

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*

Будянська Лілія Володимирівна

УДК 577.352:536.6:615.31

ДИСЕРТАЦІЯ
«ЕФЕКТИ СПІЛЬНОЇ ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН У
БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ СИСТЕМАХ
НА ОСНОВІ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН»

03.00.02 – біофізика
(фізико-математичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

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

_____ Л.В. Будянська
Науковий керівник Ващенко Ольга Валеріївна, кандидат фізико-математичних наук, старший науковий співробітник

Харків – 2019

Анотація

Будянська Л.В. Ефекти спільної дії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України; Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, Харків, 2019.

Дисертаційну роботу присвячено встановленню ефектів взаємодії лікарських речовин (ЛР) у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран різного ліпідного складу. Метою роботи є встановлення ефектів взаємодії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран різного ліпідного складу. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Виявити ефекти спільного МД водорозчинних ЛВ і їх компонентів (іонів, структурних фрагментів) в рівноважному і кінетичному режимах (адсорбція, дифузія та ін.).
2. Визначити зв'язок між хімічною будовою і ефектами спільної МД в парах «циклосерин - допоміжна речовина».
3. Підібрати склад багатокомпонентних ліпідних мембран для наближення до різних типів біомембран.
4. Встановити ефекти МД низки ЛР (граміцидину S, кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти, а також полімерних носіїв фармпрепаратів на основі поліакриламідів) на модельні мембрани різного ліпідного складу.

Об'єкт досліджень – ефекти мембранотропної дії ЛР в модельних ліпідних мембранах.

Предмет досліджень – зміни термодинамічних параметрів модельних ліпідних мембран при внесенні ЛР та їх компонентів.

Методи дослідження – диференціальна скануюча калориметрія, Фур'є-ІЧ-спектроскопія, термогравіметричний аналіз, оптична мікроскопія, кореляційний аналіз, квантово-хімічні розрахунки.

За результатами дослідження вперше встановлено і кількісно охарактеризовано методом ДСК мембранотропну дію (МД) водорозчинних ЛР тилорону та диметилсульфоксиду (ДМСО) при їх адсорбції на мембрані дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ) на основі моделі адсорбції Фрейндліха. Зокрема, для гідрофільних ЛР ДМСО та тилорону спостерігаються якісно протилежні зсуви температур основного фазового переходу (ΔT_m), що обумовлене їх космотропними або хаотропними властивостями. Запропоновано феноменологічну модель, яка описує МД водорозчинних ЛР як появу додаткового латерального тиску на мембрану, позитивного для космотропів та негативного для хаотропів.

В рамках моделі адсорбції Фрейндліха проведено порівняння мембранотропної дії іонів Ce^{3+} і Ca^{2+} у мембранах ДПФХ. Значення зсуву температури основного фазового переходу ΔT_m було використано як показник іонно-мембранних ефектів, які виникають в результаті адсорбції іонів на поверхні фосфоліпідної мембрани. Обидва типи іонів приводять до збільшення ΔT_m у всіх досліджених концентраціях. Встановлено, що для Ce^{3+} ΔT_m на одиницю концентрації на порядок більше, ніж для Ca^{2+} , що є одним з факторів біологічної дії іонів церію при його конкуренції з Ca^{2+} . Застосування даної моделі дозволяє кількісно характеризувати та порівнювати МД водорозчинних ЛР, що важливо у процесах їх конкурентної адсорбції на мембрані.

При спільному введенні тилорону і ДМСО до мембрани ДПФХ встановлено перевагу МД тилорону. Це підтверджується й при взаємодії вказаних ЛР з еритроцитами: у присутності тилорону змін морфології еритроцитів не спостерігається, тоді як у присутності ДМСО відбувається деформація еритроцитів (по типу ехіноцитозу); додавання тилорону пригнічує дію ДМСО на еритроцитах. В парі тилорон-гіпромелоза, яка моделює міжкомпонентні вза-

емодії у противірусному препараті «Аміксин ІС», спостерігається адитивність МД обох речовин. Очевидно, що ефекти спільної дії визначаються хімічною будовою ЛР.

Проведено порівняльне дослідження МД допоміжних речовин лікарських засобів (стеаратів кальцію і магнію та стеаринової кислоти) – як індивідуально, так і у парах з антибіотиком циклосерином. Величина ефекту спільної МД була оцінені як середнє відхилення експериментально отриманих значень ΔT_m від адитивності. Встановлено, що за впливом на параметри фазових переходів модельних мембран індивідуальна МД допоміжних речовин зростає у послідовності: $\text{Ca}^{2+}\text{St} < \text{Mg}^{2+}\text{St} < \text{StA}$. На відміну від них, циклосерин має незначну МД, але розширює температурний діапазон існування складчастої фази ліпідної мембрани. Вперше показано зміну ефектів спільної МД лікарської речовини (циклосерину) в залежності від хімічної будови допоміжної речовини. Так, для стеаратів кальцію і магнію спостерігався ефект синергізму МД с циклосерином; для стеаринової кислоти подібного ефекту не виявлено. В цілому ефект спільної МД допоміжних речовин з циклосерином зменшувався у послідовності $\text{Ca}^{2+}\text{St} \geq \text{Mg}^{2+}\text{St} > \text{StA} \sim 0$, що вказує на визначальну роль структури полярної частини ЛР у спільній МД. Методом термогравіметричного аналізу в різних кінетичних режимах встановлено, що енергія активації дегідратації Ca^{2+}St на 30% більше ніж Mg^{2+}St , що може бути важливо при утворенні міжмолекулярних комплексів.

Вплив ліпідного складу мембрани на МД вивчався за допомогою ЛР з різними сайтами зв'язування з мембраною: поверхня (каолін), об'єм (лауринова кислота) та змішаний тип (фенспірид). Встановлено, що МД фенспіриду майже не залежить від ліпідного складу мембрани. Для каоліну МД змінювалася з негативної на позитивну при додаванні до мембрани ДПФХ 10 мас. % цереброзидів – певно, внаслідок підвищення гідратації її поверхні. У двофазній мембрані, що містить холестерин, спостерігався перерозподіл ліпідів між холестерин-збагаченою та холестерин-збідненою фазами як у присутності

каоліну, так і для лауринової кислоти, тобто, при зв'язуванні ЛР як з поверхнею, так і з об'ємом мембрани. Усі спостережені ефекти свідчать на користь того, що вплив ліпідного складу на МД не залежить від типу зв'язування ЛР з мембраною.

Вперше запропоновано методику вивчення кінетики спільної МД методом ДСК, за допомогою якої показано полегшення пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності ДМСО. Кінетику взаємодії ЛР з мембраною вивчали шляхом додавання до неї водних розчинів тилорону та ДМСО і отримання серії послідовних ДСК-термограм. При цьому були використані різні схеми введення речовин в мембрану: одночасне або послідовне уведення. Було встановлено, що кожна схема введення має свій характерний кінетичний профіль параметру η , який характеризує частку ліпідів, пов'язаних з тилороном, що говорить про суттєві відмінності в кінетиці дифузії тилорону і важливості порядку введення лікарських речовин в мембрану. Окрім того, аналіз кінетики профілів ДСК при введенні ЛР дозволив виділити у взаємодії тилорону з мембраною два процеси з різними характеристичними часами: сорбцію на мембрані (хвилини) та дифузію крізь ліпідні бішари (години).

Визначено величину кооперативного домену для основного фазового переходу модельних ліпідних мембран ДПФХ і диміристоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ). Запропоновано критерій вибору оптимальної швидкості сканування, який мінімізує помилку при визначенні кооперативності фазових переходів ліпідних мембран: достовірні значення кооперативності можуть бути отримані, якщо значення напівширини достовірно перевищує експериментальну похибку для даної системи. За допомогою модифікованого рівняння Кіссінджера встановлено, що значення енергії активації фазових переходів для ДПФХ вище, ніж для ДМФХ, і підвищується в присутності лауринової кислоти.

Вперше встановлено, що зіркоподібні декстран-поліакриламідні сополімери з наночастинками Au в нейтральній і поліаніонній формі мають найбільшу МД у всіх типах багатокомпонентних ліпідних мембран в порівнянні з

ненавантаженими полімерами та полімерами з наночастинками Ag. Встановлено також, що негативно заряджені мембрани, які містять дипальмітоїлфосфатидилгліцерин або кардіоліпін, є більш чутливими до введення полімерів, ніж мембрана ДПФХ. Сукупність характеристик фазових переходів мембрани свідчить про наявність взаємодії сополімерів з поверхнею мембрани.

Вперше показано, що при уведенні кон'югатів протипухлинного препарату метотрексату і імуномодулятору бетулонової кислоти значення температур фазових переходів у модельних мембранах різного ліпідного складу були найбільшими в присутності кон'югату SA-188. Вказана сполука має найбільш виражену МД також і за рядом інших термодинамічних параметрів. Для всіх досліджених кон'югатів вперше проведено квантово-хімічні розрахунки та отримано низку молекулярних параметрів (площа поверхні S_m та об'єм молекули V_m , дипольний момент μ , коефіцієнт ліпофільності $\log P$, коефіцієнт анізотропії k_a тощо) і встановлено високі коефіцієнти лінійної кореляції $\log P - \Delta T_m$ ($r = -0,99$) та $k_a - \Delta T_m$ ($r = 0,99$). Показано також, що проникність *Caco-2* клітин для кон'югатів (за даними досліджень компанії «Enamine») має високу пряму кореляцію з k_a ($r = 0,87$) та зворотно – з $\log P$ ($r = -0,78$). Показано, що в багатокомпонентній ліпідній мембрані, що містить холестерин, кон'югати переважно зв'язуються з холестерин-збагаченою ліпідною фазою.

Для антибіотику граміцидину S (GS) встановлено і охарактеризовано 2 типи його зв'язування з ліпідними мембранами, які відповідають зв'язуванню мономерів і олігомерів. За результатами дослідження ряду модельних мембран різного складу вперше показано істотне підвищення зв'язування GS з мембраною ДПФХ:холестерин 9:1 моль/моль, що свідчить про високу спорідненість GS до мембран такого складу. При спільному введенні в мембрану ДПФХ GS та іонів Ca^{2+} (100 мМ і 200 мМ розчинів CaCl_2) встановлено їх незалежне зв'язування з мембраною. Дані ІЧ-спектроскопії узгоджуються з результатами ДСК і вказують на зменшення напівширини δCH_2 і νCH_2 в присутності холес-

терину (конденсуючий ефект), яке посилюється в присутності GS. В полярній області мембрани спостерігається взаємне ослаблення дегідратуючої дії холестерину і GS на фосфатні групи ДПФХ та ДПФГ, а також збільшення гідратації карбонільних груп ліпідів в присутності GS. В цілому, МД GS якісно змінюється в залежності від ліпідного складу мембрани, що відбивається у змінах смуг метиленових, карбонільних і фосфатних груп ліпідів.

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

Abstract

Budianska L.V. **Effects of joint action of pharmaceutical substances in multi-compound systems based on model lipid membranes.** – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of sciences in physics and mathematics, specialty 03.00.02 – Biophysics. – Institute for Scintillation Materials NAS of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University of MES of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to the effects of pharmaceutical substances (PS) on multi-compound systems based on model lipid membranes of various lipid compositions. The achieved goal of the work was detection of the effects caused by interactions of drugs in multicomponent systems based on model lipid membranes of various compositions. In order to achieve the goal, the following tasks were solved.

1. Detection of the effects of joint membranotropic action of water-soluble drugs and their compounds (ions, structural fragments) in equilibrium and kinetic regimes (adsorption and diffusion processes).
2. Establishment the relationship between chemical structure of the substances and their joint membranotropic effects in pairs ‘cycloserine – excipient’.

3. Selection a set of compositions of multicomponent membranes in order to mimic various biomembranes types.
4. Establishment of membranotropic effects of a set of drugs (gramicidin S, conjugates of methotrexate and bethulonic acid, polymeric pharmaceutical carriers based on polyacrylamide) on model lipid membranes of various compositions.

The object of the study was the effects of membranotropic action of pharmaceutical substances in model lipid membranes. The subject of the study was the changes of thermodynamic parameters of model lipid membranes under introduction of drugs and their compounds. The methods used were differential scanning calorimetry, Fourier-transform infrared spectroscopy, thermogravimetry analysis, optical microscopy, correlation analysis and quantum-chemistry calculations.

By means of differential scanning calorimetry, sorption of water-soluble drugs, antiviral drug tilorone and anti-inflammatory drug dimethyl sulfoxide (DMSO), on the dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) membrane of the membranotropic action (MA) was first quantified on the basis of the Freundlich adsorption model. Qualitatively opposite temperature shifts of the main phase transition of DPPC membrane (ΔT_m) were observed, depending from the drugs' cosmotropic (DMSO) or chaotropic (tilorone) properties. A phenomenological model is proposed that describes MA of water-soluble drugs as the appearance of additional lateral pressure on the membrane, which is positive for cosmotropes and negative for chaotropes.

Within the framework of the Freundlich adsorption model, the membranotropic action of Ce^{3+} and Ca^{2+} ions in DPPC membranes was compared. The ΔT_m value was used as an indicator of ion-membrane effects resulting from the adsorption of ions on the surface of the phospholipid membrane. Both ions lead to increase in ΔT_m at all concentrations tested. It has been found that ΔT_m per unit concentration it is an order of magnitude greater for Ce^{3+} than for Ca^{2+} , which could be one of the factors of the biological action of cerium ions in its competition with

Ca^{2+} . The application of this model allows quantitative characterization and comparison of MA of water-soluble drugs, which is important in the processes of their competitive adsorption on the membrane.

Under co-administration of tilorone and DMSO in DPPC membrane, the preference for tilorone effects was established. This finding is confirmed by the interaction of these drugs with erythrocytes. In the presence of tilorone, no erythrocyte deformations were observed, while echinocytosis occurred in the presence of DMSO. However the addition of tilorone suppressed the effect of DMSO on erythrocytes. In the pair tilorone-hypromellose, which models the inter-component interactions in the antiviral drug "Amixin IC", the additive MA of both substances was observed. It is obvious that the effects of the joint action are determined by the chemical structure of the drugs.

Comparative study of MA of some drug excipients, e.g., calcium stearate (Ca^{2+}St), magnesium stearate (Mg^{2+}St), and stearic acid (StA) was performed, both for the individual excipients and for their pairs with antibiotic cycloserine. As judged by the drug effects on the parameters of the phase transitions of the model membranes, the individual MA of the the excipients increased in the sequence: $\text{Ca}^{2+}\text{St} < \text{Mg}^{2+}\text{St} < \text{StA}$. In contrast, cycloserine has a diminutive MA with expanding the temperature range of the ripple phase of the lipid membrane. So, for the first time, changes in the effects of joint MA of a drug substance (cycloserine) depending on the chemical structure of the excipient were shown. The value of the joint MA were estimated as the average deviation of the experimentally obtained values of ΔT_m from the additive. Synergistic MA effect was observed for cycloserine with Ca^{2+}St or Mg^{2+}St , whereas additive MA effect took place for cycloserine with StA. Joint MA decreased quantitatively in the rank $\text{Ca}^{2+}\text{St} \geq \text{Mg}^{2+}\text{St} > \text{StA} \sim 0$, indicating the determining role of the structure of the polar part of the excipients in joint MA. Thermogravimetric analysis in different kinetic regimes has shown that the activation energy of Ca^{2+}St dehydration is 30% greater than of Mg^{2+}St , which may be important in the formation of intermolecular complexes.

Effect of lipid composition of the membranes was probed using drugs with various sites of binding on the membrane, namely, surface binding (kaoline), bulk binding (lauric acid) and combined binding (fenspiride). It was found that fenspiride had almost the same MA regardless of lipid composition. MA of kaoline changed from negative to positive under introduction cerebrosides (10 % w/w) to DPPC membranes, apparently, due to increase of hydration of the membrane surface. In two-phase membrane containing cholesterol, redistribution of lipids between cholesterol-enriched and cholesterol-depleted phases took place both for kaoline and for lauric acid, i.e. under drug binding both to the membrane surface and to the bulk.

