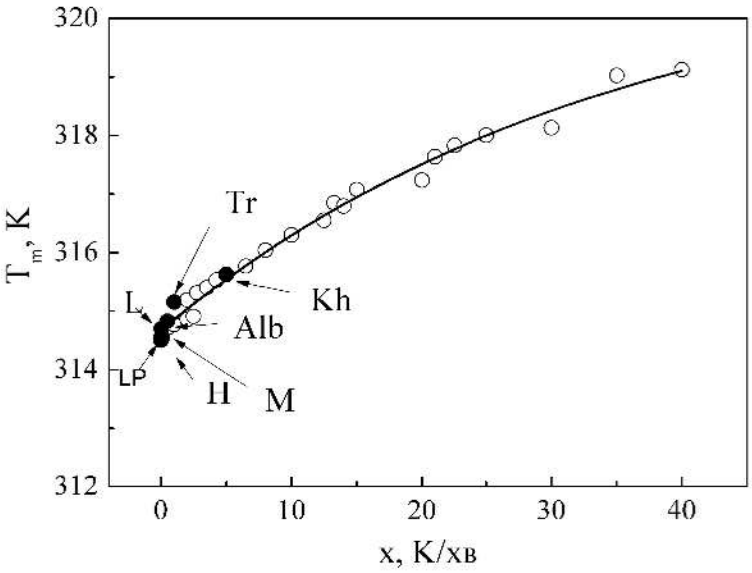


Рис. 7.2. Температура основного фазового переходу мембрани ДПФХ при різних швидкостях термосканування: власні (○) та літературні (●) дані (H – [550]; інші підписи див. на Рис. 7.1).

Незважаючи на деякий розкид, значення, отримані калориметричними методами при $x < 0{,}1$ К/хв [132, 134, 136, 137], співпадають з високою точністю (41,4 ± 0,1 °С). Для порівняння, в обзорі [70] приведено значення 41,3 ± 1,8 °С (такий розкид, певно, обумовлений різницею у методах досліджень, впливом буферу, підкладки, кривизни бішару, методики приготування тощо). Залежності від швидкості сканування для інших термодинамічних величин, потрібних для визначення *CN* (ф. 2.11 та 2.12), наведені на Рис. 7.3. Слід зазначити, що загальний хід залежностей $\Delta H_m(x)$ та $T_m(x)$ добре узгоджується з даними [546], отриманими при $x = 0{,}5 \div 1{,}5$ К/хв. Підвищення $\Delta T_{m1/2}$ и T_m зі зростанням x також відзначалося в літературі [134, 551]. Втім, систематичного аналізу вказаних залежностей в літературі не знайдено.

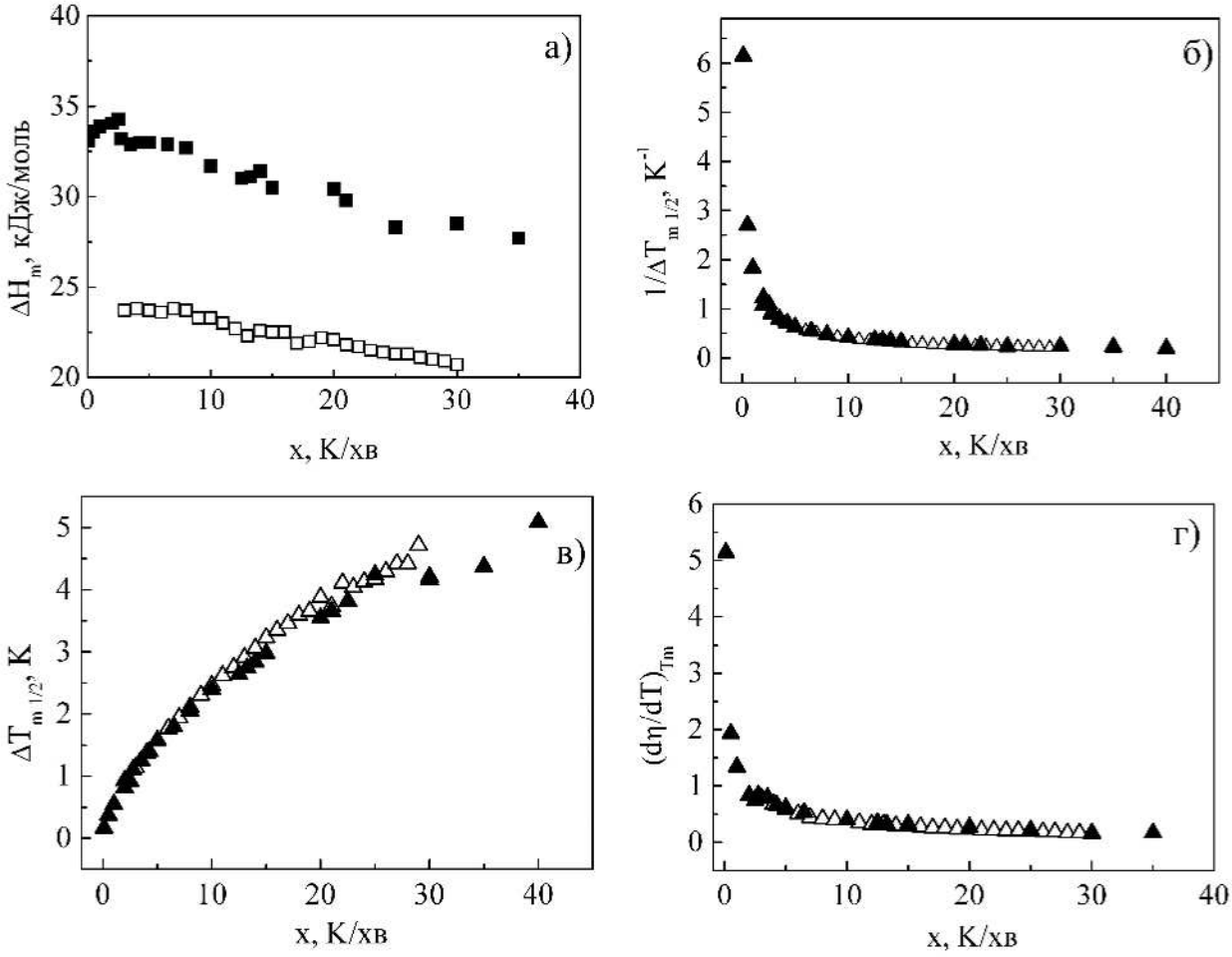


Рис. 7.3. Залежності величин ΔH_m (а), $\Delta T_{m\ 1/2}$ (б), $1/\Delta T_{m\ 1/2}$ (в) та $(d\eta/dT)_{Tm}$ (г) від швидкості термосканування для мембран ДПФХ (заповнені символи) та ДМФХ (відкриті символи).

У Табл. 7.2 наведені діапазони значень та відносні зміни вказаних термодинамічних величин. Як можна бачити, найсуттєвішу залежність від x мають $1/\Delta T_{m1/2}$ та $(d\eta/dT)_{Tm}$, тоді як ΔH_m та $\Delta T_{m\ 1/2}$ виявляються менш залежними.

Таблиця 7.2

Характеристики параметрів основного фазового переходу мембрани ДПФХ при x = 0,1 ÷ 40 К/хв

Параметр	Одиниця виміру	Діапазон значень	Відносна зміна, %
ΔT_m	К	314,7 ÷ 319,1	1,4
ΔH_m	кДж/моль	34,3 ÷ 27,7	19,2
$\Delta T_{m1/2}$	К	5,09 ÷ 0,16	96,9
$1/\Delta T_{m1/2}$	$К^{-1}$	6,14 ÷ 0,20	96,7
η	–	0,6 ÷ 0,4	33,3
$(d\eta/dT)_{Tm}$	–	5,14 ÷ 0,17	96,7
CN	–	512 ÷ 21	95,7

Залежність $1/\Delta T_{m1/2}(x)$, як і $CN(x)$, добре описується рівнянням (7.1) при a = 0,14, b = 2,47, c = 0,32 (R = 0,991). З вказаної залежності можна отримати значення $1/\Delta T_{m1/2}(0)$ = 7,85 $К^{-1}$, що відповідає $\Delta T_{m1/2}(0)$ = 0,13 К. Саме таке значення було отримано у [134] шляхом лінійної екстраполяції. Таким чином можна оцінити граничний (ненульовий) інтервал температур цього фазового переходу [131], що відрізняє його від класичних переходів I роду та задає первісну неоднорідність навіть моноліпідної мембрани.

На підставі залежностей $T_m(x)$ (Рис. 7.2) та $\Delta H_m(x)$ (Рис. 7.3, а) можна визначити, що $T_m(0)$ = 314,55 К, а $\Delta H_m(0)$ = 34 кДж/моль. З урахуванням вказаних значень, на підставі ф. (2.11) отримуємо CN = 717 ± 241. Це значення

добре узгоджується із значенням $CN = 691$, отриманим шляхом лінійної екстраполяції у роботі [134].

Різниця між CN для ДПФХ та ДМФХ, суттєва при малих x, зникає при $x > 5$ К/хв (див. вставку на Рис. 7.1), що вказує на некоректність визначення CN при більших швидкостях сканування. З іншого боку, замалі швидкості приводять до високої похибки визначення CN. Окрім того, за рахунок зниження інтенсивності теплового потоку пік передпереходу стає важко помітним. Таким чином, очевидно, що для оптимального визначення CN доцільно обирати швидкості сканування середнього діапазону.

На Рис. 7.4 представлені ДСК-термограми мембран ДПФХ, отримані при $x = 0{,}1 \div 2{,}5$ К/хв, які використовуються у переважній більшості сучасних робіт з цієї тематики [53, 134, 145, 181]. Як можна бачити, при $x = 0{,}1$ значення $\Delta T_{m1/2}$ є зіставним із експериментальною похибкою його вимірювання, що робить його визначення некоректним.

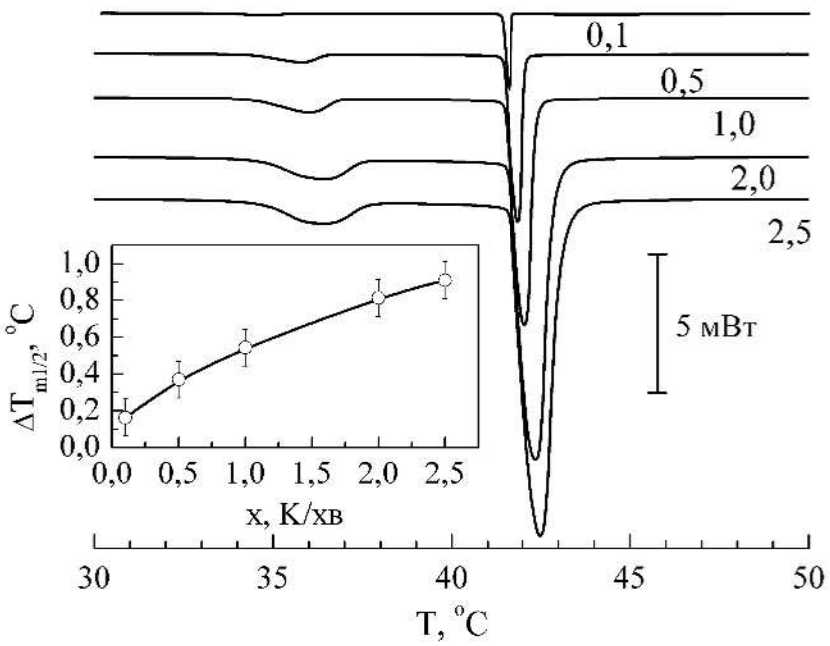


Рис. 7.4. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ, отримані за різних швидкостей сканування (значення вказані у підписах). На вставці: залежність $\Delta T_{m1/2}(x)$ та експериментальна похибка її визначення.

На цій підставі критерій вибору оптимального значення x для коректного визначення CN за конкретних експериментальних умов може бути таким: величина $\Delta T_{m1/2}$, як найбільш впливова для CN, має в декілька разів перевищувати експериментальну похибку її визначення.

Варто уваги, що в тих самих роботах, де встановлена висока збіжність параметра T_m (див. Рис. 7.2), має місце суттєвий розкид значень CN: від 260 [137] до 1400 [132]. Як випливає з вищевказаного, можливою причиною цього може бути інструментальна неточність утримання величини x: в цьому критичному для CN діапазоні найменші зміні x приводять до суттєвих змін CN (див. Рис. 7.1).

Цікавий аспект явища кооперативності ліпідів в мембрані можна виявити за допомогою наступної простої геометричної моделі. Згідно літературним даним, упаковка ліпідних молекул в мембрані гексагональна або квазігексагональна [318, 552, 553]. Саме такою в багатьох випадках є й упаковка та форма ліпідних доменів у сумішах ліпідів [554-557]. Таким чином, ліпідний домен можна представити як набір концентричних гексагональних шарів. Тоді можемо записати:

$$\mathrm{CN} = \sum_{n=0}^{N} 6n + 1 = 3N(N-1) + 1, \qquad (7.2)$$

де N – кількість умовних концентричних шарів в ліпідному домені, n – номер шару.

Звідси отримуємо

$$\mathrm{N} = \frac{\sqrt{12\mathrm{CN} - 3}}{6} - \frac{1}{2}. \qquad (7.3)$$

На Рис. 7.5 представлені результати розрахунків за формулою (7.3) значень N на підставі власних та літературних даних для CN при $x \sim 0$. Отримані

значення N з великою точністю мають дискретність у 3 концентричні ліпідні шари, що досить неочевидно та потребує подальших досліджень для пояснення. Відхилення від цієї закономірності уявляються невеликими, особливо з урахуванням того, що розрахунки виконані у наближенні ідеальної концентричної форми домену, яка в реальній мембрані може бути порушена з цілої низки причин.

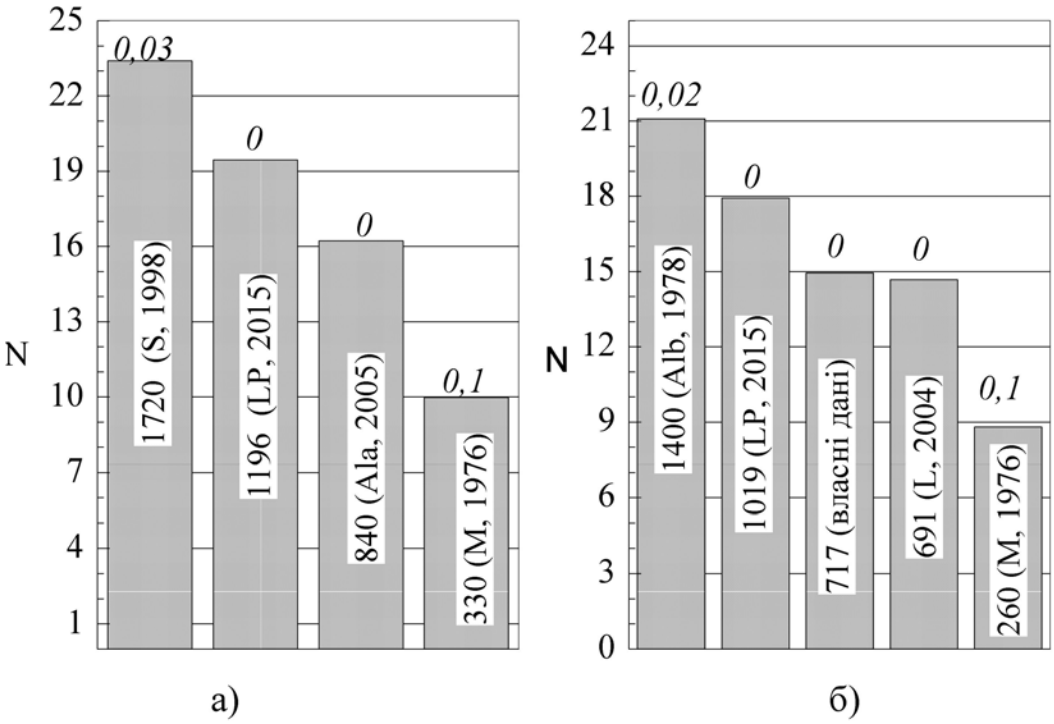


Рис. 7.5. Кількість умовних концентричних шарів ліпідів (див. (7.3)), які відповідають значенням *CN* для ДМФХ (а) и ДПФХ (б) при малих значеннях x (вказане курсивом у підписах стовпчиків). На стовпчиках вказані значення *CN* та літературне джерело (умовні позначення див. на Рис. 7.1 та Рис. 7.2).

Можна припустити також, що розкид значень *CN* при $x \sim 0$ має, окрім іншого, причину й суто технічного характеру. Дійсно, у підвищенні *CN* спостерігається хронологічний порядок (від 1976 г. до 2015 г.), що може бути пов'язане з удосконаленням калориметричної техніки. Виключення становлять роботи з найбільшим значенням *CN* [132, 548], яке може бути обумовле-

но високою чистотою речовини, що спеціально відмічається у цих роботах. Підсумовуючи вищесказане, можна зауважити, що для кооперативного ліпідного домену найбільше значення мають швидкість термічного сканування, чистота речовини та характеристики калориметру. Усе це надзвичайно ускладнює порівняння результатів, отриманих у різних роботах. Оптимальним уявляється порівняння значень *CN*, що отримані за однакових *x* (для малих *x* – навіть на одному обладнанні).

З біофізичної точки зору, кооперативний домен становить молекулярний ансамбль, зіставний з мембранними білками як за своєю масою (до 1000 кДа), так і за площею (близько 850 нм^2). Реальна клітинна мембрана містить десятки видів ліпідів [51, 52], що обумовлює зниження кооперативності [136, 141]. Це сприяє підтримці гомеостазу мембрани, оскільки дрібнодоменна мембрана є стійкішою при невеликих флуктуаціях параметрів середовища. З іншого боку, кооперативний домен *in vivo* може мати суттєві розміри внаслідок фазового розділення та сегрегації ліпідів у окремі домени [51, 515, 558-560]. Ліпідні домени у довкіллі мембранних білків обумовлюють ефекти їх дальньої дії (long-range effects). Саме такий від ліпід-білкової взаємодії показаний для модельної ліпідної мембрані з пептидом мелітіном [561], що спростовує уявлення о ліпідах як о пасивних учасниках ліпід-білкових взаємодій. Зміна розміру кооперативного домену, як показано у [80, 176], є також одним з механізмів дії ЛР. Прикладом такої речовини є барвник кальцеїн [176].

Зв'язки кооперативного домену та різноманітних факторів схематично підсумовані на Рис. 7.6. На розмір кооперативного домену впливають як властивості ліпідного бішару (хімічна структура ліпіду, ліпідний склад, наявність сторонніх молекул), так і зовнішні умови. У той же час, на вимірювану величину *CN* великий вплив мають експериментальні умови, особливо швидкість термосканування.

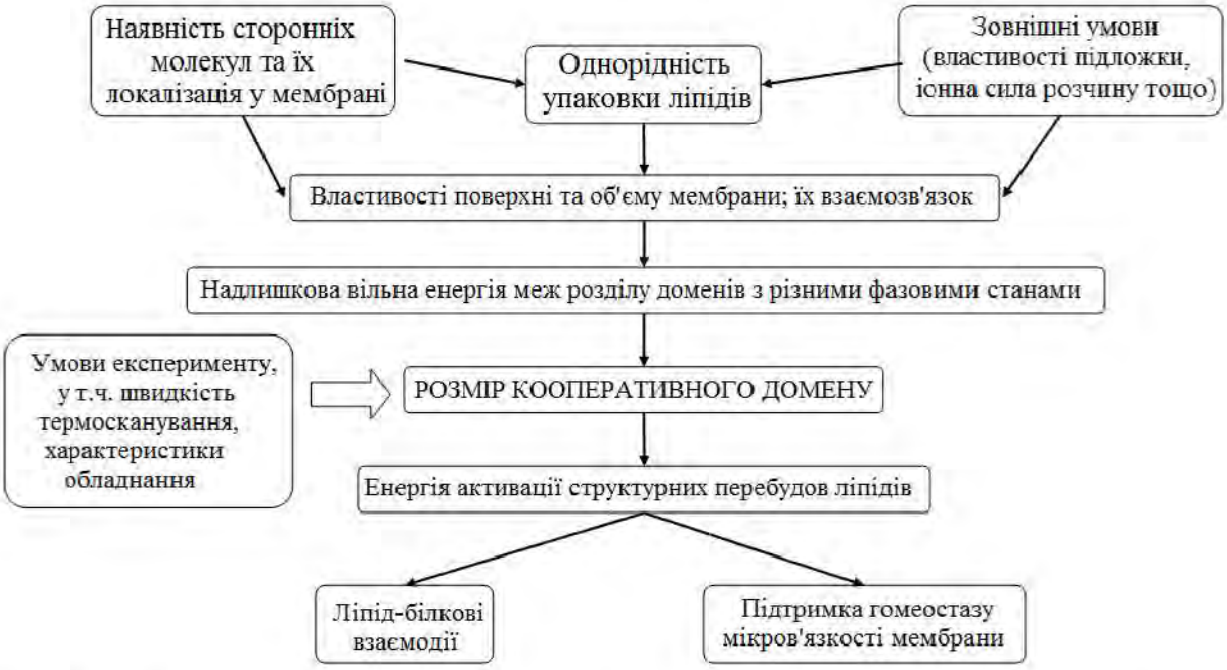


Рис. 7.6. Схема взаємозв'язків розміру кооперативного домену та властивостей мембрани.

7.2. Кінетика спільної дії тилорону та диметилсульфоксиду

Кінетичні дослідження у нерівноважних умовах забезпечують можливість моніторингу взаємодії ЛР з мембранами в режимі реального часу. Тому здавалося доцільним їх застосування до вивчення залежності спільної дії ЛР при різному порядку їх уведення. Треба зазначити, що залежність ефекту дії ЛР від порядку їх уведення вважається важливою задачею, оскільки обумовлена взаємодією ЛР з різними системами організму та глибокими взаємозв'язками функціональних систем між собою [562]. Втім, наскільки свідчить аналіз літератури, на сьогодні цій проблемі приділяється недостатньо уваги. Застосована методика моніторінгу фазового стану мембрани у кінетичному режимі (див. п. 1.2.7) забезпечує важливу інформацію щодо здатності ЛР долати мембранні бар'єри, й тому може стати до нагоди у фармакокінетичних дослідженнях [181, 309, 310, 312].

Первісним важливим питанням у кінетичних дослідженнях є спосіб внесення ЛР. Оскільки дифузія ЛР у мультибішарових структурах складаєть-

ся з дифузії саме крізь бішар й міжбішарові водні прошарки [176], суттєвим обмеженням тут є ступінь ліпофільності речовини: для високоліпофільних речовин ефективність проникнення крізь стопки ліпідних та водних шарів уявляється сумнівною [309].

В даному досліджені використані водорозчинні ЛР тилорон та ДМСО, спільна МД яких встановлена в рівноважних умовах (див. п. 5.4.2). Для досліджень у кінетичному режимі концентрації тилорону та ДМСО у водних розчинах були обрані таким чином, що вміст кожного з них складав 7 мол. % відносно ДПФХ. Для тилорону ця концентрація відповідає концентрації 5 мас. % відносно ДПФХ (або 120 мМ у водному розчині), для якої спостерігався найбільший ефект у рівноважних умовах (див. Рис. 3.12, с. 103); для ДМСО концентрація була обрана еквімолярною до концентрації тилорону – для забезпечення максимального ефекту.

Для проведення кінетичних досліджень зразок модельних мембран ДПФХ об'ємом 20 мкл розташовували в тиглі для калориметричних вимірювань, до якого додавали 5 мкл водних розчинів тилорону та/або ДМСО у вказаних концентраціях. Момент додавання розчинів вважали точкою відліку часу. Одразу після додавання розчинів тигель запечатували, після чого отримували низку послідовних ДСК-термограм. Кожний експеримент проводили тричі для підтвердження відтворюваності процесів.

В експерименті були використані різні схеми внесення ЛР (див. Табл. 7.3). При послідовному внесенні ЛР інтервал між їх додаванням складав близько доби. Приготування мембран з ЛР у рівноважних умовах (див. п. 2.1.3) було застосовано для забезпечення їх рівномірного розподілення у зразку.

ДСК-термограми систем, отримані у різних схемах внесення ЛР, наведені на Рис. 7.7. Як можна бачити, кожній схемі притаманна своєрідна кінетика зміни ДСК-профілей, втім у схемах I – III спостерігається поява низькотемпературного плеча піка основного фазового переходу. При внесенні ЛР за схемою I, спостерігалося розмивання піку передпереходу та поява низькоте-

мпературного плеча одразу після початку експерименту. При внесенні ЛР за схемою II не спостерігалося помітних змін ДСК-профілей упродовж 24 годин, до моменту внесення тилорону.

