

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФАРМПРЕПАРАТОВ И ИХ АКТИВНЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ

© 2017 г. А.О. Садченко, О.В. Ващенко, А.Ю. Пуговкин*, Е.Ф. Копейка*, Н.А. Касян, Л.В. Будянская, А.В. Мащенко**, Я.М. Аль-Мугхраби**, Д.С. Софронов***, Л.Н. Лисецкий

Институт сцинтилляционных материалов НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины, 61001, Харьков, просп. Науки, 60, Украина

**Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, 61015, Харьков, ул. Переяславская, 27, Украина*

***Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, 61072, Харьков, пл. Свободы, 4, Украина*

****Государственное научное учреждение НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины, 61001, Харьков, просп. Науки, 60, Украина*

E-mail: olga_v@isma.kharkov.ua

Поступила в редакцию 22.09.16 г.

Исследовано сравнительное действие активных фармацевтических ингредиентов амиксина, аспирина, метронидазола, фенибута и фенспирида, а также соответствующих фармацевтических препаратов на липидные мембраны. В работе использованы модельные липидные мембраны из *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолина, а также нативные сперматозоиды карпа. Методом дифференциальной сканирующей калориметрии зарегистрировано снижение температуры плавления мембран из *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолина в присутствии всех активных ингредиентов/фармацевтических препаратов, кроме группы фенибута, для которой наблюдалось расщепление пика плавления. Установлено, что в исследованных фармацевтических препаратах активные фармацевтические ингредиенты обладают определяющим мембранотропным действием, а вспомогательные вещества – модулирующим. На основании ИК-Фурье-спектров количественно охарактеризованы изменения параметров полос ν_{OH} воды в мембранах из *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолина, содержащих исследованные активные фармацевтические ингредиенты. По этим параметрам влияние фенибута также отличалось от влияния всех остальных ингредиентов. Установлены различия параметров полос ν_{OH} воды, обусловленные присутствием вспомогательных веществ в фармацевтических препаратах. Повышение проницаемости для воды мембран сперматозоидов карпа *in vitro* наблюдается для препаратов, вызывающих снижение температуры фазового перехода модельной мембраны (амиксин) и латеральное фазовое разделение липидов (фенибут).

Ключевые слова: липидные мембраны, фармпрепараты, дифференциальная сканирующая калориметрия, ИК-спектроскопия, проницаемость мембран.

Основными молекулярными мишенями современных фармацевтических препаратов (ФП) являются белковые структуры [1]. Такая стратегия фармакотерапии обусловлена общепринятой на сегодняшний день протеиноцентрической моделью, согласно которой ключевые функции в жизнедеятельности клетки принадлежат белкам и пептидам [2]. Тем не менее

взаимодействие лекарственных веществ с липидным бислоем биомембран неизбежно в силу того, что место введения ФП и их молекулярные мишени, как правило, разнесены и разделены большим количеством клеточных мембран [3]. Известно, что проникновение большинства ФП в клетку осуществляется путем пассивной диффузии через липидный бислой [4]. Взаимодействие ФП с липидной мембраной – обоюдный процесс: с одной стороны, оно влияет на фармакокинетические свойства ФП, с другой – изменяются структурно-функциональные свойства мембраны (мембранотропное действие ФП).

Сокращения: ФП – фармацевтические препараты, АФИ – активный фармацевтический ингредиент, ДПФХ – *L*- α -дипальмитоилфосфатидилхолина, ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия.

Характеристики ДПФХ и АФИ (в скобках указаны исследованные ФП): молекулярная масса (M), средний коэффициент липофильности ($\langle \log P \rangle$) и параметр мембранотропного действия ($\Delta T_m/c$).

| Название фармацевтического препарата | Структурная формула | M , Да | $\langle \log P \rangle$ | $\Delta T_m/c$, °C |
|--|---------------------|----------|--------------------------|---------------------|
| ДПФХ | | 734,1 | $9,12 \pm 3,71$ | 0 |
| Амиксин («Амиксин IC») | | 410,5 | $4,48 \pm 0,52$ | $-0,33 \pm 0,15$ |
| Аспирин («Аспирин Комплекс») | | 180,2 | $1,40 \pm 0,17$ | $-1,00 \pm 0,15$ |
| Метронидазол («Метрогил», «Метронидазол Юрия-Фарм», «Трикасаид») | | 171,2 | $-0,12 \pm 0,29$ | $-0,25 \pm 0,15$ |
| Фенибут («Нообут IC») | | 179,2 | $-0,04 \pm 1,24$ | – |
| Фенспирида гидрохлорид («Эреспал») | | 260,3 | $1,85 \pm 0,25$ | $-0,65 \pm 0,15$ |

Связь между мембранотропным действием и терапевтической активностью установлена для многих ФП: локальных анестетиков [2,5–8], антибиотиков [3,9], катионных сурфактантов [3,10–13] и других [13–19]. В последнее время для изучения взаимодействия ФП с клеточными мембранами широко используются модельные липидные мембраны, дающие ценную информацию о всасывании, токсических свойствах, возможностях оптимизации доставки ФП и проч. [3,13,18,20–22].

Существует и другой важный аспект взаимодействия ФП с мембранами. Современные ФП состоят, как правило, из активного фармацевтического ингредиента (АФИ), осуществляющего терапевтическую функцию, а также целого набора вспомогательных веществ, которые могут оказывать существенное влияние на фармакокинетику и терапевтическое действие ФП [1,21,23–26]. Несмотря на то что изучение взаимодействия лекарственных веществ с липидными мембранами является актуальным и динамично развивающимся направлением, в литературе практически отсутствуют работы, посвященные сравнительному изучению мембра-