For the first time, a technique for studying the kinetics of joint MA using DSC was proposed, which allowed us to show the facilitation of passive trans-membrane diffusion of tilorone in the presence of DMSO. The kinetics of drug-membrane interactions was studied by adding of aqueous solutions of tilorone and DMSO and obtaining series of consecutive DSC-thermograms. In doing so, various schemes of drug administration of substances into the membrane were used, simultaneous or consecutive. It was established that each scheme had specific kinetic profile of the lipid fraction associated with tilorone. This finding indicates significant differences in the kinetics of tilorone diffusion and the importance of the order of drugs introduction into the membrane. In addition, analysis of the kinetics of the DSC profiles allowed distinguishing two processes with different characteristic times in the interaction of tilorone with the membrane, namely, sorption on the membrane (minutes) and diffusion through the stack of the lipid bilayers (hours).

An important kinetic characteristics of lipid membrane, cooperativity number of lipids (*CN*), was determined for the main phase transition of model lipid membranes of DPPC and dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) in a wide range of scanning rates (0.1 to 40 K/min). The criterion was supposed for determination of the optimal DSC scanning rate, which minimizes the error in determining *CN*. An-

other kinetic characteristics, activation energy of the main phase transition, was established by means of modified Kissinger equation. It was higher for DPPC membrane than for DMPC one and elevated in the presence of lauric acid.

It was first established that star-like dextran-polyacrylamide copolymers loaded with Au nanoparticles gave the strongest MA in all the multicomponent membranes examined comparing to the unloaded polymers and to the polymers with Ag nanoparticles, both in neutral and in polyanionic form. Negatively charged membranes containing dipalmitoylphosphatidylglycerol or cardiolipin appeared to be more sensitive to the polymers introduction than DPPC membrane. In general, the characteristics of phase transitions in the membrane containing the copolymers points to their interaction with the membrane surface.

For the first time, it was shown that among the conjugates of an antitumor drug methotrexate and an immunomodulator betulonic acid, the values of the phase transition temperatures in model membranes of various lipid composition were the highest in the presence of SA-188 conjugate. This compound also affects pronouncely a number of other thermodynamic parameters of the membranes. For all the conjugates studied, a number of molecular parameters were calculated for the first time (surface area S_m and volume of molecule V_m , dipole moment μ , lipophilicity coefficient $\log P$, anisometry coefficient k_a , etc.) and high linear correlations $\log P - \Delta T_m$ ($r = -0.99$) and $k_a - \Delta T_m$ ($r = 0.99$) were established. It was also shown that the permeability of *Caco-2* cells for conjugates (according to “Enamine Ltd” research) was in high direct correlation with k_a ($r = 0.87$) and inverse one with $\log P$ ($r = -0.78$). It has been shown that in a multicomponent cholesterol-containing lipid membrane, the conjugates are preferably bound to the cholesterol-enriched lipid phase.

For antibiotic gramicidin S (GS), two types of it binding to lipid membranes have been established and characterized, which correspond to the binding of GS monomers and oligomers. Grounding on the study of a number of model membranes of various lipid composition, it was shown for the first time a significant in-

crease in binding of GS to membrane DPPC:cholesterol 9:1 mol/mol, which indicates high affinity of GS to the membranes of such lipid composition. Under joint introduction of GS with Ca^{2+} ions (100 mM and 200 mM CaCl_2 solutions) into the membrane of DPPC, independence of their binding to the membrane was established. The FTIR spectroscopy data are in accordance with the DSC results and show certain decrease in the half-width δCH_2 and νCH_2 bands in the presence of cholesterol (condensing effect), which is enhanced in the presence of GS. In the polar region of the membrane, there is mutual attenuation of the dehydrating effect of cholesterol and GS on the phosphate groups of DPPC and DPPG, as well as some increase in the hydration of the carbonyl groups of lipids in the presence of GS. In general, MA of GS changes qualitatively depending on the lipid composition of the membrane, which is reflected in the changes of bands of methylene, carbonyl and phosphate groups of lipids.

Keywords: model lipid membranes, phospholipids, drugs, cholesterol, phase transitions, joint action, differential scanning calorimetry.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. 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: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
2. 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 // Біо-

фіз. вісн. 2018. Вип. 39 (1). С. 27–41. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

3. 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 (2). P. 300–307. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
4. 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 (3). P. 422–431. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації у зарубіжних спеціалізованих виданнях:

5. Lonhus K., **Budianska L.**, Lisetski L. Meaning of activation energy in phospholipid multibilayers phase transitions // Chem. Phys. Lipids. 2017. Vol. 206. P. 53–59. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні статті).*
6. 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 (1). P. 9–16. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

7. 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. P. 123–129. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
8. Vashchenko O.V., Kasian N.A., **Budianska L.V.**, Brodskii R.Ye., Bespalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospholipid membranes // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 275. P. 173–177. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
9. Kasian N., Vashchenko O., **Budianska L.**, Brodskii R., Lisetski L. Cooperative domains in lipid membrane: size determination by calorimetry // J. Therm. Anal. Calorim. 2019. Vol. 136 (2). P. 795–801. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

10. Vashchenko O.V., Sadchenko A.O., **Budianska L.V.** Hydration properties of drug compounds by the evidence of thermogravimetry

- analysis // 7th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 27-30 May 2016: abstracts. Kyiv, 2016. P. 40. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*).
11. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V. Pharmaceutical interactions in model lipid bilayers by means of differential scanning calorimetry // VII intern. conf. for young scientists, 6-10 June 2016: abstracts. Kharkiv. 2016. P. 150. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*).
 12. 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 Укр. конф. з органічної хімії, 19-23 вересня 2016: тези доп. Полтава, 2016. С. 285. (*Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, проведенні калориметричних вимірювань, інтерпретації результатів*).
 13. **Будянская Л.В.**, Ващенко О.В., Касян Н.А., Садченко А.О. Совместное действие компонентов лекарственных препаратов в модельных липидных мембранах // Школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения», 11-14 сентября 2016: тезисы докл. Харьков, 2016. С.7. (*Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези*).
 14. **Budianska L.**, Vashchenko O., Kasian N., Sadchenko A. Combined action of pharmaceuticals in model lipid bilayers studied by means of

differential scanning calorimetry // YSF-2016, 10-14 October 2016: abstracts. Kharkiv, 2016. BMP-10. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні тези).*

15. **Budianska L.V.**, Kasian N.A., Vashchenko O.V. Some aspects of joint drugs action in lipid membrane // VIII intern. conf. for professionals & young scientists LOW TEMPERATURE PHYSICS, 29 May - 2 June: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 160. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
16. **Будянская Л.В.**, Ващенко О.В., Касян Н.А. Различия в индивидуальном и совместном действии стеаратов кальция и магния // Международная школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения», 10-13 сентября 2017: тезисы докл. Харьков, 2017. С. 16. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
17. **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 // XXIII Galyna Puchkovska Intern. School-Seminar "Spectroscopy of molecules and crystals", 20-25 September 2017: abstracts. Kyiv, 2017. P. 113. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*

18. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N. Distinction in individual and joint membranotropic action of calcium and magnesium stearates // 5th intern. conf. «NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects», 2 – 5 October 2017: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 42. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
19. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N. Membranotropic effects of lauric acid, fenspirid and kaoline in model lipid membranes: impact of lipid composition // 8th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 18-22 May 2018: abstracts. Kyiv, 2018. P. 44. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
20. **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 on model lipid membranes of various compositions // XI intern. conf. “Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials (ICEPOM – 11)”, 21-25 May 2018: abstracts. Ivano-Frankivsk, 2018. P. 33. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів).*
21. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V., Kasian N.A. Comparative membranotropic action of dopants in model lipid membranes of various compositions // IX intern. conf. for professionals & young scientists "LOW TEMPERATURE PHYSICS" dedicated to the 100th anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine, 4 -8 June 2018:

- abstracts. Kharkiv, 2018. P. 142. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
22. **Будянская Л.В.,** Ващенко О.В., Касян Н.А. Совместное мембранотропное действие лекарственных веществ в модельных липидных мембранах различного состав // Міжнародна школа-семінар «Функціональні матеріали для технічних та біомедичних застосувань», 05 – 08 вересня 2018: тези доп. Харків, 2018. С. 13. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
 23. **Будянская Л.В.,** Ващенко О.В., Берест В.П., Софронов Д.С. Грамицидин S в многокомпонентных липидных мембранах: роль липидного состава // XII Міжнародна конференція по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці, 18-20 жовтня 2018: тези доп. Київ, 2018. С. 10. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні тези).*
 24. **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: тези доп. Київ, 2018. С. 42. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ	21
ВСТУП	23
Розділ 1. МОДЕЛЬНІ ЛІПІДНІ МЕМБРАНИ ТА ЇХ ВЗАЄМОДІЯ З МОЛЕКУЛАМИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН.....	28
1.1. Загальна характеристика клітинних мембран	28
1.2. Основні характеристики модельних ліпідних мембран.....	29
1.3. Фазові переходи в модельних ліпідних мембранах	32
1.3.1. Рухливість вуглеводневих ланцюгів фосфоліпідних молекул.	32
1.3.2. Фазові стани ліпідного бішару	33
1.4. Взаємодія лікарських речовин з мембранами	36
1.5. Багатокомпонентні ліпідні мембрани	38
1.6. Кінетичні дослідження мембранотропної дії методом ДСК	40
1.7. Висновки до розділу 1	43
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	44
2.1. Матеріали	44
2.2. Методика отримання зразків	45
2.3. Метод диференціальної скануючої калориметрії (ДСК)	46
2.4. Фур'є-ІЧ-спектроскопія.....	49
2.5. Термогравіметричний аналіз (ТГА)	50
2.6. Оптична мікроскопія	50
2.7. Методи обробки даних та комп'ютерного моделювання	51
2.8. Квантово-хімічні розрахунки.....	51
2.9. Кореляційний аналіз	52
2.10. Висновки до розділу 2	52
Розділ 3. ВЗАЄМОДІЯ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН З ЛІКАРСЬКИМИ РЕЧОВИНАМИ У РІВНОВАЖНИХ УМОВАХ	54
3.1. Космотропні та хаотропні речовини	54
3.1.1. Тилорон та диметилсульфоксид	54

3.1.2. Іони церію та кальцію	58
3.2. Ефекти спільної дії лікарських речовин в мембрані ДПФХ	60
3.3. Взаємодія циклосерину з різними допоміжними речовинами .	67
3.4. Взаємодія лікарських речовин з багатокомпонентними мембранами	72
3.4.1. Фенспірид	74
3.4.2. Лауринова кислота	75
3.4.3. Каолін.....	77
3.5. Висновки до розділу 3	79
Розділ 4. ВЗАЄМОДІЯ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН З ЛІКАРСЬКИМИ РЕЧОВИНАМИ У КІНЕТИЧНОМУ РЕЖИМІ	81
4.1. Кінетика взаємодії ДМСО і тилорону з мембраною ДПФХ	81
4.2. Кооперативність фазових переходів мембран ДПФХ і ДМФХ.	85
4.3. Енергія активації дегідратації стеаратів кальцію і магнію	91
4.4. Енергія активації фазових переходів мембран ДПФХ і ДМФХ .	93
4.5. Висновки до розділу 4	95
Розділ 5. МЕМБРАНОТРОПНА ДІЯ КОМПОНЕНТІВ ФАРМПРЕПАРАТІВ НА МОДЕЛЬНІ МЕМБРАНИ РІЗНОГО ЛІПІДНОГО СКЛАДУ	96
5.1. Полімерні носії фармпрепаратів на основі поліакриламідну	96
5.2. Кон'югати метотрексату і бетулонової кислоти.....	101
5.3. Антибіотик граміцидин S	107
5.4. Висновки до розділу 5.	115
ВИСНОВКИ.....	117
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	119
Додаток А. Список публікацій здобувача за темою дисертації	148
Додаток Б. Структура та деякі характеристики досліджуваних речовин	155

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

ДР – допоміжні речовини.

ДМФХ – *L*- α -диміристоїлфосфатидилхолін.

ДПФГ – *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилгліцерін.

ДПФХ – *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилхолін.

ДПФЕ – *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилетаноламін.

ДСК – диференціальна скануюча калориметрія.

ІЧ – Фур'є-інфрачервона спектроскопія.

ТГА – термогравіметричний аналіз

КЛ – кардіоліпін.

ЛР – лікарські речовини.

МД – мембранотропна дія.

МТ – метотрексат.

ДМСО – диметилсульфоксид.

ОДР – основна діюча речовина.

ФЕ – фосфатидилетаноламін.

ФХ – фосфатидилхолін.

Х – холестерин.

Ц – цереброзиди.

a_{mol} – мольна мембранотропна активність.

a_{wt} – масова мембранотропна активність.

A – площа перерізу молекули у ленгмюрівському моношарі.

c – концентрація.

CaSt – кальцію стеарат.

MgSt – магнію стеарат.

CN – параметр кооперативності фазового переходу модельних ліпідних мембран.

CyS – циклосерин.

GS – граміцидин S.

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

k_a – коефіцієнт анізотропії.

$\log P$ – коефіцієнт ліпофільності

L_α – рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

P_β – складчаста рідкокристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

L_β – гель-фаза модельних ліпідних мембран.

L_c – кристалічна фаза модельних ліпідних мембран.

M – молекулярна маса.

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

R – коефіцієнт детермінації.

StA – стеаринова кислота.

T_m – температура основного фазового переходу модельних ліпідних мембран.

T_p – температура передпереходу модельних ліпідних мембран.

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

ΔT_m , ΔT_p – зсуви температур основного та передпереходу фазового переходу модельних ліпідних мембран, відповідно.

$\Delta T_{m1/2}$, $\Delta T_{p1/2}$ – 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.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Взаємодія ліпідних мембран з лікарськими речовинами (ЛР) - це швидко зростаючий напрямок досліджень, який представляє особливий інтерес для біофізики та має важливі біомедичні застосування [25 - 29]. Ліпідний бішар біомембран виконує низку важливих біологічних функцій, а окрім того становить основний шлях доставки в клітину більшості ЛР. Зміна властивостей бішару відбувається як в процесі зв'язування, так і дифузії ЛР крізь нього і складає мембранотропну дію (МД) даної ЛР. На сьогодні зв'язок між МД та терапевтичною дією ЛР встановлено для анестетиків, антибіотиків, антимікробних препаратів, тощо. Для виявлення та оптимізації МД важливим є встановлення зв'язків між властивостями ЛР та ефектами їх МД. Взаємодії мембрани одночасно з декількома ЛР на даний момент порівняно мало вивчені, проте, можуть чинити істотний вплив на ефективність ЛР при спільному застосуванні. Використання ліпідних мембран різного складу, які наближуються до мембран різних типів клітин, є важливим для розробки ліпосомальних форм ЛР, встановлення їх спорідненості до певної ліпідної фази і модуляції їх терапевтичної дії. Для вирішення всіх цих завдань все ширше використовуються модельні ліпідні мембрани як структурні компоненти біомембран.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано у рамках наукових тем Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України відповідно до НДР № 0115U003433 «Специфіка відгуку ліпідного наноматеріалу на присутність люмінесцентних зондів та біологічно активних субстанцій» (здобувач – виконавець), № 0116U002612 «Створення наноматеріалів з керованою електро-, фото- та рентген-стимульованою активністю» (здобувач – виконавець), № 0118U002295 «Визначення взаємодії наноносіїв фармпрепаратів з модельними фосфоліпідними мембранами» (здобувач – відповідальний виконавець), а також Харківського

національного університету імені В. Н. Каразіна № 0118U002041 «Біофізичні моделі молекулярної взаємодії граміцидину S» (здобувач – виконавець).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є встановлення ефектів взаємодії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран різного ліпідного складу. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

5. Виявити ефекти спільної МД водорозчинних ЛВ і їх компонентів (іонів, структурних фрагментів) в рівноважному і кінетичному режимах (адсорбція, дифузія та ін.).
6. Визначити зв'язок між хімічною будовою і ефектами спільної МД в парах «циклосерин - допоміжна речовина».
7. Підібрати склад багатокомпонентних ліпідних мембран для наближення до різних типів біомембран.
8. Встановити ефекти МД низки ЛР (граміцидину S, кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти, а також полімерних носіїв фармпрепаратів на основі поліакриламиду) на модельні мембрани різного ліпідного складу.