Таблиця 7.3

Схеми внесення тилорону та ДМСО до мембрани ДПФХ у кінетичних експериментах

№ схеми	Умовне позначення	Опис
I	(1)Т(2)Д	Послідовне внесення тилорону, потім ДМСО
II	(1)Д(2)Т	Послідовне внесення ДМСО, потім тилорону
III	(Т+Д)	Одночасне внесення тилорону та ДМСО
IV	(0)Д(1)Т	Внесення тилорону до мембрани із вмістом ДМСО, приготованої за рівноважних умов
V	(0)Т(1)Д	Внесення ДМСО до мембрани із вмістом тилорону, приготованої за рівноважних умов

Розкладання піку основного переходу (див. п. 2.2.8) вказує на існування двох складових: високотемпературний пік T_m = 41,9 °C та низькотемпературний пік T_m^* = 41,3 °C (Рис. 7.8). Перший з них відповідає T_m чистої мембрани ДПФХ, другий – мембрані ДПФХ із максимальним вмістом тилорону (див. Рис. 3.12, с. 103), що є критерієм коректності опрацьованої методики (див. п. 1.2.7).

Частка низькотемпературного піку η розраховувалась за формулою:

$$\eta = S^*/(S+S^*), \qquad (7.4)$$

де S^* та S – площі низькотемпературного та високотемпературного піків, відповідно (див. Рис. 7.8).

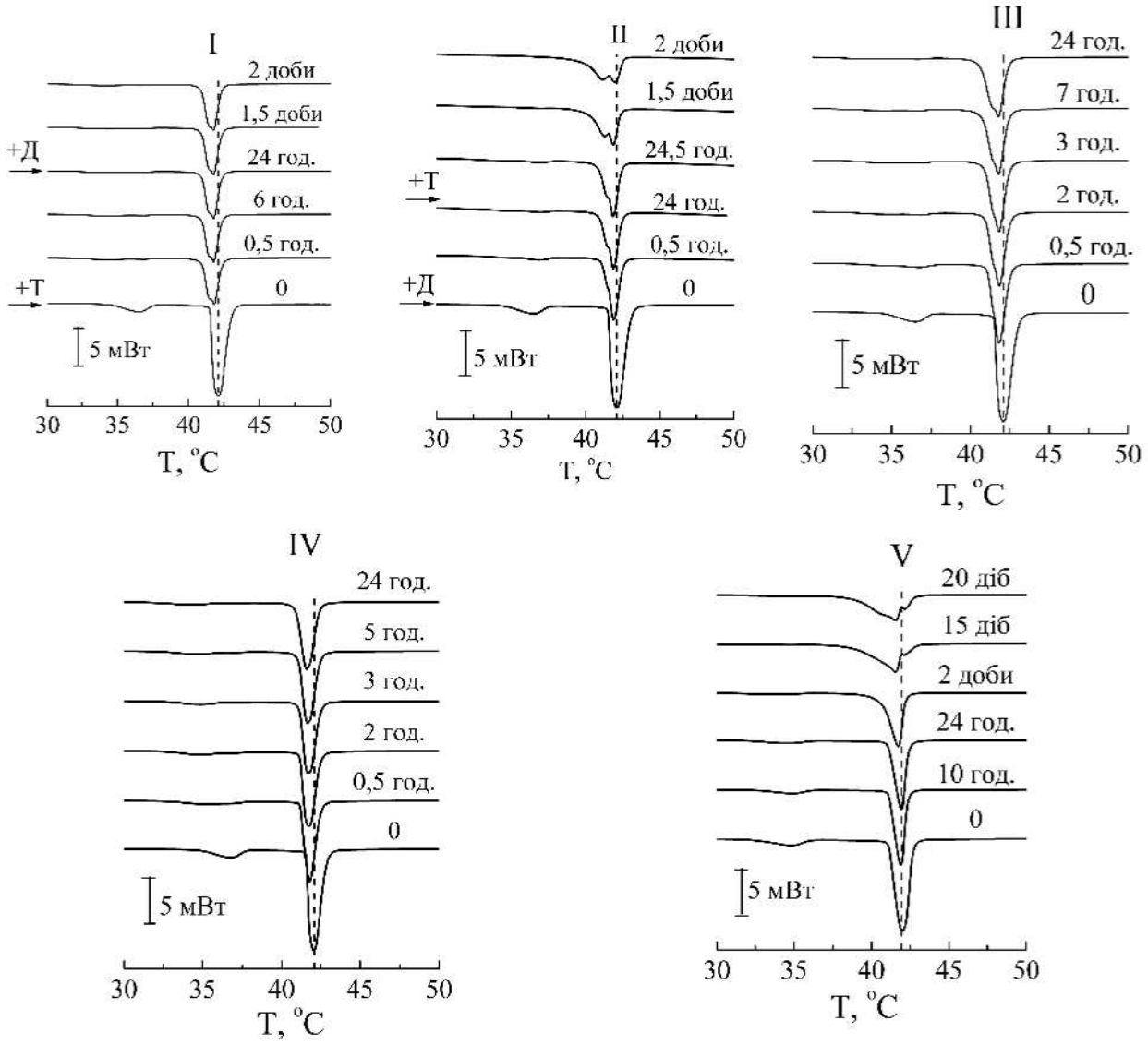


Рис. 7.7. ДСК-термограми мембрани ДПФХ з додаванням тилорону та ДМСО за різними схемами внесення (номера рисунків відповідають номерам схем у Табл. 7.3). У підписах позначений час від моменту внесення ЛР. Вертикальні пунктирні лінії відмічають величину T_m для вихідної мембрани ДПФХ.

Зважаючи на структуру досліджуваних модельних мембран, які представляють собою ліпідні бішари, розділені водними прошарками, взаємодію ЛР з мембранами в кінетичному режимі можна представити як суперпозицію процесів дифузії крізь водну фазу, зв'язування з бішаром та дифузії крізь нього. Таким чином, параметр T_m^* відбиває кінетику зв'язування тилорону з мембраною ДПФХ (адсорбції), а параметр η – ефективність дифузії тилорону крізь ліпідні мультибішари.

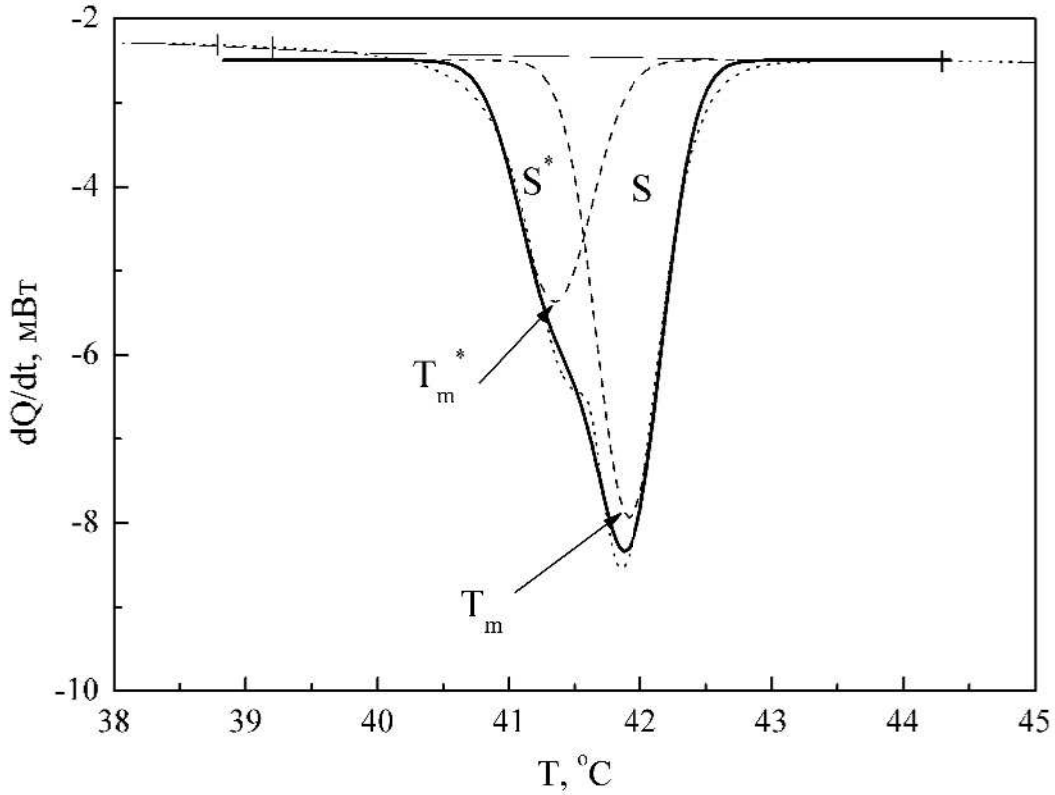


Рис. 7.8. Розкладання оригінального піку ДСК (суцільна лінія) основного фазового переходу мембрани ДПФХ із вмістом тилорону, отриманому у кінетичному режимі (суцільна лінія). Пунктирні лінії – складові; точкова лінія – огинальна крива.

Варто уваги, що у схемах I та II (Табл. 7.3) при послідовних скануваннях, коли все більша кількість ЛР взаємодіє з мембранами, різниця між T_m та T_m^* залишається незмінною (Рис. 7.9) й складає ~0,6° С, що відповідає повному насиченню мембрани тилороном. Суттєвою різницею між даними схемами є кінетичний профіль параметра η (Рис. 7.10). У схемі II цей параметр виходить на насичення вже після 9 годин експерименту, втім, додавання ДМСО через 24 години сприяє його подальшому зростанню. У схемі I η починає відрізнятися від нульового значення тільки після внесення тилорону, втім, його зростання відбувається швидше, ніж за схемою I.

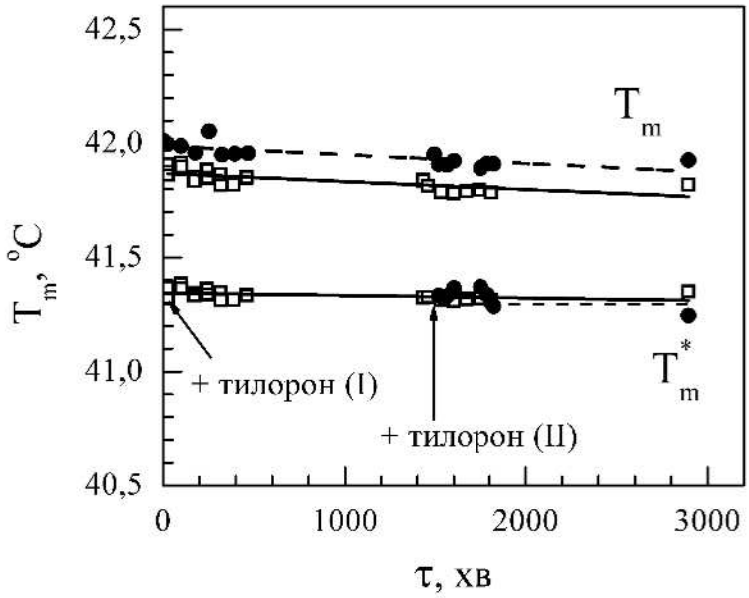


Рис. 7.9. Кінетичні профілі параметрів T_m та T_m^* мембрани ДПФХ при внесенні тилорону та ДМСО за схемами I та II (див. Табл. 7.3).

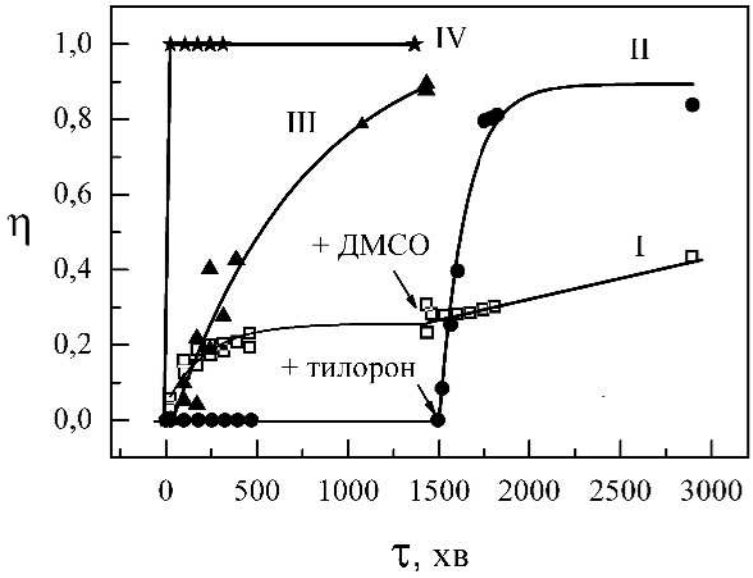


Рис. 7.10. Кінетичні профілі параметра η мембрани ДПФХ (див. ф. 7.4) при внесенні тилорону та ДМСО за різними схемами (див. Табл. 7.3). Номери схем вказані у підписах кривих.

Відмінності внесення ЛР за схемою III (одночасне внесення тилорону та ДМСО) полягають у тому, що значення T_m^*, дещо зростає з часом (Рис. 7.11),

а швидкість зростання η знаходиться між відповідними значеннями у схемах I та II (Рис. 7.10). Таку картину можна пояснити тим, що дифузія тилорону у даній системі відбувається одночасно з дифузією ДМСО та здебільшого обмежена нею.

При додаванні тилорону до мембрани, рівномірно насиченої ДМСО (схема IV), розщеплення ДСК-піку не спостерігається, тож η = 1 (Рис. 7.10). При цьому має місце поступове зниження значення T_m впродовж близько 6 годин, після чого крива $T_m(\tau)$ виходить на насичення (Рис. 7.11).

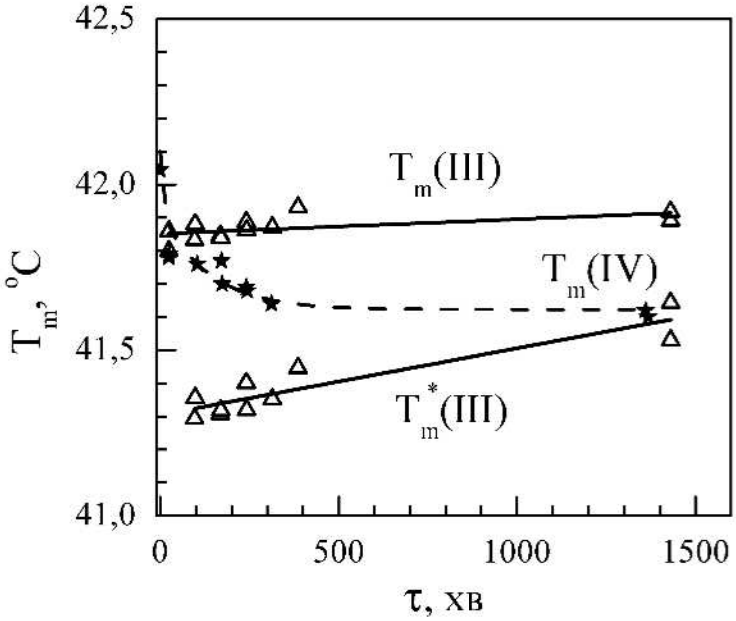


Рис. 7.11. Кінетичні профілі параметрів T_m та T_m^* мембрани ДПФХ при внесенні тилорону та ДМСО за схемами III та IV (див. Табл. 7.3).

Характерний час зниження значення T_m в цій схемі становить 8 – 9 годин, що набагато перевищує характерний час зв'язування тилорону з чистою мембраною ДПФХ (менше 30 хв.). Тож, можна зробити висновок, що ДМСО суттєво уповільнює адсорбцію тилорону на мембрані. Це відбиває конкуренцію за зв'язування з мембраною між ДМСО та тилороном, у якій останній має перевагу. Відзначимо, що саме такий висновок був зроблений при дослідженні цієї системи у рівноважних умовах на підставі аналізу квазібінарних діаграм (див. п. 5.4.2).

Найбільш несподівані та складні для інтерпретації результати дало внесення ЛР за схемою V. При додаванні ДМСО до мембрани, рівномірно насиченої тилороном, не спостерігалося змін ДСК-термограм протягом 24 годин (див. Рис. 7.7), 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 спостерігалося суттєве розмивання та розщеплення піку основного переходу, з появою як більш високотемпературного, так і щонайменш двох низькотемпературних піків. На схожі ефекти для ДМСО у мембрані ДПФХ було вказано в літературі [309], але додаткові ДСК-піків спостерігалися на 20° С нижче за T_m. Загалом така картина, певно, відбиває перерозподілення ЛР у мембрані у тривалому часовому діапазоні, хоча спостережувані процеси, звісно, потребують деталізації та пояснення.

Підсумовуючи вищесказане, можна сказати, що при внесенні ЛР за схемами I та II тилорон повністю насичує ділянки мембрани в міру їх досягнення, про що свідчить незмінність T_m та T_m^*. Швидкість насичення мембрани тилороном залежіть від розподілення ДМСО: чим більш рівномірно він розподілений, тим вищий цей показник, що можна відстежити за ходом $\eta(\tau)$. На тлі дифузії відбувається конкуренція за зв'язування з мембраною між тилороном та ДМСО, із перевагою для тилорону. Слід зазначити, що характерний час зв'язування (адсорбції) тилорону визначається часом з'явлення першого піку дифузії T_m^* й становить хвилини (~10^2 с). Втім, характерний час дифузії, що визначається ходом $\eta(\tau)$, становить години (~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. 7.11).

Детальний аналіз кінетичних змін був проведений для усіх термодинамічних параметрів досліджуваних систем: температури, ентальпії, напівширини та асиметрії основного та передпереходів. Зрозуміло, що спостережува-

ний калориметричний ефект безпосередньо відбиває швидкість дифузії тилорону та насичення ним ділянок мембрани, а цей процес, у свою чергу, залежить від концентрації тилорону. Тому якості аналітичної форми для опису даних процесів доцільнім здавалося використання моноекспоненціальної форми залежності змін параметрів з часом:

$$y = y_0 + A_0 \exp(-\tau / \tau_0), \qquad (7.5)$$

де y – певний термодинамічний параметр; y_0 – його значення при у момент часу $\tau \to \infty$ (розрахункоі рівноважні значення); τ_0 – характерний час кінетичних змін параметру y; A_0 – коефіцієнт пропорційності.

У Табл. 7.4 наведені середні значення коефіцієнтів τ_0, отримані за допомогою апроксимації (7.5) для низки термодинамічних параметрів мембрани для різних схем уведення ЛР (див. Табл. 7.3). Критерієм коректності експоненційної апроксимації слугувало значення коефіцієнту детермінації R > 0,9. (результати, які не відповідали цьому критерію, не розглядалися). У якості похибки $\delta\tau_0$ наведене стандартне відхилення апроксимації. Кінетична картина, отримана таким чином, повністю аналогічна такій, отриманій за параметром η (Рис. 7.10), що вказує на можливість проведення коректного аналізу кінетики зміни профілей ДСК й у тих випадках, коли розщеплення ДСК-піків не відбувається.

Таблиця 7.4

Характерний час кінетичних змін термодинамічних параметрів мембран ДПФХ τ_0 при уведенні тилорону та ДМСО за різними схемами

Схема / Параметр	(1)тилорон	(1)ДМСО	Схема I	Схема II	Схема III
τ_0, с	1878	911	17880	630	3966
$\delta\tau_0$, с	240	129	1940	97	681

Слід також зауважити, що значення τ_0 для тилорону при індивідуальному внесенні до ліпідної мембрани, перевищує таке для ДМСО, а обернення порядку уведення тилорону та ДМСО до ліпідної мембрани змінює τ_0 приблизно у 30 разів. Загалом, значення параметру τ_0 збільшується у ланці:

$$(1)Д(2)Т < (1)Д < (1)Т < (Т + Д) < (1)Т(2)Д.$$

Таким чином, ДМСО, незважаючи на власний незначний вплив на мембрану у використаних концентраціях, прискорює дифузію тилорону крізь мембрану, але уповільнює його адсорбцію на мембрані. Швидкість дифузії тилорону зростає у схемах (1)Т(2)Д < (Т+Д) < (1)Д(2)Т < (0)Д(1)Т. Отримані дані цілком узгоджуються із відомою здатністю ДМСО покращувати доставку лікарських засобів [380, 381, 388, 389] та вказують на неадитивність порядку внесення ЛР до мембрани.

7.3. Модель зміни проникності мембрани при спільному внесенні двох лікарських речовин

Результати досліджень методом ДСК у кінетичному режимі (див. п. 7.2), свідчать про підвищення дифузії тилорону в присутності ДМСО, що цілком узгоджується з відомою здатністю ДМСО посилювати проникність речовин крізь мембрану [387, 389, 563]. Згідно [563], конденсуючий ефект ДМСО індукує нерівномірність латерального розподілу ліпідів, що може становити один з механізмів зміни проникності мембрани, індукованої ДМСО.

Для описання спостережуваного ефекту зміни дифузії ЛР у спільному внесенні до мембрани можна запропонувати наступну модель. Припустимо, що для однорідної мембрани швидкість дифузії ЛР (кількість речовини, що проходить крізь мембрану в одиницю часу) однакова в усіх точках на її поверхні (у випадку неоднорідної мембрани ця швидкість може мінятися вздовж поверхні). Коефіцієнт проникності P визначається з загальної по поверхні швидкості дифузії ЛР, й тому може залежати від виду неоднорідності. Для спрощення вважаємо, що поверхня моноліпідної мембрани складається з ліпідних комірок, причому при внесенні ЛР ліпідні молекулі зсуваються з

вихідного стану (див. Рис. 4.6). Таким чином, неоднорідність мембрани при внесенні ЛР складається з:

1) зсуву молекул ліпідів;
2) зменшення кількості вільних ліпідних комірок внаслідок адсорбції ЛР.

Розглянемо випадок, коли одна з ЛР (ЛР1) зв'язана з мембраною, до якої уводять другу ЛР (ЛР2), дифузія якої відбувається шляхом проникнення крізь ліпідні комірки.

1) *Вплив зсуву молекул ліпідів.*

Швидкість дифузії ЛР2 крізь ліпідну комірку

$$n_i = As_i \Delta c \exp\left(-\frac{U(s_i)}{kT}\right), \tag{7.6}$$

де n_i – кількість ЛР2, що пройшло крізь i-ту комірку ліпідної мембрани; s_i – площа комірки; Δc – градієнт концентрацій ЛР2 з обох боків мембрани; $U(s_i)$ – величина потенційного бар'єру, який необхідно подолати ЛР2 для дифузії крізь мембрану (для спрощення приймемо, що він залежить тільки від s_i); А – константа.

Тоді швидкість проникнення ЛР2 крізь всю мембрану

$$n = \sum_{i=1}^{N} As_i \Delta c \exp\left(-\frac{U(s_i)}{kT}\right), \tag{7.7}$$

де N – кількість ліпідних комірок у мембрані.

У випадку однорідної мембрани ($s_i = s_0$)

$$n = N \cdot As_0 \Delta c \exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right), \tag{7.8}$$

причому $N \cdot s_0 = S$ (площа мембрани).

Коефіцієнт проникності, за визначенням [564], дорівнює

$$P = \frac{n}{S\Delta c}, \tag{7.9}$$

що у для однорідної мембрани можна записати як

$$P_0 = A\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right), \tag{7.10}$$

а для неоднорідної – як

$$P = \sum_{i=1}^{N} A\frac{s_i}{S}\exp\left(-\frac{U(s_i)}{kT}\right). \tag{7.11}$$

Якщо $f(s)$ – густина вірогідності розподілення комірок по поверхні мембрани, то

$$P = \int_0^S A\frac{s}{S}\exp\left(-\frac{U(s)}{kT}\right)\cdot f(s)\,N\cdot ds, \tag{7.12}$$

при цьому $S/N = s_0$.

Якщо деформації комірок незначні, $s = s_0 + \sigma$, $\sigma << 0$ можна розкласти підінтергальний вираз у (7.12) по σ до квадратичного доданку (причини саме такого обмеження будуть обговорені нижче):

$$
\begin{aligned}
&(s_0+\sigma)\cdot\exp\left(-\frac{U(s_0+\sigma)}{kT}\right)\approx s_0\cdot\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)+\\
&+\left(1-\frac{U'(s_0)}{kT}s_0\right)\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)\cdot\sigma-\\
&-\left[\frac{U''(s_0)}{kT}s_0+2\frac{U'(s_0)}{kT}-\left(\frac{U'(s_0)}{kT}\right)^2 s_0\right]\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)\frac{\sigma^2}{2}
\end{aligned}
\quad . \qquad (7.13)
$$

Відмітимо, що величина σ може бути як позитивною, так і негативною. Інтеграл від першого доданку у (7.13) становить

$$
\int_0^S A\frac{1}{s_0}s_0\cdot\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)\cdot f(s)\,ds = A\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)=P_0, \qquad (7.14)
$$

тобто, дорівнює коефіцієнту проникності однорідної мембрани.