нотропного действия ФП и его АФИ. В связи с этим целью данной работы являлось установление и анализ различных характеристик взаимодействия ФП и АФИ с модельными липидными и клеточными мембранами.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Модельные липидные мембраны были приготовлены на основе гидратированного *L*- α -дипальмитойлфосфатидилхолина (ДПФХ) производства Sigma (США). Содержание воды в мембранах составляло 65 масс. %, содержание АФИ (в чистом виде или в составе ФП) – 1 ÷ 5 масс. % относительно сухого ДПФХ. Были исследованы следующие АФИ (в скобках – наименования соответствующих фармацевтических препаратов): амиксин («Амиксин IC»), аспирин («Аспирин Комплекс»), метронидазол («Метрогил», «Метронидазол Юрия-Фарм», «Трикасаид»), фенибут («Нообут IC»), фенспирид («Эреспал») (см. таблицу). Оценка коэффициента липофильности АФИ была проведена с помощью открытого электронного ресурса [27] с использованием алгоритмов Pharma Algorithm (AC_logP);

Molinspiration Algorithms (miLogP, ALOGP, MLOGP; программное обеспечение DragonX) [28,29]; XLOGP2 и XLOGP3 (программное обеспечение XLOGP2, XLOGP3) [30]; ALOGPs (программное обеспечение ALOGPS 2.1) [31]. Усредненный коэффициент липофильности, $\langle \log P \rangle$, представляет собой среднее арифметическое всех результатов по каждому АФИ. Все исследованные АФИ являются водорастворимыми соединениями.

Для приготовления липидных мембран, содержащих АФИ/ФП, к сухому ДПФХ добавляли раствор исследуемого АФИ/ФП в бидистиллированной воде. Для сравнения мембранотропного действия АФИ и ФП на его основе, концентрации АФИ в системах выбирались одинаковыми. Контрольный образец модельных мембран (без добавок) готовили на бидистиллированной воде, отдельно для каждого типа АФИ. После гидратирования все образцы термостатировали при комнатной температуре в течение шести–семи суток, периодически прогревая до 50°C и тщательно перемешивая. Содержащие воды контролировали с точностью до 0,1% с помощью весов XP26 (Mettler Toledo, Швейцария).

Исследования методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) проводили с помощью калориметра DSC 1 (Mettler Toledo, Швейцария). Исследуемые образцы в количестве 15–25 мг помещали в алюминиевые тигли и запечатывали. Для каждого образца проводили два цикла «охлаждение–нагревание» со скоростью сканирования 2 К/мин. Обработку ДСК-термограмм проводили с использованием программного обеспечения калориметра DSC 1, а также программного обеспечения QTiPlot. Были определены температура и энтальпия основного перехода (плавления) липидных мембран (T_m , ΔH_m), а также предперехода (T_p , ΔH_p). Стандартное отклонение указанных параметров, полученное на основании анализа 15 контрольных образцов, составило: $\delta T_m = 0,15^\circ\text{C}$; $\delta T_p = 0,25^\circ\text{C}$; $\delta \Delta H_m = 2,6$ кДж/кг; $\delta \Delta H_p = 0,4$ кДж/кг. Разложение ДСК-пиков на гауссианы и определение их параметров проведено с помощью программного обеспечения QTiPlot. Коэффициент корреляции r между экспериментальной кривой и огибающей составлял не менее 0,995. Доля площади каждого пика определялась как $x_i = Q_i/Q \cdot 100\%$, где Q_i и Q – площадь под каждым пиком и под всей кривой соответственно.

ИК-Фурье-спектры липидных мембран, содержащих АФИ/ФП, и соответствующих водных растворов были получены при комнатной температуре с помощью спектрофотометра «SPECTRUM ONE» (Perkin Elmer, США) по методу «раздавленной капли» [32] между пластинами ZnSe. Полученные спектры в координатах оптической плотности нормировали по пику $\nu_s\text{CH}_2$ (2850 см^{-1}) после вычитания поглощения пластин ZnSe и базисной линии. Точность определения волнового числа составляла $0,5\text{ см}^{-1}$. Разложение ИК-полос проводили аналогично анализу ДСК-термограмм.

Коэффициенты проницаемости плазматических мембран сперматозоидов для молекул воды (L_p) определяли путем сопоставления экспериментальных зависимостей относительных объемов клеток от времени с решениями уравнений теоретической модели [33]. Осмотические реакции сперматозоидов изучали *in vitro* на основании данных о динамике светопропускания суспензий клеток, помещенных в водные растворы NaCl по методике [34]. Энергию активации процесса переноса молекул воды через мембраны клеток (E_a) рассчитывали на основании зависимостей $\ln L_p$ от обратной температуры, наклон которых, согласно уравнению Аррениуса, равен E_a/R , где R – универсальная газовая постоянная. Экспериментальная погрешность определения E_a составляла 8%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие лекарственных веществ на фазовое состояние модельных липидных мембран. Изучение мембранотропного действия ФП с помощью ДСК используется в настоящее время достаточно широко благодаря неинвазивности и высокой чувствительности метода [20,35]. Влияние исследованных АФИ/ФП на модельные липидные мембраны ДПФХ представлено на концентрационных зависимостях ДСК-параметров мембран (рис. 1). Как можно видеть, в присутствии АФИ/ФП существенно меняется не только температура основного фазового перехода модельной мембраны (T_m), но и другие термодинамические параметры – температура предперехода (T_p), энтальпия основного и предпереходов (ΔH_m и ΔH_p). Сдвиги температур основного и предперехода модельной мембраны в присутствии АФИ/ФП по сравнению с чистой мембраной обозначены ΔT_m и ΔT_p . Для всех исследованных систем, за исключением фенспирида, характерно снижение всех указанных термодинамических параметров. Для фенспирида