Об'єкт досліджень – ефекти мембранотропної дії ЛР в модельних ліпідних мембранах.

Предмет досліджень – зміни термодинамічних параметрів модельних ліпідних мембран при внесенні ЛР та їх компонентів.

Методи дослідження: диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) (параметри фазових переходів модельних ліпідних мембран), Фур'є-ІЧ-спектроскопія (характеристики смуг поглинання функціональних груп ліпідів), термогравіметричний аналіз (ТГА) (характеризація кристалізаційної води), оптична мікроскопія (морфологія еритроцитів), кореляційний аналіз (кореляції між молекулярними параметрами кон'югатів і параметрами їх мембранотропної дії), квантово-хімічні розрахунки (молекулярні параметри ЛР та ліпідів).

Наукова новизна результатів роботи:

1. Вперше кількісно охарактеризовано МД водорозчинних речовин різної природи (космотропи і хаотропи) на основі моделі адсорбції Фрейндліха.
2. Вперше показано зміну ефектів МД основної діючої речовини фармпрепарату (антибіотику циклосерину) в залежності від хімічної будови допоміжної речовини.
3. Вперше запропоновано методику вивчення кінетики спільної МД, за допомогою якої показано полегшення пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності диметилсульфоксиду.
4. Вперше встановлені високі коефіцієнти лінійної кореляції між молекулярними параметрами (коефіцієнтом ліпофільності та коефіцієнтом анізотропії) кон'югатів метотрексату та бетулонової кислоти і параметрами їх МД (температурами фазових переходів модельної ліпідної мембрани та проникністю *Caco-2* клітин).
5. Вперше показано істотне підвищення зв'язування граміцидину S з мембраною дипальмітоїлфосфатидилхоліну в присутності холестерину

Практичне значення одержаних результатів. Застосування моделі адсорбції Фрейндліха дозволяє кількісно характеризувати та порівнювати МД водорозчинних ЛР, що важливо у процесах їх конкурентної адсорбції на мембрані. Методика вивчення кінетики спільної МД водорозчинних ЛР може бути застосована для тестування сумісності ЛР, у тому числі основної та допоміжних речовин фармпрепаратів. Залежність ефектів спільної МД від хімічної будови допоміжної речовини дозволяє оптимізувати склад фармпрепаратів відповідно до потрібних біомедичних застосувань. Встановлена кореляція між коефіцієнтом анізотропії молекули ЛР та її МД у модельних та клітинних мембранах відкриває можливість корегування властивостей ЛР шляхом модифікації їх анізотропії. Встановлення спорідненості ЛР до мембран певного ліпідного складу надає додаткову цінну інформацію щодо механізмів їх дії та може бути застосоване для підвищення селективності між клітинами-

мішеннями та клітинами організму-хазяїна.

Особистий внесок здобувача. Дисертанткою самостійно отримано результати експериментальних досліджень, проведено їх обробку, виконано первинний аналіз результатів та сформульовано попередні висновки. Постановка задачі та інтерпретація отриманих даних здійснювалися спільно з науковим керівником та співавторами наукових публікацій. В опублікованих із співавторами наукових працях особистий внесок здобувача полягає: у роботах [1-3, 5-16, 18-22] – робота з літературними джерелами, приготування зразків, проведення калориметричних вимірювань, обробка калориметричних даних, участь у обговоренні результатів, написанні тексту статей та тез; у роботах [23, 24] – приготування зразків, отримання та обробка калориметричних даних, обчислення молекулярних параметрів ЛР та ліпідів, проведення кореляційного аналізу, участь у написанні тез; у роботах [4, 17, 23] – приготування зразків для ІЧ-спектроскопії та калориметрії, проведення калориметричних вимірювань, обговорення результатів, участь у підготовці статей та тез.

Апробація роботи. Основні результати досліджень були представлені, обговорені і опубліковані в тезах доповідей вітчизняних та міжнародних наукових конференцій: 7th and 8th International Conferences «Physics of Liquid Matter: Modern problems» (Kyiv, Ukraine, 2016; Kyiv, Ukraine, 2018); VII, VIII and IX International Conference for Professionals & Young Scientists «Low temperature physics» (Kharkiv, Ukraine, 2016; Kharkiv, Ukraine, 2017; Kharkiv, Ukraine, 2018); Школе-семинаре «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения» (с. Мартовое, Печенежский р-н, Харьковская область, 2016); XXIV Українській конференції з органічної хімії (Полтава, Україна, 2016); IEEE International Young Scientists Forum (Kharkiv, Ukraine, 2016); Международной школе-семинаре «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения» (с. Мартовое, Печенежский р-н, Харьковская область, 2017); XXIII Galyna Puchkovska

International School-Seminar «Spectroscopy of molecules and crystals» (Kyiv, Ukraine, 2017); 5th International Conference «Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects» (Kharkiv, Ukraine, 2017); XI International Conference «Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials (ICEPOM – 11)» (Ivano-Frankivsk, Ukraine, 2018); Міжнародній школі-семінарі «Функціональні матеріали для технічних та біомедичних застосувань» (сел. Мартове, Печенізький район, Харківська область, 2018); XII Міжнародній конференції з прикладної біофізики, біоніки та біокібернетики (Київ, Україна, 2018); VII з'їзді Українського біофізичного товариства (Київ, Україна, 2018).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи опубліковано в 24 наукових працях, з них 9 статей у фахових вітчизняних та закордонних журналах [1-9] та 15 тез доповідей на міжнародних і національних наукових конференціях [10-24].

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку літературних джерел та 2 додатків. Загальний обсяг дисертації складає 164 сторінки. Дисертація містить 51 рисунок, 13 таблиць. Список використаних джерел (250 найменувань) займає 29 сторінок. Додатки займають 15 сторінок.

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

1.1. Загальна характеристика клітинних мембран

Клітину можна визначити як елементарну структурно-функціональну одиницю всього живого. Саме мембрани (наряду з цитоскелетом) формують структуру живої клітини. Клітинна, або цитоплазматична, мембрана оточує кожну клітину. Ядро оточене двома ядерними мембранами: зовнішньою і внутрішньою. Всі внутрішньоклітинні структури – мітохондрії, ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджі, лізосоми, пероксисоми, фагосоми, сінатосоми і т.д. – являють собою замкнуті мембранні везикули. Плазматичні мембрани клітин живих організмів являють собою ліпідний бішар товщиною 6-10 нм з рухомими включеннями білкових молекул [30]. Крім того, до складу багатьох мембран можуть входити вуглеводи, а також сполуки іншої природи (каротиноїди, порфірини і т. д.). Істотну частину мембран становить вода - вона бере участь у формуванні зв'язків між компонентами мембрани. Ще в 1930 р. Д. Даніеллі запропонував модель мембрани у вигляді подвійного ліпідного шару, або бішару. Розвитком цих уявлень є рідинно-мозаїчна модель (Рис.1.1) [31], згідно з якою мембранні білки підрозділяються на периферичні (слабо пов'язані з мембраною) та інтегральні (локалізовані в ліпідному бішарі). Вважається, що структура ліпідного бішару посіла одне з перших місць серед об'єктів біофізичних досліджень саме після створення цієї моделі мембрани [31]. Ліпідний бішар, складний за своєю структурою і різний в різних мембранних структурах, виконує дві основні функції: 1) бар'єру для іонів і водорозчинних молекул і 2) структурної основи («матриці») для мембранних білків і гліколіпідів.

В даний час використовуються більш складні багат шарові моделі, однак уявлення щодо мембрани як «текучого» ліпідного бішару з включенням

внутрішньомембранних білків, залишається практично незмінним [32]. Зовнішня поверхня мембрани, звернена до оточення клітини, містить молекули глікопротеїнів, які мають в своєму складі полісахаридні ланцюжки, а також білки-поріни, що утворюють гідрофільні канали.

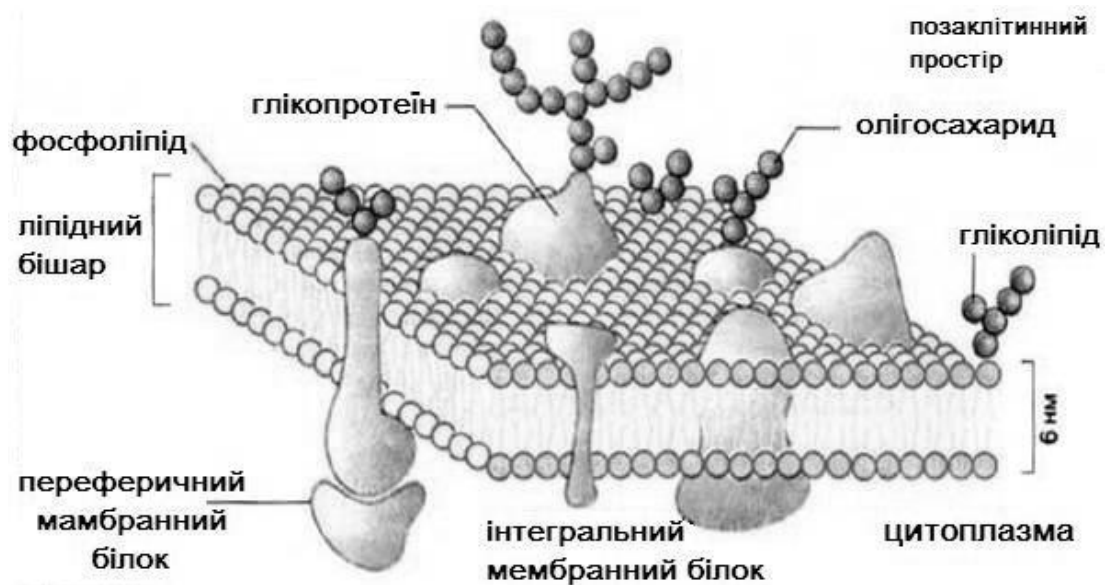


Рисунок 1.1. Рідинно-мозаїчна модель біологічної мембрани

Таким чином, білки і ліпіди взаємопов'язані в мембрані і утворюють рухливу, гнучку структуру, здатну до перебудов та адаптації.

1.2. Основні характеристики модельних ліпідних мембран

Ліпідні мембрани є основним структуроутворюючим елементом біологічної клітини [33,34]. Вони утворюються амфіфільними молекулами фосфоліпідів і сфінгомієлінів у водній фазі. Амфіфільними ці молекули називають тому, що вони складаються з двох частин, різних за своєю розчинністю у воді: полярної «голови», що має високу спорідненість до води, тобто гідрофільна, і «хвоста», утвореного неполярними вуглеводневими ланцюгами жирних кислот (ця частина молекули має низьку спорідненість до води, тобто гі-

дрофобна). З хімічної точки зору фосфоліпід складається з чотирьох частин: гліцерину, двох жирних кислот з довгим вуглеводневим ланцюгом, фосфорної кислоти і особливої для кожного фосфоліпиду групи, яку називають характеристичною групою.

Прикладом амфіфільної молекули може слугувати молекула фосфатидилхоліну, структура якої показана на Рис. 1.2, а. У фосфатидилхоліну характеристичною групою є залишок холіну (Рис. 1.2, б). У інших фосфоліпідах такою групою може бути залишок етаноламіну, серину та інших полярних молекул (Рис. 1.2, в).

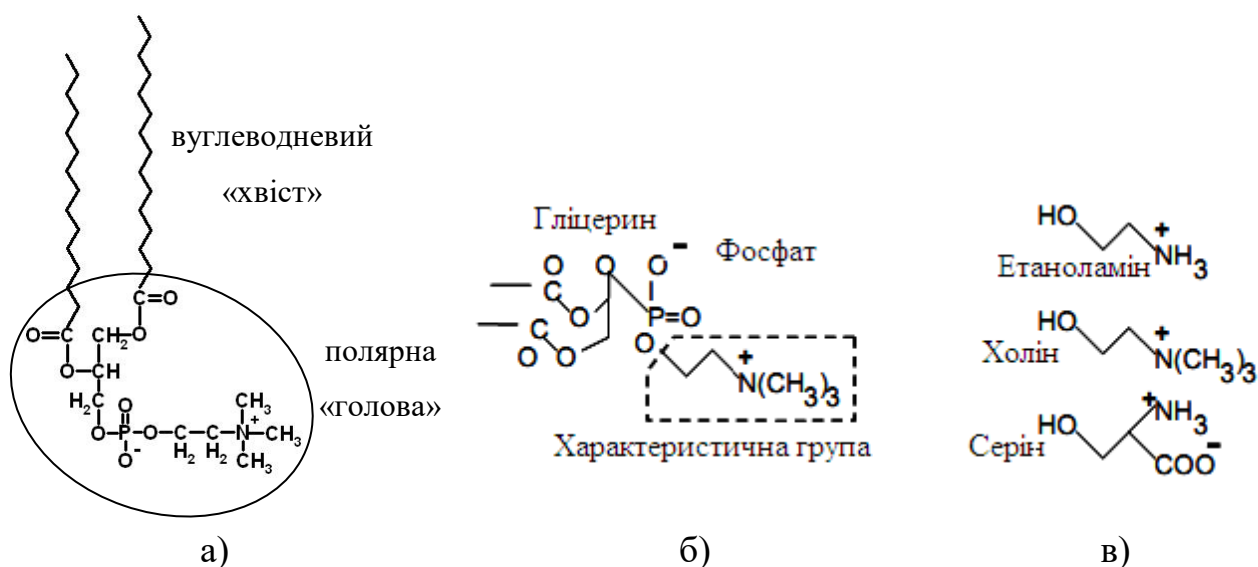


Рисунок 1.2. а) амфіфільна молекула фосфатидилхоліну; б) полярна голова фосфоліпиду; в) характеристичні групи фосфоліпідів.

До складу ліпідного шару мембран входять також холестерин і сфінгом'єліни; останні близькі до фосфоліпідів за хімічною будовою і фізичними властивостями.

Серед асоціатів, що утворюються при самозбірці ліпідів, найбільш відомі мономолекулярні ліпідні плівки (моношари), міцели, бімолекулярні ліпідні шари (бішари) і ліпосоми. Вивчення фізичних властивостей ліпідних асоціатів здійснюється переважно на штучних мембранних структурах, утворе-

них синтетичними фосфоліпідами або ліпідами, виділеними з біологічних джерел.

Ліпідний бішар - подвійний молекулярний шар (ламела) - термодинамічно вигідна форма асоціації багатьох видів полярних ліпідів у водному середовищі, при якій молекули ліпідів орієнтовані таким чином, що їх полярні головки спрямовані в бік водної фази та утворюють дві гідрофільні поверхні, а вуглеводневі ланцюги розташовані по нормалі до цих поверхонь та утворюють між ними гідрофобну область (Рис.1.3) [35].