Інтеграл від другого доданку у (7.13) становить

$$
\int_0^S A\frac{1}{s_0}\left[\left(1-\frac{U'(s_0)}{kT}s_0\right)\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)\cdot\sigma\right]\cdot f(s)\,ds = P_0\cdot\left(1-\frac{U'(s_0)}{kT}s_0\right)\cdot\frac{\langle\sigma\rangle}{s_0}, \qquad (7.15)
$$

де $<\sigma>$ – середнє відхилення площ комірок від s_0. У випадку збереження сумарної площі мембрани ця величина дорівнює нулю. Саме з цієї причини не можна обмежуватись лінійним доданком у (7.13).

Інтеграл від останнього доданку у (7.13) становить

$$
\begin{aligned}
&-\int_0^S A\frac{1}{s_0}\left[\frac{U''(s_0)}{kT}s_0+2\frac{U'(s_0)}{kT}-\left(\frac{U'(s_0)}{kT}\right)^2 s_0\right]\exp\left(-\frac{U(s_0)}{kT}\right)\frac{\sigma^2}{2}\cdot f(s)\,ds=\\
&=-P_0\cdot\left[\frac{1}{2}\frac{U''(s_0)s_0^2}{kT}+\frac{U'(s_0)s_0}{kT}-\frac{1}{2}\left(\frac{U'(s_0)s_0}{kT}\right)^2\right]\cdot\frac{1}{s_0^2}\int_0^S\sigma^2\cdot f(s)\,ds=\\
&=-P_0\cdot\left[\frac{1}{2}\frac{U''(s_0)s_0^2}{kT}+\frac{U'(s_0)s_0}{kT}-\frac{1}{2}\left(\frac{U'(s_0)s_0}{kT}\right)^2\right]\cdot\frac{\langle\sigma^2\rangle}{s_0^2}
\end{aligned}
\quad . \qquad (7.16)
$$

Таким чином, коефіцієнт проникності мембрани становить

$$P = P_0\left(1+\left(1-\frac{U'(s_0)}{kT}s_0\right)\cdot\frac{\langle\sigma\rangle}{s_0}-\left[\frac{1}{2}\frac{U''(s_0)s_0^2}{kT}+\frac{U'(s_0)s_0}{kT}-\frac{1}{2}\left(\frac{U'(s_0)s_0}{kT}\right)^2\right]\cdot\frac{\langle\sigma^2\rangle}{s_0^2}\right). \quad (7.17)$$

При постійній площі мембрани знак зміни коефіцієнту проникності визначається знаком квадратичного доданку (протилежний йому).

У випаду кулонівського бар'єру

$$U(s) = mk^{el}\frac{qq_0}{\alpha\sqrt{s}}, \quad (7.18)$$

де m – кількість ліпідних молекул, що складають комірку; q_0 – модуль заряду ліпідних молекул; q – модуль заряду молекули ЛР2; $\alpha\sqrt{s}$ – характерна відстань між молекулами ліпіду та ЛР2 (α – константа); k^{el} – константа.

Оскільки

$$U''(s) = \frac{3}{4}mk^{el}\frac{qq_0}{\alpha s^{5/2}}, \quad (7.19)$$

коефіцієнт проникності (7.17) зміниться на

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

$$= \frac{1}{8}P_0\frac{mk^{el}\frac{qq_0}{\alpha s_0^{1/2}}}{kT}\left[1+\frac{mk^{el}\frac{qq_0}{\alpha s_0^{1/2}}}{kT}\right]\cdot\frac{\langle\sigma^2\rangle}{s_0^2} \quad (7.20)$$

Ця величина позитивна (q та q_0 – модулі зарядів) – тож, коефіцієнт проникності мембрани при збереженні сумарної площі у випадку кулонівського потенціалу збільшується, тобто дифузія підвищується. Саме такий ефект спостерігався в експерименті.

Слід зазначити, що ефект збільшення проникності мембрани за рахунок виникнення неоднорідностей обґрунтований в [565] для бінарних ліпідних сумішей у рамках моделі спонтанного виникнення порожнин вільного об'єму.

2) *Вплив зменшення кількості вільних ліпідних комірок внаслідок адсорбції ЛР.*

Зрозуміло, що проникність ліпідної комірки, у якій адсорбована ЛР1, буде меншою за проникність вільної комірки (можна вважати, що проникність такої комірки для ЛР2 буде нульовою). Тоді з отриманого виразу (7.17) треба відняти величину $\tilde{P}$ – внесок комірок, які виключено з процесу дифузії.

Якщо концентрація молекул ЛР1 невелика й вони зв'язуються з мембраною незалежно одна від одної, то на підставі (7.10) можемо записати:

$$\tilde{P} = K \cdot A \frac{\tilde{s}}{S} \exp\left(-\frac{U(\tilde{s})}{kT} \right), \tag{7.21}$$

де K – кількість молекул ЛР1 на мембрані; $\tilde{s}$ – площа комірки, зайнятої ЛР1.

Треба зазначити, що у випадку ДМСО величина $\tilde{s}$ буде найменшою серед усіх площ ліпідних комірок, що пов'язано з космотропними властивостями ДМСО. З цього випливає, що й величина потенційного бар'єру для таких комірок найбільша. Враховуючи, що $K \cdot \tilde{s} << S$ (тобто, зміни вільної площі мембрани незначні), цей внесок буде невеликим у порівнянні з P_0, але позитивним. Втім, і негативний внесок (7.20) є невеликим за відносною величиною. Нарешті, величина $\tilde{P}$ не є константою внаслідок вищезазначеної конкуренції ЛР за зв'язування з мембраною. У випадку ДМСО та тилорону перева-

гу має останній, що дозволяє знехтувати величиною $\tilde{P}$. У загальному випадку результат вказаної конкуренції цих трьох складових, очевидно, потребує додаткових досліджень.

Підсумовуючи отримані результати, треба виділити низку основних аспектів, які можуть мати значення для подальшого розвитку робіт в напрямку вивчення взаємодій компонентів лікарських препаратів з модельними мембранами. Це, перш за все, висвітлення зв'язку між термодинамічними й структурними параметрами ліпідних мембран та їх функціонуванням у живому організмі. Одним з таких відомих параметрів є мікров'язкість, або тікучість мембрани, зміни якої внаслідок взаємодій мембрани з екзогенними речовинами є одним з важливих регулювальних факторів неспецифічної проникності мембрани та активності мембранних білків – тобто, мають безпосередній відгук у функціонуванні клітини. Адекватна реєстрація змін такого комплексного параметру, як мікров'язкість мембран при їх взаємодії з екзогенними речовинами потребує залучення широкої ланки сучасних методів дослідження – термодинамічних, спектроскопічних, люмінесцентних, вивчення закономірностей змін надмолекулярної структури мембран та їх проникності, квантово-хімічного моделювання та ін.

Іншим потужним фактором регуляції життєдіяльності клітини виступає латеральне фазове розділення ліпідів, яке може бути безпосередньо залучене до міжмолекулярних взаємодій типу «фермент – субстрат», а також «лікарська речовина – молекулярна мішень» (для мембраноактивних речовин) шляхом відокремлення суб'єктів взаємодії у ліпідних доменах різного складу або, навпаки, їх концентрування – у випадках спорідненості до доменів однакового складу. Тож, вивчення взаємодій лікарських речовин з мембранами різного ліпідного складу надає цінну інформацію щодо можливості варіювання їх терапевтичних властивостей як в плані видоспецифічності (диференціація дії лікарської речовини на клітіни-мішені та клітини організму), так і в плані урахування варіацій ліпідного складу мембран за наявності сталих

змін метаболізму при патологічних станах та захворюваннях. Слід зазначити, що вивчення механізмів кількісної та, особливо, якісної модуляції мембранотропного ефекту певної речовини при зміні ліпідного складу мембрани є окремою задачею, важливою не тільки з точки зору практичного застосування, але й в галузі фізики складних рідин, зокрема, рідких кристалів.

Унікальною, але на сьогодні слабко вивченою, характеристикою мембран є розмір кооперативного домену ліпідів, який має відношення як до регуляції ліпід-білкових взаємодій, так і до підтримки гомеостазу властивостей мембрани. Окрім того, розмір кооперативного домену ліпідів відповідає за часові параметри відгуку мембран на дію зовнішних факторів – як хімічних (присутність лікарських речовин, зміна іонного складу середовища, pH тощо), так і фізичних (температура, тиск, поверхневий натяг, електромагнітні поля та ін.) – тож, має суттєве біологічне значення.

Важливою задачею постає також розробка комплексного аналітичного підходу, який дозволив би встановлювати мембранотропну дію лікарських та інших речовин на підставі базового набору їх визначальних молекулярних параметрів та, отже, оптимізувати склад лікарських препаратів відповідно до конкретних біомедичних завдань. В цьому напрямку перспективним уявляється створення та удосконалення математичних моделей, які враховують механізми взаємодій екзогенних речовин з мембраною, та співставлення результатів, отриманих за їх допомогою, з даними квантово-хімічного моделювання. Загалом, встановлення мембранотропної дії лікарських речовин методами *in vitro* та *in silico* має суттєво зменшити витрати на доклінічне тестування препаратів.

На тлі вказаних проблем цілком зрозуміло, що вивчення спільних взаємодій з мембраною двох або більшої кількості речовин є задачею наступного рівню складності – втім, її вирішення необхідне з огляду на багатокомпонентний склад як оточення клітинної мембрани, так і суічасних лікарських препаратів. В цьому напрямку перспективними уявляються застосовані у роботі методики вивчення парної мембранотропної дії речовин, які у разі утво-

рення комплексу або сполуки вказують на їх стехіометрію у мембранному середовищі, а у разі відсутності безпосереднього контакту внесених до мембрани речовин – на перевагу зв'язування з мембраною однієї з них. Методики порівняння мембранопної дії лікарських препаратів-аналогів та висвітлення внеску допоміжних речовин у мембранотропну дію лікарського препарату, запропоновані у роботі, уявляються корисними з практичної точки зору як важлива стадія розробки, тестування та оптимізації складу лікарських препаратів. Перевагою усіх вказаних методик є те, що вони можуть бути застосовані до речовин різної хімічної будови та властивостей, зокрема водночас до гідрофільних та гідрофобних речовин, що відкриває можливість дослідження мембран-опосередкованих взаємодій не тільки між компонентами лікарських препаратів, але й між різноманітними компонентами клітинного середовища, що має загальнобіологічне та біофізичне значення.

Еритроцити, використані як модельне клітинне середовище для дослідження взаємодій компонентів лікарських препаратів з ліпідними мембранами, показали обнадійливі результати в плані вивчення як індивідуальної, так і спільної мембранотропної дії. Морфологія еритроцитів та їх здатність до гемолізу виявилися зручним критерієм оцінки модуляції дії лікарських препаратів на клітинному рівні. Тут, звичайно, слід враховувати, що біомембрани еритроцитів є вискокорганізованою багатокомпонентною системою, яка містить не тільки десятки видів ліпідів та вуглеводів, але й потужний спектриновий матрикс, який великою мірою відповідає за морфологію та структурну цілісність цих клітин. Тож, результати, отримані для еритроцитв, за своїм біологічним сенсом максимально наближені до відгуку біомембран нативних клітин – втім, потребують додаткової деталізації та інтерпретації з урахуванням структури клітинної мембрани.

Дуже перспективиним уявляється застосування методу калориметрії для вивчення взаємодії лікарських препаратів з ліпідними мембранами у кінетичному режимі, що дозволяє масштабувати ці взаємодії до інтервалів реального часу. Одним з найближчих кроків розвитку цього напрямку є порівняння

кінетичних параметрів ваємодії з мембраною власно лікарських препаратів та їх ліпосомальних форм, що необхідно для оптимізації їх терапевтичної дії. До того ж, як показали отримані результати, такий підхід дозволяє висвітлити вплив порядку уведення речовин – принаймні, на стадії їх взаємодій з мембраною, – що є важливим, але на сьогодні недостатньо розробленим напрямком досліджень.

Таким чином, запропоновані у роботі напрямки та розробки мають своє логічне продовження та застосування як у прикладних, так і у фундаментальних дослідженнях.

7.4. Висновки до розділу 7

У сьомому розділі проведені дослідження модельних ліпідних мембран у кінетичних режимах:

1. Визначено гіперболічний вид залежностей розміру кооперативного домену ліпідів мембран ДПФХ та ДМФХ від швидкості термосканування x. 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 літературними даними і свідчать про ненульову граничну напівширину основного фазового переходу ліпідної мембрани і отже про скінченний граничний розмір кооперативного домену, який визначає первинну неоднорідність моноліпідної мембрани.
2. Проведено дослідження спільної дії ЛР тилорону та ДМСО у мембрані ДПФХ у кінетичних умовах. Використані різноманітні схеми внесення ЛР у мембрану (послідовне або спільне), а також внесення одного ЛР у мембрану з рівномірним розподілом іншої ЛР. 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).

3. Встановлено, що неадитивність спільної мембранотропної дії тилорону та ДМСО за порядком їх уведення до ліпідної мембрани в кінетичному режимі обумовлена суперпозицією двох механізмів: уповільненням сорбції на мембрані ДМСО внаслідок переваги тилорону у конкурентній сорбції на мембрані та пришвидшенням пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності ДМСО за механізмом виникнення неоднорідності пакування ліпідів.
4. Запропоновано математичну модель, яка описує зміну дифузії однієї ЛР внаслідок зв'язування з мембраною іншої ЛР. В рамках цієї моделі показано, що виникнення неоднорідності у латеральній упаковці ліпідних молекул внаслідок адсорбції однієї ЛР може викликати зміну проникності мембрани до іншої ЛР навіть за умов збереження постійної загальної площі молекули. При цьому проникність мембрани може як збільшуватися, так і зменшуватися, що, зокрема, залежить від форми потенціалу взаємодії ЛР з мембраною.

Основні результати цього розділу викладено в роботах [20], [21].

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, лантаноїдів, галогенів), суттєва роль у взаємодії з мембраною належить поверхневій щільності заряду іону. Оцінене критичне значення поверхневої щільності заряду (~ $5\cdot10^{-4}$ Кл/нм^2 для катіонів та ~ $3\cdot10^{-4}$ Кл/нм^2 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 анізометрія, яка корелює з величиною ефекту.
3. Для низки речовин (амонієвих сполук, стеаратів кальцію та магнію, кон'югатів метотрексату та бетулонової 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 мембранопного ефекту у інтервалі коефіцієнтів ліпофільності *logP* від 0 до 6 та зменшення ефекту при подальшому підвищенні *logP*, що узгоджується з відомими літературними даними щодо значень *logP*, 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 характеризації 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, аспірину, фенспіриду та фенібуту належіть лікарській речовині, тоді як внесок допоміжних речовин є модулювальним.

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 противірусної речовини тилорону та протизапальної речовини диметилсульфоксиду за порядком їх уведення 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

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.

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.

4. Vashchenko O.V., Kasian N.A., Pashynska V.A., Kosevich M.V., Sadchenko A.O., Tishko D.N., Tishko T.V., Titar 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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].

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.

13. Vashchenko O.V., Ermak Yu.L., Lisetski L.N. Univalent ions in phospholipid model membranes: thermodynamic and hydration aspects // Biophysics. 2013, Vol. 58 (4). P. 515-523.

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.

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.

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.

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.

18. Sadchenko A.O., Vashchenko O.V., Puhovkin A.Yu., Kopeika E.F., Kasian N.A., Budiyanska L.V., Maschenko A.V., Al-Mugkhrabi 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.

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.

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.

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.

22. Vashchenko O.V., Kasian N.A., Budianska L.V., Brodskii R.Ye., Bespalova I.I., Lisetski L.N.Adsorption of ions on model phospolipid membranes // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 275. P. 173-177.

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.

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.

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.

26. Ермак Ю.Л., Ващенко О.В. Влияние нитрата серебра на мультибислои 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.

27. Iermak Iu.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.

28. Pashynska V., Kosevich M., Vashchenko O., Lisetski L., Gomory A., Vekey K. Mass spectrometry as en 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.

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 (ICEPOM) : Proc. 9th International Conference, 20-24 May 2013. Lviv, 2012. P. 49.

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 Meeteing, 2-4 July, 2013. : book of abstracts. Pardubice, 2013. P-19.

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.

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.

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.

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.

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 studyies // Nanobiophysics: fundamental and applied aspects : 4th Intern. conf., 1-4 Oct., 2015. : book of abstracts. Kyiv, 2015. P. 36.

36. Vashchenko O.V., Sadchenko A.O., Budianska L.V. Hydration properties of drug compounds by the evidence of thermogravimetry analisys // Physics of

liquid matter: Modern problems : 7th Intern. conf., 27-30 May, 2016. : abstracts. Kyiv, 2016. P. 40.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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, біониці та біокібернетиці, 18-20 жовт. 2018 р. : матеріали. Київ, 2018. С. 10.

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.

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.

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).

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.

48. Kučerka N., Gallová J., Uhríková D. The membrane structure and function affected by water // Chem. Phys. Lipids. 2019. Vol. 221. P. 140-144.

49. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. Москва, 1980. 320 с.

50. Escribá P.V. Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine // Trends Mol. Med. 2006. Vol. 12 (1). P. 34-43.

51. Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции. Москва, 1997. 634 с.

52. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного бислоя. Москва, 1981. 296 с.

53. Kharakoz D.P., Panchelyuga M.S., Tiktopulo E.I., Shlyapnikova E.A. Critical temperatures and a critical chain length in saturated diacylphosphatidylcholines: calorimetric, ultrasonic and Monte Carlo simulation study of chain-melting/ordering in aqueous lipid dispersions // Chem. Phys. Lipids. 2007. Vol. 150. P. 217-228.

54. Рубин А. Б. Биофизика. В 2-х т. Т. 2. Биофизика мембранных процессов. 2-е изд. Москва, 1999. 288 с.

55. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия Москва, 1986. 816 с.

56. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Липидный бислой биологических мембран. Москва, 1982. 224 с.

57. Nes W.R. Role of sterols in membranes // Lipids. 1974. Vol. 9 (8). P. 596-612.

58. Тараховский Ю.С. Липидный бислой и небислойные структуры в организации и функционировании биологических мембран: дис. д. биол. наук : Пущино, 2003.

59. Koynova R., Caffrey M. Phases and phase transitions of the phosphatidylethanolamines // Chem. Phys. Lipids. 1994. Vol. 69. P. 1-34.

60. Koynova R., Tenchov B. Transitions between lamellar and non-lamellar phases in membrane lipids and their physiological roles // OA Biochemistry. 2013. Vol. 1(1). 9 p.

61. Cullis P.R., de Kruijff B. The polymorphic phase behavior of phosphatidylethanolamines of natural and synthetic origin. A ^{31}P NMR study. Biochim. Biophys. Acta. 1978. Vol. 513. P. 31-42.

62. Israelachvili J.N., Mitchell D.J. A model for the packing of lipids in bilayer membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1975. Vol. 389. P. 13-19.

63. Israelachvili J.N., Marcelja S., Horn R.G. Physical principles of membrane organization // Q. Rev. Biophys. 1980. Vol. 13. P. 121-200.

64. Coster H.G.L. The physics of cell membranes // J. Biol. Phys. 2003. Vol. 29. P. 363-399.

65. Cullis P.R., de Kruijff B. Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1979. Vol. 559. P. 399-420.

66. de Kruijff B. Lipid polymorphism and biomembrane function. Curr. Opin. Chem. Biol. 1997. Vol. 1. P. 564-569.

67. Lafleur M., Bloom M., Eikenberry E.F., Gruner S.M., Han Y., Cullis P.R. Correlation between lipid plane curvature and lipid chain order // Biophys. J. 1996. Vol. 70. P. 2747-2757.

68. Щипунов Ю.А. Самоорганизующиеся структуры лецитина // Усп. химии. 1997. Т. 66 (4). С. 328-352.

69. Shchipunov Yu.A. Planar bilayer lipid membranes, binary phase diagrams, and their relationship // Биол. мембраны. 1996. Т. 13 (3). С. 322-329.

70. Koynova R., Caffrey M. Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1376. P. 91-145.

71. Takahashi H., Matuoka S., Amemiya Y., Hatta I. Simultaneous differential scanning calorimetry and time-resolved X-ray diffraction of lipid-water system. I. Relationship between chain melting and endothermic heat at the main transition of a dipalmitoylphosphatidylcholine-water system // Chem. Phys. Lipids. 1995. Vol. 76. P. 115-121.

72. Heimburg T. A model for the lipid pretransition: coupling of ripple formation with the chain-melting transition // Biophys. J. 2000. Vol. 78. P. 1154-1165.

73. Wack D.C., Webb W.W. Synchrotron X-ray study of the modulated lamellar phase $P_{\beta'}$ in the lecithin-water system // Phys. Rev. A. 1989. Vol. 40 (5). P. 2712-2730.

74. Cametti C., De Luca F., Maraviglia B., Sorio B. Low-frequency dielectric study of the pretransition region in DPL-water model membrane // Chem. Phys. Lett. 1985. Vol. 118 (6). P. 626-628.

75. J. Katsaras J., Tristram-Nagle S., Liu Y., Headrick R.L., Fontes E., Mason P.C., Nagle J.F. Clarification of the ripple phase of lecithin bilayers using fully hydrated, aligned samples // Phys. Rev. E. 2000. Vol. 61 (5). P. 5668-5677.

76. Singer S.J., Nicolson G.L. The fluid mosaic model of cell membranes // Science. 1972. Vol. 175. P. 720-731.

77. Peetla C., Stine A., Labhasetwar V. Biophysical interactions with model lipid membranes: applications in drug discovery and drug delivery // Mol. Pharm. 2009. Vol. 6 (5). P. 1264-1276.

78. Vereb G., Szollosi J., Matko J., Nagy P., Farkas, T., Vigh L., Matyus L., Waldmann T.A., Damjanovich S. Dynamic, yet structured: The cell membrane three decades after the Singer-Nicolson model // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003. Vol. 100. P. 8053-8058.

79. Джоунс М. Биохимическая термодинамика. Москва, 1982. 440 с.

80. Jain M.K. Possible modes of interaction of small molecules with lipid bilayer in biomembrane // Proc. INSA. 1979. Vol. 45A (6). P. 567-577.

81. Marsh D. Lateral pressure in membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1996. Vol. 1286. P. 183-223.

82. Guo Y., Pogodin S., Baulin V.A. General model of phospholipid bilayers in fluid phase within the single chain mean field theory // J. Chem. Phys. 2014. Vol. 140. Article 174903. 9 p.

83. Pinto O.A., Disalvo E.A. A new model for lipid monolayer and bilayers based on thermodynamics of irreversible processes // PLoS ONE. 2019. Vol. 14 (4). Article e0212269. 19 p.

84. Giammarinaro M.S., Micciancio S. Hysteresis at the $L_\alpha - P_{\alpha\beta}$ phase transition in hen egg lecithin // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1981. Vol. 76 (1-2). P. 35-41.

85. Rabinovich A.L., Balabaev N.K., Alinchenko M.G., Voloshin V.P., Medvedev N.N., Jedlovszky P. Computer simulation study of intermolecular voids in unsaturated phosphatidylcholine lipid bilayers // J. Chem. Phys. 2005. Vol. 122. Article 084906. 13 p.

86. Seeger H.M., Gudmundsson M.L., Heimburg T. How anesthetics, neurotransmitters, and antibiotics influence the relaxation processes in lipid membranes // J. Phys. Chem. B. 2007. Vol. 111 (49).P. 13858-13866.

87. Kupiainen M., Falck E., Ollila S., Niemelä P., Gurtovenko A.A. Free volume properties of sphingomyelin, DMPC, DPPC and PLPC bilayers // J. Computat. Theor. Nanosci. 2005. Vol. 2. P. 401-413.

88. Wohl C.J., Helms M.A., Chung J.O., Kuciauskas D. Phospholipid bilayer free volume analysis employing the thermal ring-closing reaction of merocyanine molecular switches// J. Phys. Chem. B. 2006. Vol. 110. P. 22796-22803.

89. PubChem database [Electronic resource] // Open Chemistry Database at the National Institutes of Health (NIH) of USA. URL: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (дата звернення: 09.09.2015).

90. Simons K., Vaz W.L.C. Model systems, lipid rafts, and cell membranes // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2004. Vol. 33. P. 269-295.

91. Pereira-Leite C., Nunes C., Reis S. Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with membranes: *in vitro* assessment and relevance for their biological actions // Progr. Lipid Res. 2013. Vol. 52. P. 571-584.

92. Griffin R.G., Powers L., Pershan P.S. Head-group conformation in phospholipids: a phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study of oriented monodomain dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers // Biochemistry. 1978. Vol. 17 (14). P. 2718-2722.

93. Vermeer L.S., de Groot B.L., Réat V., Milon A., Czaplicki J. Acyl chain order parameter profiles in phospholipid bilayers: computation from molecular

dynamics simulations and comparison with ^{2}H NMR experiments // Eur. Biophys. J. 2007. Vol. 36. P. 919-931.

94. Пикин С.А., Харакоз Д.П., Тиктопуло Л.И., Пикина Е.С. Молекулярные аспекты главного фазового перехода в липидных системах как слабого перехода первого рода. I. Модель термодинамического поведения липидных мембран // Кристаллография. 2005. Т. 50 (2). С. 344-351.