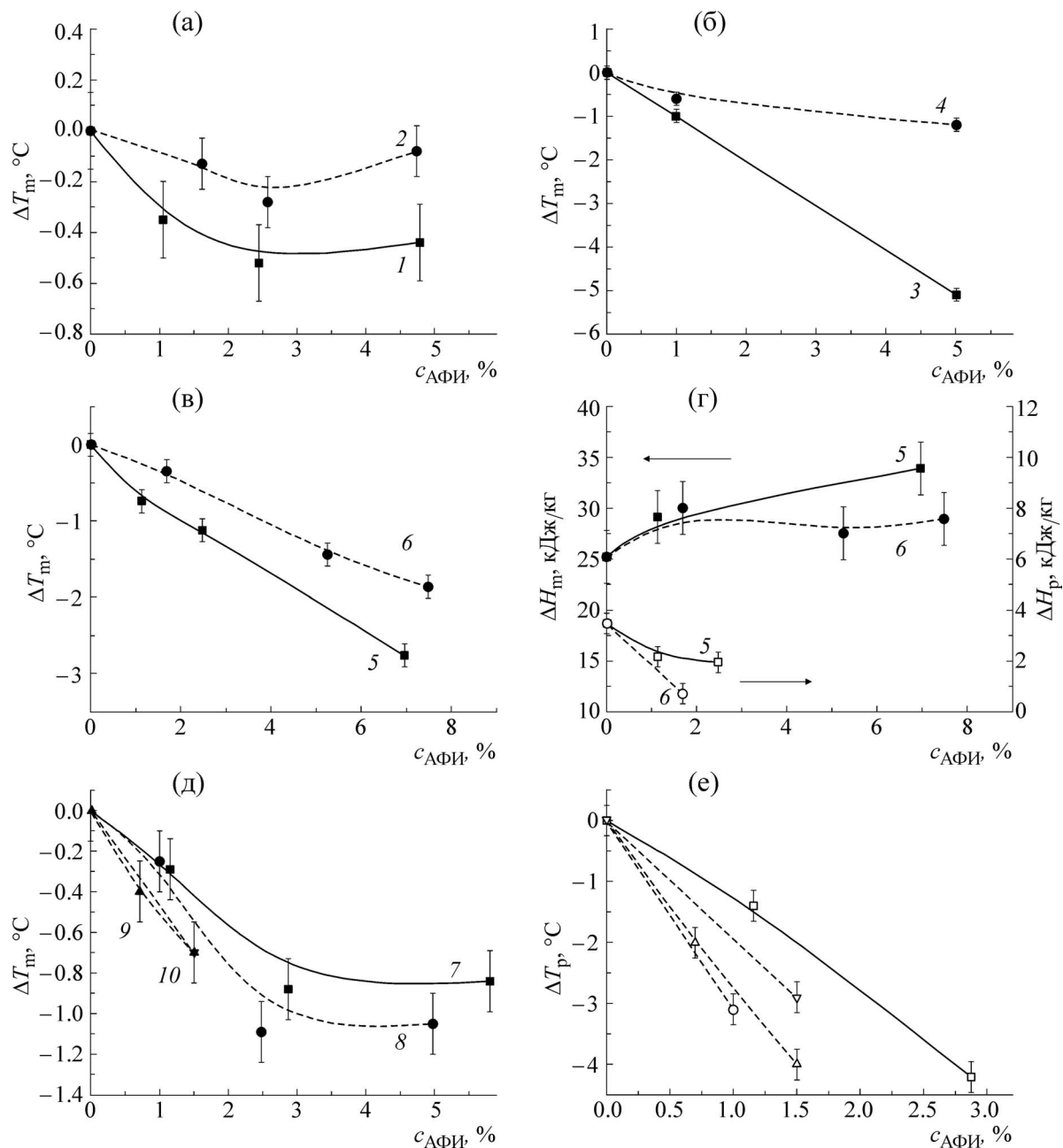


Рис. 1. Параметры основного фазового перехода (темные символы) и предперехода (светлые символы), полученные в режиме нагрева для мембран ДПФХ, содержащих ЛВ: 1 – амиксин; 2 – «Амиксин IC», 3 – аспирин, 4 – «Аспирин Комплекс», 5 – фенспирид, 6 – «Эреспал», 7 – метронидазол, 8 – «Метрагил», 9 – «Метронидазол Юрия-Фарм», 10 – «Трикасайд».

зарегистрировано повышение ΔH_m (рис. 1г). В каждой группе АФИ–ФП можно отметить качественное сходство мембранотропного эффекта, хотя количественно действие АФИ и ФП различается. Учитывая, что сравнение параметров проводится при одинаковой концентрации АФИ, логично предположить, что наблюдаемые различия обусловлены присутствием вспомогательных веществ в ФП. При этом вклад

вспомогательных веществ может приводить как к увеличению абсолютного значения ΔT_m (рис. 1д), так и к его уменьшению (рис. 1, а–в).

Структурные формулы и молекулярная масса исследованных АФИ, а также значения их усредненного коэффициента липофильности приведены в таблице. Там же представлен сдвиг T_m при введении АФИ в липидную мембрану

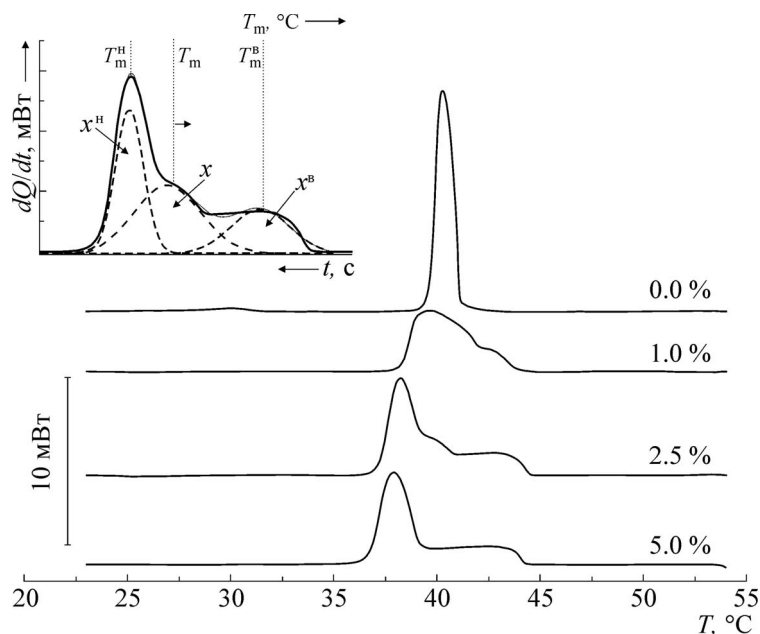


Рис. 2. ДСК-термограммы мембран ДПФХ, содержащих фенибут (режим охлаждения). Концентрации фенибута указаны в подписях. На врезке: расщепление пика основного фазового перехода.