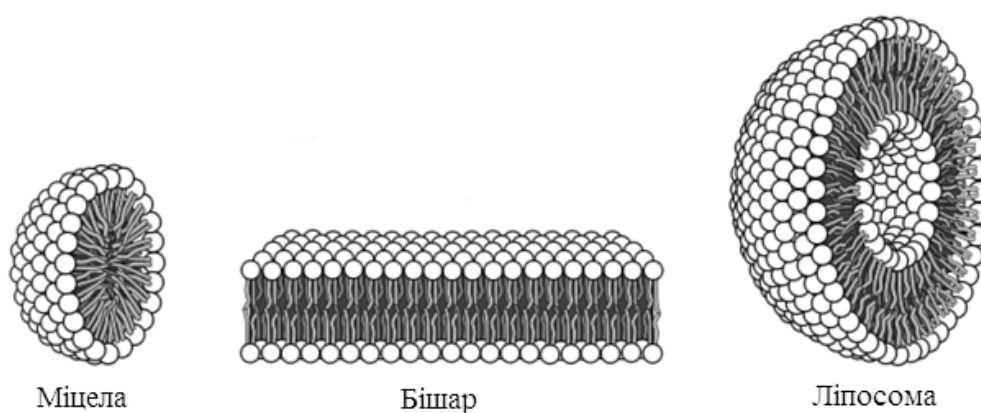


Рисунок 1.3. Структури, що утворюються при змішуванні фосфоліпідів з водою.

Властивості ліпідного бішару багато в чому визначають механічні характеристики мембрани. Безперервність бішару визначає бар'єрні та механічні властивості клітини [36, 34]. Товщина бішару визначається, перш за все, довжиною вуглеводневих ланцюгів та зазвичай знаходиться в межах 4 - 5 нм. Присутність в ланцюгах *цис*-подвійних зв'язків, бічних метильних груп та інших замісників порушує щільність упаковки молекул та приводить до зменшення товщини ліпідного бішару.

Моношари фосфоліпідів утворюються на межі розділу вода - масло або вода-повітря, де гідрофобні хвости знаходяться в маслі або повітрі, а гідрофільні головки - у воді. Проста модель ленгмюровських моношарів використо-

вустється для моделювання поведінки процесів, що відбуваються в біологічних мембранах за різних умов [37 - 43].

При збовтуванні в воді або водних розчинах полярні ліпіди спонтанно формують міцели, в яких вуглеводневі хвости ліпідів направлені від води, а електрично заряджені гідрофільні головки розташовуються на поверхні, взаємодіючи з водним оточенням (Рис.1.3)

Ліпосоми - це ліпідні везикули (бульбашки), що самовільно виникають при диспергуванні полярних ліпідів у воді та складаються з одного або декількох замкнутих ліпідних бішарів, що розділяються водними проміжками (Рис.1.3) [44]. Їх використовують в біохімічних дослідженнях як найпростішу модель біологічних мембран.

В даний час ліпосоми використовуються як носії ліків, оскільки їх можна "завантажити" різними ЛР. Завдяки своїй унікальній структурі ліпосоми здатні включати в себе як гідрофільні речовини - у внутрішню порожнину, так і гідрофобні - в область вуглеводневих хвостів [45, 46]. У ліпосоми можна вводити тканиноспецифічні антитіла, що дозволяє забезпечувати спрямований транспорт включених в них ліків в певні органи і тканини. Склад ліпідів ліпосом можна варіювати у широких межах і таким чином цілеспрямовано змінювати їх фізико-хімічні властивості.

1.3. Фазові переходи в модельних ліпідних мембранах

1.3.1. Рухливість вуглеводневих ланцюгів фосфоліпідних молекул

Атоми вуглеводневого ланцюга жирних кислот з'єднані між собою одинарними ковалентними зв'язками, навколо яких різні ділянки ланцюга можуть обертатися, як на осі. Це обертання приводить до того, що жирнокислотні ланцюги у молекулах фосфоліпідів можуть перебувати в різних конфігураціях (Рис. 1.4). Повністю витягнута конфігурація (Рис. 1.4, а) відповідає абсолютно однаковому розташуванню усіх вуглецевих атомів один щодо одного. Така конфігурація називається *повністю-транс* конфігурацією. Альтерна-

тива *транс*-конфігурації - це так звана *гош*-конфігурація (Рис. 1.4, б). У мембранах жирнокислотні ланцюги стиснуті сусідніми молекулами, і вільна форма клубка для фосфоліпідної молекули не реалізується. Саме тому поширена подвійна *гош*-конфігурація (Рис. 1.4, в), при якій вуглеводневий ланцюг залишається витягнутим уздовж осі. Для ненасичених ліпідів взаємне відштовхування ацильних хвостів спостерігається в результаті суперпозиції теплового руху і переходу з *цис*- до *транс*- конформеру ацильних хвостів.

В результаті вказаного обертання жирнокислотні ланцюги набувають «гнучкість», хоча насправді вони не згинаються в повному сенсі цього слова, а лише можуть повертатися навколо зв'язків між атомами. За рахунок згину ланцюгів і постійного теплового руху молекула фосфоліпиду частково втрачає свою циліндричну форму і стає більш сферичною.

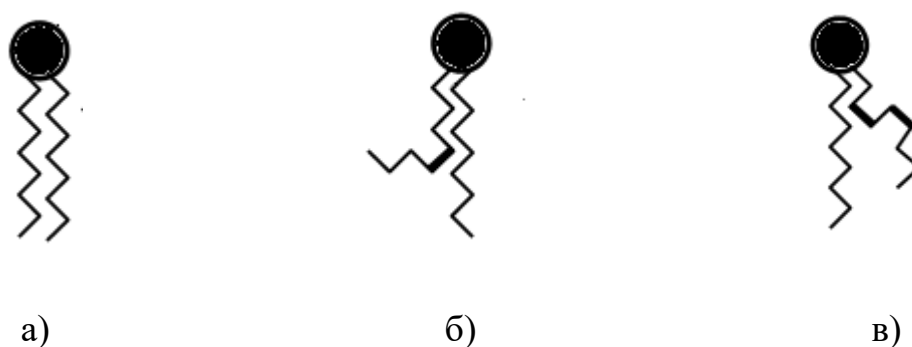


Рисунок 1.4. Різні конфігурації жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів: *повністю-транс*- (а), *гош*- (б) та *дубль-гош*-конфігурація. Жирним виділено зв'язок, навколо якого стався поворот ланцюга.

1.3.2. Фазові стани ліпідного бішару

Для ліпідних систем характерний поліморфізм фазових станів. Залежно від умов (ліпідний склад, температура, іонна сила, рН) в них можливе існування різних фаз [47, 48]. Для бішарових мембран, що складаються з діа-

цилфосфоліпідів, можна виділити чотири фази: три кристалічні фази L_β , L_c , P_β та одну рідку фазу L_α (Рис. 1.5).

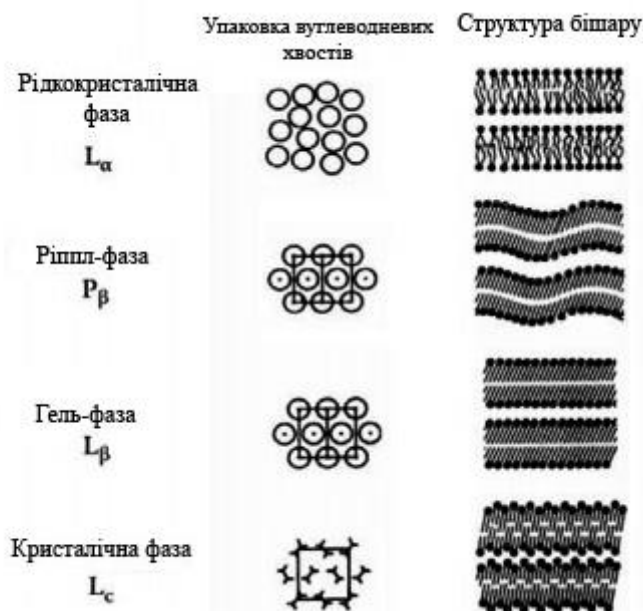


Рисунок 1.5. Типи ліотропних рідкокристалічних фаз гідратованих фосфоліпідів [49].

Фаза L_β – т.зв. гелева фаза, в якій вуглеводневі ланцюги розташовані паралельно один одному під кутом 30-32 ° до нормалі бішару, утворюють гексагональну решітку [50]. Ланцюги з внутрішнього моношару паралельні ланцюгам з зовнішнього моношару. Основна причина відхилення від нормалі ліпідних молекул по обидва боки бішару полягає у властивостях гідрофобних хвостів. На користь цього свідчать результати роботи [51], в якій було показано, що існуючі взаємодії між сусідніми молекулами ліпідів, обумовлені утворенням диполь-дипольних контактів, сольових і / або водневих зв'язків між головками, не змінюють площу головки зі збільшенням температури.

Фаза L_c також характеризується впорядкованим розташуванням ліпідних молекул, з тією лише різницею, що молекули розташовані перпендикулярно нормалі. Формування такої фази характерно для ліпідів фосфатидилетаноламінового ряду [52]. У молекулі фосфатидилетаноламіну площа полярної го-

лівки практично збігається з площею хвостів, і тому формується фаза, в якій хвости молекул не нахилені.

У фазі L_α молекули ліпідів розташовані перпендикулярно до площини бішару, полярні головки залишаються пов'язаними між собою електростатичними взаємодіями, а також сіткою водневих зв'язків гідратної оболонки. За рахунок теплового руху вуглеводневих хвостів відбувається взаємне відштовхування ліпідних молекул, що приводить до збільшення їх загальної площі. Так, для дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДПФХ) зміна температури від 23 °C (L_β) до 50 °C (L_α) приводить до збільшення сумарної площі молекули від 70 до 77 Å² [53].

Більшість насичених фосфатидилхолінових ліпідів мають можливість переходити в проміжну фазу при температурах дещо нижче температури основного переходу, з утворенням складчастої фази P_β . Ця фаза характеризується також перпендикулярним розташуванням ліпідів до поверхні бішару, що і L_β , але під кутом $\sim 30^\circ$ до нормалі (див. Рис. 1.5). Данний перехід прийнято називати передпереходом. Він пов'язаний зі зміною пакування полярних голівок фосфоліпідів внаслідок підвищення їх гідратації.

Основний фазовий перехід пов'язаний з переходом вуглеводневих ланцюгів ліпідних молекул зі стану гелю (L_β) в стан рідкого кристалу (L_α) [54, 55, 56]. У гелі-стані усі гідрофобні хвости фосфоліпідних молекул витягнуті чітко паралельно один одному (повністю знаходяться в *транс*-конформації), рухливість ліпідних молекул сильно обмежена. В рідкокристалічному стані можлива відносно висока молекулярна рухливість компонентів: гідрофобні вуглеводневі залишки згинаються, порушується їх паралельність, і мембрана в цілому веде себе як рідка, текуча фаза.

Температура основного фазового переходу залежить від багатьох чинників, в тому числі, від природи полярних головок, довжини і ступеня ненасиченості вуглеводневих радикалів, взаємодії між ланцюгами, наявності холестерину в бішарі тощо [57, 58, 59].

1.4. Взаємодія лікарських речовин з мембранами

Дослідження мембранотропної дії ЛР становить одну з важливих завдань сучасної біофізики. Транспорт ЛР крізь клітинну мембрану обумовлює подальший її розподіл в біологічних рідинах, органах і тканинах [60, 61]. Найбільш поширеним механізмом транспорту ЛР вважається пасивна дифузія крізь ліпідний бішар [61, 62], тому фосфоліпідні модельні мембрани загальноприйняті як відповідна фізична модель для з'ясування механізмів дії ЛР [25, 28, 63, 64].

Взаємодія ЛР з ліпідним бішаром є складовою загальної дії фармпрепарату і може приводити до його ущільнення або розрідження, що в багатьох випадках корелює з підвищенням або зниженням проникності бішару [65-69]. На відміну від взаємодії з білками-мішенями, у взаємодію з ЛР мембраною утягнута переважна більшість її функціональних груп, тому на перший план виступає структура ЛР.

Традиційно вважається, що з мембраною можуть взаємодіяти тільки гідрофобні речовини, тобто ті, які здатні проникати всередину мембрани. Однак, гідрофільні (водорозчинні) речовини можуть взаємодіяти з мембраною, адсорбуючись на її поверхні. Тут є свої специфічні закономірності, наприклад, якісно різний вплив космотропів і хаотропів. Терміни «хаотропний» та «космотропний» було вперше вжито для іонів (т. зв. ряди Гофмейстера), для яких було встановлено якісно різна дія на низку параметрів води та водних розчинів білків [70]. Згодом ці терміни було поширено від іонів до великої групи речовин, а їх вплив на властивості води був ретельно досліджений [71 - 75]. Зокрема, встановлено, що температура плавлення ДНК також зсувається протилежним чином під впливом космотропних або хаотропних агентів [76]. Загальне біологічне значення цього явища досі обговорюється [74, 77-80], у тому числі – в рамках концепції непрямих ефектів Гофмейстера за допомогою зміни структури води [76, 81, 82].

Ефекти Гофмейстера мають місце також і у ліпідних бішарах, оскільки їх поверхня насичена високогідратованими фосфатними групами, а гідрофобні взаємодії всередині бішару сильні. У [83] відмічено низку важливих закономірностей МД космотропів та хаотропів, наприклад, до підвищення або зниження температур фазових переходів модельної ліпідної мембрани внаслідок, відповідно, підвищення чи зниження порядку в структурі рідкої води. Таким чином, вивчення взаємодії ЛР з мембранами важливе як для гідрофобних, так і для гідрофільних сполук.

Слід зазначити, що переважна більшість сучасних фармпрепаратів є багатокomпонентними системами, що складаються з діючої речовини і набору допоміжних речовин [60]. У фармакології загальноприйнятим є уявлення про те, що в присутності різних речовин (лікарських, харчових, клітинних компонентів і ін.) вихідна дія фармпрепаратів може посилюватися або послаблюватися [84, 85] - саме тому останнім часом особливий інтерес викликають міжкомпонентні взаємодії в фармпрепаратах на різних етапах їх застосування. Механізми спільної дії речовин можна умовно розділити на пряму, безпосередню взаємодію (утворення сполук, комплексів та ін.) і непряму, опосередковану взаємодію (вбудовування в один і той же фізіологічний процес, реакцію, зміна властивостей середовища та ін.). Відомо, що як фармакокінетика, так і фармакодинаміка лікарських засобів можуть бути істотно змінені, коли два або більше лікарських засоби застосовуються одночасно навіть без прямої лікарської взаємодії [86, 87].

Безпосередня взаємодія фармпрепаратів проявляється вже на рівні ліпідного бішару [88, 89]. Існують численні роботи щодо взаємодії окремих препаратів з фосфоліпідними мембранами [25 - 29], але наявна інформація про спільну дію ЛР, одночасно введених в ліпідні мембрани, є недостатньою та фрагментарною. Тим не менше, деякі наявні дані свідчать про те, що спільні ефекти різних лікарських засобів можуть бути істотними. Зокрема, такі важливі властивості ліпідних мембран, як проникність для специфічного лікар-

ського засобу [90 - 93] або розподіл ЛР в мембрану [94, 95], суттєво модифікуються в присутності інших речовин. З цими процесами можуть бути пов'язані зміни термодинамічних параметрів ліпідних бішарів при спільному застосуванні препаратів [88, 96-99], включаючи випадок прямих молекулярних взаємодій [100, 101]. З огляду на те, що ліпідний бішар має суттєвий вплив на зв'язування і функціонування мембранних білків, виконуючи в тому числі і каталітичні функції [102, 103], проникнення ЛР через біомембрани є важливим не тільки з точки зору терапевтичного процесу, а й опосередкованого впливу на життєдіяльність клітини.

1.5. Багатокомпонентні ліпідні мембрани

Відомо, що підбір ліпідного складу ліпосом є істотним фактором оптимізації доставки ЛР, тому в даний час в якості моделей все більш широко використовуються ліпідні композиції різного складу [104 - 107, 108, 109].

Цереброзиди і фосфоліпіди широко використовуються як в лікарських препаратах, так і в косметичі, тому їх композиції інтенсивно вивчаються за допомогою сучасних фізичних методів [110]. З іншого боку, фазові стани, індуковані сторонніми молекулами (наприклад, олеїною кислотою [111] і рицином [112]) в мембранах, що містять цереброзиди, можуть бути надзвичайно важливою складовою їх дії на шкіряні покрови.