95. Liu A., Qi X. Molecular dynamics simulations of DOPC lipid bilayers: the effect of Lennard-Jones parameters of hydrocarbon chains // Computat. Mol. Biosci. 2012. Vol. 2. P. 78-82.

96. Frolov V.A., Shnyrova A.V., Zimmerberg J. Lipid polymorphisms and membrane shape // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2011. Vol. 3. Article a004747.

97. Cullis P.R., Hope M.J., Tilcock C.P.S. Lipid polymorphism and the roles of lipids in membranes // Chem. Phys. Lipids. 1986. Vol. 40. P. 127-144.

98. Nagle J. F., Cognet P., Dupuy F. G., Tristram-Nagle S. Structure of gel phase DPPC determined by X-ray diffraction // Chem. Phys. Lipids. 2019. Vol. 218. P. 168-177.

99. Nagle J.F. X-Ray Structure determination of fully hydrated L_α-phase dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers // Bioph. J. 1996. Vol. 70. P. 1419-1431.

100. Hauet N., Artzner F., Boucher F.S., Grabielle-Madelmont C., Cloutier I., Keller G., Lesieur P., Durand D., Paternostre M. Interaction between artificial membranes and enflurane, a general volatile anesthetic: DPPC-enflurane Interaction // Biophys. J. 2003. Vol. 84. P. 3123-3137.

101. Schubert T., Schneck E., Tanaka M. First order melting transitions of highly ordered dipalmitoyl phosphatidylcholine gel phase membranes in molecular dynamics simulations with atomistic detail // J. Chem. Phys. 2011. Vol. 135. Article 055105. 11 p.

102. Heinburg T. Mechanical aspects of membrane thermodynamics. Estimation of the mechanical properties of lipid membranes close to the chain

melting transition from calorimetry // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1415. P. 147-162.

103. Lvov J.M., Mogilevskij L.J., Fejgin L.A., Györgyi S., Ronto G., Thompson K.K., Sugăr I.P. Structural parameters of phosphatidylcholine bilayer membranes // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1986. Vol. 133 (1-2). P. 65-73.

104. Nagle J.F., Zhang R., Tristram-Nagle S., Sun W., Petrache H.I., Suter R.M. X-Ray structure determination of fully hydrated Lα phase dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers // Biophys. J. 1996. Vol. 70. P. 1419-1431.

105. Иванов Л.В., Пиминов А.Ф., Зеленин Ю.В. Изучение механизмов влияния поверхностно-активных веществ на биодоступность и фармакологическую активность мягких лекарственных средств // Вісник фармації. 2002. № 2. С. 146-148.

106. Seydel J.K., Wiese M., Drug-membrane interactions: analysis, drug distribution, modeling. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim. 2002. 349 p.

107. Montecinos R., Neira-Jimenez S. Effect of low concentration of DHPC on the DPPC/SM bilayer // J. Chil. Chem. Soc. 2014. Vol. 59 (2). P. 2512-2515.

108. Dufrêne Y.F., Boland T., Schneider J.W., Bargera W.R., Lee G.U. Characterization of the physical properties of model biomembranes at the nanometer scale with the atomic force microscope // Faraday Discuss. 1998. Vol. 111. P. 79-94.

109. Feigenson G.W. Phase diagrams and lipid domains in multicomponent lipid bilayer mixtures // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788. P. 47-52.

110. Shimokawa N., Hishida M., Seto H., Yoshikawa K. Phase separation of a mixture of charged and neutral lipids on a giant vesicle induced by small cations // Chem. Phys. Lett. 2010. Vol. 496. P. 59-63.

111. Miller I.R., Bach D., Wachtel E.J., Eisenstein M. Interrelation between hydration and interheadgroup interaction in phospholipids // Bioelectrochem. 2002. Vol. 58. P. 193-196.

112. Жилякова Т.А. Состояние воды в биологических мембранах по данным методов ЯМР и СВЧ-диэлектрометрии: дис. к. б. н. : Харьков, 1991.

113. Disalvo E.A., Pinto O.A., Martini M.F., Bouchet A.M., Hollmann A., Frías M.A. Functional role of water in membranes updated: a tribute to Träuble // Biochim. Biophys. Acta. 2015. Vol. 1848. P. 1552-1562.

114. Caminiti R., Caracciolo G., Pisani M., Bruni P. Effect of hydration on the long-range order of lipid multilayers investigated by in situ time-resolved energy dispersive X-ray diffraction // Chem. Phys. Lett. 2005. Vol. 409. P. 331-336.

115. Ho C., Slater S.J., Stubbs C.D. Hydration and order in lipid bilayers // Biochem. 1995. Vol. 34. P. 6188-6195.

116. Stern H.A., Feller S.E.J. Calculation of the dielectric permittivity profile for a nonuniform system: application to a lipid bilayer simulation // Chem. Phys. 2003. Vol. 118. P. 3401.

117. Garcia A., Zou H., Hossain K.R., Xu Q.H., Buda A., Clarke R.J. Polar interactions play an important role in the energetics of the main phase transition of phosphatidylcholine membranes // ACS Omega. 2019. Vol. 4. P. 518-527.

118. Аскадский А.А., Кондрашенко В.И. Компьютерное материаловедение полимеров. Москва, 1999. – 544 с.

119. Falck E., Patra M., Karttunen M., Hyvönen M.T., Vattulainen I. Lessons of slicing membranes: interplay of packing, free area, and lateral diffusion in phospholipid/cholesterol bilayers // Biophys. J. 2004. Vol. 87(2). P. 1076-91.

120. Axpe E., García-Arribas A.B., Mujikad J.I., Mérida D., Alonso A., Lopez X., García J.A., Ugalde J.M., Goñi F.M., Plazaola F. Ceramide increases free volume voids in DPPC membranes // RSC Advances. 2015. Vol. 5(55). P. 44282-44290.

121. Nagle J.F., Venable R.M., Maroclo-Kemmerling E., Tristram-Nagle S., Harper P.E., Pastor R.W. Revisiting volumes of lipid components in bilayers // J. Phys. Chem. B. 2019. Vol. 123. P. 2697-2709.

122. Casey D., Charalambous K., Gee A., Law R.V., Ces O. Amphiphilic drug interactions with model cellular membranes are influenced by lipid chain-melting temperature // J. R. Soc. Interface. 2014. Vol. 11. Article 20131062. 7 p.

123. Marrink S.J., Sok R.M., Berendsen H.J.C. Free volume properties of a simulated lipid membrane // J. Chem. Phys. 1996. Vol. 104 (22). P. 9090-9099.

124. Jain M.K., Wu N.M. Effect of small molecules on the dipalmitoyl lecithin liposomal bilayer // J. Membr. Biol. 1977. Vol. 34. P. 157-201.

125. Rivel T., Ramseyer C., Yesylevskyy S. The asymmetry of plasma membranes and their cholesterol content influence the uptake of cisplatin // Sci. Rep. 2019. Vol. 9. Article 5627. 14 p.

126. Smondyrev A.M., Berkowitz M.L. Molecular dynamics simulation of DPPC bilayer in DMSO // Biophys. J. 1999. Vol. 76. P. 2472-2478.

127. McMullen T., Lewis R., McElhaney H.R. Differential scanning calorimetric study of the effect of cholesterol on the thermotropic phase behavior of a homologous series of linear saturated phosphatidylcholines // Biochem. 1993. Vol. 32. P. 516-522.

128. Ohtake S., Schebor C., Palecek S.P., de Pablo J.J. Phase behavior of freeze-dried phospholipid – cholesterol mixtures stabilized with trehalose // Biochim. Biophys. Acta. 2005. Vol. 1713. P. 57 - 64.

129. Radhakrishnan A., McConnell H.M. Condensed complexes of cholesterol and phospholipids // Biophys. J. 1999. Vol. 77. P. 1507-1517.

130. Benesch M.G.K., Lewis R.N.A.H., Mannock D.A., McElhaney R.N. A DSC and FTIR spectroscopic study of the effects of the epimeric cholestan-3-ols and cholestan-3-one on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes: Comparison with their 5-cholesten analogs // Chem. Phys. Lipids, 2015. Vol. 187. P. 34-49.

131. Sturtevant J.M. A scanning calorimetric study of small molecule-lipid bilayer mixtures // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1982. Vol. 79. P. 3963-3967.

132. Albon N., Sturtevant J.M. Nature of the gel to liquid crystal transition of synthetic phosphatidylcholines // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1978. Vol. 75 (5). P. 2258-2260.

133. Sapia P., Sportelli L. Effect of high electrolyte concentration on the cooperativity of the main phase-transition of DPPC // Journal de Physique II. 1994. Vol. 4 (7). P. 1107-1116.

134. Lewis R.N.A.H., McElhaney R.N. The mesomorphic phase behavior of lipid bilayers / The structure of biological membranes, Ed. P.L. Yeagle, 2nd ed. Boca Raton – London – New York – Singapore, 2004. P. 53-72.

135. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. Липидные мембраны при фазовых превращениях. Москва, 1992. 136 с.

136. Losada-Pérez P., Mertens N., de Medio-Vasconcelos B., Slenders E., Leys J., Peeters M., van Grinsven B., Gruber J., Glorieux C., Pfeiffer H., Wagner, P., Thoen J. Phase transitions of binary lipid mixtures: a combined study by adiabatic scanning calorimetry and quartz crystal microbalance with dissipation monitoring // Adv. Condens. Matt. Phys. 2015. Vol. 2015. Article 479318. 14 p.

137. Mabrey S., Sturtevant J.M. Investigation of phase transitions of lipids and lipid mixtures by high sensitivity differential scanning calorimetry // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1976. Vol. 73 (11). P. 3862-3866.

138. Heerklotz H. The microcalorimetry of lipid membranes // J. Phys. Condens. Matter. 2004. Vol. 16. P. R441-R467.

139. Grabitz P., Ivanova V.P., Heimburg T. Relaxation kinetics of lipid membranes and its relation to the heat capacity // Biophys. J. 2002. Vol. 82. P. 299-309.

140. Owusu-Ware S.K., Chowdhry B.Z., Leharne S.A., Antonijević M.D. Phase behaviour of dehydrated phosphatidylcholines // J. Therm. Anal. Calorim. 2016. Vol. 127 (1). P. 415-421.

141. Mouritsen O.G., K. Jorgensen. Dynamical order and disorder in lipid bilayers // Chem. Phys. Lipids. 1994. Vol. 73. P. 3-25.

142. van Osdol W.W., Ye Q., Johnson M.L., Biltonen R.L. Effects of the anesthetic dibucaine on the kinetics of the gel-liquid crystalline transition of dipalmitoylphosphatidylcholine multilamellar vesicles // Biophys. J. 1992. Vol. 63. P. 1011-1017.

143. Gruszecki W.I., Wojtowicz K., Misiak L.E., Smal A. Effect of zeaxaiitliin on the structure and dynamics of dipalimitoylphospatidylcholine bilayers // Ann. Univ. Marie Curie-Sklodovvska, Lublin – Polonia. 1991/1992. Vol. XLVI/XLVII (16). P. 143-149.

144. Romero E.L., Morilla M.J., Alonso S. Rigid multilamellar bilayer cooperativity is modified by non covalently linked neuraminic-5-acid: a spectrophotometric determination // Gen. Physiol. Biophys. 2001. Vol. 20. P. 113-129.

145. Agafonov A.V., Gritsenko E.N., Shlyapnikova E.A., Kharakoz D.P., Belosludtseva N.V., Lezhnev E.I., Saris N.-E.L., Mironova G.D. Ca^{2+}-induced phase separation in the membrane of palmitate-containing liposomes and its possible relation to membrane permeabilization // J. Memb. Biol. 2007. Vol. 215. P. 57-68.

146. Belosludtsev K.N., Belosludtseva N.V., Tenkov K.S., Penkov N.V., Agafonov A.V., Pavlik L.L., Yashin V.A., Samartsev V.N., Dubinin M.V. Study of the mechanism of permeabilization of lecithin liposomes and rat liver mitochondria by the antimicrobial drug triclosan // Biochim. Biophys. Acta. Biomembr. 2018. Vol. 1860 (2). P. 264-271.

147. Biltonen R.L. A statistical-thermodynamic view of cooperative structural changes in phospholipid bilayer membranes: their potential role in biological function // J. Chem. Thermodyn. 1990. Vol. 22. P. 1-19.

148. Denisov G., Wanaski S., Luan P., Glaser M., McLaughlin S. Binding of basic peptides to membranes produces lateral domains enriched in the acidic lipids phosphatidylserine and phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate: an electrostatic model and experimental results // Biophys. J. 1998. Vol. 74. P. 731-744.

149. Кукес В.Г. Взаимодействие лекарственных средств // Фармакол. токсикол. 1991. № 2. С. 82-85.

150. Orme M. Drug absorption in the gut // Br. J. Anaesth. 1984. Vol. 56. P. 59-67.

151. Jackson K., Young D., Pant S. Drug-excipient interactions and their affect on absorption // PSTT. 2000. Vol. 3 (10). P. 336-345.

152. Bilginer R., Yildiz A.A. Biomimetic model membranes as drug screening platform. / Biomimetic lipid membranes: fundamentals, applications, and commercialization, Eds. F.N. Kök, A.A. Yildiz, F. Inci. Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2019. Chapt. 10. P. 225-247.

153. Lopes D., Jakobtorweihen S., Nunes C., Sarmento B., Reis S. Shedding light on the puzzle of drug-membrane interactions: Experimental techniques and molecular dynamics simulations // Progr. Lipid Res. 2017. Vol. 65. P. 24-44.

154. Goldshtein D. The effects of drugs on membrane fluidity // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1984. Vol. 24. P. 43-64.

155. Pinheiro M., Silva A.S., Pisco S., Reis S. Interactions of isoniazid with membrane models: Implications for drug mechanism of action // Chem. Phys. Lipids. 2014. Vol. 183. P. 184-190.

156. Castillo J.A., Clapés P., Infante M. R., Comas J., Manresa A. Comparative study of the antimicrobial activity of bis(Na-caproyl-L-arginine)-1,3-propanediamine dihydrochloride and chlorhexidine dihydrochloride against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* // J. Antimicrob. Chemotherapy. 2006. Vol. 57. P. 691-698.

157. Knobloch J., Suhendro D.K., Zieleniecki J.L., Shapter J.G., Köper I. Membrane – drug interactions studied using model membrane systems // Saudi J. Biol. Sci. 2015. Vol. 22 (6) P. 714-718.

158. Koukoulitsa C., Kyrikou I., Demetzos C., Mavromoustakos T. The role of the anticancer drug vinorelbine in lipid bilayers using differential scanning calorimetry and molecular modeling // Chem. Phys. Lipids. 2006. Vol. 144. P. 85-95.

159. Jewell S.A. Living systems and liquid crystals // Liquid Crystals. 2011. Vol. 38 (11-12). P. 1699-1714.

160. Dalhoff A.A. Membrane interactions of antibacterial agents // Trend. Clin. Microbiol. 2018. Vol. 1 (1). P. 4-48.

161. Крылов Ю.Ф., Смирнов П.А. Путешествие в мир фармакологии. Москва, 1988. 176 с.

162. Chiu M.H., Prenner E.J. Differential scanning calorimetry: an invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions // J. Pharm. Bioall. Sci. 2011, Vol. 3 (1). P. 39-59.

163. Flaten G.E., Dhanikula A.B., Luthman K., Brandl M. Drug permeability across a phospholipid vesicle based barrier: a novel approach for studying passive diffusion // Eur. J. Pharm. Sci. 2006. Vol. 27. P. 80-90.

164. Grumetto L., Russo G., Barbato F. Indexes of polar interactions between ionizable drugs and membrane phospholipids measured by IAM-HPLC: Their relationships with data of blood-brain barrier passage // Eur. J. Pharm. Sci. 2014. Vol. 65. P. 139-146.

165. Montenegro L., Castelli F., Sarpietro M.G. Differential scanning calorimetry analyses of idebenone-loaded solid lipid nanoparticles interactions with a model of bio-membrane: a comparison with *in vitro* skin permeation data // Pharmaceuticals. 2018. Vol. 11 (138). 14 p.

166. Rahimnejad M., Vahidi B., Hoseinzadeh B.E., Yazdian F., Fath P.M., Jamjah R. Assessment of drug delivery systems from molecular dynamic perspective // Int. J. Chem. Mol. Engin. 2018. Vol. 12 (3). P. 129-136.

167. Drug-biomembrane interaction studies. The application of calorimetric techniquies, Ed. R. Pignatello. New Delhi: Woodhead Publishing, 2013. 436 p.

168. Baciu M., Sebai S.C., Ces O., Mulet X., Clarke J.A., Shearman G.C., Law R.V., Templer R.H., Plisson C., Parker C.A., Gee A. Degradative transport of cationic amphiphilic drugs across phospholipid bilayers // Phil. Trans. R. Soc. A. 2006. Vol. 364. P. 2597-2614.

169. Викторов А.П., Передрий В.Г., Щербак А.В. Взаимодействие лекарств и пищи. Киев, 1991. 240 с.

170. Pinto M., Robine-Leon S., Appay M.D., Kedinger M., Triadou N., Dussaulx E., Lacroix B., Simon-Assmann P., Haffen K., Fogh J., Zweibaum A. Enterocytic-like differentiation and polarization of the human colon adenocarcinoma cell line *Caco*-2 in culture // Biol. Cell. 1983. Vol. 47. P. 323-330.

171. Kim D.C., Burton P.S., Borchardt R.T. A correlation between the permeability characteristics of a series of peptides using an in vitro cell culture model (*Caco*-2) and those using an in situ perfused rat ileum model of the intestinal mucosa // Pharm. Res. 1993. Vol. 10. P. 1710-1714.

172. Hidalgo I.J., Borchardt R.T. Transport of a large neutral amino acid (phenylalanine) in a human intestinal epithelial cell line: *Caco*-2 // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1028. P. 25-30.

173. Yu H., Wang Q., Sun Y., Shen M., Li H., Duan Y. A new PAMPA model proposed on the basis of a synthetic phospholipid membrane // PLoS ONE. 2015. Vol. 10 (2). Article e0116502. 13 p.

174. Bendels S, Tsinman O, Wagner B, Lipp D, Parrilla I, et al. PAMPA-Excipient classification gradient map // Pharm. Res. 2006. Vol. 23. P. 2525-2535.

175. Wang M., Zander T., Liu X., Liu C., Raj A., Wieland D.C.F., Garamus V.M., Willumeit-Romer R., Claesson P.M., Dėdinaitė A. The effect of temperature on supported dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC) bilayers: Structure and lubrication performance // J. Coll. Interf. Sci. 2015. Vol. 445. P. 84-92.

176. Flaten G.E., Skar M., Luthman K., Brandl M. Drug permeability across a phospholipid vesicle based barrier: 3. Characterization of drug – membrane interactions and the effect of agitation on the barrier integrity and on the permeability // Eur. J. Pharm. Sci. 2007. Vol. 30. P. 324-332.

177. Sessa G., Weissmann G. Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes // J. Lipid Res. 1968. Vol. 9. P. 310-318.

178. Flaten G.E., Luthman K., Vasskog T., Brandl M. Drug permeability across a phospholipid vesicle-based barrier 4. The effect of tensides, co-solvents

and pH changes on barrier integrity and on drug permeability // Eur. J. Pharm. Sci. 2008. Vol. 34. P. 173-180.

179. Seddon A.M., Casey D., Law R.V., Gee A., Templera R.H., Ces O. Drug interactions with lipid membranes // Chem. Soc. Rev. 2009. Vol. 38. P. 2509-2519.

180. Жилякова Т.А., Горобченко О.А., Николов О.Т., Голубничая Г.В. СВЧ-диэлектрометрия биотехнологических жидкостей. Киев, Наукова думка, 2015. 112 с.

181. Mavromoustakos T.M. The use of differential scanning calorimetry to study drug – membrane interactions // Methods Mol. Biol. 2007. Vol. 400. P. 587-600

182. Mavromoustakos T., Theodoropoulou E., Yang D.-P. The use of high-resolution solid-state NMR spectroscopy and differential scanning calorimetry to study interactions of anaesthetic steroids with membrane // Bioch. Biophys. Acta. 1997. Vol. 1328. P. 65-73.

183. Biltonen R.L., Lichtenberg D. The use of differential scanning calorimetry as a tool to characterize liposome preparations // Chem. Phys. Lipids. 1993. Vol. 64. P. 129-42.

184. Heimburg T. Thermal biophysics of membranes. Berlin: Wiley-VCH, 2007. 330 p.

185. Jelesarov I., Bosshard H.R. Isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry as complementary tools to investigate the energetics of biomolecular recognition // J. Mol. Recognit. 1999. Vol. 12. P. 3-18.

186. Privalov P., Plotnikov V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids // Thermochim. Acta. 1989. Vol. 139. P. 257-77.

187. Privalov G.P., Kavina V., Freire E., Privalov P.L. Precise scanning calorimeter for studying thermal properties of biological macromolecules in dilute solution // Anal. Biochem. 1995. Vol. 232. P. 79-85.

188. McElhaney R.N. The use of differential scanning calorimetry and differential thermal analysis in studies of model and biological membranes // Chem. Phys. Lipids. 1982. Vol. 30. P. 229-59.

189. Hirst L.S., Uppamoochikkal P., Lor C. Phase separation and critical phenomena in biomimetic ternary lipid mixtures // Liq. Crys. 2011. Vol. 38 (11-12). P. 1735-1747.

190. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рефф М., Роберс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. В 3-х т. Т. 1. Москва, 1994. 517 с.

191. Веренинов А.А., Марахова И.И. Транспорт ионов у клеток в культуре. Ленинград: Наука, 1986. 292 с.

192. Prevarskaya N., Skryma R., Shuba Y. Ion channels and the hallmarks of cancer // Tr. Mol. Med. 2010. Vol. 16 (3). P. 108-121.

193. Klausen T.K., Preisler S., Pedersen S.F., Hoffmann E. K. Monovalent ions control proliferation of Ehrlich Lettre ascites cells // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2010. Vol. 299. P. C714-C725.

194. Bartucci R., Sportelli L. ESR investigation on the phase transitions of DPPC vesicles in presence of high concentrations of Li^+, Na^+, K^+ and Cs^+ // Coll. Polymer Sci., 1993. Vol. 271 (3). P. 262-267.

195. R. S. Leal. Effects of alkali-metal ions on phospholipid and triglyceride synthesis in rat liver slice // J. Lipid Res. 1965. Vol. 6. P. 80-83.

196. S.G.A. McLaughlin, G. Szabo, S. Ciani, G. Eisenrnan. The effects of a cyclic polyether on the electrical properties of phospholipid bilayer membranes // J. Membrane Biol. 1972. Vol. 9. P. 3-36.

197. Маркин В.С., Чизмаджев Ю.А. Индуцированный ионный транспорт. Москва, 1974. 251 с.

198. Bartucci R., Sportelli L. Spin label EPR study of the effects of monovalent cations, anions, and chaotropics on DPPC multilayers // Biochim. Biophys. Acta Biomembranes. 1994. Vol. 1195 (2). P. 229-236.

199. Норик В.П. Мягкая порация бислойных фосфолипидных мембран при температуре фазового перехода липида из жидко-кристаллического состояния в гель : автореф. дис. … канд. биол. наук. Москва, 2007.

200. Pabst G., Hodzic A., Štrancar J., Danner S., Rappolt M., Laggner P. Rigidification of neutral lipid bilayers in the presence of salts // Biophys. J. 2007. Vol. 93. P. 2688-2696.

201. Böckmann R.A., Hac A., Heimburg T., Grubmüller H. Effect of sodium chloride on a lipid bilayer // Biophys. J. 2003. Vol. 85. P. 1647-1655.

202. Prudent M., Mendez M.A., Jana D.F., Corminboeuf C., Girault H.H. Formation and study of single metal ion – phospholipid complexes in biphasic electrospray ionization mass spectrometry // Metallomics. 2010. Vol. 2. P. 400-406.

203. Pandit S.A., Bostick D., Berkowitz M.L. Molecular dynamics simulation of a dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer with NaCl // Biophys. J. 2003. Vol. 84. P. 3743-3750.

204. Madhumitha D., Bruntha A., Vaidyanathan V.G., Reddy B.G.N., Sreeram K.J., Dhathathreyan A. Elastic compliance as a tool to understand Hofmeister ion specific effect in DMPC // Biophys. Chem. 2019. Vol. 249. Article 106148. 9 p.

205. Rosenkranz H.S. A synergistic effect between cerium nitrate and silver sulphadiazine // Burns. 1979. Vol. 5 (3). P. 278-281.

206. Collins K.D. Ion hydration: Implications for cellular function, polyelectrolytes, and protein crystallization // Biophys. Chem. 2006. Vol. 119. P. 271-281.

207. Li X., Zhang Y., Ni J., Chen J., Hwang F. Effect of lanthanide ions on the phase behavior of dipalmitoylphosphatidylcholine multilamellar liposomes // J. Inorg. Biochem. 1994. Vol. 53. P. 139-149.