в расчете на единицу концентрации ($\Delta T_m/c$), полученных при небольших концентрациях АФИ ($c \leq 1,5$ масс. %). Как можно видеть, все исследованные АФИ по сравнению с ДПФХ являются небольшими и существенно менее гидрофобными молекулами. По всей видимости, это различие и обуславливает их разупорядочивающее действие на мембрану ДПФХ, выражающееся в снижении T_m . Наибольшее абсолютное значение $\Delta T_m/c$ зарегистрировано для аспирина, наименьшее – для метронидазола. Снижение T_m модельных липидных мембран в присутствии аспирина было установлено в ряде работ [36,37].

Интересный эффект связан с введением в липидные мембраны фенибута: для него наблюдалось существенное искажение ДСК-профиля с появлением двух дополнительных пиков перехода, выше и ниже исходного (рис. 2). Поскольку такая форма пика основного фазового перехода достоверно воспроизводилась во всех экспериментах, было сделано предположение о фенибут-индуцированном латеральном фазовом разделении липидов с образованием дополнительных липидных доменов повышенной и пониженной плотности. На этом основании каждый ДСК-профиль был расщеплен на три пика (см. рис. 2), для которых было определено положение максимума (T_m^H , T_m , T_m^B), а также доля теплового эффекта каждого пика (x^H , x , x^B).

Зависимости каждого из этих параметров от концентрации фенибута представлены на рис. 3. Прежде всего следует отметить, что в присутствии фенибута и «Нообута IC» ДСК-термограммы имеют аналогичный вид, причем налицо качественное сходство всех полученных концентрационных зависимостей. Во всех системах с повышением концентрации фенибута наблюдается повышение x^H за счет x , при этом значение x^B остается в целом постоянным. Количественные отличия параметров мембран с «Нообутом IC» и с фенибутом проявляются в повышении значений T_m^H , T_m и T_m^B на $0,7 \div 1,0^\circ\text{C}$ (рис. 3а,в), а также в некотором увеличении значений x за счет x^H и x^B (рис. 3б,г).

Таким образом, во всех пяти исследованных группах АФИ/ФП общий вид концентрационных зависимостей, характерных для АФИ, сохраняется и для ФП, что говорит об определяющем вкладе АФИ в изменение термодинамических параметров мембран. Примечательно, что такая закономерность наблюдается вне зависимости от содержания АФИ в ФП, которое варьирует в широких пределах – от 83% («Трикасайд») и 63% («Нообут IC») до 0,5% («Метрогил», «Метронидазол Юрия-Фарм»). Вклад вспомогательных веществ, входящих в состав ФП, проявляется в изменении температуры и энтальпии переходов, а также в перераспределении липидов между доменами различной плотности.

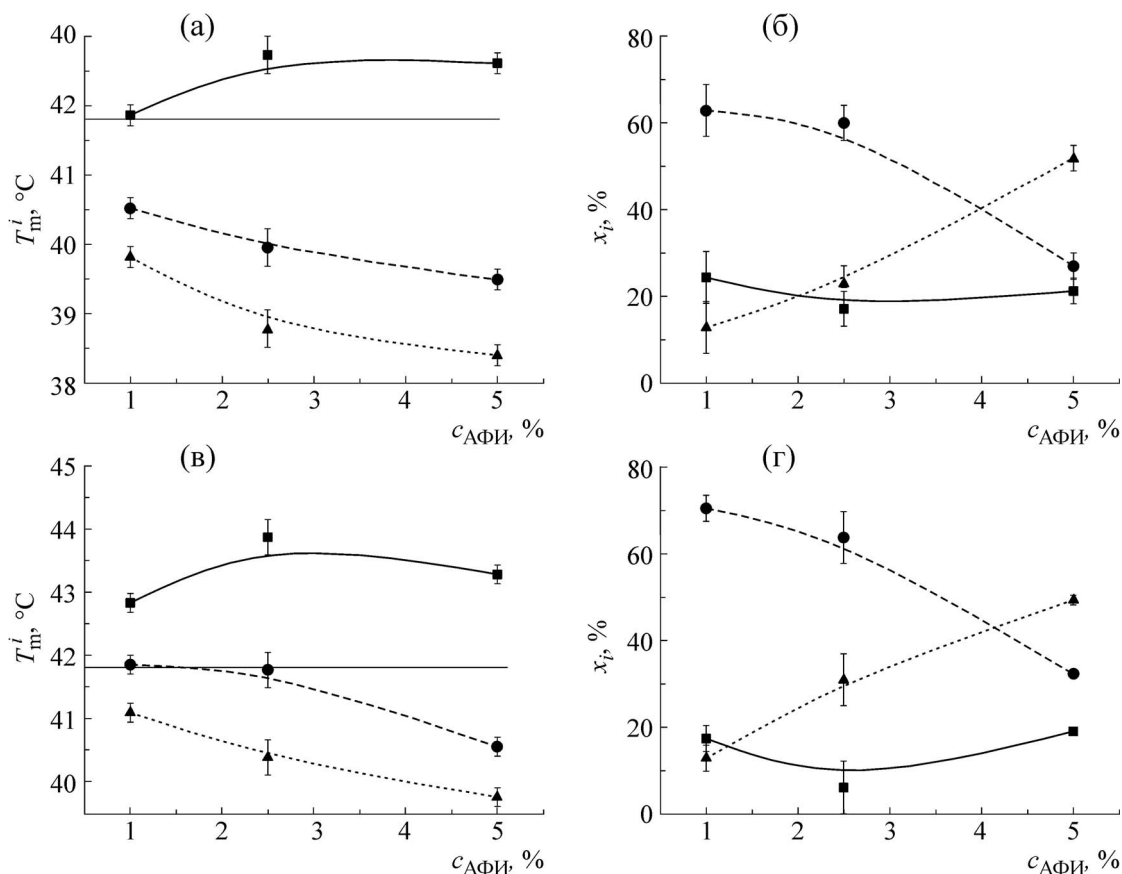


Рис. 3. Максимумы (T_m^i) и удельная площадь (x_i) ДСК-пиков, полученных для мембран ДПФХ, содержащих фенибут (а, б) и «Нообут IC» (в, г) в режиме нагрева, в зависимости от концентрации фенибута в мембране: сплошные линии – высокотемпературный пик (T_m^B , x^B); пунктирные линии – низкотемпературный пик (T_m^H , x^H); штриховые линии – средний пик (T_m , x); горизонтальная тонкая линия – значение T_m для мембраны ДПФХ.