Трикомпонентні мембрани, що містять «високотемпературний» і «низькотемпературний» ліпіди, а також холестерин, вважаються оптимальними моделями зовнішнього півшару мембран ссавців [113]. ДПФХ і ДПФЕ відносяться до найголовніших класів ліпідів клітинних мембран [114]. Холестерин, широко присутній в мембранах ссавців, має важливу регуляторну функцію, модулюючи фізичні властивості біомембран [115].

Незважаючи на складність, для багаткомпонентних ліпідних систем вже встановлені деякі загальні фізико-хімічні закономірності [92, 105, 116, 117,]. Так, в роботі [118] показано, що ступінь зв'язування інтегрального білка

спектрину з мембранами фосфатидилхолін (ФХ) – фосфатидилетаноламін (ФЕ) - з однаковими вуглеводневими радикалами знижувався в міру подовження радикалу, хоча ефект підвищення тиску при введенні спектрину при цьому збільшувався. У той же час, для ненасичених ліпідів вказаний ефект був в кілька разів менше.

У мембранах ДПФЕ для гідрофільних космотропних речовин, таких як сахароза і гліцерин, встановлено зниження температури $L_{\alpha} \rightarrow H_{II}$ переходу і підвищення температури переходу $L_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$, тобто звуження температурного інтервалу існування L_{α} -фази [83]. Зазначений ефект зменшувався з підвищенням довжини ланцюгів ФЕ і зниженням ступеня космотропності добавки. Для гідрофільних хаотропних речовин, таких як, наприклад, NaSCN, ефект був зворотним: розширення інтервалу існування L_{α} -фази. У тій же роботі для космотропної сахарози встановлено зменшення значення $d\Delta T_m/dc$ для переходу $L_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$ з підвищенням довжини ланцюга в ФЕ, а також підвищення зазначеного параметру при переході від більш гідратованого ДПФХ до менш гідратованого ДПФЕ.

У загальному випадку на зв'язування сторонньої молекули з мембраною впливає як структура її поверхні (природа головок), так і структура її гідрофобної частини (довжина хвостів), що детально показано на прикладі дигітоніну [119]. Положення сторонньої молекули в бішарі згідно [116] визначається гідрофільно-гідрофобним балансом, конформацією молекули, електростатичним потенціалом і гідратацією поверхні. На цей баланс, в свою чергу, впливає структура гідрофільної і гідрофобної частин ліпідів, а також фазовий стан бішару. Саме ці фактори визначають латеральну взаємодію ліпідів і, в підсумку, - проникність і сорбційну ємність бішару по відношенню до даної молекули.

З огляду на все вищесказане, стає зрозумілим, що ліпідний склад мембран є істотним чинником взаємодії молекул з бішаром і роботи в цьому напрямку є дуже актуальними.

1.6. Кінетичні дослідження мембранотропної дії методом ДСК

Кінетика фазових переходів, на відміну від кінетики хімічних реакцій, вивчена не сповна навіть для простих систем [120 - 123]. У дослідженнях фазових переходів в термотропних рідких кристалів кінетичні фактори, як правило, не враховуються, що, ймовірно, є джерелом розбіжностей у характеристиках точок фазового переходу, наведених у різних публікаціях [124]. Кінетика відіграє провідну роль в регулюванні процесів в організованих біологічних системах, які відбуваються в них з певною швидкістю і в певній послідовності [125]. Саме цьому такі дослідження стають особливо важливими для фазових переходів між ліотропними рідкокристалічними фазами фосфоліпідних мембран.

Диференціальна скануюча калориметрія є широко використовуваним і високоінформативним методом для дослідження фазових переходів у фосфоліпідних мембранах [126]. Детальні дослідження показують, що температури фазового переходу, визначені за допомогою піків на ДСК-термограмах фосфоліпідних мембран, можуть помітно змінюватися при різних швидкостях сканування, зсуваючись у бік підвищення при більш високих швидкостях нагрівання [127].

Найбільш поширеним параметром, пов'язаним з кінетикою фазових переходів, є енергія активації E_a [128], оскільки саме від неї залежить швидкість перебігу фазового переходу.

Більшість кінетичних досліджень стосується взаємодії між мембраною та ЛР в рівноважних умовах, але в деяких роботах кінетичні експерименти з розподілу ЛР в ліпідних мембранах були виконані з використанням методики ДСК [29, 129 - 132]. Кінетичні дослідження мультибішарових ліпідних структур дозволяють відстежувати можливість спонтанної взаємодії ЛР з мембраною в масштабі реального часу.

При спільному введенні ЛР можна спостерігати модуляцію кінетичних процесів у присутності іншого препарату. Такий підхід має дати уявлення

про здатність препарату проходити через біомембранні бар'єри (тобто бути абсорбованим в організмі), що може бути корисним для фармакокінетичних досліджень [29,129 - 132].

Важливою кінетичною характеристикою ліпідних мембран є кооперативність фазових переходів. Поняття кооперативності для фазових переходів в ліпідних мембранах було введено, коли була помічена істотна різниця між значеннями калориметричної ентальпії ΔH_m і ентальпії Вант-Гоффа [133]. Передбачалося існування «кооперативних доменів», в межах яких усі молекули перебувають в однаковому стані, утворюючи або кристалічну (тверду) фазу, або рідку фазу. Кожна група може змінювати свій фазовий стан за законом "все або нічого" і до того ж абсолютно незалежно від інших груп. У цьому сенсі кооперативні домени являють собою «сверхмолекули», які можуть переходити з одного стану в інший.

Методи калориметрії зазвичай використовуються для визначення розміру кооперативного домену в ліпідних мембранах [64, 134]. Для кількісного визначення параметрів кооперативності перехідного процесу було запропоновано використовувати співвідношення між теоретично визначеними ΔH_{VN} і вимірними ΔH_m [49]:

$$CN = \Delta H_{VN} / \Delta H_m, \quad (1.1)$$

де CN - кооперативне число, тобто кількість молекул ліпиду в домені (розмір кооперативного домену).

Встановлено, що для насичених фосфатидилхолінів кооперативність притаманна як основному фазовому переходу ($P_{\beta'} - L_{\alpha}$), що в основному пов'язане зі змінами в упаковці алкільних ланцюгів, так і передпереходу ($L_{\beta'} - P_{\beta'}$), що супроводжується змінами орієнтації полярних головок [135 - 137]. Значення CN для основного переходу в кілька разів перевищують значення

для передпереходу [137] і лінійно зменшуються з довжиною фосфатидилхолінового алкільного ланцюга (що не спостерігається для передпереходу).

Враховуючи, що значна частка ліпідів знаходиться в безпосередньому контакті з білками [138], можна обговорити біофізичну роль кооперативних доменів. Ліпідний домен являє собою супрамолекулярний ансамбль, який можна порівняти з мембранними білками за його масою (до 1000 кДа) і розміром (до 850 нм в бішаровій поверхні). Хоча клітинні мембрани включають сотні видів ліпідів [139, 140], які викликають різке зниження CN [137], кооперативні домени можуть досягати досить великих розмірів внаслідок латерального розділення ліпідів [140, 141, 142]. Зокрема, ліпідні домени сусідніх мембранних білків можуть в значній мірі визначати ефекти ліпід-білкових взаємодій. Такий тип взаємодії описувався для моделі ліпідної мембрани з мелітином [143]. У свою чергу, невеликі розміри доменів в ліпідних системах [137, 144] сприяють підтримці мембранного гомеостазу, оскільки мембрани з малими доменами стабільніші до малих коливань параметрів середовища. Ці висновки відповідають гіпотезі регуляторних факторів функціонування мембрани та ліпід-білкової взаємодії внаслідок динамічної гетерогенності ліпідного бішару [145, 146] і суперечать уявленню про ліпіди як пасивні учасники ліпід-білкових взаємодій.

На величину кооперативної області впливають багато факторів, такі як чистота зразка [147], іонна сила [148], енергія активації фазового переходу [149], релаксація після усунення тиску [150 - 152], кількість дефектів у структурі бішару [153], природа підложки [154], кривизна ліпосом [154, 138] та ін. Встановлено, що холестерин і багато лікарських засобів зменшують розмір кооперативного домену [145, 155, 156], але можуть мати місце і зворотні ефекти [157]. Це, зокрема, може сприяти проникненню молекул препарату через мембрану внаслідок підвищення її гетерогенності [158 - 160].

Незважаючи на свою біологічну значущість, величина CN досить рідко використовується в аналізі калориметричних даних. Можливою причиною є

висока чутливість значень CN до різних факторів, зазначених вище, що й призводить до суттєвої розбіжності отриманих величин.

1.7. Висновки до розділу 1

1. Визначення мембранотропної дії лікарських речовин, тобто їх впливу на фізико-хімічні властивості та фазовий стан ліпідних мембран, є одним із актуальних напрямків сучасних біофізичних, медико-біологічних та фармакологічних досліджень. Фосфоліпідні модельні мембрани загальноприйняті як відповідна фізична модель для з'ясування механізмів дії ЛР.

2. Диференціальна скануюча калориметрія є чутливим та інформативним методом визначення мембранотропної дії ЛР, втім потребує доповнення результатами інших методів.

3. У переважній більшості робіт різними методами досліджують окремі ЛР або групи ЛР подібної хімічної будови. Становило б значний інтерес дослідження спільної дії різних ЛР, одночасно введених в ліпідні мембрани, а також впливу допоміжних речовин на мембранотропну дію ЛР.

4. Для розробки ліпосомальних форм та модуляції терапевтичної дії ЛР, а також для встановлення їх спорідненості до певної ліпідної фази важливим є використання модельних мембран різного ліпідного складу, який відповідає особливостям тих чи інших типів клітинних мембран.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали

Як основні структуроутворюючі компоненти модельних ліпідних мембран в роботі були використані речовини групи фосфоліпідів: *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилхолін (ДПФХ) «Avanti Polar Lipids» (США) та його гомолог *L*- α -диміристоїлфосфатидилхолін (ДМФХ) «Sigma», *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилгліцерин (ДПФГ), *L*- α -дипальмітоїлфосфатидилетаноламін (ДПФЕ) «Fluka», а також кардіоліпін (КЛ), цереброзиди (Ц) (Ceramides LS 3773 (BASF), що містять 25% фосфоліпідів та 75% цереброзидів), та холестерин (Х) «Sigma-Aldrich» (Німеччина) (див. додаток Б, табл. Б1). Використано також низку лікарських речовин різних хімічних класів та фармакологічних груп, які додатково вносили до модельної ліпідної мембрани (див. додаток Б, табл. Б2).

Для досліджень були використані 17 хімічно чистих ЛР. Зокрема, тилорону дигідрохлорид та фенспірид були люб'язно надані для досліджень компанією «Інтерхім» (м. Одеса); диметилсульфоксид зневоднений «Gaylord Chemical» (США), циклосерин та сукцинілхоліну дигідрат були люб'язно предоставлені для досліджень компанією «Enamine» (м. Київ); азитроміцину дигідрат виробництва «Biochemie, S.A.» (Іспанія); граміцидин S виробництва ЗАТ «Производственная фармацевтическая компания Обновление» (Росія) додатково очищений; зіркоподібні декстран-поліакриламідні сополімери з наночастинками Au або Ag отримані та надані для досліджень проф. Н.В. Куцевол (КНУ ім. Т.Г. Шевченка, м. Київ); кон'югати метотрексату та бетулонової кислоти були синтезовані О.М. Семененко (ДНУ НТК «Інститут монокристалів», м.Харків) та надані для досліджень їх МД; солі Ce^{3+} «Sigma-Aldrich» (Німеччина) і Ca^{2+} марки ОСЧ; гіпромелоза «Tian Ruitai cellulose» (Китай); кальцію стеарат, магнію стеарат, стеаринова кислота, лауринова ки-

слота, каолін, лактози моногідрат «Molkerei MEGGLE Wasserburg» (Німеччина), повідон K-29/32 «International Speciality Products» (Швейцарія).

Молекулярні параметри речовин розраховані за методикою, описаною у п. 2.8.

2.2. Методика отримання зразків

Для приготування однокомпонентних мультибішарових ліпідних мембран з'єднували ліпіди в кристалічній формі та бідистильовану воду (або таку ж кількість розчину досліджуваних водорозчинних ЛР необхідної концентрації) у співвідношенні 40:60 за масою. Формування мультибішарових ліпідних структур відбувалося при чергуванні термостатування зразків в атмосфері насиченої водної пари (20-40 годин), прогрівання вище температури основного фазового переходу (для ДПФХ 50 °С, для ДМФХ 35 °С) протягом 20 хвилин та перемішування механічним способом (шпателем). Після 3–5 таких циклів структура набувала візуальної однорідності, а її термодинамічні параметри – відтворюваності.

Багатокомпонентні мультибішарові ліпідні мембрани отримували шляхом додавання до суміші ліпідів в кристалічній формі етилового спирту або хлороформу. Видалення розчинника відбувалося за допомогою концентратора «Concentrator plus» (Німеччина) шляхом центрифугування протягом 7 год при 45° С та тиску 100 мбар зі швидкістю обертання 1400 об/хв (~240 g). Після випаровування розчинника, модельні ліпідні мембрани готували шляхом гідратації – так, як це описано вище.

Водонерозчинні ЛР розчиняли в етиловому спирті або хлороформі. Отриманий розчин додавали до ліпідних мембран в кристалічній формі у кількостях, які забезпечували необхідну низку концентрацій. Далі об'єм розчинника доводили до 150 мкл. Видалення розчинника та формування мультибішарових ліпідних структур відбувалося так, як це описано раніше.

2.3. Метод диференціальної скануючої калориметрії (ДСК)

Дослідження методом ДСК проводили за допомогою мікрокалориметра «Mettler DSC 1» (Швейцарія). Досліджувані зразки в кількості 15 – 25 мг поміщали в алюмінієві тиглі, запечатували й розміщували в термокомірці поряд з еталонним (порожнім) тиглем. Для кожного зразка проводилося 2 цикли «охолодження - нагрівання» з швидкістю сканування $0,1 \div 40$ К/хв в залежності від мети дослідження.

Диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) - це кількісний метод термічного аналізу, що визначає залежність між енергією, що виділяється чи поглинається зразком при температурному скануванні, та температурою процесу.

Тепловий потік H реєструється приладом наступним чином:

$$H = Q_s - Q_r, \quad (2.1)$$

де Q_s – тепловий потік досліджуваного зразка;

Q_r – тепловий потік референтного зразка.

Q_r та Q_s визначають як

$$Q_s = (T_c - T_s)/R_{th}, \quad Q_r = (T_c - T_r)/R_{th}, \quad (2.2)$$

де T_c – температура печі;

T_s – температура досліджуваного зразка;

T_r – температура референтного зразка;

R_{th} – термічний опір зразків.

Цей закон виконується при невеликих різницях температури, щоб зберігалася лінійність теплового потоку. Тоді:

$$H = -(T_s - T_r)/R_{th} = -\Delta U/(R_{th}S), \quad (2.3)$$

$$\Delta U = (T_s - T_r)S = \Delta TS, \quad (2.4)$$

де ΔU – різниця потенціалів, що вимірюється за допомогою термопар (термоЕРС);

S – чутливість термопар (20 мкВ/К). S та R_{th} – функції температури.

$$E = R_{th}S, \quad (2.5)$$

де E – калориметрична чутливість, її представляють у вигляді добутку двох компонент: залежної від температури E_{rel} та незалежної E_{in} :

$$E = E_{rel} \cdot E_{in}. \quad (2.6)$$

E_{in} визначається при калібруванні приладу за відомою теплотою плавлення індію, E_{rel} представляється у вигляді розкладання в степеневу функцію:

$$E_{rel} = A + BT + CT^2, \quad (2.7)$$

де константи A , B , C теж визначаються при калібруванні приладу.

Термограми досліджуваних зразків у координатах «теплоємність (C_p) - температура (T)» можуть бути отримані на підставі співвідношення

$$C_p(T) = (dH/dT)_p, \quad (2.8)$$

де H – кількість теплоти, що необхідна для підвищення температури зразка на один градус при постійному тиску P .