208. Hauser H., Levine B.A., Williams R.J.P. Interactions of ions with membranes // Tr. Biochem. Sci. 1976. Vol. 4. P. 278-281.

209. Minami H., Inoue T. Aggregation of dipalmitoylphosphatidylcholine vesicles induced by some metal ions with high activity for hydrolysis // Langmuir. 1999. Vol. 15. P. 6643-6651.

210. Akutsu H., Seelig J. Interaction of metal ions with phosphatidylcholine bilayer membranes // Biochemistry. 1981. Vol. 20. P. 7366-7373.

211. Sabin J., Prieto G., Sennato S., Ruso J.M., Angelini R., Bordi F., Sarmiento F. Effect of Gd^{3+} on the colloidal stability of liposomes // Eur. Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys. 2006. Vol. 74. Article 031913. 7 p.

212. Petersheim J.M., Halladay H.N., Blodnieks J. Tb^{3+} and Ca^{2+} binding to phosphatidylcholine: a study comparing data from optical, NMR, and infrared spectroscopies // Biophys. J. 1989. Vol. 56. P. 551-557.

213. Chrzeszczyk A., Wishnia A., Springer C.S. Evidence for cooperative effects in the binding of polyvalent metal ions to pure phosphatidylcholine bilayer vesicle surfaces // Biochim. Biophys. Acta Biomembranes. 1981. Vol. 648. P. 28-48.

214. Binnemans K., Görller-Walrand C. Lanthanide-containing liquid crystals and surfactants // Chem. Rev. 2002. Vol. 102. P. 2303-2345.

215. Petrache H., Tristram-Nagle S., Harries D., Kučerka N., Nagle J.F., Parsegian V.A. Swelling of phospholipids by monovalent salt // J. Lipid Research. 2006. Vol. 47. P. 302-309.

216. Aroti A., Leontidis E., Dubois M., Zemb T. Effects of monovalent anions of the hofmeister series on dppc lipid bilayers. Part I: Swelling and in-plane equations of state // Biophys. J. 2007. Vol. 93 (5). P. 1580-1590.

217. Collins K.D. Sticky ions in biological systems // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. Vol. 92. P. 5553-5557.

218. Collins K.D. Ions from Hoffmeister series and osmolytes: effect on protein in solution and in the crystallization process // Methods. 2004. Vol. 34. P. 300-311.

219. Collins K.D. Charge density-dependent strenghth of hydration and bioligical structure // Biophys. J. 1997. Vol. 72, P. 65-76.

220. Wang R. Wang Z.-G. Effects of ion solvation on phase equilibrium and interfacial tension of liquid mixtures // J. Chem. Phys. 2011. Vol. 135. Article 014707. 12 p.

221. Yaroshchuk A.E. Dielectric exclusion of ions from membranes // Adv. Coll. Interf. Sci. 2000. Vol. 85. P. 193-230.

222. Przyczyna A., Różycka-Roszk B., Langner M. The effect of selected anions on dipalmitoylphosphatidylcholine phase transitions // Z. Naturforsch., 2002. Vol. 57c, P. 712-716.

223. Goodby J.W. Liquid crystals and life // Liq. Cryst. 1998. Vol. 24 (1). P. 25-38.

224. Rappolt M., Pressl K., Pabst G., Laggner P. Salt-induced phase separation in the liquid crystalline phase of phosphatidylcholines // Biochim. Biophys. Acta Biomembrane. 1998. Vol. 1372. P. 389.

225. Antonov V. F., Anosov A.A., Norik V.P., Smirnova E.Yu. Soft perforation of planar bilayer lipid membranes of dipalmitoylphosphatidylcholine at the temperature of the phase transition from the liquid crystalline to the gel state // Eur. Biophys. J. 2005. Vol. 34 (2). P. 155-162.

226. Mittler-Neher S., Knoll W. Ca^{2+}-induced lateral phase separation in black lipid membranes and its coupling to the ion translocation by gramicidin // Biochim. Biophys. Acta. 1993. Vol. 1152. P. 259-269.

227. Leontidis E., Christoforou M., Georgiou C., Delclos T. The ion – lipid battle for hydration water and interfacial sites at soft-matter interfaces // Curr. Opin. Coll. Interface Sci. 2014. Vol. 19. P. 2-8.

228. Manciu M., Ruckenstein E. Specific ion effects via ion hydration: I. Surface tension // Adv. Coll. Interface Sci. 2003. Vol. 105. P. 63-101.

229. Leontidis E., Aroti A. Liquid expanded monolayers of lipids as model systems to understand the anionic Hofmeister series: 2. Ion partitioning is mostly a matter of size // J. Phys. Chem. B. 2009. Vol. 113. P. 1460-1467.

230. Leontidis E., Aroti A., Belloni L. Liquid expanded monolayers of lipids as model systems to understand the anionic Hofmeister series: 1. A tale of models // J. Phys. Chem. B. 2009. Vol. 113. P. 1447-1459.

231. I. Dobrzyńska. Association equilibria of divalent ions on the surface of liposomes formed from phosphatidylcholine // Eur. Phys. J. E. 2019. Vol. 42. Article 3. 6 p.

232. Lucio M., Lima J.L.F.C., Reis S. Drug-membrane interactions: significance for medicinal chemistry // Curr. Med. Chem. 2010. Vol. 17. P. 1795-1809.

233. M. Orme. Drug absorption in the gut // Br. J. Anaesth. 1984. Vol. 56. P. 59-67.

234. Орлов В.Д., Липсон В.В., Иванов В.В. Медицинская химия : учебное пособие. Харьков, 2018. 552 с.

235. Катцунг Б.Г. Базисная и клиническая фармакология. Т. 1. Санкт-Петербург, 2007. 648 с.

236. Seeman P. The membrane actions of anesthetics and tranquilizers // Pharmacol. Rev. 1972. Vol. 24. P. 583-655.

237. Boggara M.B., Mihailescu M., Krishnamoorti R. Structural association of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with lipid membranes // J. Am. Chem. Soc. 2012. Vol. 134 (48). P. 19669-19676.

238. Chimote G., Banerjee R. Evaluation of antitubercular drug insertion into preformed dipalmitoylphosphatidylcholine monolayers // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2008. Vol. 62. P. 258-264.

239. Kopec W., Khandelia H. Reinforcing the membrane-mediated mechanism of action of the anti-tuberculosis candidate drug thioridazine with molecular simulations // J. Comput. Aided Mol. Des. 2014. Vol. 28. P. 123-134.

240. Kopec W., Khandelia H. Reinforcing the membrane-mediated mechanism of action of the anti-tuberculosis candidate drug thioridazine with molecular simulations // J. Comput. Aided Mol. Des. 2014. Vol. 28. P. 123-134.

241. Cantor R.S. The lateral pressure profile in membranes: a physical mechanism of general anesthesia // Toxicol. Lett. 1998. Vol. 100-101. P. 451-458.

242. Kapoor R., Peyear T.A., Koeppe II R.E., Andersen O.S. Antidepressants are modifiers of lipid bilayer properties // J. Gen. Physiol. 2019. Vol. 151 (3). P. 342-356.

243. Nademi Y., Iranagh S.A., Pour A.Y., Mousavi S.Z., Modarress H. Molecular dynamics simulations and free energy profile of paracetamol in DPPC and DMPC lipid bilayers // J. Chem. Sci. 2014. Vol. 126 (3). P. 637-647.

244. Dynarowicz-Łątka P., Seoane R., Miñones Jr. J., Velo M., Miñones J. Study of penetration of amphotericin B into cholesterol or ergosterol containing dipalmitoyl phosphatidylcholine Langmuir monolayers // Colloids Surf. B: Biointerfaces. 2002. Vol. 27. P. 249-263.

245. Van Oosten B., Marquardt D., Komljenovic I., Bradshaw J.P, Sternin E., Harroun T.A. Small molecule interaction with lipid bilayers: a molecular dynamics study of chlorhexidine // J. Mol. Graph. Model. 2014. Vol. 48. P. 96-104.

246. Delcour A.H. Outer membrane permeability and antibiotic resistance // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1794(5). P. 808-816.

247. Dunnick J.K., O'Leary W.M. Correlation of bacterial lipid composition with antibiotic resistance // J. Bacteriol. 1970. Vol. 101 (3). P. 892-900.

248. Гула Н.М., Горідько Т.М., Стогній Н.А., Клімашевський В.М., Мегедь О.Ф., Косякова Г.В., Шовкун С.А., Кіндрук Н.Л., Бердишев А.Г. Протекторний вплив n-стеароїлетаноламіну за гострої алкогольної інтоксикації у щурів // Укр. біохім. журн. 2010. Т. 82 (2). С. 42-52.

249. Schreier S., Malheiros S.V.P., de Paula E. Surface active drugs: self-association and interaction with membranes and surfactants. Physicochemical and biological aspects // Biochim. Biophys. Acta. 2000. Vol. 1508. P. 210-234.

250. Pignatello T., Musumeci L., Basile C., Carbone C., Puglisi G. Biomembrane models and drug-biomembrane interaction studies: Involvement in drug design and development // J. Pharm. BioAllied Sci. 2011. Vol. 3 (1). P. 4-14.

251. Sinha R., Gadhwal M.K., Joshi U.J., Srivastava S., Govil G. Modifying effect of quercetin on model biomembranes: studied by molecular dynamic simulation, DSC and NMR // Int. J. Curr. Pharm.Res. 2012. Vol. 4 (1). P. 70-79.

252. Kopec W., Telenius J., Khandelia H. Molecular dynamics simulations of the interactions of medicinal plant extracts and drugs with lipid bilayer membranes // FEBS J. 2013. Vol. 280(12). P. 2785-2805.

253. Koukoulitsa C., Durdagi S., Siapi E., Villalonga-Barber C., Alexi X., Steele B.R., Micha-Screttas M., Alexis M.N., Tsantili-Kakoulidou A., Mavromoustakos T. Comparison of thermal effects of stilbenoid analogs in lipid bilayers using differential scanning calorimetry and molecular dynamics: correlation of thermal effects and topographical position with antioxidant activity // Eur. Biophys. J. 2011. Vol. 40. P. 865-875.

254. Mannock D.A., Lewis R.N.A.H., McMullen T.P.W., McElhaney R.N. The effect of variations in phospholipid and sterol structure on the nature of lipid – sterol interactions in lipid bilayer model membranes // Chem. Phys. Lipids. 2010. Vol. 163. P. 403-448.

255. Martini M.F., Pickholz M. Molecular dynamics study of uncharged bupivacaine enantiomers in phospholipid bilayers // Int. J. Quantum Chem. 2012. Vol. 112 (20). P. 3341-3345.

256. Koynova R., Brankov J., Tenchov B. Modulation of lipid phase behavior by kosmotropic and chaotropic solutes. Experiment and thermodynamic theory // Eur. Biophys. J. 1997. Vol. 25. P. 261-274.

257. Price D.A., Blagg J., Jones L., Greene N., Wager T. Physicochemical drug properties associated with *in vivo* toxicological outcomes: a review // PSTT. 2000. Vol. 3 (10). P. 336-344.

258. Lipinski C.A., Lombardo F, Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings // Adv. Drug Deliv. Rev. 2001. Vol. 46. P. 3-26.

259. Ahmed S.S.S.J., Ramakrishnan V. Systems biological approach of molecular descriptors connectivity: optimal descriptors for oral bioavailability prediction // PLoS ONE. 2012. Vol. 7 (7). Article e40654. 10 p.

260. Манчук В.Т., Терещенко В.П., Терещенко С.Ю., Савченко А.А. Структурно-функциональные параметры клеток крови в норме и при патологии у детей в условиях Севера // Бюл. СО РАМН. 2003. Т. 108 (2). С. 12-16.

261. Ostroumova O.S., Efimova S.S., Mikhailova E.V., Schagina L.V. The interaction of dipole modifiers with amphotericin-ergosterol complexes. Effects of phospholipid and sphingolipid membrane composition // Eur. Biophys. J. 2014. Vol. 43 (4-5). P. 207-215.

262. Ali S., Minchey S., Janoff A., Mayhew E. A differential scanning calorimetry study of phosphocholines mixed with paclitaxel and its bromoacylated taxanes // Biophys. J. 2000. Vol. 78. P. 246-256.

263. Campbell R.B., Balasubramanian S.V., Straubinger R.M. Phospholipid-cationic lipid interactions: influences on membrane and vesicle properties // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1512. P. 27-39.

264. Orczyk M., Wojciechowski K., Brezesinski G. Disordering effects of digitonin on phospholipid monolayers // Langmuir. 2017. Vol. 33 (15). P. 3871-3881.

265. Diakowski W., Ozimek Ł., Bielska E., Bem S., Langner M., Sikorski A.F. Cholesterol affects spectrin – phospholipid interactions in a manner different from changes resulting from alterations in membrane fluidity due to fatty acyl chain composition // Biochim. Biophys. Acta. 2006. Vol. 1758. P. 4-12.

266. Parisi M., Adragna N.C., Salas P.J.I. Influence of negative lipids on interaction between artificial membranes and cholinergic drugs // Nature. 1975. Vol. 258. P. 245-247.

267. J. Mildner, A. Wnętrzak, P. Dynarowicz-Latka. Cholesterol and cardiolipin importance in local anesthetics – membrane interactions: the Langmuir monolayer study // J. Membr. Biol. 2019. Vol. 252 (1). P. 31-39.

268. Bagatolli L.A., Gratton E. Direct observation of lipid domains in free-standing bilayers using two-photon excitation fluorescence microscopy // J. Fluoresc. 2001. Vol. 11 (3). P. 141-160.

269. Bagatolli L., Kumar P.B.S. Phase behavior of multicomponent membranes: Experimental and computational techniques // Soft Matter. 2009. Vol. 5. P. 3234-3248.

270. Muddana H.S., Chiang H.H., Butler P.J. Tuning membrane phase separation using nonlipid amphiphiles // Biophys. J. 2012. Vol. 102. P. 489-497.

271. Dumas F., Sperotto M.M., Lebrun M.-C., Tocanne J.-F., Mouritsen O.G. Molecular sorting of lipids by bacteriorhodopsin in dilauroylphosphatidylcholine/distearoylphosphatidylcholine lipid bilayers // Biophys. J. 1997. Vol. 73. P. 1940-1953.

272. Prenner E.J., Lewis R.N.A.H., Kondejewski L.H., Hodges R.S., McElhaney R.N. Differential scanning calorimetric study of the effect of the antimicrobial peptide gramicidin S on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol lipid bilayer membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1999. Vol. 1417. P. 211 - 223.

273. de Planque M.R.R., Greathouse D.V., Koeppe II R.E., Schafer H., Marsh D., Killian J.A. Influence of lipid/peptide hydrophobic mismatch on the thickness of diacylphosphatidylcholine bilayers. A ^{2}H NMR study using designed transmembrane a-helical peptide and gramicidin A // Biochemistry. 1998. Vol. 37. P. 9333-9345.

274. Killian J.A. Hydrophobic mismatch between proteins and lipids in membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1376. P. 401-416.

275. Ipsen J.H., Mouritsen O.G., Bloom M. Relationships between lipid membrane area, hydrophobic thickness, and acyl-chain orientational order: the effect of cholesterol // Biophys. J. 1990. Vol. 57. P. 405-412.

276. Ben-Shaul A. Molecular theory of chain packing, elasticity and lipid-protein interaction in lipid bilayers / Handbook of Biological Physics, Eds. R. Lipowsky, E. Sakhman. Berlin: Elsevier Science, 1995. Vol. 1, Chapt. 3. P. 359-401.

277. Kim T., Im W. Revisiting hydrophobic mismatch with free energy simulation studies of transmembrane helix tilt and rotation // Biophys. J. 2010. Vol. 99. P. 175-183.

278. Riske K.A., Domingues C.C., Casadei B.R., Mattei B., Caritá A.C., Lira R.B., Preté P.S.C., de Paula E. Biophysical approaches in the study of biomembrane solubilization: quantitative assessment and the role of lateral inhomogeneity // Biophys. Rev. 2017. Vol. 9. P. 649-667.

279. Балткайс Я.Я., Фатеев В.А. Взаимодействие лекарственных веществ. Москва, 1991. 304 с.

280. Kashuba A.D.M., Bertino, Jr. J.S. Mechanisms of drug interactions I. absorption, metabolism, and excretion / Infectious disease: drug interactions in infectious diseases. Ed. S. C. Piscitelli, K. A. Rodvold. Totowa: Humana Press Inc., 2011. Chapt. 2. PP. 13-39.

281. Ferreira G.S.S., Périgo D.M., Politi M.J., Schreier S. Effect of anions from the Hofmeister series and urea on the binding of the charged and uncharged forms of the local anesthetic tetracaine to zwitterionic micelles // Photochem. Photobiol. 1996. Vol. 63. P. 755-761.

282. Bárdos-Nagy I., Galántai R., Fidy J. Effect of trehalose in low concentration on the binding and transport of porphyrins in liposome-human serum albumin system // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1512. P. 125-134.

283. Caruso B., Sánchez J.M., Garsía D.A., de Paula E., Perillo M.A. Probing the combined effect of flunitrazepam and lidocaine on the stability and organization of bilayer lipid membranes. A differential scanning calorimetry and dynamic light scattering study // Cell Biochem. Biophys. 2013. Vol. 66. P. 461-475.

284. Caseli L., Pavinatto F.J., Nobre T.M., Zaniquelli M.E.D., Viitala T., Oliveira O.N. Chitosan as a removing agent of β-lactoglobulin from membrane models // Langmuir. 2008. Vol. 24. P. 4150-4156.

285. Bothun G.D., Boltz L., Kurniawan Y., Scholz C. Cooperative effects of fatty acids and *n*-butanol on lipid membranephase behavior // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2016. Vol. 139. P. 62-67.

286. Belli S. P-Glycoprotein, cholesterol and the lipid bilayer: in vitro studies of their mutual interactions : PhD Thesis. Zurich, 2008. 125 p.

287. Toyran N., Severcan F. Infrared spectroscopic studies on the dipalmitoyl phosphatidylcholine bilayer interactions with calcium phosphate: effect of vitamin D_2 // Spectroscopy. 2002. Vol. 16. P. 399-408.

288. Canaves J.M., Ferragut J.A., Gonzalez-Ros J.M. Verapamil prevents the effects of daunomycin on the thermotropic phase transition of model lipid bilayers // Biochem. J. 1991. Vol. 279. P. 413-418.

289. Rautenbach M., H.A. Eyéghé -Bickong, Vlok N.M., Stander M., de Beer A. Direct surfactin-gramicidin S antagonism supports detoxification in mixed producer cultures of *Bacillus subtilis* and *Aneurinibacillus migulanus* // Microbiology. 2012. Vol. 158. P. 3072-3082.

290. Škalko N., Brandl M., Bećirević-Laćan M., Filipović-Grčić J., Jalšenjak I. Liposomes with nifedipine and nifedipine-cyclodextrin complex: calorimetrical and plasma stability comparison // Eur. J. Pharm. Sci. 1996. Vol. 4. P. 359-366.

291. Lee C.K., Uchida T., Kitagawa K., Yagi A., Kim N.S., Goto S. Relatioship between lipophylicity and skin permeability of various drugs form an etha-

nol-water-lauric acid system // Biol. Pharm. Bull. 1994. Vol. 17 (10). P. 1421-1424.

292. Zander T. The interaction of DPPC and hyaluronan : PhD Thesis. Hamburg, 2016.

293. Fournier I., Barwicz J., Auger M., Tancrède P. The chain conformational order of ergosterol- or cholesterol-containing DPPC bilayers as modulated by Amphotericin B: a FTIR study // Chem. Phys. Lipids. 2008. Vol. 151. P. 41-50.

294. Kyrikou I., Daliani I., Mavromoustakos T., Maswadeh H., Demetzos C., Hatziantoniou S., Giatrellis S., Nounesis G. The modulation of thermal properties of vinblastine by cholesterol in membrane bilayers // Biochim. Biophys. Acta. 2004. Vol. 1661. P. 1-8.

295. Чайка Л.А., Поволоцкая В.А., Лисецкий Л.Н., Паникарская В.Д., Кострова А.А. Влияние парацетамола и его комбинаций на термодинамические характеристики мембранных структур // Фармаком. 1995. № 7. С. 20-22.

296. Ricci M., Oliva R., Del Vecchio P., Paolantoni M., Morresi A., Sassi P. DMSO-induced perturbation of thermotropic properties of cholesterol-containing DPPC liposomes // Biochim. Biophys. Acta. 2016. Vol. 1858. P. 3024-3031.

297. Severcan F., Durmus H.O., Eker F., Akinoglu B.G., Haris P.I. Vitamin D_2 modulates melittin – membrane interactions // Talanta. 2000. Vol. 53. P. 205-211.

298. Toyran N., Severcan F. Competitive effect of vitamin D_2 and Ca^{2+} on phospholipid model membranes: an FTIR study // Chem. Phys. Lipids. 2003. Vol. 123. P. 165.

299. Grage S.L., Afonin S., Kara S., Buth G., Ulrich A.S. Membrane thinning and thickening induced by membrane-active amphipathic peptides // Frontiers Cell Devel. Biol. 2016. Vol. 4. Article 651. 13 p.

300. Weis M., Kopani M. Influence of vitamin C on alcohol binding to phospholipid monolayers // Eur. Biophys. J. 2008. Vol. 37. P. 893-901.

301. Tournois H., Killian J.A., Urry D.W., Bokking O.R., de Gier J., de Kruijff B. Solvent determined conformation of gramicidin affects the ability of the peptide to induce hexagonal H_{II} phase formation in dioleoylphosphatidylcholine model membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1987. Vol. 905. P. 222-226.

302. Excipient applications in formulation design and drug delivery, Eds. A.S.Narang, S.H.S. Boddu. Cham – Heidelberg – New York – Dordreht – London, 2015. 681 p.

303. Перцев И.И., Дмитриевский Д.И., Стрельников Д.С. Влияние ПАВ на терапевтическую активность лекарств // Физиологическая роль поверхностно-активных веществ : Тез. докл. всесоюз. симпозиума, Черновцы, 1975. С. 80-82.

304. Иванов Л.В., Ляпунов Н.А., Цымбал Л.В., Жданов Р.И. Влияние состава двухкомпонентных растворителей на биологические мембраны // Хим.-фарм. журн. 1986. Т. 20. № 12. С. 1437-1443.

305. Иванов Л.В., Набокова Т.Д., Коробейник В.В., Ясницкий Б.Ю., Медведева Т.В., Сухинина Т.В., Безуглая Л.П., Кошель Л.А. Влияние модфицированных полисахаридов на биодоступность нитазола при пероральном введении // Хим.-фарм. журн. 1992. Т. 26. № 4. С. 38-41.

306. Иванов Л. В., Ляпунов А. Н., Картель Н. Т., Нардид О. А., Черкашина Я. О., Деримедведь Л. В. Сравнительное изучение влияния ряда фармацевтических вспомогательных веществ на микровязкость мембран эритроцитов крови человека и крыс методом спиновых зондов // Фармакол. лік. токсикол. 2016. № 1 (47). С. 72-80.

307. Combined actions and interactions of chemicals in mixtures. Søborg: Schultz, 2003. 158 p.

308. Toxicity and drug testing, Ed. W. Acree. Rijeka: InTech, 2012. 528 p.

309. Castelli F., Micieli D., Ottimo S., Minniti Z., Sarpietro M.G., Librando V. Absorption of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons by biomembrane

models: effect of the medium lipophilicity // Chemosphere. 2008. Vol. 73. P. 1108-1114.

310. Castelli F., Librando V., Sarpietro M.G. Calorimetric approach of the interaction and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons with model membranes // Environ. Sci. Technol. 2002. Vol. 36. P. 2717-2723.

311. Tristram-Nagle S., Moore T., H.I. Petrache, J.F. Nagle. DMSO produces a new subgel phase in DPPC: DSC and X-ray diffraction study // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1369. P. 19-33.

312. Castelli F., Caruso S., Uccella N. Biomimesis of linolenic acid transport through model lipidic membranes by differential scanning calorimetry // J. Agric. Food Chem. 2003. Vol. 51. P. 851-855.

313. Chapman D., Urbina J. Biomembrane phase transitions. Studies of lipid-water systems using differential scanning calorimetry // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249 (8). P. 2512-2521.

314. Sturtevant J.M. Biochemical applications of differential scanning calorimetry // Ann. Rev. Phys. Chem. 1987. Vol. 38. P. 463-488.

315. Ohline S.M., Campbell M.L., Turnbull M.T., Kohler S.J. Differential scanning calorimetric study of bilayer membrane phase transitions: a biophysical chemistry experiment // J. Chem. Educ. 2001. Vol. 78 (9). P. 1251-1256.

316. Lewis R.N., Mannock D.A., McElhaney R.N. Differential scanning calorimetry in the study of lipid phase transitions in model and biological membranes: practical considerations / Methods in Molecular Biology, Ed. A.M. Dopico. Vol. 400. Totowa: Humana Press Inc, 2007. Chapt. 12. P. 171-195.