ИК-спектры мембран и водных растворов, содержащих лекарственные вещества. В ИК-спектрах мембран ДПФХ, содержащих АФИ/ФП, не обнаружено существенных изменений полос поглощения ДПФХ, что свидетельствует о небольшой величине энергии взаимодействия исследуемых веществ с мембраной. Исключение составляли фенибут и «Нообут IC», в присутствии которых зарегистрирован bathochromic shift (2 см^{-1}) полосы поглощения фосфатных групп ДПФХ $\nu_{\text{с P=O}}$ 1087 см^{-1} . Такой эффект, с нашей точки зрения, указывает на активное участие поверхности мембраны во взаимодействии с фенибутом.

Важность процессов гидратации в биологических системах [38], а также их непосредственное влияние на фазовые переходы в мембранах [39] обуславливают интерес к полосе поглощения воды ν_{OH} 3400 см^{-1} . Эта полоса, согласно [40,41], является комбинацией полос симметричных валентных колебаний гидро-

кисильных групп воды ($\nu_{\text{с OH}} \sim 3150 \text{ см}^{-1}$), антисимметричных валентных колебаний ($\nu_{\text{ас OH}} \sim 3400 \text{ см}^{-1}$) и так называемой «мультимерной» воды ($\nu_{\text{м OH}} \sim 3600 \text{ см}^{-1}$), надмолекулярная структура которой искажена. Поскольку в структуре молекулы ДПФХ OH-группы отсутствуют, полоса 3400 см^{-1} отражает исключительно состояние воды в модельных липидных мембранах. Вблизи нее располагаются полосы валентных колебаний метиленовых групп ДПФХ ($\nu_{\text{с CH}_2}$ 2916 см^{-1} и $\nu_{\text{ас CH}_2}$ 2850 см^{-1}), что обуславливает необходимость выделения пяти пиков, как это показано на рис. 4. Значения $\nu_{\text{с CH}_2}$ и $\nu_{\text{ас CH}_2}$, полученные в результате такой обработки, представляются более корректными, чем при непосредственном измерении. Введение АФИ/ФП практически не изменяет положение полосы $\nu_{\text{с CH}_2}$ ($2850 \div 2851 \text{ см}^{-1}$), тогда как полоса $\nu_{\text{ас CH}_2}$ претерпевает гипсохромный сдвиг

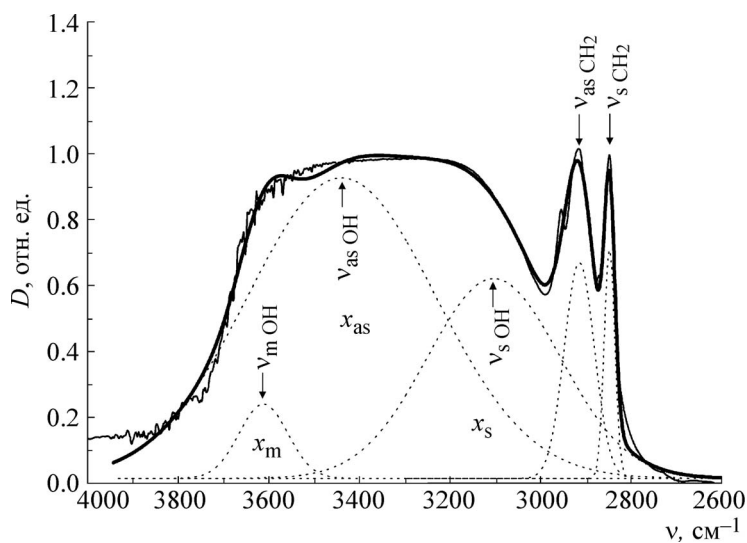


Рис. 4. Полосы валентных колебаний OH-групп воды и CH₂-групп ДПФХ (x_i – удельная площадь соответствующего пика в общей площади пика ν_{OH}).

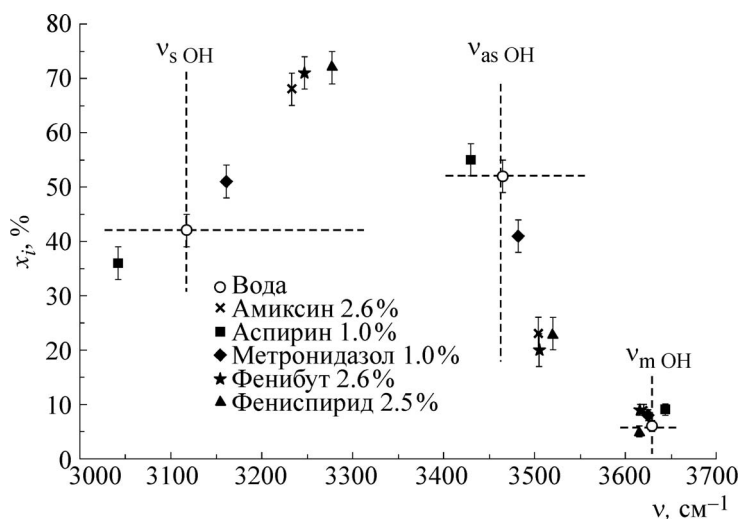


Рис. 5. Параметры полос поглощения воды ν_s OH, ν_{as} OH и ν_m OH в водных растворах АФИ: по оси абсцисс – максимум пика, по оси ординат – доля пика.