Калориметрична ентальпія переходу ΔH визначається за площею піку під експериментальною кривою відносно базисної лінії

$$\Delta H = \int_{T_2}^{T_1} C_p(T) dT, \quad (2.9)$$

де T_1 та T_2 – початкова й кінцева точки фазового переходу.

Температура будь-якого фазового переходу визначається як екстремум температурної залежності теплового потоку — тобто, як точка, в якій похідна теплового потоку набуває нульового значення. Ентальпії фазових переходів розраховують як площину нормованого ДСК-піку за допомогою відповідного програмного забезпечення «STAR^e SW11.00». Гістерезис (h) визначають як різницю значень T_m при охолодженні та нагріванні:

$$\Delta h_m = T_{m(\text{нагрів})} - T_{m(\text{охол})}, \quad (2.10)$$

де $T_{m(\text{нагрів})}$ та $T_{m(\text{охол})}$ — температури основного фазового переходу при нагріванні та охолодженні, відповідно.

Зсув температури основного фазового переходу в присутності ЛР (ΔT_m) обчислюється за формулою:

$$\Delta T_m = T_m - T_{m0}, \quad (2.11)$$

де T_{m0} та T_m — температури фазових переходів ліпідної мембрани без домішок та мембрани в присутності ЛР відповідно.

Масовий параметр мембранотропної активності ЛР (a_m), який відбиває величину зсуву температури піку переходу в розрахунку на одиницю масової концентрації ЛР в модельній ліпідній мембрані, визначають за формулою:

$$a_m = \Delta T / c_m, \quad (2.12)$$

де c_m — масова концентрація ЛР відносно маси фосфоліпіду.

У калориметричних дослідженнях одним із джерел додаткової інформації є асиметрія піку. Однією із зручних форм представлення асиметрії є різниця між температурою максимуму піку та серединою його напівширини. Тому якщо високотемпературна частина піку ширша за низькотемпературну, асиметрія набуває позитивного значення, і навпаки.

Кооперативність фазового переходу CN обчислювали за формулою:

$$CN = 4RT_m^2 / (\Delta T_{m1/2} \Delta H_m), \quad (2.13)$$

де R – універсальна газова стала;

$\Delta T_{1/2}$ – напівширина піку основного фазового преходу.

Параметр $\Delta T_{1/2}$ відбиває ступінь кооперативності фазового переходу: чим менше $\Delta T_{1/2}$ (більш вузький пік переходу), тим більш кооперативним є фазовий перехід.

2.4. Фур'є-ІЧ-спектроскопія

Фур'є-ІЧ (FTIR) спектри поглинання модельних ліпідних мембран в присутності ЛР були отримані за допомогою спектрофотометра Perkin Elmer «Spectrum One»*. Реєстрацію спектрів проводили методом роздавленої краплі між стеклами ZnSe при стандартних атмосферних умовах [161]. Процедура обробки оригінальних ІЧ-спектрів складалася з наступних етапів: перерахування отриманих значень пропускання в поглинання; нормування отриманих спектрів у координатах оптичної щільності по $\nu_s\text{CH}_2$ 2850 cm^{-1} ; урахування поглинання стекол ZnSe; віднімання базисної лінії спектра.

Точність визначення хвильового числа становила 0,2 cm^{-1} .

* Фур'є-ІЧ-спектри були отримані к. х. н. Д.С. Софронівим.

2.5. Термогравіметричний аналіз (ТГА)

Для стеаратів Ca^{2+} і Mg^{2+} було визначено енергію активації дегідратації (E_a). Для цього перед термогравіметричним експериментом кристали досліджуваних речовин у кількості 3–6 мг поміщали в тиглі з оксиду алюмінію об'ємом 160 мкл, закриті перфорованою кришкою. Потім зразки насичували водою в атмосфері насиченої водної пари, реєструючи значення маси з періодичністю 10-20 год. Для ТГА-експерименту тиглі зі зразками поміщали до термогравіметричного модулю TG 50 термоаналітичної системи «Mettler TA 3000» (Швейцарія), де в кінетичному режимі, при швидкості 2 К/хв в діапазоні температур 30–100 °С спостерігали за дегідратацією. Зміна маси зразка в часі відповідала кількості випаруваної води. E_a дегідратації обчислювали за допомогою рівняння Кіссінджера:

$$\ln \frac{x}{T_{dh}^2} = - \frac{E_a}{RT_{dh}} + const, \quad (2.14)$$

де x – швидкість сканування;

R – універсальна газова стала;

T_{dh} - температура дегідратації.

2.6. Оптична мікроскопія

Зразки еритроцитів людини, які використовували в мікроскопічних дослідженнях, були зібрані у здорових донорів за стандартною клінічною процедурою. Дослідження еритроцитів проводили з використанням оптичного мікроскопу «Микромед Полар 3» (Росія), обладнаного цифровою камерою «Canon EOS 1100D». До суспензії еритроцитів, що знаходилися на предметному скельці, додавали 5,5 % розчин тилорону та/або 1,5 % розчин ДМСО на фізрозчині, перемішували та накривали покривним скельцем. Мікрофотографії робили кожні 30 с протягом 10 хв. Експеримент повторювали 4-5 разів.

2.7. Методи обробки даних та комп'ютерного моделювання

Процедура обробки ДСК-термограм проводилася з використанням програмного забезпечення приладу «Mettler DSC 1», а також вільного ПЗ «QtiPlot 0.9.8.9». Були визначені температура, ентальпія, напівширина та гістерезис основного переходу ліпідних мембран (T_m , ΔH_m , $\Delta T_{m1/2}$, h_m), а також передпереходу (T_p , ΔH_p , $\Delta T_{p1/2}$, h_p). Стандартне відхилення зазначених параметрів, отримане на підставі аналізу 15 контрольних зразків, склало: $\delta T_m = 0,15$ °C; $\delta T_p = 0,25$ °C; $\delta \Delta H_m = 3,8$ кДж/кг; $\delta \Delta H_p = 0,6$ кДж/кг; $\Delta T_{m1/2} = 0,23$ °C ; $\Delta T_{p1/2} = 0,18$ °C, $h_m = 0,3$ °C $h_p = 0,5$ °C. При розщепленні ДСК-пиків на гауссіани критерієм слугував коефіцієнт детермінації R між експериментальною кривою і обвідною, який становив не менше 0,98.

2.8. Квантово-хімічні розрахунки

Оцінка коефіцієнту ліпофільності молекул ($\log P$) ЛР була проведена за допомогою відкритого електронного ресурсу [162] з використанням алгоритмів Pharma Algorithm (AC_ $\log P$), Molinspiration Algorithms ($mi\log P$, ALOGP, MLOGP; ПЗ DragonX) [163, 164], XLOGP2 and XLOGP3 (ПО XLOGP2, XLOGP3) [165], а також ALOGPs [166]. Усереднений коефіцієнт ліпофільності $\langle \log P \rangle$ являє собою середнє арифметичне всіх результатів по кожній ЛР.

Для розглянутих у роботі ЛР такі молекулярні параметри, як молекулярний об'єм (V_m), загальна площа поверхні молекули (S_{total}), дипольний момент (μ) і геометричні розміри молекули (r_x , r_y , r_z), обчислювалися шляхом повної оптимізації геометрії і мінімізації енергії напівемпіричними методами AM1 та PM6 з використанням ПЗ MORAC 2016 версія 18.305W (вільна академічна ліцензія) [167]. Параметр S_{polar} отримано згідно з [168].

Виходячи з отриманих значень, були розраховані й інші молекулярні параметри, такі як полярна частина площі поверхні молекули (σ_{polar})

$$\sigma_{polar} = S_{polar}/S_{total}, \quad (2.15)$$

молекулярна анізотропія (k)

$$k = (r_x - r_y)/(r_x + r_y), \quad r_x > r_y, \quad (2.16)$$

та площа анізотропної взаємодії (S_k)

$$S_k = kS_{total}. \quad (2.17)$$

2.9. Кореляційний аналіз

Для встановлення зв'язку між деякими молекулярними параметрами досліджуваних ЛР та параметрами їх МД у модельних та клітинних мембранах було застосовано кореляційний аналіз. Для цього використовувався коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона (r), який для величин x та y має вигляд:

$$r(x, y) = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}, \quad (2.18)$$

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

Матриці коефіцієнтів кореляції були отримані для загального набору досліджуваних ЛР та окремо по групах речовин, близьких за хімічною будовою.

2.10. Висновки до розділу 2

1. Для досліджень змін термодинамічних параметрів фазових переходів модельних ліпідних мембран, основними структуроутворюючими компо-

нтами яких були речовини групи фосфоліпідів, цереброзиди та холестерин, було використано низку речовин, що належали до різних хімічних класів та відрізнялися за своєю біологічною дією.

2. Основним експериментальним методом досліджень фазових переходів модельних мембран була диференціальна скануюча калориметриметрия. У якості допоміжних методів використовувалися Фур'є-ІЧ-спектроскопія, термогравіметричний аналіз та оптична мікроскопія.
3. Побудовано молекулярні моделі досліджених лікарських речовин, на основі яких проведено розрахунки основних молекулярних параметрів з використанням квантово-хімічних методів.
4. Для встановлення зв'язку між деякими молекулярними параметрами досліджуваних лікарських речовин і параметрами їх мембранотропної дії у модельних та клітинних мембранах було застосовано кореляційний аналіз.
5. Усі використані експериментальні методи є неінвазивними та не вносять фазових збурень до фосфоліпідних мембран.

Розділ 3. ВЗАЄМОДІЯ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН З ЛІКАРСЬКИМИ РЕЧОВИНАМИ У РІВНОВАЖНИХ УМОВАХ

3.1. Космотропні та хаотропні речовини

3.1.1. Тилорон та диметилсульфоксид

В якості хаотропної ЛР було обрано тилорон (діюча речовина препарату «Аміксин ІС»), інтерес до якого останнім часом різко зріс. Тилорон - це антивірусний та імуномодуючий засіб, що індукує вироблення інтерферону [169-172]. Як приклад космотропної речовини було обрано диметилсульфоксид (ДМСО), що широко використовується як підсилювач проникнення лікарського засобу; він проявляє знеболюючу та протизапальну дію, а також використовується як кріопротектор [173, 174]. Мембранотропна дія ДМСО ретельно вивчається протягом десятиліть [88, 129, 175 - 189]. Встановлено три типи ефектів ДМСО на ліпідні бішари для різних діапазонів концентрацій: розрідження мембрани, формування пір і руйнування бішару [179, 181, 185, 186].

ДСК-термограми мембран ДПФХ, що містять тилорон та ДМСО, показано на Рис. 3.1. Внаслідок їх гідрофільної природи обидві ЛР, вірогідно, взаємодіють переважно з полярною поверхнею мембрани. Таку взаємодію можна розглядати як адсорбцію, де сили гідратації є одним з головних чинників змін параметрів фазового стану мембрани [190]. Тилорон, на відміну від ДМСО, індукує прогресивне зменшення передпереходу (T_p). При цьому спостережувані зміни ентальпії залишаються в межах експериментальної похибки.

Значення зсуву температур основного фазового переходу (ΔT_m) для тилорону та ДМСО за даними ДСК були отримані як залежність від концентрації водного розчину відповідної ЛР. Значення ΔT_m було негативним для хаотропного тилорону та позитивним для космотропного ДМСО (Рис. 3.2). Припускаючи, що ΔT_m пропорційна кількості адсорбованої на поверхні мембрани

ЛР, експериментальні дані можуть бути апроксимовані за допомогою аналогу рівняння адсорбції Фрейндліха:

$$\Delta T_m = kc^{1/n}, \quad (3.1)$$

де k – значення ΔT_m при одиничній концентрації речовини;

$1/n$ – кут нахилу $\Delta T_m(c)$.

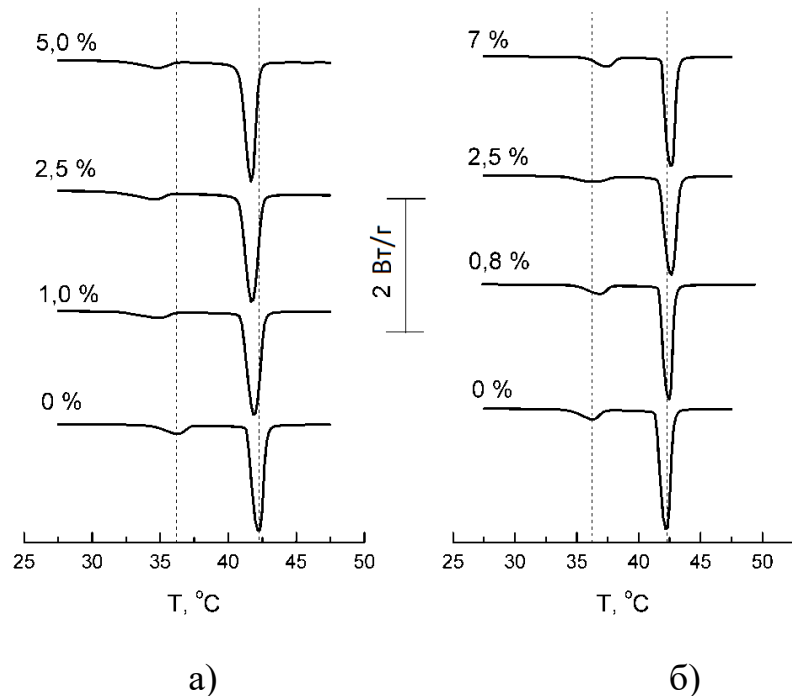


Рисунок 3.1. Нормовані ДСК-термограми (нагрівання) мембран ДПФХ з тилороном (а) і ДМСО (б). Відзначено концентрації ЛР (мас.% відносно сухого ДПФХ). Пунктирними лініями позначено температури фазових переходів мембрани ДПФХ без домішок.

Отримані параметри адсорбції наведено у Табл. 3.1. Параметр k може розглядатися як якісна характеристика МД. Він є негативним для хаотропних речовин та позитивним для космотропних. Параметр $1/n$ відповідає нахилу

залежності $\Delta T_m(c)$ у подвійній логарифмічній шкалі. Згідно отриманим даним, $|k|$ вищий для тилорону, тоді як $1/n$ більше для ДМСО.

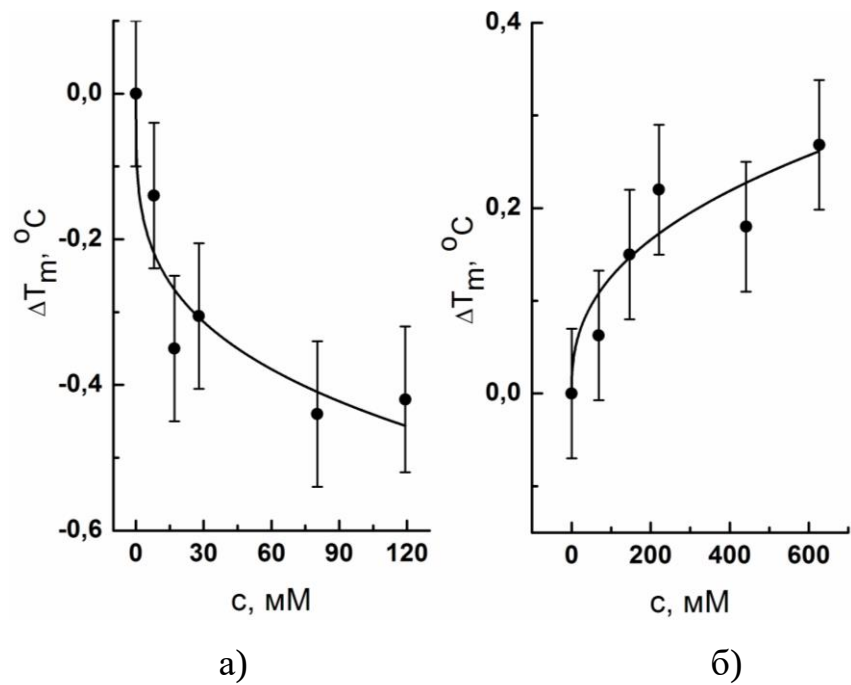


Рисунок 3.2. Концентраційна залежність ΔT_m в присутності тилорону (а) і ДМСО (б). Точки - експериментальні дані, лінії - апроксимація за рівнянням (3.1).