317. Абрамзон А.А. Постоянство дисперсионных сил и ван-дер-ваальсово взаимодействие органических молекул // Журн. структ. химии. 1978. Т. LII (5). С. 1190-1194.

318. Heimburg T. Mechanical aspects of membrane thermodynamics. Estimation of the mechanical properties of lipid membranes close to the chain

melting transition from calorimetry // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1415. P. 147-162.

319. Ebel H., Grabitz P., Heimburg T. Enthalpy and volume changes in lipid membranes. I. The proportionality of heat and volume changes in the lipid melting transition and its implication for the elastic constants // J. Phys. Chem. B. 2001. Vol. 105. P. 7353-7360.

320. Demetzos C. Differential scanning calorimetry (DSC): a tool to study the thermal behavior of lipid bilayers and liposome stability // J. Liposome Res. 2008. Vol. 18. P. 159-73.

321. Sugar I.P. Cooperativity and classificatlon of phase transitions. Application to one- and two-component phospholipid membranes // J. Phys. Chem. 1987. Vol. 91. P. 95-101.

322. Redhead P.A. Thermal desorption of gases // Vacuum. 1962. Vol. 12. P. 203-211.

323. Стёпин В.Д., Аллахвердов Г.Р., Серебренникова Г.М. Определение теплоты термической диссоциации твёрдого вещества по данным термогравиметрического анализа // Журн. физ. химии. 1969. Т. 43 (10). С. 2452-2456.

324. Kissinger H.E. Variation of peak temperature with heating rate in differential thermal analysis // J. Res. Natl. Bur. Stand. 1956. Vol. 57 (4). P. 217-221.

325. Jaw K.-S., Hsu C.-K., Lee J.-S. The thermal decomposition behaviors of stearic acid, paraffin wax and polyvinyl butyral // Thermochim. Acta. 2001. Vol. 367-368. P. 165-168.

326. Кувшинников И.М., Тихонович З.А., Фролкина В.А. Оценка гигроскопичности растворимых солей // Хим. пром. 1971. № 8. С. 599-600.

327. Umprayn K., Mendes R.W. Hygroscopicity and moisture adsorption kinetics of pharmaceutical solids: a review// Drug Devel. Industr. Pharmacy. 1987. Vol. 13 (4-5). P. 653-693.

328. Терещенко А.Г., Терещенко О.В. Кинетика сорбции паров воды растворимыми солями. Томск: Изд-во ТПУ, 1989. 25 с.

329. Терещенко А.Г. Гигроскопичность и слёживаемость растворимых веществ. Томск: Изд-во ТПУ, 2011. 78 с.

330. Trott O., Olson A.J. Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // J. Comput. Chem. 2010. Vol. 31. P. 455-461.

331. Zhao Y., Truhlar D.G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals // Theor. Chem. Accounts. 2008. Vol. 120 (1-3). P. 215-241.

332. Dunning Jr. T.H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen // J. Chem. Phys. 1989. Vol. 90. P. 1007-1023.

333. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. Quantum mechanical continuum solvation models // Chem. Rev. 2005. Vol. 105. P. 2999-3093.

334. Goerigk L., Grimme S. A thorough benchmark of density functional methods for general main group thermochemistry, kinetics, and noncovalent interactions // Phys. Chem. Chem. Phys. 2011. Vol. 13. P. 6670-6688.

335. M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, et al. Gaussian 09, Revision B.01. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2010.

336. ALOGPS 2.1 program [Electronic resource] // Virtual Computational Chemistry Laboratory – open electronic resource. URL: http://www.vcclab.org/web/alogps (дата звернення: 20.08.2014).

337. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y. Simple method of calculating octanol/water partition coefficient // Chem. Pharm. Bull. 1992. Vol. 40. P. 127-130.

338. Viswanadhan V.N., Ghose A.K., Revankar G.R., Robins R.K. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics // J. Chem. Inf. Computer Sci. 1989. Vol. 29. P. 163-172.

339. Tetko I.V. Computing chemistry on the web // Drug Discovery Today. 2005. Vol. 10. P. 1497-1500.

340. Tetko I.V., Tanchuk V. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program // J. Chem. Inf. Computer Sci. 2002. Vol. 42. P. 1136-1145.

341. Maia J.D.C., Carvalho G.A.U., Mangueira C.P. Santana Jr., S.R, Cabral L.A.F., Rocha G.B. GPU linear algebra libraries and GPGPU programming for accelerating MOPAC semiempirical quantum chemistry calculations // Chem. Theory Comput. 2012. Vol. P. 3072-3081.

342. Stewart J.J.P. Computational Chemistry [Electronic resource] // Chem. Theory Comput. 2012. P. 3072-3081. URL: http://OpenMOPAC.net (дата звернення 17.11.2015).

343. Лисецкий Л.Н., Тищенко В.Г. Оценка энергии дисперсионного взаимодействия мезогенных молекул // Журн. физ. химии. 1979. Т. 53 (9). С. 1190-1194.

344. Klasczyk B., Knecht V., Lipowsky R., Dimova R. Interactions of alkali metal chlorides with phosphatidylcholine vesicles // Langmuir. 2010. Vol. 26 (24). P. 18951-18958.

345. Garcia-Celma J.J., Hatahet L., Kunz W., Fendler K. Specific anion and cation binding to lipid membranes investigated on a solid supported membrane // Langmui. 2007. Vol. 23. P. 10074-10080.

346. Yaroshchuk A.E. Dielectric exclusion of ions from membranes // Adv. Coll. Interface Sci. 2000. Vol. 85. P. 193-230.

347. Робинсон Р., Стокс Р. Растворы электролитов. Москва, 1963. 647 с.

348. Binder H., Zschörnig O. The effect of metal cations on the phase behavior and hydration characteristics of phospholipid membranes // Chem. Phys. Lipids. 2002. Vol. 115. P. 39-61.

349. S.A. Tatulian. Effect of lipid phase transition on the binding of anions to dimyristoylphosphatidylcholine liposomes // Biochim. Biophys. Acta Biomembranes. 1983. Vol. 736 (2). P. 189-195.

350. Thomson A.S., Rothberg B.S. Voltage-dependent inactivation gating at the selectivity filter of the MthK Kchannel // J. Gen. Physiol. 2010. Vol. 136 (5). P. 569 - 579.

351. Крестов Г.А. Термодинамическая характеристика структурных изменений воды, связанных с гидратацией иона // Журн. структ. химии. 1962. Т. 3. № 3. С. 137-142.

352. Mukherjee P.K. Influence of non-mesogenic impurities on a nematic to isotropic phase transition // Liq. Cryst. 1997. Vol. 22 (3). P. 239-243.

353. Baldwin R.L. How Hofmeister ion interactions affect protein stability // Biophys. J. 1996. Vol. 71. 2056-2063.

354. С. С. Бацанов. Систематика атомных радиусов // Журн. структ. химии. 1962. № 3. С. 616-628.

355. Васюков А.Е., Бланк А.Б. Химические аспекты экологической безопасности поверхности водных объектов. Харьков, 2007. 256 с.

356. Василенко И.Я., Василенко О.И. Радиоактивный цезий // Энергия: экономика, техника, экология. 2001. № 7. С. 16-22.

357. Вода: структура, состояние, сольватация. Под ред. А.М. Кутепова. Москва, 2003. 406 с.

358. Leekumjorn S., Sum A. K. Molecular simulation study of structural and dynamic properties of mixed DPPC/DPPE bilayers // Biophys. J. 2006. Vol. 90 (11). P. 3951-3965.

359. W.-C. Hung, F.-Y. Chen. The hydrophobic-hydrophilic interface of phospholipid membranes studied by lamellar X-ray diffraction // Chinyese J. Phys. 2003. Vol. 41 (1). P. 85-91.

360. MacDonald G.J.F. Gibbs free energy of water at elevated temperatures and pressures with applications to the brucite-periclase equilibrium // J. Geol. 1955. Vol. 63 (3). P. 244-252.

361. Persson I. Hydrated metal ions in aqueous solution: how regular are their structures? // Pure Appl. Chem. 2010. Vol. 82 (10). P. 1901-1917.

362. Гусев Н.А. Состояние воды в растении. М: Наука, 1974. 134 с.

363. Evans C.H.,Interesting and useful biochemical properties of lanthanides, Tr. Biochem. Sci. 1983. Vol. 8. P. 445-449.

364. Freundlich H.M.F. Over the adsorption in solution // J. Phys. Chem. A. 1906. Vol. 57. P. 385-471.

365. Зельдович Я.Б. Избранные труды. Химическая физика и гидродинамика. Москва, 1984. 374 с.

366. Kewalramani S., Hlaing H., Ocko B.M., Kuzmenko I., Fukuto M., Effects of divalent cations on phase behavior and structure of a zwitterionic phospholipid (DMPC) monolayer at the air-water interface // J. Phys. Chem. Lett. 2010. Vol. 1. P. 489-495.

367. Porasso R.D., López Cascales J.J. Study of the effect of Na^+ and Ca^{2+} ion concentration on the structure of an asymmetric DPPC/DPPC + DPPS lipid bilayer by molecular dynamics simulation // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2009. Vol. 73. P. 42-50.

368. Lee H.-Y., Diehn K.K., Ko S.W., Tung S.-H., Raghavan S.R. Can simple salts influence self-assembly in oil? Multivalent cations as efficient gelators of lecithin organosols // Langmuir. 2010. Vol. 26. P. 13831-13838.

369. Nieh M.-P., Glinka C.J., Krueger S., Prosser R.S., Katsaras J. SANS study of the structural phases of magnetically alignable lanthanide-doped phospholipid mixtures // Langmuir. 2001. Vol. 17. P. 2629-2638.

370. Walrafen G.E. Raman spectral studies of the effects of temperature on water and electrolyte solutions // J. Chem. Phys. 1966. Vol. 44 (4). P. 1546-1558.

371. Jenkins H.D.B., Marcus Y. Viscosity B coefficients of ions in solution // Chem. Rev. 1995. Vol. 95. P. 2695-2724.

372. R. Zangi. Can salting-in/salting-out ions be classified as chaotropes/kosmotropes? // J. Phys. Chem. B. 2010. Vol. 114. P. 643-650.

373. De Xammar Oro J.R. Role of co-solute in biomolecular stability: glucose, urea and the water structure // J. Biol. Phys. 2001. Vol. 27. P. 73-79.

374. E.A. Galinski. Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, water-solute interaction, stress protection // Experientia. 1993. Vol. 49. P. 487-496.

375. Plumridge T.H., Waigh R.D. Water structure theory and some implications for drug design // J. Pharm. Pharmacol. 2002. Vol. 54. P. 1155-1179.

376. Singh L.R., Poddar N.K., Dar T.A., Rahman S., Kumar R., Ahmad F. Forty years of research on osmolyte-induced protein folding and stability // J. Iran Chem. Soc. 2011. Vol. 8 (1). P. 1-23.

377. Shukla D., Schneider C.P., Trout B.L. Molecular level insight into intra-solvent interaction effects on protein stability and aggregation // Adv. Drug Deliv. Rev. 2011. Vol. 63 (13). P. 1074-1085.

378. Moelbert S., Normand B., De Los Rios P. Kosmotropes and chaotropes: modelling preferential exclusion, binding and aggregate stability // Biophys. Chem. 2004. Vol. 112. P. 45-57.

379. Russo D. The impact of kosmotropes and chaotropes on bulk and hydration shell water dynamics in a model peptide solution // Chem. Phys. Lipids. 2008. Vol. 345. P. 200-211.

380. Jacob S.W., Herschler R. Pharmacology of DMSO // Cryobiology. 1986. Vol. 23. P. 14-27.

381. Santos N.C., Figueira-Coelho J., Martins-Silva J., Saldanha C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects // Biochem. Pharmacol. 2003. Vol. 65. P. 1035-1041.

382. Gordeliy V.I., Kiselev M.A., Lesieur P., Pole A.V., Teixeira J. Lipid membrane structure and interactions in dimethyl sulfoxide/water mixtures // Biophys. J. 1998. Vol. 75. P. 2343-2351.

383. Westh P. Preferential interaction of dimethyl sulfoxide and phosphatidyl choline membranes // Biochim. Biophys. Acta. 2004. Vol. 1664. P. 217- 223.

384. Kiselev M.A., Gutberlet T., Lesieur P., Hauss T., Ollivon M., Neubert R.H.H. Properties of ternary phospholipid/dimethyl sulfoxide/water systems at low temperatures // Chem. Phys. Lipids. 2005. Vol. 133. P. 181-193.

385. Kiselev M.A. Combined application of neutron and synchrotron radiation for investigation of the influence of dimethyl sulfoxide on the structure and properties of the dipalmitoylphosphatidylcholine membrane // Crystallogr. Rep. 2007. Vol. 52. P. 529-534.

386. Smith E.A., Dea P.K. Differential scanning calorimetry studies of phospholipid membranes: the interdigitated gel phase / Applications of calorimetry in a wide context – differential scanning calorimetry, isothermal titration calorimetry and microcalorimetry, Ed. A.A. Elkordy. Rijeka: InTech, 2013. P. 407-444.

387. Notman R., den Otter W.K., Noro M.G., Briels W.J., Anwar J. The permeability enhancing mechanism of DMSO in ceramide bilayers simulated by molecular dynamics // Biophys. J. 2007. Vol. 93. P. 2056-2068.

388. De Ménorval M.A., Mir L.M., Fernández M.L., Reigada R. Effects of dimethyl sulfoxide in cholesterol-containing lipid membranes: a comparative study of experiments in silico and with cells // PLoS One. 2012. Vol. 7 (7). Article e41733. 12 p.

389. He F., Liu W., Zheng S., Zhou L., Ye B., Qi Z. Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membrane // Mol. Membr. Biol. 2012. Vol. 29 (3-4). P. 107-113.

390. Cheng C.-Y., Song J., Pas J., Meijer L.H.H., Han S. DMSO induces dehydration near lipid membrane surface // Biophys. J. 2015. Vol. 109. P. 330-339.

391. Stringfellow D.A., Glasgow L.A. Tilorone hydrochloride: an oral interferon-inducing agent // Antimicrob. Agents Chemother. 1972. Vol. 2. P. 73-78.

392. Krueger R.F., Mayer G.D. Tilorone hydrochloride: an orally active antiviral agent. Science. 1970. Vol. 169. P. 1213-1214.

393. Chandra P., Wright G.J. Tilorone hydrochloride: the drug profile // Top. Curr. Chem. 1977. Vol. 72. P. 125-148.

394. Ekins S., Lingerfelt M.A., Comer J.E. Efficacy of tilorone dihydrochloride against ebola virus infection // Antimicrob. Agents Chemother. 2018. Vol. 62 (2). Article e01711-17. 42 p.

395. V. Murikipudi, P. Gupta, V. Sihorkar. Efficient throughput method for hygroscopicity classification of active and inactive pharmaceutical ingredients by water vapor sorption analysis // Pharm. Devel. Technol. 2013. Vol. 18 (2). P. 348-358.

396. D. Giron, M. Mutz and S. Garnier. Solid-state of pharmaceutical compounds. Impact of the ICH Q6 guideline on industrial development // J. Therm. Anal. Cal. 2004. Vol. 77. PP. 709–747.

397. Рыбин В.Г., Блинов Ю.Г. Антимикробные свойства липидов // Изв. Тихоокеанск. науч.-иссл.о рыбохоз. центра. 2001. Т. 129. С. 179-196.

398. Mabrey S., Sturtevant J.M. Incorporation of saturated fatty acids into phosphatidylcholine bilayers // Biochim. Biophys. Acta. 1977. Vol. 486. P. 444-450.

399. Høyrup P., Davidsen J., Jørgensen K. Lipid membrane partitioning of lysolipids and fatty acids: effects of membrane phase structure and detergent chain length // J. Phys. Chem. B. 2001. Vol. 105. P. 2649-2657.

400. Li J., Wu Y. Lubricants in pharmaceutical solid dosage forms // Lubricants. 2014. Vol. 2. P. 21.

401. Wang J., Wen H., Desai D. Lubrication in tablet formulations // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2010. Vol. 75, 1-15.

402. Lisetski L.N., Vashchenko O.V., Tolmachev A.V., Vodolazhskiy K.B. Effect of membranotropic agents on mono- and multilayers of dipalmitoylphosphatidylcholine // Eur. Biophys. J. 2002. Vol. 31. P. 554-558.

403. Betrencourt C., Hochapfel A., Thair A., Peretti P. Langmuir films of pure antibiotic ionophores and of mixtures with phospholipids at different temperatures // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1999. Vol. 332. P. 513-522.

404. Krull U.J., Thompson M., Vandenberg E.T., Wong H.E. Langmuir-Blogett film characteristics and phospholipids membrane ion conduction. Part 1. Modification by cholesterol and oxidized derivatives // Analyt. Chim. Acta. 1985. Vol. 174. P. 83-94.

405. Inoue T., Yanagihara S., Misono, Y. Suzuki, M. Effect of fatty acids on phase behavior of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer: saturated versus unsaturated fatty acids // Chem. Phys. Lipids. 2001. Vol. 109 (2). P. 117-133.

406. Belosludtsev K.N., Belosludtseva N.V., Agafonov A.V., Astashev M.E., Kazakov A.S., Saris N.-E.L., Mironova G.D. Ca^{2+}-dependent permeabilization of mitochondria and liposomes by palmitic and oleic acids: a comparative study // Biochim. Biophys. Acta. 2014. Vol. 1838. P. 2600-2606.

407. Технология и стандартизация лексредств. Под ред. В.П. Георгиевского, В.Ф. Конева. Т. I. Харьков, 1996. 784 с.

408. Cournia Z., Ullmann G. M., Smith J. C. Differential effects of cholesterol, ergosterol and lanosterol on dipalmitoyl phosphatidylcholine membrane: a molecular dynamics simulation study // J. Phys. Chem. B. 2007. Vol. 111. P. 1786-1801.

409. Kazanci N., Toyran N., Haris P., Severcan F. Vitamin D_2 at high and low concentrations exert opposing effects on molecular order and dynamocs of dipalmitoyl phosphatidylcholine membranes // Spectroscopy. 2001. Vol. 15. P. 47-55.

410. Krivanek R., L. Okoro L., Winter R. Effect of cholesterol and ergosterol on the compressibility and volume fluctuations of phospholipid-sterol bilayers in the critical point region: a molecular acoustic and calorimetric study // Biophys. J. 2008. Vol. 94. P. 3538-3548.

411. Солдатенков А.Т., Н.М. Колядина, И.В. Шендрик. Основы органической химии лекарственных веществ. Москва, 2001. 192 с.

412. Ситникова Т.А., Рахнянская А.А., Ярославова Е.Г., Сергеев-Черенков А.Н., Хомутов Г.Б., Гринберг В.Я., Бурова Т.В. Ярославов А.А. Строение и свойства комплексов полиамфолитов с анионными липосомами // Высокомолек. соед. 2009. Т. 51. № 6. С. 954-961.

413. P. J. Quinn. Is the distribution of α-tocopherol in membranes consistent with its putative functions? // Biochemistry. 2004. Vol. 69 (1). P. 58-66.

414. M. Rappolt, G. Pabst, H. Amenitsch, P. Laggner. Salt-induced phase separation in the liquid crystalline phase of phosphatidylcholines // Coll. Interf. A: Physicochem. Eng. Aspects. 2001. Vol. 183-185. P. 171-181.

415. Fukada K., Miki N. Phase separation of phosphatidylcholine – water systems below the main transition temperature induced by monovalent ions // Bull. Chem. Soc. Japan. 2009. Vol. 82 (4). P. 439-445.

416. Щербаков А.Б. Препараты серебра: вчера, сегодня и завтра // Фармацевт. журн. 2006. Т. 5. С. 45-57.

417. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria // J. Coll. Interf. Sci. 2004. Vol. 275. P. 177-182.

418. М. Д. Машковский. Лекарственные средства. Изд. 15-е. Москва:, 2005. 1200 с.

419. Venable R.M., Brooks B.R., Pastor R.W. Molecular dynamics simulations of gel ($L_{\beta I}$) phase lipid bilayers in constant pressure and constant surface area ensembles // J. Chem. Phys. 2000. Vol. 112 (10). P. 4822-4832.

420. Mavromoustakos T., Chatzigeorgiou P., Koukoulitsa C., Durgagi S. Partial interdigitation of lipid bilayers // Int. J. Quantum Chem. 2011. Vol. 111 (6). P. 1172-1183.

421. Fujikawa M., Ano R., Nakao K., Shimizu R., Akamatsu M. Relationships between structure and high-throughput screening permeability of diverse drugs with artificial membranes: application to prediction of *Caco-2* cell permeability // Bioorg. Med. Chem. 2005. Vol. 13. P. 4721-4732.

422. Nitsche J.M., Kasting G.B. A universal correlation predicts permeability coefficients of fluid- and gel-phase phospholipid and phospholipid-cholesterol bilayers for arbitrary solutes // J. Pharm. Sci. 2016. Vol. 105. P. 1762-1771.

423. Lisetski L.N., Krasnikova A.O., Torgova S.I. Mixtures of thermotropic mesogens as components of model DPPC membranes: effects of intermolecular interactions on phase transitions // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 2015. Vol. 623. P. 113-118.

424. Helenius A., Simons K. Solubilization of membranes by detergents // Biochim. Biophys.Acta. 1975. Vol. 415 (1). P. 29-79.

425. Aroti A., Leontidis E., Maltseva E., Brezesinski G. Effects of Hofmeister anions on DPPC Langmuir monolayers at the air-water interface // J. Phys. Chem. B. 2004. Vol. 108. P. 15238-15245.

426. Pegram L.M., Record M.T. Thermodynamic origin of Hofmeister ion effects // J. Phys. Chem. B. 2008. Vol. 112. P. 9428-9436.

427. Lewis R.N.A.H., McElhaney R.N. The physicochemical properties of cardiolipin bilayers and cardiolipin-containing lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788. P. 2069-2079.

428. Тихонов А.И., Ярных Т.Г. Технология лекарств: Учеб. для фармац. вузов и фак. Харьков, 2002. 704 с.

429. Фиалков Ю.Я., Житомирский А.Н., Тарасенко Ю.А. Физическая химия неводных растворов. Л: Химия, 1973. 376 с.

430. Никифоров М.Ю., Альпер Г.А., Дуров В.А., Королев В.П., Вьювин А.И., Крестов Г.А., Мясоедова В.В. Растворы неэлектролитов в жидкостях. Москва, 1989. 264с.

431. Wałcawek W., Dąbrowski R., Domagała A. On the intermolecular forces operating in induced smectics // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1982. Vol. 84. P. 255-265.

432. Лисецкий Л.Н., Диденко К.И., Паникарская В.Д. Специфические межмолекулярные взаимодействия в мезофазе: квазибинарные нематические системы в холестерическом растворителе // Журн. физ. химии. 1989. Т. 63. С. 822-825.

433. Lisetski, L. N., Batrachenko, L. A., Panikarskaya, V. D. Effects of polar interactions and molecular packing upon the induced smectic mesomorphism // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1992. Vol. 215. P. 287-294.

434. Del Castillo-Santaella T., Maldonado-Valderrama J., Faraudo J., Martín-Molina A. Specific ion effects in cholesterol monolayers // Materials. 2016. Vol. 9. P. 340-355.

435. Malyukin Yu., Klochkov V., Maksimchuk P., Seminko V., Spivak N., Oscillations of cerium oxidation state driven by oxygen diffusion in colloidal nanoceria (CeO_{2-x}) // Nanoscale Res. Lett. 2017. Vol. 12. Article 566. 7 P.

436. Ellis R.J., Bera M.K., Reinhart B., Antonio M.R. Trapped in the coordination sphere: nitrate ion transfer driven by the cerium (III/IV) redox couple // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. Vol. 18 (45). P. 31254-31259.

437. Хмельницкий Р.А. Физическая и коллоидная химия. Москва, 1988. 400 с.

438. Wishart D.S., Knox C., Guo A.C., Shrivastava S., Hassanali M., Stothard P., Chang Z., Woolsey J. DrugBank: a comprehensive resource for *in silico* drug discovery and exploration [Electronic resource] // Nucleic Acids Res. 2006. Vol. 34 (Database issue) : D668-72. URL: https://www.drugbank.ca (дата звернення 13.03.2015).

439. Ohvo-Rekilä H., Ramstedt B., Leppimäki P., Slotte J.P. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes // Progr. Lipid Res. 2002. Vol. 41. P. 66-97.

440. Fa N., Ronkart S., Schanck A., Deleu M., Gaigneaux A., Goormaghtigh E., Mingeot-Leclercq M.P. Effect of the antibiotic azithromycin on thermotropic behavior of DOPC or DPPC bilayers // Chem. Phys. Lipids. 2006. Vol. 144 (1). P. 108-116.

441. Lopes D., Nunes C., Fontaine P., Sarmento B., Reis S. Proof of pore formation and biophysical perturbations through a 2D amoxicillin-lipid membrane interaction approach // Biochim. Biophys. Acta. 2017. Vol. 1859. P. 803-812.