на $2 \div 4 \text{ см}^{-1}$. Согласно [42,43], это свидетельствует о повышении количества *gash*-конформаций метильных групп ДПФХ и хорошо коррелирует со снижением T_m и T_p в ДСК-эксперименте (см. рис. 1). Интересно, что в присутствии фенибута, несмотря на наличие доменов различной плотности, в целом наблюдается та же тенденция повышения $\nu_{as} \text{CH}_2$.

В области $2800 \div 3600 \text{ см}^{-1}$ могут иметь место вклады от поглощения СН-групп ($2900 \div 3200 \text{ см}^{-1}$), а также NH-групп ($\sim 3300 \text{ см}^{-1}$), входящих в структуру АФИ и ФП. Однако весьма небольшая мольная доля АФИ в водных

растворах ($\sim 10^{-3}$) позволяет связать полученные результаты преимущественно с изменениями состояния воды. Сочетание высокого значения коэффициента корреляции расщепления ($r \geq 0,995$) вкпе с адекватными значениями $\nu_s \text{CH}_2$ и $\nu_{as} \text{CH}_2$ ДПФХ дает основание говорить о корректности проведенного разложения. (Если некоторые из этих параметров существенно отклонялись от указанных значений, результаты такого расщепления не рассматривались. Подобную картину мы наблюдали для систем, содержащих ФП, а не АФИ, что было обу-

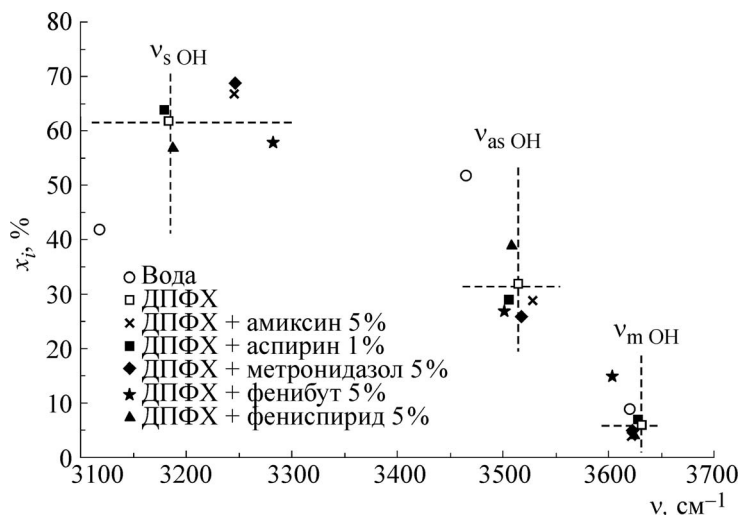


Рис. 6. Параметры полос поглощения воды $\nu_s \text{ OH}$, $\nu_{as} \text{ OH}$ и $\nu_m \text{ OH}$ для чистой воды и мембран ДПФХ, содержащих АФИ: по оси абсцисс – максимум пика, по оси ординат – доля пика.

словлено, по всей видимости, большими концентрациями вспомогательных веществ, вносящих свой вклад в полосу поглощения ОН-групп.)

Рассмотрим результаты анализа полосы ν_{OH} воды 3400 см^{-1} в водных растворах АФИ (рис. 5) и в мембранах ДПФХ с АФИ (рис. 6). Прежде всего следует отметить, что полосы $\nu_s \text{ OH}$, $\nu_{as} \text{ OH}$ и $\nu_m \text{ OH}$ в мембране ДПФХ оказываются существенно более высокочастотными, нежели в воде (см. рис. 6). При этом можно отметить ряд закономерностей, наблюдаемых как в воде, так и в мембране:

- наименее подвержена изменениям полоса $\nu_m \text{ OH}$, наиболее – полоса $\nu_s \text{ OH}$, причем эффекты АФИ более существенны в воде, чем в мембране;

- в присутствии АФИ доля симметричных колебаний ОН-групп (x_s) изменяется за счет доли антисимметричных колебаний (x_{as}) при практически неизменном значении x_m ;

- для аспирина имеет место bathochromный сдвиг $\nu_s \text{ OH}$ и $\nu_{as} \text{ OH}$, тогда как для остальных АФИ – гипсохромный.

Относительные сдвиги x_s и x_{as} в воде и мембране могут быть различными, как это наблюдается для фениспирида и фенибута. Кроме того, в присутствии фенибута, в отличие от всех остальных АФИ, изменяются значения $\nu_m \text{ OH}$ и x_m . Отметим, что по данным ДСК фенибут оказывает значительное возмущающее действие на мембрану, вызывая фазовое разделение липидов.

Как и следовало ожидать, параметры полосы ν_{OH} воды, полученные для мембран ДПФХ, содержащих ФП, отличались от таковых для мембран, содержащих только соответствующий АФИ. Так, для ФП «Аспирин-Комплекс» и «Эреспал» было зарегистрировано повышение $\nu_s \text{ OH}$, тогда как для ФП «Нообут IC» и «Метронидазол Юрия-Фарм» – снижение. Параметры x_s и x_{as} также претерпевали различные изменения: для ФП «Аспирин-Комплекс» и в особенности «Эреспал» наблюдалось повышение x_{as} , и, соответственно, снижение x_s , тогда как для ФП «Нообут IC» картина была противоположной.

Таким образом, с помощью предложенной методики обработки ИК-спектров количественно охарактеризовано состояние воды в водных растворах и мембранах ДПФХ. Показаны различия параметров полос ν_{OH} : а) в липидной мембране по сравнению с чистой водой; б) в растворах и мембранах, содержащих различные АФИ; в) различия, обусловленные присутствием вспомогательных веществ в ФП.