Таблиця 3.1

Параметри наближення Фрейндліха (ф. 3.1.) залежностей $\Delta T_m(c)$ для тилорону та ДМСО в мембрані ДПФХ

Речовина	$1/n$	k	R
Тилорон	0,27	-0,12	0,87
ДМСО	0,41	0,02	0,79

Фур'є ІЧ-спектроскопія є ефективним методом дослідження гідратаційних змін ліпідних мембран шляхом спостереження антисиметричної валентної смуги фосфатної групи при 1200-1250 cm^{-1} . Спектральні складові цієї

смуги при $\sim 1220 \text{ см}^{-1}$ та $\sim 1240 \text{ см}^{-1}$ відносять, відповідно, до гідратованих і «вільних» фосфатних груп. Дані ІЧ-спектроскопії свідчать про те, що тилорон не впливає на гідратацію фосфатної групи ДПФХ (Рис. 3.3). При цьому для суміші «тилорон + ДМСО» спостерігається зменшення поглинання на 1240 см^{-1} порівняно з 1220 см^{-1} , що відповідає збільшенню гідратації фосфатної групи (Рис. 3.3, крива 3). Беручи до уваги відсутність будь-яких додаткових смуг або їх модифікацію в ІЧ-спектрах водних розчинів «тилорон+ДМСО» (дані не наведені), зазначений ефект не може бути пов'язаний з прямою взаємодією тилорон-ДМСО. Таким чином, спільне введення ЛР викликає якісно інший вплив на гідратацію мембран ДПФХ, ніж індивідуальне.

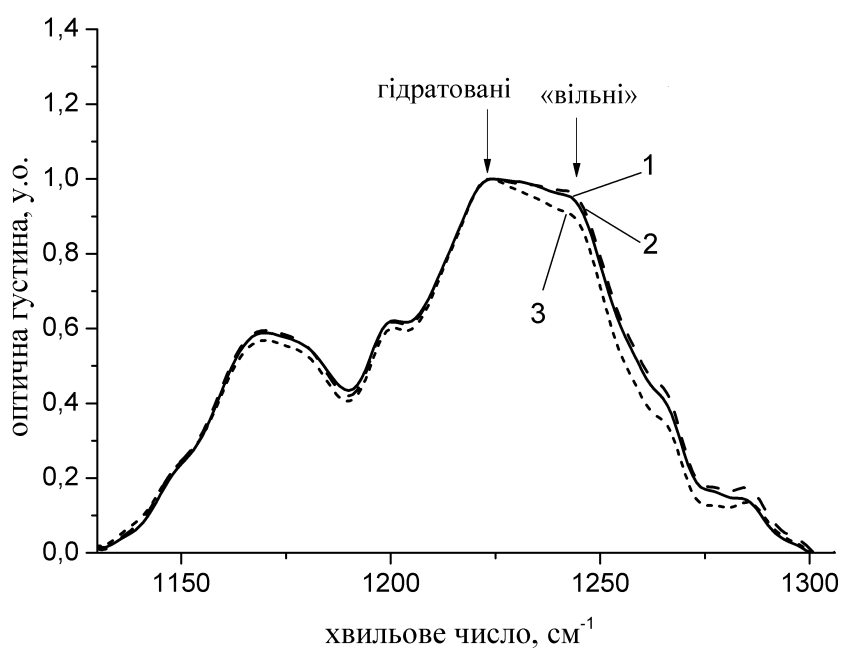


Рисунок 3.3. ІЧ-спектри антисиметричних валентних смуг фосфатів ДПФХ при кімнатній температурі (гелева фаза): 1 - без ЛР, 2 - тилорон, 3 - «тилорон + ДМСО».

Запропоновано модель, яка описує дію гідрофільних домішок на ліпідний бішар у термінах додаткового латерального тиску $P_{eff}(c)$, негативно-го для хаотропів та позитивного для космотропів. На підставі рівняння Кла-

пейрона-Клаузіуса для двовимірного випадку адсорбції ЛР на поверхні мембрани:

$$\frac{dT_m}{dP} = \frac{T_m(a_2 - a_1)}{q} \quad (3.2)$$

де $a_{1,2}$ – молекулярні площі до та після переходу;

q – молекулярна теплота переходу.

З урахуванням експериментально отриманої в літературі залежності $P_{eff} = Bc^\beta$ при $\Delta T_m \ll T_m$, отримуємо

$$\Delta T_m(c) \approx \left(T_{m0} \frac{(a_2 - a_1)}{q} B \right) \cdot c^\beta, \quad (3.3)$$

де T_{m0} – температура переходу мембрани без домішок;

B – константа.

Відмітимо, що рівняння (3.3) за формою співпадає з емпірично встановленим рівнянням (3.1), що підтверджує адекватність запропонованої моделі.

3.1.2. Іони церію та кальцію

Загальновідомо, що сорбція іонів на поверхні ліпідної мембрани не може бути адекватно описана в рамках хімічного зв'язування, і встановлення відповідності «концентрація іонів - мембранний ефект» є актуальною проблемою [191]. В рамках моделі адсорбції Фрейндліха (3.1) проведено порівняння мембранотропної дії іонів Ce^{3+} і Ca^{2+} у мембранах ДПФХ. Згідно літературним даним [192], ці вони є конкурентами за зв'язування з біомолекулами через близьке значення іонного радіусу $\approx 0,10$ нм. Значення ΔT_m було використано як показник іонно-мембранних ефектів, що виникають в результаті адсорбції іонів на поверхні мембрани. Як можна бачити, обидва іони приводять до збільшення ΔT_m у всіх досліджених концентраціях (Рис. 3.4), але, як свідчить апроксимація рівнянням (3.1), для Ce^{3+} значення k на порядок більше,

ніж для Ca^{2+} (табл. на Рис. 3.4). Зокрема, це може бути обумовлено порушенням гідратації цвітеріонної полярної головки молекул ДПФХ і зміною електричної взаємодії між полярними групами бішару в присутності іонів [193, 194]. Слід відмітити, що підвищення ΔT_m у присутності Ca^{2+} узгоджується із літературними даними щодо підвищення щільності упаковки ліпідів [195] та параметру порядку ліпідних ланцюгів [196]. Щодо дії церію, літературні дані повідомляють про підвищення в'язкості мембрани у його присутності [197] та зменшення міжбішарової відстані [198], що може привести до утворення інвертованої гексагональної (H_{II}) фази замість ламелярної [196,197, 199].

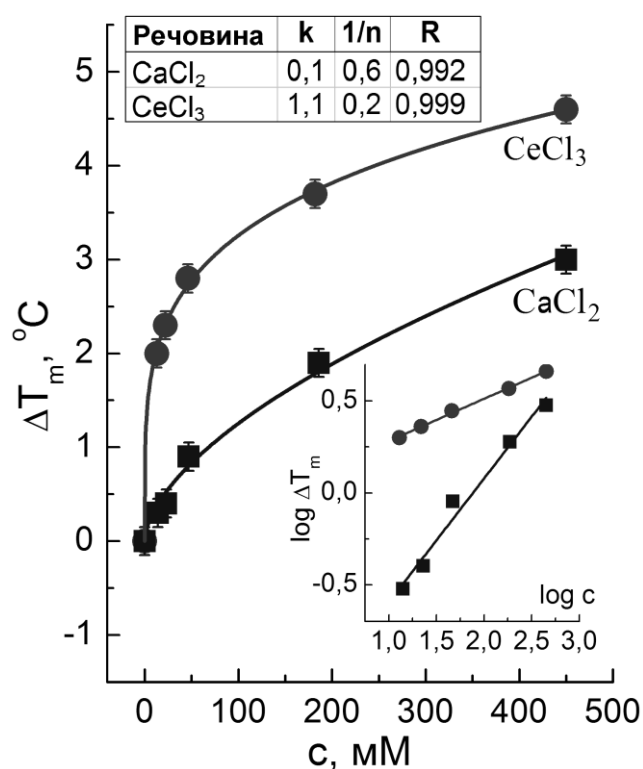


Рисунок 3.4. Концентраційні залежності ΔT_m та їх наближення за допомогою рівняння (3.1) для мембран ДПФХ з CaCl_2 і CeCl_3 . Параметри в таблиці: n , k - коефіцієнти апроксимації рівняння Фрейндліха; R - коефіцієнт детермінації. Вставка відображає отримані залежності, побудовані в подвійній логарифмічній шкалі.

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. Це, певно, є одним з факторів біологічної дії іонів Ce^{3+} при його конкуренції з Ca^{2+} .

3.2. Ефекти спільної дії лікарських речовин в мембрані ДПФХ

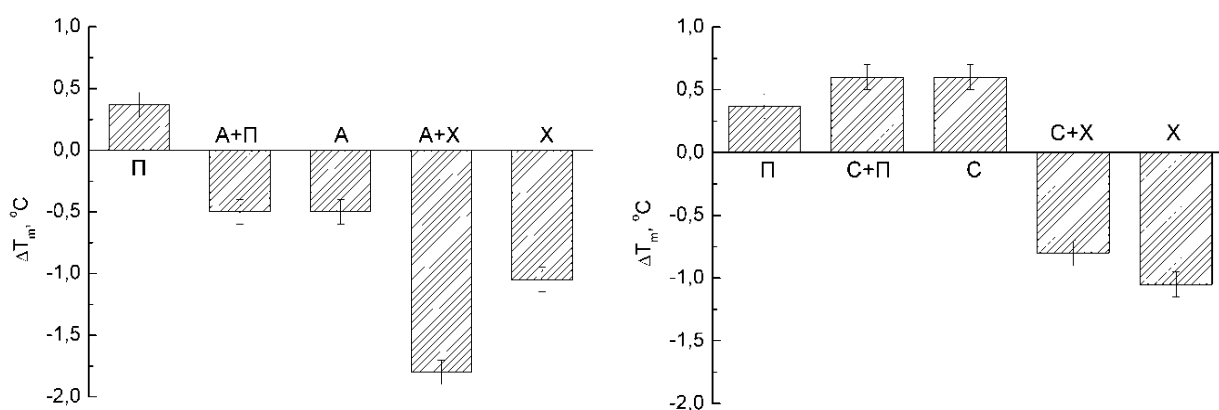
Для вивчення ефектів спільної дії ЛР були використані основні діючі речовини (ОДР) та допоміжні речовини (ДР) фармпрепаратів; холестерин був взятий як компонент біомембран з добре вивченою МД (Табл. 3.2). На першому етапі нами було визначено характер МД кожного з досліджуваних ЛР за параметром ΔT_m . На підставі цього були підібрані пари речовин з різним характером МД: обидві ЛР з $\Delta T_m > 0$ (сукцинілхолін і повідон), обидві ЛР з $\Delta T_m < 0$ (азитроміцин і холестерин), а також ЛР з протилежними знаками ΔT_m (сукцинілхолін і холестерин; азитроміцин і повідон). Відомо, що гідрофобні холестерин та азитроміцин локалізуються здебільшого в об'ємі ліпідного бішару [200, 201], тоді як дікатіон сукцинілхолін і гідрофільний полімер повідон адсорбуються на його поверхні. Таким чином, в підібраних парах були реалізовані різні варіанти взаємного розташування ЛР в бішарі. Значення ΔT_m мембрани, отримані в присутності зазначених речовин і їх поєднань, представлені на Рис. 3.5.

Як можна бачити, ефекти спільної дії однакові для гідрофобного азитроміцину і гідрофільного сукцинілхоліну: в обох парах з повідоном спостерігався антагонізм, а з холестерином - адитивність МД. Таким чином, в обраних комбінаціях ЛР їх спільна дія не залежала від взаємної локалізації в бішарі, а також від характеру їх МД.

Таблиця 3.2

Деякі характеристики використовуваних речовин

Речовина	Характеристика	Концентрація в ДПФХ, мас. %	Знак ΔT_m
Азитроміцин	ОДР	5,0	—
Тилорон	ОДР	2,5	—
Гіпромелоза	ДР	2,5	+
ДМСО	ДР	5,0	+
Лактози моногідрат	ДР	5,0	+
Повідон	ДР	10,0	+
Сукцинілхолін	ОДР	5,0	+
Холестерин	компонент біомембран	10,0	—

Рисунок. 3.5. Значення ΔT_m в присутності азитроміцину (А), сукцинілхоліну (С), повідону (П), холестерину (Х) та їх сполучень.

Більш тонко ефекти МД можуть бути вивчені з використанням методу квазібінарних діаграм. При дослідженні цим методом в кожній з досліджуваних систем зберігався незмінним загальний вміст двох компонентів: 2,5 % для системи «тилорон - гіпромелоза» і 5,0 % для систем «тилорон - ДМСО» і «азитроміцин - лактоза». Масова частка кожного компоненту варіювалася від 0,0 до 1,0. Така постановка експерименту, згідно [202], дозволяла виявити ефекти спільної дії ЛР за відхиленнями термодинамічних параметрів від адитивності.

Нами були підібрані речовини з яскраво вираженим протилежним характером МД: тилорон і ДМСО. Залежності ΔT_m та ΔT_p для пари «тилорон - ДМСО» представлені на Рис. 3.6. Як можна бачити, діаграми обох переходів нелінійні, тобто спільна дія тилорону та ДМСО є неадитивною. Відхилення від лінійності відбувається в бік МД тилорону в усьому концентраційному діапазоні. У той же час, концентраційна залежність ΔT_m для чистого тилорону в зазначеному діапазоні лінійна (Рис. 3.7, а), тобто його МД адитивна по концентрації.

Перевага зв'язування тилорону з мембраною (інгібування зв'язування ДМСО) підтверджується при взаємодії з еритроцитами. У присутності тилорону деформації еритроцитів не спостерігається (Рис. 3.8, б). У присутності ДМСО відбувається деформація еритроцитів по типу ехіноцитозу (Рис. 3.8, в), але додавання тилорону пригнічує дію ДМСО на еритроцитах (Рис. 3.8, г).

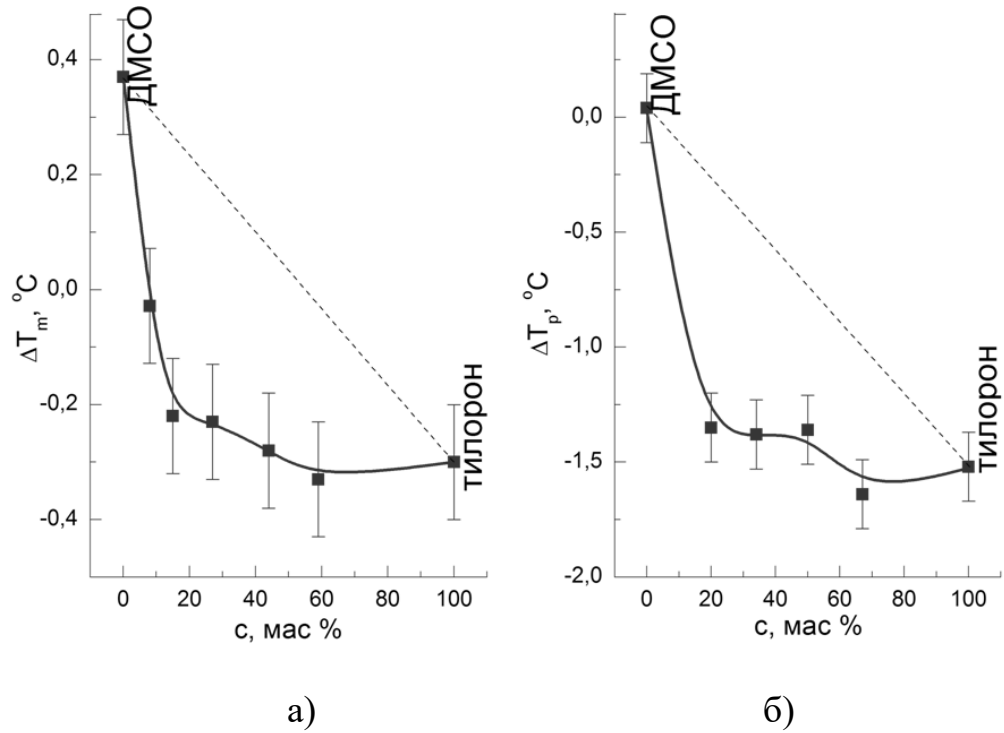


Рисунок 3.6. Залежності ΔT_m (а) та ΔT_p (б) від масової частки тилорону в парі «тилорон - ДМСО» при нагріванні.