442. Pritchard J.R., Bruno P.M., Gilbert L.A., Capron K.L., Lauffenburger D.A., Hemann M.T. Defining principles of combination drug mechanisms of action // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2013. Vol. 110. P. 170-179.

443. Chou T.C.. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. // Cancer Res. 2010. Vol. 70 (2). P. 440-446.

444. Vievsky A. Cationic surfactants – new perspectives in medicine and biology // Tenside, Surfactants, Detergents. 1997. Vol. 34 (1). P. 18-21.

445. Kida W., Kozak M. Structural changes of DPPC bilayers induced by gemini surfactant // Acta Physica Polonica A. 2012. Vol. 121 (4). P. 893-898.

446. Суходуб Л.Ф., Косевич М.В., Шелковский В.С., Волянский Ю.Л. Масс-спектрометрическое исследование антимикробного препарата декаметоксина // Антибиотики и химиотерапия. 1989. Т. 34, № 11. С. 823-827.

447. Суходуб Л.Ф., Косевич М.В., Шелковский В.С., Боряк О.А., Волянский Ю.Л., Молева В.И., Чумаченко Т.А. Идентификация бисчетвертичных аммониевых соединений с помощью мягкоионизационной масс-спектрометрии // Антибиотики и химиотерапия. 1990. Т. 35, № 2. С. 10-12.

448. Kosevich M.V., Boryak O.A., Chagovets V.V., Pashynska V.A., Orlov V.V., Stepanian S.G., Shelkovsky V.S. 'Wet chemistry' and crystallochemistry reasons for acidic matrix suppression by quaternary ammonium salts under matrix-

assisted laser desorption/ionization conditions // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2007. Vol. 21 (11). P. 1813-1819.

449. Korzovskaya O.V., Pashinskaya V.A., Kosevich M.V., Lisetski L.N. Interaciton of antimicrobial agents decamethoxinum and aethonium with model membranes. // Вісн. Харк. ун-ту. 1999. № 450. Biophysical bulletin. Вип. 2. С. 35-39.

450. Pashinskaja V.A., Kosevich M.V., Gomory A., Vashchenko O.V., Lisetski L.N. Investigation of mechanisms of interaction of bisquaternary antimicrobial agents with model phospholipid membranes // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2002. Vol. 16. P. 1706.

451. Pokrovsky V.A., Kosevich M.V., Osaulenko V.L., Chagovets V.V., Pashynska V.A., Shelkovsky V.S., Karachevtsev V.A., Naumov A.Yu. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric strudy of bisquaternary ammonium antimicrobial agent decamethoxinum in 2,5-dihydroxybenzoic acid // Mass-spectrom. 2005. Vol. 2. P. 183-192.

452. Ashidate K, Kawamura M., Mimura D., Tohda H., Miyazaki S., Teramoto T., Yamamoto Y., Hirata Y. Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma // Eur. J. Pharmacol. 2005. Vol. 513 (3). P. 173-179.

453. Schrör K. Acetylsalicylic acid. Weinheim: Wiley-Blackwell, 2009. 390 p.

454. Srivastava A.K., Gupta Y.K. Aspirin modulates the anticonvulsant effect of diazepam and sodium valproate in pentylenetetrazole and maximal electroshock induced seizures in mice // Indian J. Physiol. Pharmacol. 2001. Vol. 45. P. 475-480.

455. Panicker L., Sharma V.K., Datta G., Deniz K.U., Parvathanathan P.S., Ramanathan K.V., Khetrapal C.L. Interaction of aspirin with DPPC in the lyotropic, DPPC-aspirin-H_2O/D_2O membrane // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1995. Vol. 260. P. 611-621.

456. M.A. Barrett, S. Zheng, G. Roshankar, R.J. Alsop, R.K. R. Belanger, Huynh C., Kučerka N., Rheinstädter M.C. Interaction of aspirin (acetylsalicylic acid) with lipid membranes // PLoS ONE. 2012. Vol. 7. Article e34357. 8 p.

457. Lichtenberger L.M., Barron M., Marathi U. Association of phosphatidylcholine and NSAIDS as a novel strategy to reduce gastrointestinal toxicity // Drugs Today. 2009. Vol. 45. P. 877-890.

458. Semalty A., Semalty M., Singh D., Rawat M.S.M. Development and characterization of aspirin-phospholipid complex for improved drug deliver Int. J. Parhm. Sci. Nanotech. 2010. Vol. 3. P. 940-947.

459. Alsop R.J., Toppozini L., Marquardt D., Kučerka N., Harroun T.A., M.C. Rheinstädter. Aspirin inhibits formation of cholesterol rafts in fluid lipid membranes // Biochim. Biopphys. Acta. Biomembr. 2015. Vol. 1848. P. 805-812.

460. Pashynska V.A., Kosevich M.V., Gomory A., Vekey K. Model mass spectrometric study of competitive interactions of antimicrobial bisquaternary ammonium drugs and aspirin with membrane phospholipids // Biopolym. Cell. 2013. Vol. 29 (2). P. 157-162.

461. Ciana A., Balduini C., Minetti G. Detergent-resistant membranes in human erythrocytes and their connection to the membrane-skeleton // J. Biosci. 2005. Vol. 30 (3). P. 317-328.

462. Mohandas N., Gallagher P.G. Red cell membrane: past, present, and future // Blood. 2008. Vol. 112 (10). P. 3939-3948.

463. Wong P. A basis of echinocytosis and stomatocytosis in the disc – sphere transformations of the erythrocyte // J. Theor. Biol. 1999. Vol. 6. P. 343-361.

464. Феофилова Е.П. Клеточная стенка грибов: современные представления о составе и биологической функции // Микробиология. 2010. Т. 79 (6). С. 723-733.

465. Репин Н.В., Юрченко Т.Н. Роль факторов среды и длительности экспозиции при 4 °С в сохранении формы эритроцитов / Актуальные проблемы

криобиологии и криомедицины. Под ред. А.Н. Гольцева. Харьков, 2012. С. 165-206.

466. Перцев И.М., Башура Г.С., Алюшин М.Т., Дмитриевский Д.И. К вопросу взаимодействия лекарственных и вспомогательных веществ // Фармация. 1973. № 5. С. 67.

467. Jackson K., Young D., Pant S. Drug-excipient interactions and their affect on absorption // PSTT. 2000. Vol. 3 (10). P. 336-345.

468. Bharate S.S., Bharate S.B., Bajaj A.N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients – a comprehensive review // J. Excipients Food Chem. 2010. Vol. 1 (3). P. 3-27.

469. Справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии. Под ред. И.С. Чекмана, А.П. Пелещука, О.А. Пятака. К: Здоров'я, 1986. 736 с.

470. Walker W. C., Murdoch J. M. Cycloserine in the treatment of pulmonary tuberculosis // Tubercle. 1957. Vol. 38 (5). P. 297-302.

471. Holla S. N., Amberkar M. B., Bhandary R., Kumari M., Janardhanan M. Cycloserine induced late onset psychosis and ethambutol induced peripheral neuropathy associated with MDR-TB treatment in an indian patient – a rare case report // J. Clin. Diagn. Res. 2015. Vol. 9 (2). Article FD01-3. 4 p.

472. Kim S., Kang M., Cho J.H., Choi S. Reversible magnetic resonance imaging findings in cycloserine-induced encephalopathy: a case report // Neurology Asia. 2014. Vol. 19 (4). P. 417-419.

473. Otu A.A., Offor J.B., Ekpor I.A., Olarenwaju O. New-onset psychosis in a multi-drug resistant tuberculosis patient on cycloserine in Calabar, Nigeria - a case report // Trop. J. Pharm. Res. 2014. Vol. 13 (2). P. 303-305.

474. da Silva E.P., Pereira M.A.V., de Barros Lima I.P., Barros Lima N.G.P., Barbosa E.G., Soares Aragão C.F., Barreto Gomes A.P. Compatibility study between atorvastatin and excipients using DSC and FTIR // J. Therm. Anal. Calorim. 2016. Vol. 123 (2). P. 933-939.

475. Fernandes F.H.A., de Almeida V.E., de Medeiros F.D., da Silva P.C.D., da S. Simões M.O., Veras G., Medeiros A.C.D. Evaluation of compatibility between *Schinopsis brasiliensis* Engler extract and pharmaceutical excipients using analytical techniques associated with chemometric tools // J. Therm. Anal. Calorim. 2016. Vol. 123 (3). P. 2531-2542.

476. Santana C.P., Fernandes F.H.A., Brandão D.O., Silva P.C.D., Correia L.P., Nóbrega F.P., de Medeiros F.D., Diniz P.H.G.D., Véras G., Medeiros A.C.D. Compatibility study of dry extract of *Ximenia americana L.* and pharmaceutical excipients used in solid state // J. Therm. Anal. Calorim. 2018. Vol. 133 (1). P. 603-617.

477. Технология и стандартизация лексредств. Под ред. В.П. Георгиевского, В.Ф. Конева. Т. II. Харьков, 2000. 784 с.

478. Delaney S.P., Nethercott M.J., Mays C.J., Winquist N.T., Arthur D., Calahan J.L., Sethi M., Pardue D.S., Kim J., Amidon G., Munson E.J. Characterization of synthesized and commercial forms of magnesium stearate using differential scanning calorimetry, thermogravimetric analysis, powder X-ray diffraction, and solid-state NMR spectroscopy // J. Pharm. Sci. 2017. Vol. 106. P. 338-347.

479. Skjevik A.A., Haug B.E., Lygre H., Teigen K. Intramolecular hydrogen bonding in articaine can be related to superior bone tissue penetration: a molecular dynamics study // Biophys. Chem. 2011. Vol. 154 (1). P. 18-25.

480. Саватеева Т.Н., Якуцени П.П., Лукьянова И.Ю., Афанасьев В.В. «Структура – функция – терапевтический эффект…» (к вопросу о лечебных свойствах генериков и инновационных препаратов на примере центральных холинергических веществ) // Атмосфера. Нервные болезни. 2011. № 2 С. 27-36.

481. Белоусов Б.Ю., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств / Рациональная фармакотерапия. Москва, 2005. 288 с.

482. Alsop R.J., Khondker A., Hub J.S., Rheinstadter M.C. The lipid bilayer provides a site for cortisone crystallization at high cortisone concentrations // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. P. 224-225.

483. Davila D., Kolacny-Babić L., Plavsić F. Pharmacokinetics of azithromycin after single oral dosing of experimental animals // Biopharm. Drug Dispos. 1991. Vol. 12 (7). P. 505-514.

484. Berquand A., Fa N., Dufrêne Y. F., Mingeot-Leclercq M.-P. Interaction of the macrolide antibiotic azithromycin with lipid bilayers: effect on membrane organization, fluidity, and permeability // Pharm. Res. 2005. Vol. 22 (3). P. 465-475.

485. Lee D.C., Chapman D. Infrared spectroscopic studies of biomembranes and model membranes // Biosci. Rep. 1986. Vol. 6. P. 235-256.

486. Mantsch H. H., McElhaney R. N. Phospholipid phase transition in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy // Chem.Phys. Lipids. 1991. Vol. 57. P. 213-226.

487. Okamura E., Umemura J., Takenaka T. Orientation studies of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine multibilayers by polarized FTIR-ATR spectroscopy // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1025. P. 94-98.

488. Arrondo J. L. R., Goňi F. M. Infrared studies of protein-induced perturbation of lipids in lipoproteins and membranes // Chem. Phys. Lipids. 1998. Vol. 96. P. 53-68.

489. Binder H. Water near lipid membranes as seen by infrared spectroscopy // Eur. Biophys. J. 2007. Vol. 36 (3-4). P. 265-279.

490. Arakawa M., Kagi H., Fukazawa H. laboratory measurements of infrared absorption spectra of hydrogen-ordered ice: A step to the exploration of ice XI in space // Astrophys. J. Suppl. Ser. 2009. Vol. 184. P. 361-365.

491. Andrade S., Ramalho M.J., Loureiro J.A., Pereira M.C. Interaction of natural compounds with biomembrane models: a biophysical approach for the

Alzheimer's disease therapy // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2019. Vol. 180. P. 83-92.

492. Gorbenko G.P. Resonance energy transfer study of hemoglobin and cytochrome c complexes with lipids // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 1409. P. 12-24.

493. Garcia-Celma J.J., Hatahet L., Kunz W., Fendler K. Specific anion and cation binding to lipid membranes investigated on a solid supported membrane // Langmuir. 2007. Vol. 23. P. 10074-10080.

494. Maxfield F.R., Tabas I. Role of cholesterol and lipid organization in disease // Nature. 2005. Vol. 438. P. 612-621.

495. Campbell R.B., Balasubramanian S.V., Straubinger R.M. Influence of cationic lipids on the stability and membrane properties of paclitaxel-containing liposomes // J. Pharm. Sci. 2001. Vol. 90. P. 1091-1105.

496. Honerkamp-Smith A.R., Veatch S.L., Keller S.L. An introduction to critical points for biophysicists; observations of compositional heterogeneity in lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788. P. 53-63.

497. Manca M.L., Sinico C., Maccioni A.M., Diez O., Fadda A.M., Manconi M. Composition influence on pulmonary delivery of rifampicin liposomes // Pharmaceutics. 2012. Vol. 4. P. 590-606.

498. Kiselev M.A. Methods for lipid nanostructure investigation at neutron and synchrotron sources // Phys. Part. Nuclei. 2011. Vol. 42 (2). P. 302-331.

499. Engström S., Ekelund K., Engblom J., Eriksson L., Sparr E., Wennerström H. The skin barrier from a lipid perspective // Acta Derm. Venereol. 2000. Vol. 208, P. 31 -35.

500. Picquart M., Nicolas E., Lavialle F. Membrane-damaging action of ricin on DPPC and DPPC-cerebrosides assembles. A Raman and FTIR analysis // Eur. Biophys. J. 1989. Vol. 17 (3). P. 143-149.

501. Bouwstra J.A., Dubbelaar F.E.R., Gooris G.S., Ponec M. The lipid organisation in the skin barrier // Acta Derm. Venereol. 2000. Vol. 208. P. 23 - 30.

502. Brasitus T.A., Schachter D. Lipid composition and fluidity of rat enterocyte basolateral membranes. Regional differences // Biochim Biophys Acta. 1984. Vol. 774 (1). P. 138-146.

503. Ikeda Y., Inagaki M., Yamada K., Miyamoto T., Higuchi R., Shibata O. Langmur monolayers of cerebroside with different head groups originated from sea cucumber: binary systems with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2009. Vol. 72. P. 272-283.

504. Nakahara H., Nakamura S., Nakamura K., Inagaki M., Asoc M., Higuchi R., Shibata O. Cerebroside Langmuir monolayers originated from the echinoderms I. Binary systems of cerebrosides and phospholipids // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2005. Vol. 42. P. 157-174.

505. Caffrey M., Hing F.S. A temperature gradient method for lipid phase diagram construction using time-resolved X-ray diffraction // Biophys. J. 1987. Vol. 51. P. 37-46.

506. Blume A., Ackermann T. A calorimetric study of the lipid phase transitions in aqueous dispersions of phosphorylcholine-phosphorylethanolamine mixtures // FEBS Let. 1974. Vol. 43 (1). P. 71-74.

507. Bouchet A.M., Frías M.A., Lairion F., Martini F., Almaleck H., Gordillo G., Disalvo E.A. Structural and dynamical surface properties of phosphatidylethanolamine containing membranes // Chem. Phys. Lipids. 1982. Vol. 30. P. 229-259.

508. Brown D.A., London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275 (23). P. 17221-17224.

509. Saad S.M.I., Policova Z., Acosta E.J., Hair M.L., Neumann A.W. Mixed DPPC/DPPG monolayers at very high film compression // Langmuir. 2009. Vol. 25 (18). P. 10907-10912.

510. Bensikaddour H., Snoussi K., Lins L., Van Bambeke F., Tulkens P.M., Brasseur R., Goormaghtigh E., Mingeot-Leclercq M.-P. Interactions of ciprofloxacin with DPPC and DPPG: fluorescence anisotropy, ATR-FTIR and ^{31}P NMR

spectroscopies and conformational analysis // Biochim. Biophys. Acta. 2008. Vol. 1778. P. 2535-2543.

511. Nassar P.M., Almeida L.E., Tabak M. Binding of dipyridamole to dppg and dppc phospholipid vesicles: Steady-state fluorescence and fluorescence anisotropy decay studies // Langmuir. 1998. Vol. 14. P. 6811-6817.

512. Boscia A.L., Treece B.W., Mohammadyani D., Klein-Seetharaman J., Braun A.R., Wassenaar T.A., Klösgen B.E., Tristram-Nagle S. Kosmotropes and chaotropes: modelling preferential exclusion, binding and aggregate stability // Chem. Phys. Lipids. 2014. Vol. 178. P. 1-10.

513. Yaroslavov A.A., Sybachin A.V., Zaborova O.V., Pergushov D.V., Zezin A.B., Melik-Nubarov N.S., Plamper F.A., Müller A.H.E., Menger F.M. Electrostatically driven complexation of liposomes with a star-shaped polyelectrolyte to low-toxicity multi-liposomal assemblies // Macromol. Biosci. 2014. Vol. 14. P. 491-495.

514. Seddon J.M., Templer R.H., Warrender N.A., Huang Z., Cevc G., D. Marsh. Phosphatidylcholine - fatty acid membranes: effects of headgroup hydration on the phase behaviour and structural parameters of the gel and inverse hexagonal (H_{II}) / phases // Biochim. Biophys. Acta. 1997. Vol. 1327. P. 131-147.

515. Kaasgaard T., Leidy C., Crowe J.H., Mouritsen O.G., Jørgensen K. Temperature-controlled structure and kinetics of ripple phases in one- and two-component supported lipid bilayers // Biophys. J. 2003. Vol. 85. P. 350-360.

516. Mojumdar E.H., Groen D., Gooris, G.S., Barlow D.J., Lawrence M.J., Deme B., J.A. Bouwstra. Localization of cholesterol and fatty acid in a model lipid membrane: a neutron diffraction approach // Biophys. J. 2013. Vol. 105. P. 911-919.

517. Woldseth B., Christensen E., Christophersen B.O. Incorporation of stearic acid (18 : 0) and palmitic acid (16 : 0) in phospholipid molecular species studied in isolated rat liver // Biochim. Biophys. Acta. 1993. Vol. 1167. P. 296-302.

518. Потапенко С.В., Вейхер А.А. Глины и каолин / Требования промышленности к качеству минерального сырья: Справочник для геологов. Под ред. А. А. Вейхера. Москва. 1962. 94 с.

519. Cellular and molecular effects of mineral and synthetic dusts and fibers. Eds. J.M.G. Davis, M.-C. Jaurand. Berlin – Heidelberg: Springer-Verlag, 1994. 437 p.

520. Gao N., Keane M.J., Ong T., Wallace W.E. Effects of simulated pulmonary surfactant on the cytotoxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin // J. Toxicol. Environ. Health A. 2000. Vol. 60(3). P. 153-67.

521. Gao N., Keane M.J., Ong T., Ye J., Miller W.E., Wallace W.E. Effects of phospholipid surfactant on apoptosis induction by respirable quartz and kaolin in NR8383 rat pulmonary macrophages // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2001. Vol. 175. P. 217-225.

522. Földvári M. Handbook on thermogravimetric systems of minerals and its use in geological practice. Budapest: Geological Institute of Hungary, 2011. 180 p.

523. Denolf K., Cordoyiannis G., Glorieux C., Thoen J. Effect of nonmesogenic impurities on the liquid crystalline phase transitions of octylcyanobiphenyl // Phys. Rev. E. 2007. Vol. 76. Article 051702. 9 p.

524. Swierstra J., Kapoerchan V., Knijnenburg A., van Belkum A., Overhand M. Structure, toxicity and antibiotic activity of gramicidin S and derivatives // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2016. Vol. 35 (5). P. 763-769.

525. Krivanek R., Rybar P., Prenner E.J., McElhaney R.N., Hianik T. Interaction of the antimicrobial peptide gramicidin S with dimyristoylphosphatidylcholine bilayer membranes: a densitometry and sound velocimetry study // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1510. P. 452-463.

526. Onda M., Hayashi H., Mita T. Interaction of gramicidin with lysophosphatidylcholine as revealed by calorimetry and fluorescence spectroscopy // J. Biochem. 2001. Vol. 130 (5). P. 613-620.

527. Abraham T., Prenner E.J., Lewis R.N.A.H., Mant C.T., Keller S., Hodges R.S., McElhaney R.N. Structure – activity relationships of the antimicrobial peptide gramicidin S and its analogs: aqueous solubility, self-association, conformation, antimicrobial activity and interaction with model lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes. 2014. Vol. 1838 (5). P. 1420-1429.

528. Afonin S., Glaser R.W., Sachse C., Salgado J., Wadhwani P., Ulrich A.S. ^{19}F NMR screening of unrelated antimicrobial peptides shows that membrane interactions are largely governed by lipids // Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes. 2014. Vol. 1838 (9). P. 2260-2268.

529. Berditsch M., Lux H., Babii O., Afonin S., Ulrich A. Therapeutic potential of gramicidin S in the treatment of root canal infections // Pharmaceuticals. 2016. Vol. 9 (3), Article 56. 14 p.

530. Kapoerchan V.V., Knijnenburg A.D., Keizer P., Spalburg E., de Neeling A.J., Mars-Groenendijk R.H., Noort D., Otero J.M., Llamas-Saiz A.L., van Raaij M.J., van der Marel G.A., Overkleeft H S., Overhand M. “Inverted” analogs of the antibiotic gramicidin S with an improved biological profile // Bioorganic Medicinal Chemistry. 2012. Vol. 20. P. 6059-6062.

531. Reißer S., Strandberg E., Steinbrecher T., Ulrich A. S. 3D Hydrophobic moment vectors as a tool to characterize the surface polarity of amphiphilic peptides // Biophys. J. 2014. Vol. 106 (11). P. 2385-2394.

532. M. Wenzel, M. Rautenbach, J. A. Vosloo, T. Siersma, C. H. M. Aisenbrey, E. Zaitseva,W. E. Laubscher, W. van Rensburg, J. C. Behrends, B. Bechinger, L. W. Hamoen. The Multifaceted antibacterial mechanisms of the pioneering peptide antibiotics tyrocidine and gramicidin S // mBio, 2018. Vol. 9, Iss. 5. Article e00802-18. 20 p.

533. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. Москва, 1985. 456 с.

534. Arias J. M., Tuttolomondo M. E., Díaz S. B., Ben Altabef A. Reorganization of hydration water of DPPC multilamellar vesicles induced by *L*-cysteine interaction // J. Phys. Chem. B. 2018. Vol. 122 (20). P. 5193-5204.

535. Selle C., Pohle W. Fourier transform infrared spectroscopy as a probe for the study of the hydration of lipid self-assemblies. II. Water binding versus phase transitions // Biospectroscopy. 1998. Vol. 4 (4). P. 281-294.

536. Blume A., Hübner W., Messner G. Fourier transform infrared spectroscopy of ^{13}C=O labeled phospholipids hydrogen bonding to carbonyl groups // Biochemistry. 1988. Vol. 27. P. 8239-8249.

537. Popova A.V., Hincha D.K. Effects of cholesterol on dry bilayers: interactions between phosphatidylcholine unsaturation and glycolipid or free sugar // Biophys. J. 2007. Vol. 93 (4). P. 1204-1214.

538. Telegeev G., Kutsevol N., Chumachenko V., Naumenko A., Telegeeva P., Filipchenko S., Harahuts Yu. Dextran-polyacrylamide as matrices for creation of anticancer nanocomposite // Int. J. Polymer Sci. 2017. Vol. 2017. Article 4929857. 9 p.

539. Merlitz H., Wu C.-X., Sommer J.-U. Starlike polymer brushes // Macromolecules. 2011. Vol. 44 (17). P. 7043-7049.

540. Kutsevol N.V., Chumachenko V.A., Rawiso M., Shkodich V.F., Stoyanov O.V. Star-like polymers dextran-polyacrylamide: the prospects of application for nanotechnology // J. Struct. Chem. 2015. Vol. 56 (5). P. 1016-1023.

541. Solano-Umaña V., Vega-Baudrit J.R., González-Paz R. The new field of the nanomedicine // Int. J. Appl. Sci. Technol. 2015. Vol. 5 (1). P. 79-87.

542. Kutsevol N., Naumenko A., Harahuts Yu., Chumachenko V., Shton, I., Shishko E., Lukianova N., Chekhun V. New hybrid composites for photodynamic therapy: synthesis, characterization and biological study // Appl. Nanosci. 2019. Vol. 9 (5). P. 881-888.

543. Bulavin L., Kutsevol N., Chumachenko V., Soloviov D., Kuklin A., Marinin A. SAXS combined with UV-vis spectroscopy and QUELS: accurate

characterization of silver sols synthesized in polymer matrices // Nanoscale Res. Lett. 2016. Vol. 11, Article 35. 8 p.