Изменение проницаемости клеток для воды в присутствии лекарственных веществ. Взаимодействие АФИ/ФП с липидными мембранами, отражающееся в изменении их калориметрических и спектроскопических параметров, может также проявляться в изменении их проницаемости для воды. Этот эффект можно наблюдать *in vitro* на клетках, в мембранах которых отсутствуют аквапорины, и, следовательно, транспорт воды происходит путем пассивной диффузии через липидный бислой. В данной работе

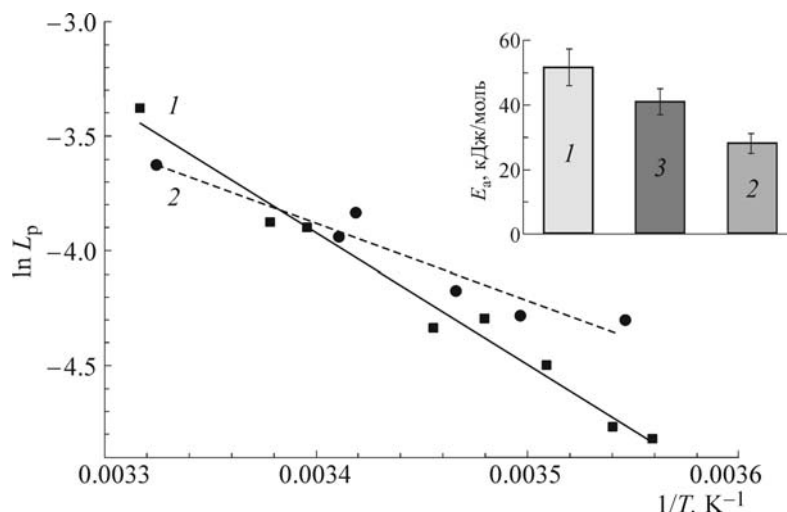


Рис. 7. Проницаемость клеточной мембраны сперматозоидов карпа для воды (L_p) и значения энергии активации переноса воды через липидную мембрану (E_a) в чистом физиологическом растворе (1), при добавлении 5 масс. % амиксина (2) либо фенибута (3).

была применена методика [34], где в качестве модельных клеток использовались сперматозоиды карпа. В соответствии с решением теоретической модели [44] динамика относительного объема клетки, помещенной в гипо- или гипертонический раствор вещества описывается зависимостью:

$$\frac{V - V_0}{V_0} = \frac{1 - \alpha}{\pi^{\text{out}}} (\pi_0^{\text{in}} - \pi^{\text{out}}) [1 - \exp(-\gamma L_p \pi^{\text{out}} t)],$$

где V – текущее значение объема клетки в момент времени t , π_0^{in} – осмотическое давление семенной плазмы (внутриклеточное осмотическое давление), π^{out} – осмотическое давление раствора вещества, в который помещается клетка, α – часть осмотически неактивного объема клетки, γ – поверхностно-объемное отношение клетки, L_p – проницаемость клеточной мембраны для молекул воды.

Согласно уравнению Аррениуса, зависимости $\ln L_p$ от обратной абсолютной температуры позволяют определить значения энергии активации переноса воды через липидную мембрану (E_a).

Как можно видеть (рис. 7), в присутствии амиксина наблюдается снижение E_a на ~40%, что хорошо коррелирует со снижением температуры плавления модельных мембран (ΔT_m). Введение фенибута в суспензию сперматозоидов карпа приводит к снижению E_a на ~25%. Наблюдаемое повышение проницаемости клеточных мембран для воды может быть обусловлено повышением латеральной неоднородности мем-

браны вследствие образования доменов различной плотности.

ВЫВОДЫ

Определено влияние ряда АФИ (амиксин, аспирин, метронидазол, фенибут, фенспирид) и фармацевтических препаратов на их основе на термодинамические свойства липидных мембран. Зарегистрировано снижение температуры плавления модельных мембран ДПФХ в присутствии всех АФИ/ФП, кроме группы фенибута, для которой наблюдалось расщепление пика плавления. Установлено, что в исследованных ФП определяющим мембранотропным действием обладает АФИ, а вспомогательные вещества – модулирующим.

Количественно охарактеризованы изменения параметров ИК-полос ν_{OH} воды в мембранах, содержащих исследованные АФИ. По этим параметрам влияние фенибута также отличалось от влияния всех остальных АФИ. Установлены различия, обусловленные присутствием вспомогательных веществ в ФП.

Показано, что введение препаратов, вызывающих снижение температуры фазового перехода модельной мембраны (амиксин) и латеральное фазовое разделение липидов (фенибут), приводит к повышению энергии активации переноса воды через мембраны сперматозоидов карпа.

Авторы выражают свою искреннюю благодарность компании «Интерхим» (Одесса), компании «Enamine» (Киев) и Государственному

научному центру лекарственных средств (Харьков).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Я. Я. Балткайс и В. А. Фатеев, *Взаимодействие лекарственных веществ* (Медицина, М., 1991).
2. Д. П. Харакоз, *Успехи биол. химии* **41**, 333 (2001).
3. C. Peelta, A. Stine, and V. Labhasetwar, *Mol. Pharm.* **6** (5), 1264 (2009).
4. M. Orme, *Br. J. Anaesth.* **56**, 59 (1984).
5. H. Tsuchiya and M. Mizogami, *Anesth. Res. Pract.* **2013** (2013).
6. N. Weizenmann, D. Huster, and H. A. Scheidt, *Biochim. Biophys. Acta* **1818**, 3010 (2012).
7. N. Gulfo, R. Bartucci, and L. Sportelli, *Z. Naturforsch.* **43**, 264 (1988).
8. T. Hata, H. Matsuki, and S. Kaneshina, *Coll. Surf. B: Biointerfaces* **18**, 41 (2000).
9. D. Davila, L. Kolacny-Babić, and F. Plavsić, *Biopharm. Drug Dispos.* **12** (7), 505 (1991).
10. S. Schreier, V. Malheiros, and E. de Paula, *Biochim. Biophys. Acta* **1508**, 210 (2000).
11. H. Heerklotz, *Q. Rev. Biophys.* **41**, 205 (2008).
12. V. A. Pashinskaja, M. V. Kosevich, A. Gomory, et al., *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **16**, 1706 (2002).
13. R. Pignatello, T. Musumeci, and L. Basile, *J. Pharm. Bioallied Sci.* **3** (1), 4 (2011).
14. Т. Н. Саватеева, П. П. Якуцени, И. Ю. Лукьянова и др., *Атмосфера. Нервные болезни* **2**, 27 (2011).
15. M. Pinheiro, A. S. Silva, S. Pisco, et al., *Chem. Phys. Lipids* **183**, 184 (2014).
16. J. A. Castillo, P. Clapés, M. R. Infante, et al., *J. Antimicrob. Chemotherapy* **57**, 691 (2006).
17. K. Hill, C. B. Péntzes, V. G. Vértessy, et al., *Progr. Colloid Polym. Sci.* **135**, 87 (2008).
18. J. Knobloch, D. K. Suhendro, J. L. Zieleniecki, et al., *Saudi J. Biol. Sci.* **22**, 714 (2015).
19. C. Koukoulitsa, I. Kyrikou, C. Demetzos, et al., *Chem. Phys. Lipids* **144**, 85 (2006).
20. J. K. Seydel and M. Wiese, *Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling* (Wiley-VCH Verlag, 2002).
21. J. K. Seydel, E. A. Coats, H. P. Cordes, et al., *Arch. Pharm.*, **327**, 601 (1994).
22. T. M. Mavromoustakos, *Methods Mol. Biol.* **400**, 587 (2007).
23. А. П. Викторов, В. Г. Передрий и А. В. Щербак, *Взаимодействие лекарств и пищи* (Здоровья, К., 1991).
24. И. М. Перцев, Г. С. Башура, М. Т. Алюшин и др., *Фармация* **5**, 67 (1973).
25. А. О. Красникова, О. В. Вашенко, Н. А. Касян и др., *Biophys. Bull.* **32** (2), 27 (2014).
26. K. Jackson, D. Young, and S. Pant, *Pharm. Sci. Technol. Today* **3** (10), 336 (2000).
27. <http://www.vcclab.org>.
28. I. Moriguchi, S. Hirono, Q. Liu, et al., *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 127 (1992).
29. V. N. Viswanadhan, A. K. Ghose, G. R. Revankar, et al., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **29**, 163 (1989).
30. I. Tetko, *Drug Discov. Today* **10**, 1497 (2005).
31. I. Tetko and V. Tanchuk, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **42**, 1136 (2002).
32. А. Смит, *Прикладная ИК-спектроскопия* (Мир, М., 1982).
33. А. Ю. Пуговкин, Є. Ф. Копейка, Є. О. Гордієнко и др., *Патент Украины, № 104809*, 2014
34. А. Ю. Пуговкин, Е. Ф. Копейка, О. А. Нардид и др., *Биофизика* **59** (3), 481 (2014).
35. R. Pignatello, *Drug-biomembrane interaction studies. The application of calorimetric techniques* (Woodhead Publishing, New Delhi, 2013).
36. L. Panicker, V. K. Sharma, G. Datta, et al., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **260**, 611 (1995).
37. A. Semalty, M. Semalty, D. Singh, et al., *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.* **3**, 940 (2010).
38. J. Israelachvili and H. Wennerström, *Nature*, **379** (6562), 219 (1996).
39. О. В. Вашенко, Ю. Л. Ермак и Л. Н. Лисецкий, *Биофизика* **58** (4), 663 (2013).
40. H. Binder, *Eur. Biophys. J.* **36** (3–4), 265 (2007).
41. M. Arakawa, H. Kagi, and H. Fukazawa, *Astrophys. J. Suppl. Ser.* **184**, 361 (2009).
42. J. L. R. Arrondo and F. M. Goñi, *Chem. Phys. Lipids* **96**, 53 (1998).
43. D. C. Lee and D. Chapman, *Biosci. Rep.* **6**, 235 (1986).
44. Є. О. Гордієнко и В. В. Товстяк, *Фізика біомембран* (Наук. думка, К., 2009).

Some Characteristics of Interactions of Pharmaceuticals and Their Active Pharmaceutical Ingredients with Lipid Membranes

A.O. Sadchenko*, O.V. Vashchenko*, A.Yu. Puhovkin**, E.F. Kopeika**, N.A. Kasian*,
L.V. Budianska*, A.V. Maschenko***, Ya.M. Al-Mughrabi***,
D.S. Sofronov****, and L.N. Lisetski*

**Institute for Sintillation Materials, STC "Institute for Single Crystals", National Academy of Sciences of Ukraine, prosp. Nauki 60, Kharkov, 61001 Ukraine*

***Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy of Sciences of Ukraine, ul. Pereyaslavska, 27, Kharkov, 61015 Ukraine*

****Karasin Kharkov National University, pl. Svobody 4, Kharkov, 61072 Ukraine*

*****State Scientific Institution "Institute for Single Crystals", National Academy of Sciences of Ukraine, prosp. Nauki 60, Kharkov, 61001 Ukraine*

The actions of active pharmaceutical ingredients amixin, aspirin, metronidazole, phenibut and phensipirid, as well as corresponding pharmaceuticals, on lipid membrane were comparatively studied. Lipid membranes of *L*- α -dipalmitoylphosphatidylcholine and carp sperm cells were used as models. By means of differential scanning calorimetry, a decrease in melting temperature of *L*- α -dipalmitoylphosphatidylcholine membranes was registered in the presence of all active ingredients or pharmaceuticals groups. The only exception was a phenibut group which induced splitting of the melting peak. In all the groups studied, the determinative membranotropic effect was caused by active pharmaceutical ingredients, whereas the excipients played a modulating role. By means of Fourier transform infrared spectroscopy changes in the parameters of water ν_{OH} bands in *L*- α -dipalmitoylphosphatidylcholine membranes containing active ingredients/pharmaceuticals groups were characterized. Based on these parameters the effect of the phenibut group was different from that of the other ingredients. The parameter changes of ν_{OH} bands caused by excipients were elucidated. An increase in water permeability of membranes of carp sperm cells was observed *in vitro* for pharmaceuticals which induced a decrease in the phase-transition temperature of a model membrane (amixin) and lipid lateral phase separation (phenibut).

Key words: lipid membranes, pharmaceuticals, differential scanning calorimetry, IR-spectroscopy, membrane permeability