544. Kutsevol N., Chumachenko V., Rawiso M., Shyichuk A. Green synthesis of silver nanoparticles using glucose as reducing agent and dextran-graft-polyacrylamide as template // Micro Nano Lett. 2016. Vol. 11 (5). P. 256-259.

545. Yeshchenko O.A., Kutsevol N.V., Naumenko A.P. Light-induced heating of gold nanoparticles in colloidal solution: dependence on detuning from surface plasmon resonance 2016 // Plasmonics. 2016. Vol. 11 (1). P. 345-350.

546. Alaouie A.M., Smirnov A.I. Cooperativity and kinetics of phase transitions in nanopore-confined bilayers studied by differential scanning calorimetry // Biophys. J. 2005. Vol. 88 (2). P. L11-L13.

547. Khvedelidze M., Mdzinarashvili T., Shekiladze E., Schneider M., Moersdorf D., Bernhardt I. Structure of drug delivery DPPA and DPPC liposomes with ligands and their permeability through cells // J. Liposome Res. 2015. Vol. 25 (1). P. 20-31.

548. Sturtevant J.M. The effect of sodium chloride and calcium chloride on the main phase transition of dimyristoylphosphatidylcholine // Chem. Phys. Lipids. 1998. Vol. 95. P. 163-168.

549. Trends in high pressure bioscience and biotechnology, Ed. R. Hayashi / Progress in Biotechnology. Vol. 19. Amsterdam – London – New York – Oxford – Paris – Shannon – Tokyo, 2002. 668 p.

550. Hata T., Matsuki H., Kaneshina S. Effect of local anesthetics on the phase transition temperatures of ether- and ester-linked phospholipid bilayer membranes // Coll. Surf. B: Biointerfaces. 2000. Vol. 18. P. 41-50.

551. Stillwell W. An introduction to biological membranes, 2nd ed. Amsterdam – Boston – Heidelberg – London – New York – Oxford – Paris – San Diego – San Francisco – Singapore – Sydney – Tokyo, 2016. 580 p.

552. Helm C.A., Mohwald H., Kjaer K., Als-Nielsen J. Phospholipid monolayers between fluid and solid states // Biophys J. 1987. Vol. 52. P. 381-390.

553. Pereira-Leite C., Lopes-de-Campos D., Fontaine P., Cuccovia I.M., Nunes C., Reis S. Licofelone-DPPC interactions: putting membrane lipids on the radar of drug development // Molecules. 2019. Vol. 24 (3). P. 516-529.

554. Giocondi M.-C., Yamamoto D., Lesniewska E., Milhiet P.-E., Ando T., Le Grimellec C. Surface topography of membrane domains // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol. 1798. P. 703-718.

555. Sugár I.P., Michonova-Alexova E., Chong P.L.-G. Geometrical properties of gel and fluid clusters in dmpc/dspc bilayers: monte carlo simulation approach using a two-state model // Biophys. J. 2001. Vol. 81. P. 2425-2441.

556. Chen D., Santore M.M. 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC)-rich domain formation in binary phospholipid vesicle membranes: two-dimensional nucleation and growth // Langmuir. 2014. Vol. 30. P. 9484–9493.

557. Flörsheime M., Möhwald H. Development of equilibrium domain shapes in phospholipid monolayers // Chem. Phys. Lipids. 1989. Vol. 49. P. 231-241.

558. Seeger H.M., Fidorra M., Heimburg T. Domain size and fluctuations in domain interfaces in lipid mixtures // Macromol. Symp. 2005. Vol. 219. P. 85-96.

559. Shimshick E.J., McConnell H.M. Lateral phase separation in phospholipid membranes // Biochemistry. 1973. Vol. 12 (12). P. 2351-2360.

560. Epand R.F., Tokarska-Schlattner M., Schlattner U., Wallimann T., Epand R.M. Cardiolipin clusters and membrane domain formation induced by mitochondrial proteins // J. Mol. Biol. 2007. Vol. 365. P. 968-980.

561. Posch M., Rakusch U., Mollay C., Laggner P. Cooperative effects in the interaction between melittin and phosphatidylcholine model membranes studies by temperature scanning densitometry // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258. P. 1761-1766.

562. Кузин В.Г. Зависимость эффекта комбинированной терапии от порядка введения лекарств // Хим.-фарм. журн. 1992. Т. 26. № 4. С. 41-42.

563. Chen L.X., Allen H.C. Interactions of dimethylsulfoxide with a dipalmitoylphosphatidylcholine monolayer studied by vibrational sum frequency generation // J. Phys. Chem. A. 2009. Vol. 113. P. 12655-12662.

564. Лебедев С.И. Физиология растений. Москва, 1988. 544 с.

565. Pradhan G.R., Pandit S.A., Gangal A.D., Sitaramam V. Shape anisotropy of lipid molecules and voids // J. Theor. Biol. 2003. Vol. 220. P. 189-199.

Додаток А. Список публікацій здобувача 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., Titar 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 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-Mugkhrabi 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., Bespalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospolipid 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. Ермак Ю.Л., **Ващенко О.В.** Влияние нитрата серебра на мультибислои 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 Iu.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 en 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 Meeteing, 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 studyies // 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 analisys // 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, біониці 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)*

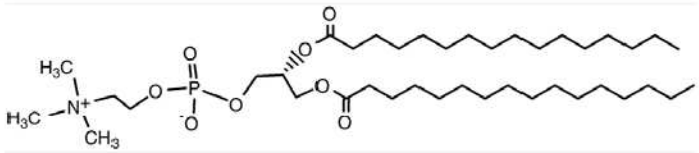
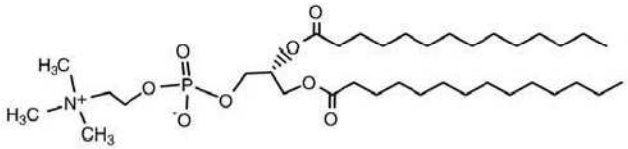
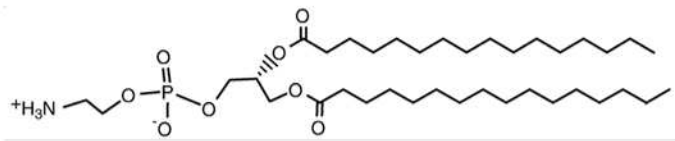
46. **Ващенко О.В.**, Касян Н.А., Пашинская В. А., Косевич М.В., Ермак Ю.Л., Лисецкий Л.Н. Липидные мембраны как модельная среда для решения прикладных биомедицинских задач / Функциональные материалы для сцинтилляционной техники и биомедицины. Харьков, 2012. 428 с. (с. 324-354). *(Особистий внесок здобувача: 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)*

Додаток Б. Структура та деякі характеристики досліджуваних речовин

Таблиця Б1

Характеристики речовин, що використовувалися як компоненти модельних мембран: молекулярна маса *M*, коефіцієнт ліпофільності *logP*, коефіцієнт молекулярної анізометрії k_a, максимальний лінійний розмір молекули r_x

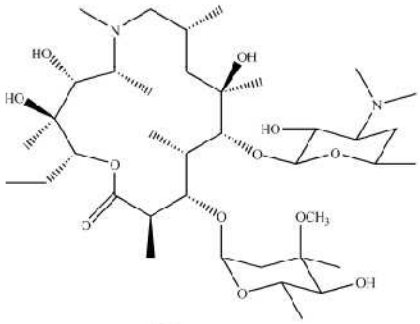
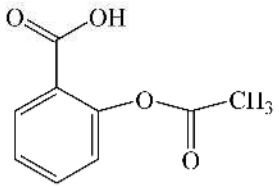
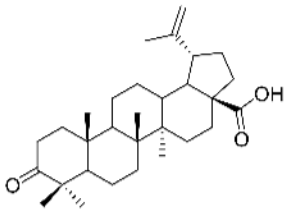
Назва	Абреві-атура	Структура	*M*, Да	*logP* [89]	k_a	r_x, Å
1	2	3	4	5	6	7
L-α-дипальмітоїл-фосфатидилхолін	ДПФХ		734,1	13,5	0,62	31,9
L-α-диміристоїл-фосфатидилхолін	ДМФХ		677,9	11,3	0,60	30,8
L-α-дипальмі-тоїлфосфатидил-етаноламін	ДПФЕ		692,0	10,8	0,59	31,9

Продовження таблиці Б1

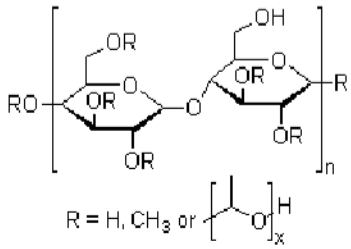
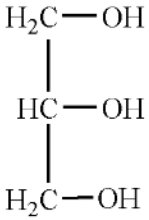
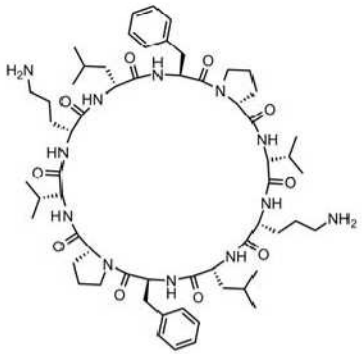
1	2	3	4	5	6	7
L-α-дипаль-мітоїлфосфати-дилгліцерин	ДПФГ		568,9	12,2	0,46	24,2
Холестерин	Хол		386,7	8,7	0,30	15,6
Кардіоліпін	КЛ		–	–	–	–
Цереброзіди	Цб		–	–	–	–

Таблиця Б2

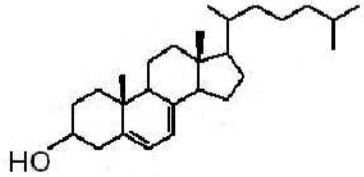
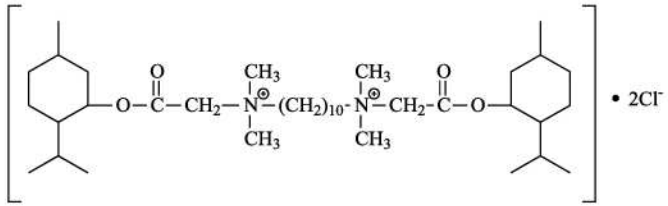
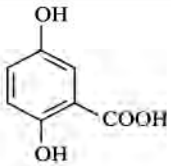
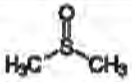
Структурні формули та коефіцієнти ліпофільності досліджуваних речовин

1	2	3	4	5
№ з/п	Назва (абревіатура)	Структура	М, Да	logP
1.	Азитроміцин		749,0	4,0 [89]
2.	Ацетилсаліцилова кислота		180,1	1,2
3.	Бетулонова кислота		454,7	7,9 [89]

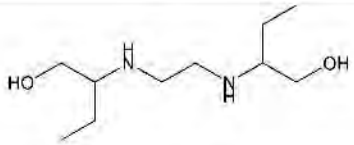
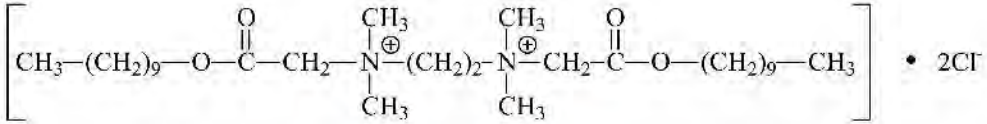
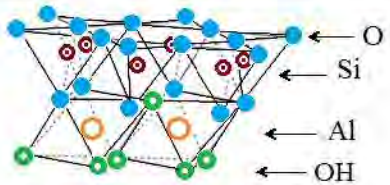
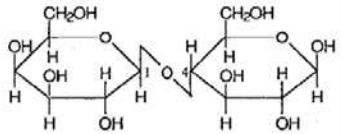
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
4.	Гіпромелоза		–	–
5.	Гліцерин		92,0	–1,8
6.	Граміцидин S (GS)		1141,5	4,6

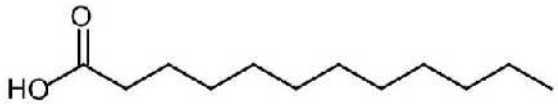
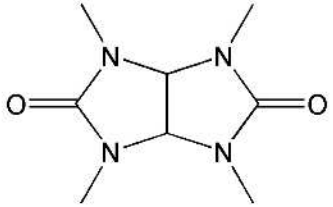
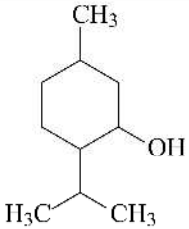
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
7.	7-дегідрохолестерин		384,6	8,0 [89]
8.	Декаметоксин		692,5	10,7
9.	2,5-дігідроксибензойна кислота (ДГБК)		154,1	1,6 [89]
10.	Діметилсульфоксид		78,1	–0,6 [89]

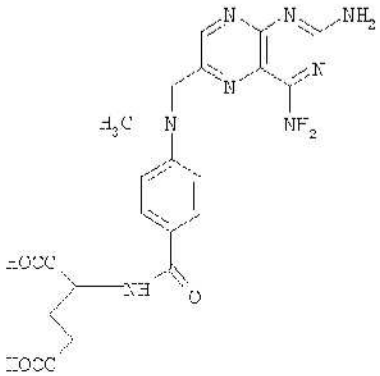
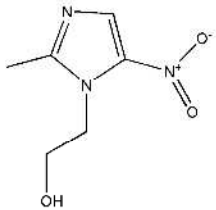
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
11.	Етамбутол			–0,1
12.	Етоній		584,4	9,2
13.	Каолін		–	–
14.	Лактоза		342,3	–4,7

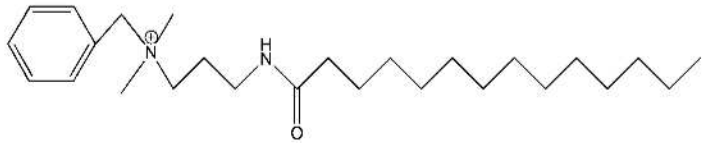
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
15.	Лауринова кислота		200,3	4,2 [89]
16.	Мебікар		198,2	–0,9
17.	Ментол		156,3	3,0

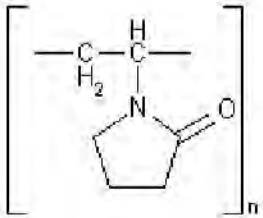
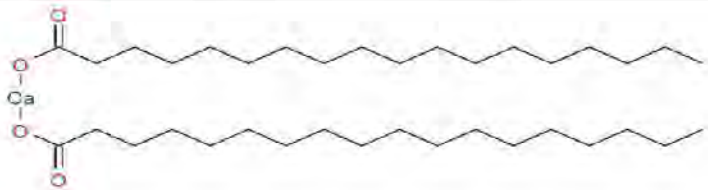
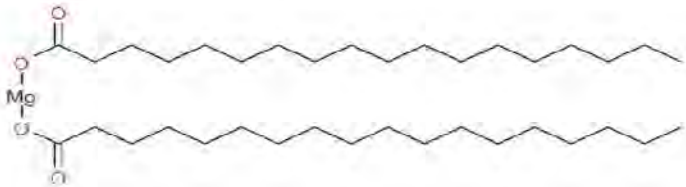
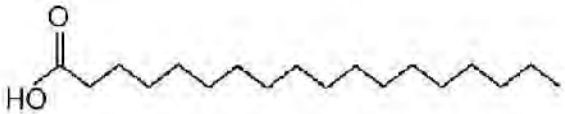
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
18.	Метотрексат		454,4	–1,8 [89]
19.	Метронідазол		171,2	0,0

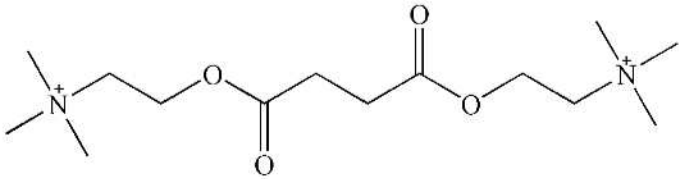
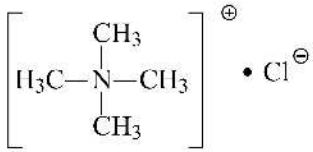
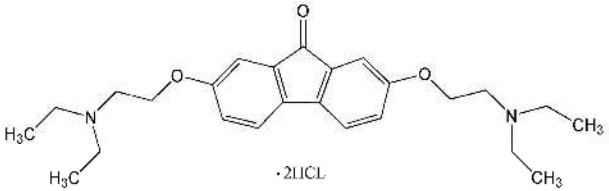
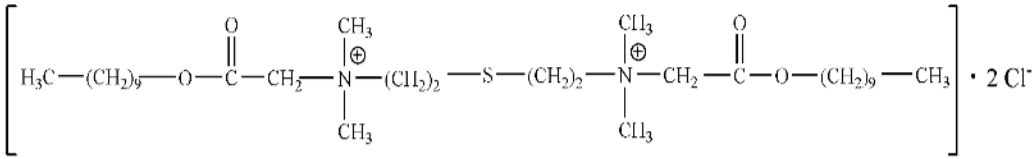
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
20.	Мірамістин		439,3	7,7
21.	Оксиетильована похідна гліцерину зі ступенем полімеризації 5 ($ОЕГ_5$)	$H_2C—O—(CH_2CH_2O)_kH$ $HC—OH$ $H_2C—O—(CH_2CH_2O)_{5-k}H$	–	–1,1
22.	Оксиетильована похідна гліцерину зі ступенем полімеризації 25 ($ОЕГ_{25}$)	$H_2C—O—(CH_2CH_2O)_kH$ $HC—OH$ $H_2C—O—(CH_2CH_2O)_{25-k}H$	–	–0,7
23.	Оксиетильована похідна гліцерину зі ступенем полімеризації 30 ($ОЕГ_{30}$)	$H_2C—O—(CH_2CH_2O)_kH$ $HC—OH$ $H_2C—O—(CH_2CH_2O)_{25-k}H$	–	–0,6

Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
24.	Повідон		–	–
25.	Стеарат кальцію		607,0	–
26.	Стеарат магнію		591,2	7,2
27.	Стеаринова кислота		284,5	7,4

Продовження таблиці Б2

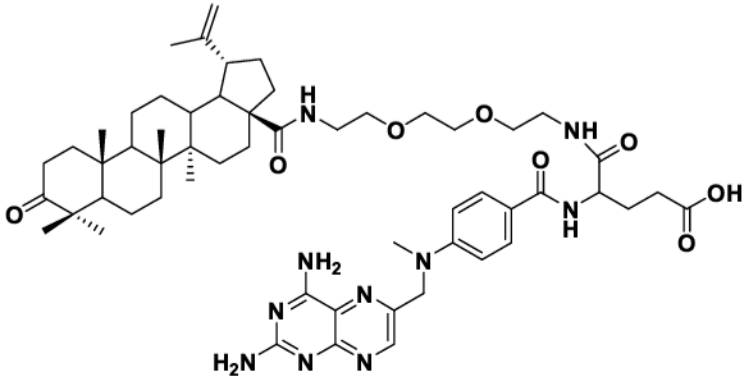
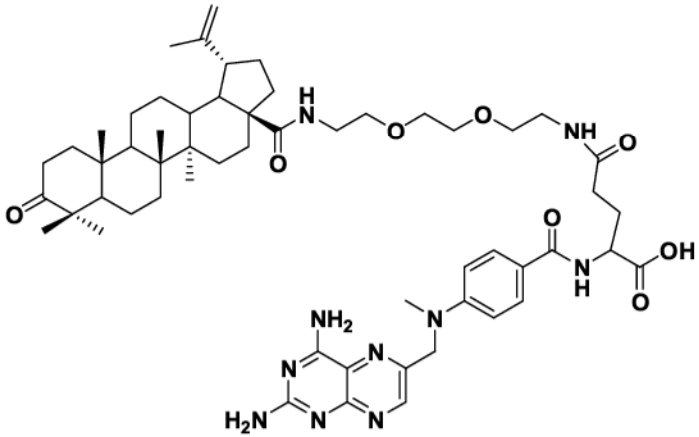
1	2	3	4	5
28.	Сукцинілхолін		290,4	0,1
29.	Тетраметиламонію хлорид (ТМА)		109,5	0,3 [89]
30.	Тилорон дігідрохлорид		483,5	1,7 *
31.	Тіоній		644,5	2,2

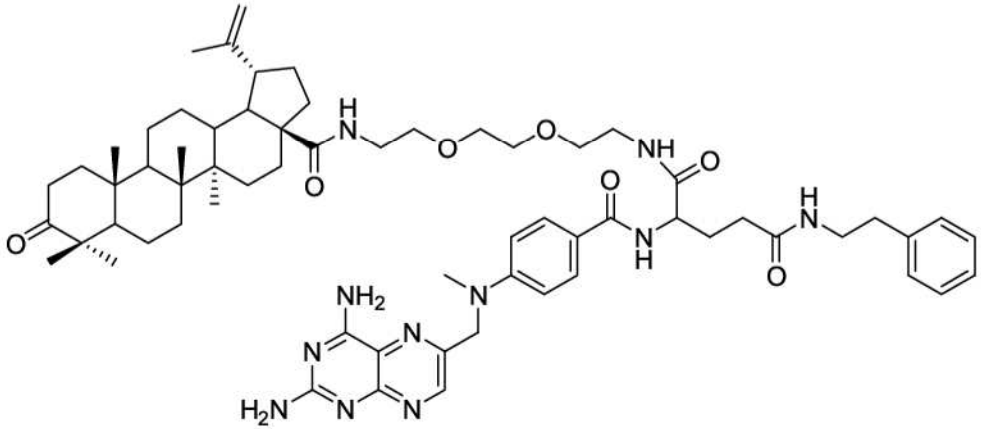
* Визначено д. х. н. Мальцевим Г.В., ООО Інтерхім (м. Одеса)

Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
32.	Уроканова кислота		138,1	0,0
33.	Фенібут		179,2	–
34.	Фенспіриду гідрохлорид		296,8	2,1
35.	Циклосерин		102,1	–1,5 [89]

Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
36.	SA-1		1021,3	5,3
37.	SA-9		1021,3	5,3

38.	SA-188		1124,46	6,3

Додаток В. Ефекти спільної дії лікарських речовин у ліпідних мембранах за даними літературних джерел

Таблиця В1

Ефекти спільної дії лікарських речовин у модельних ліпідних мембранах (ефект речовини А змінюється в присутності речовини Б; напрямок зміни показаний стрілками)

Речовина А	Речовина Б	Ліпіди	Ефект	Джерело
1	2	3	4	5
Зміна зв'язування з мембраною				
La^{3+}	NaCl	ДПФХ	↑	[227]
Тетракаїн	ClO_4^-, SCN^- Cl^-, $SO4^{2-}$	ФХ	↓ ↑	[281]
Сироватковий альбумін	Трегалоза	ФХ/ФГ	↓	[282]
Лідокаїн	Флунітразепам	ДПФХ	↓	[283]
Дауноміцин	Верапаміл	ДПФХ	↓	[288]
Ніфедипин	Циклодекстрин	ДПФХ	↑	[290]
н-бутанол	Стеаринова, олеїнова, лінолева кислоти	ДПФХ	↓	[285]
β-лактоглобулін	Хітозан	ФГ	↓	[284]
$CaPO_4$	Вітамін $Д_2$	ДМФХ	↓	[287, 298]
Зміна проникності				
Гіалуронова кислота	Ca^{2+}	ДПФХ	↑	[292]
Талінол	Верапаміл, α-токоферол	ДПФХ	↓	[285]

Продовження таблиці В1

1	2	3	4	5
Амфотерицин В	Хол, ергостерин	ДПФХ	↓	[244]
Протизапальні ЛР	Етанол + лауринова кислота	ФХ	↑	[291]
Ацетилхолінхлорид	*d*-тубокурарин Фосфатидилсерин	ФХ	↓ ↑	[266]
Кальцеїн	Сульфасалазин, напроксен	ДПФХ	↑	[176]
Зміна ефекту				
Ергостерин	Амфотерицин В	ДПФХ	Перерозподіл	[293]
Вінбластин	Хол	ФХ, ФГ	Антагонізм	[181, 294]
Амфотерицин В	Флоретин	ФХ та ін.	Зміна активності	[261]
Парацетамол	Ацетилцистеїн, Са-пантотенат	ДПФХ	↓	[295]
Хол	ДМСО	ДПФХ	↓	[296]
Мелітин	Вітамін $Д_2$	ДПФХ	↓	[297]
Маганін	Білок PGLa	ДМФХ	синергізм	[299]
Етанол	Вітамін С	ДПФХ	↓	[300]
Граміцидин А	ДМСО	ФХ	утворення $Н_{II}$-фази	[301]

Автор висловлює глибоку вдячність своєму науковому консультанту д. ф.-м. н. проф. Лисецькому Л.М. за багаторічне мудре керівництво та підтримку, співробітникам Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ к. х. н. Панікарській В. Д., к. ф.-м. н. Касян Н.О., к. ф.-м. н. Садченко А.О., м.н.с. Будянській Л.В. – за допомогу у роботі, а також всім співавторам наукових праць – за цінний досвід наукового спілкування.