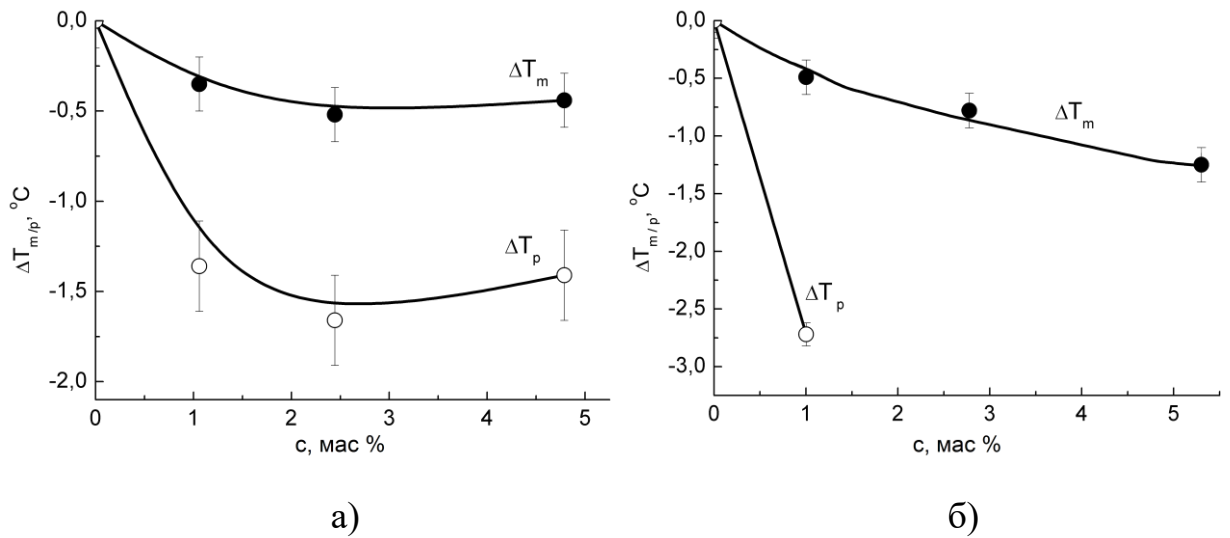


Рисунок 3.7. Залежності ΔT_m (●) і ΔT_p (○) від концентрації тилорону (а) та азитроміцину (б) у мембрані ДПФХ.

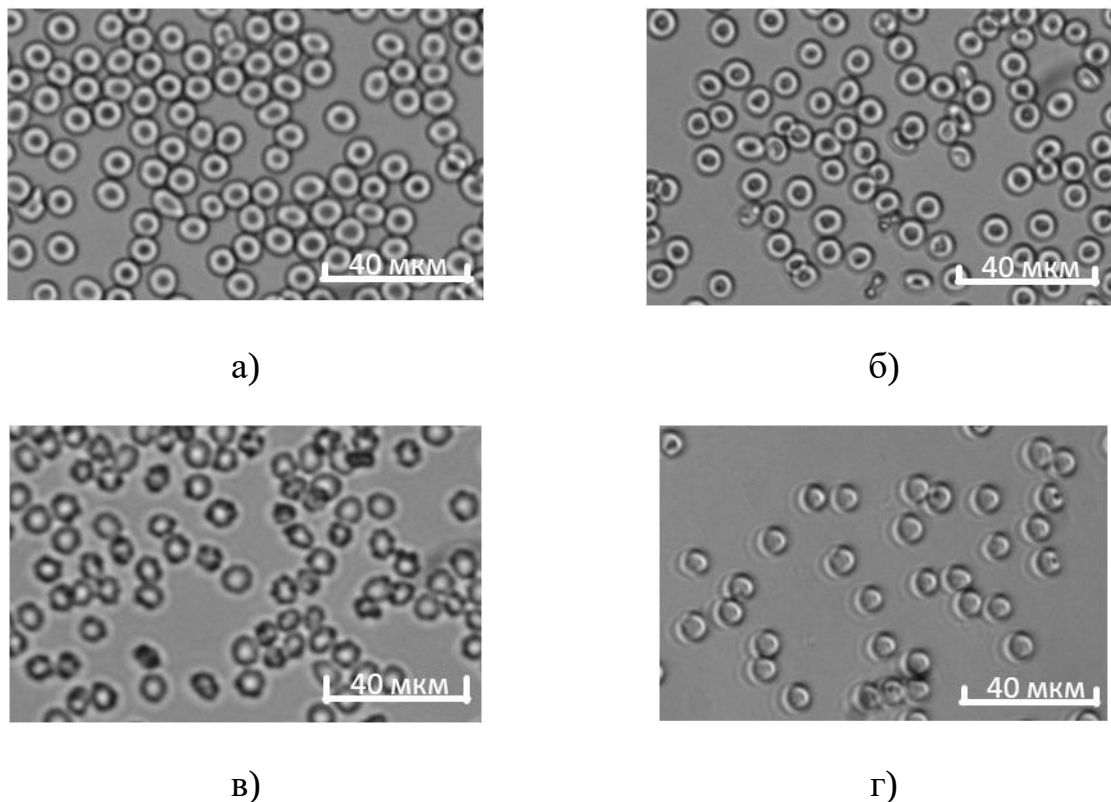
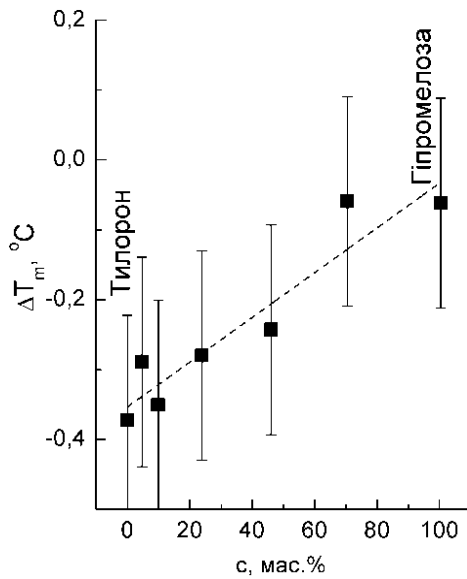


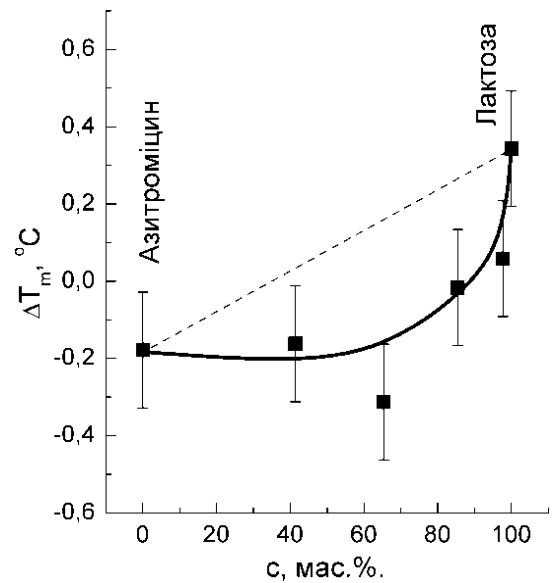
Рисунок 3.8. Мікрофотографії еритроцитів: контроль (а), при додаванні тилорону (б), ДМСО (в) та суміші тилорон + ДМСО (г).

Враховуючи, що тилорон є ОДР фармпрепаратів, а ДМСО часто використовується як ДР, яка сприяє посиленню всмоктування фармпрепарату, виникає закономірне питання про ефекти спільної дії ОДР та ДР, що входять до складу одного і того ж фармпрепарату. В якості таких систем нами були обрані пари «тилорон - гіпромелоза» і «азитроміцин - лактоза».

Отримані ефекти спільної дії виявилися різними. Для пари «тилорон - гіпромелоза» (Рис.3.9, а) не спостерігалось істотного відхилення від лінійності для ΔT_m , тоді як для пари «азитроміцин - лактоза» (Рис. 3.9, б) зареєстровано відхилення ΔT_m в сторону МД азитроміцину. У той же час, залежність ΔT_m (с) в цьому діапазоні концентрацій лінійна (див. Рис. 3.9, б), тобто МД азитроміцину є масово-адитивною.



а)



б)

Рисунок 3.9. Залежності ΔT_m від масової частки гіпромелози в парі «тилорон - гіпромелоза» (а); від концентрації лактози в парі «азитроміцин - лактоза» (б).

Зручно ввести параметр спільної дії J_{AB} , який одночасно відображає і тип, і величину ефекту спільної дії, дозволяючи порівнювати між собою однотипні ефекти:

$$J_{AB} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \Delta T_m^{add} - \Delta T_m^i = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (1 - c_i) \Delta T_m^A + c_i \Delta T_m^B - \Delta T_m^i, \quad (3.4)$$

де ΔT_m^A - МД речовини А;

ΔT_m^B - МД речовини Б;

ΔT_m^{add} - адитивна МД речовин А і Б;

ΔT_m^i - МД системи І, що містить речовини А і Б;

n - кількість таких систем;

c_i - молярна частка компонента Б щодо сумарної кількості А і Б.

Параметр J_{AB} відображає середнє відхилення від адитивного значення параметра ΔT_m в той чи інший бік і має розмірність температури. Знак параметра J_{AB} у співставленні зі знаками МД речовин А і Б вказує тип ефекту спільної дії А і Б (Табл. 3.3). Випадки 1 і 6 є класичними випадками синергізму, випадки 2 і 5 описують антагонізм. Випадки 3 і 4 не є, в суворому сенсі, ані антагонізмом, ані синергізмом і відбивають перевагу МД одного з компонентів при їх спільному введенні. Розраховані за формулою (3.4) значення J_{AB} склали $-0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ для пари «тилорон - ДМСО» і $-0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ для пари «азитроміцин - лактоза», що достовірно перевищує похибку вимірювання. На підставі Табл. 3.2 і 3.3 можна встановити, що в першій парі перевагу має МД тилорону, в другій - МД азитроміцину.

Таблиця 3.3

Визначення ефектів спільної дії по знакам ΔT_m^A ; J_{AB} ; ΔT_m^B

№	Знаки ΔT_m^A ; J_{AB} ; ΔT_m^B	Ефект
1	+ + +	синергізм
2	+ - +	антагонізм
3	- - +, + + -	перевага А
4	- + +, + - -	перевага Б
5	- + -	антагонізм
6	- - -	синергізм

Таким чином, в двох з трьох розглянутих пар ЛР встановлено перевагу мембранотропної дії ОДР в порівнянні з ДР, а в третій парі спостерігалася адитивність МД. Спостережуваний ефект можна розглядати як непряму (опосередковану мембраною) взаємодію між різними ЛР, у т.ч. і між компонентами одного і того ж фармпрепарату.

3.3. Взаємодія циклосерину з різними допоміжними речовинами

З метою висвітлення залежності ефектів спільної дії компонентів фарм-препаратів від хімічної будови ЛР проведено порівняльне дослідження МД допоміжних речовин (стеаратів кальцію (Ca^{2+}St) і магнію (Mg^{2+}St) та стеаринової кислоти (StA)) – як індивідуально, так і у парах з антибіотиком циклосерином (CyS). У комерційних препаратах CyS зазвичай використовується з Mg^{2+}St , але взагалі у фармацевтичній практиці Mg^{2+}St замінюють на Ca^{2+}St або StA .

ДСК-термограми модельних ліпідних мембран в присутності даних ЛР показані на Рис.3.10. Всі ЛР приводять до збільшення T_m . Для StA спостережуваний ефект узгоджується з літературними даними [203 - 206]. StA індукує з'явлення нової ліпідної фази, що проявляється як поява високотемпературного плеча на піці основного фазового переходу (Рис.3.10, б). Ефект стає більш помітним при більш високих концентраціях StA .

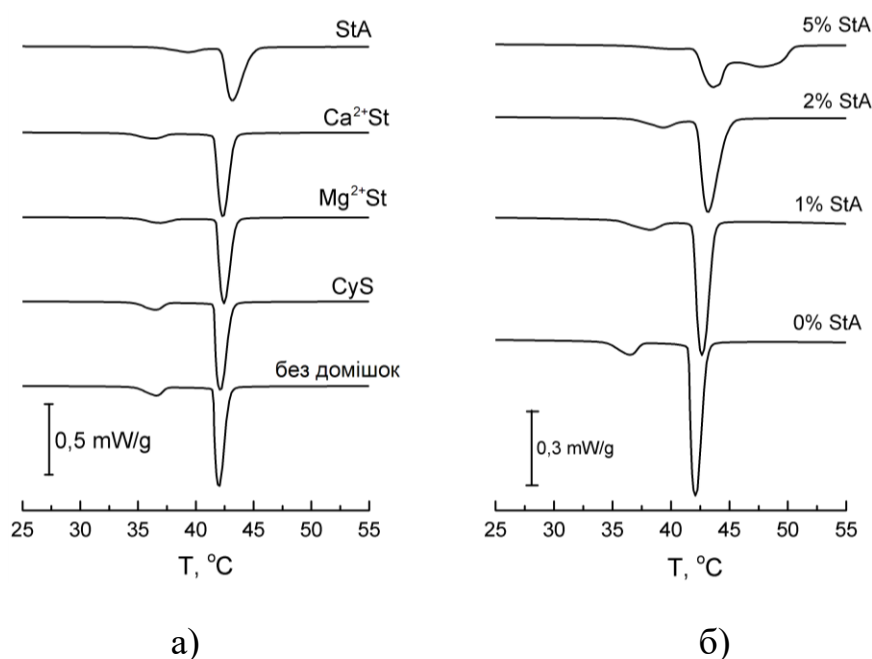


Рисунок 3.10. ДСК-термограми модельних ліпідних мембран ДПФХ в присутності 2 мас.% ЛР (а) та StA при різних концентраціях (б), отримані при нагріванні.

На основі даних ДСК отримані концентраційні залежності T_p і T_m для всіх ЛР (Рис. 3.11). За впливом на параметри фазових переходів модельних мембран індивідуальна МД досліджених ДР зростає у послідовності: $\text{Ca}^{2+}\text{St} < \text{Mg}^{2+}\text{St} < \text{StA}$ (Рис. 3.11, Рис.3.12). Найбільш виражене підвищення температур фазового переходу спостерігалось для StA ($\Delta T_m = 1,1$ °C; $\Delta T_p = 2,7$ °C при концентрації 2 мас.%). Як можна бачити, T_p виявляється більш чутливим до додавання ЛР, ніж T_m . Слід зазначити, що вплив CyS на температуру перед-переходу був протилежним ефекту стеаратів: CyS має незначну МД, але розширює температурний діапазон існування складчастої фази мембрани (Рис. 3.11). Ще однією особливістю StA є значне скорочення h_p . Разом з підвищенням $T_{p1/2}$ і з'явленням нової ліпідної фази (див. Рис. 3.12, г) він свідчить про збільшення кількості дефектів ліпідної мембрани.

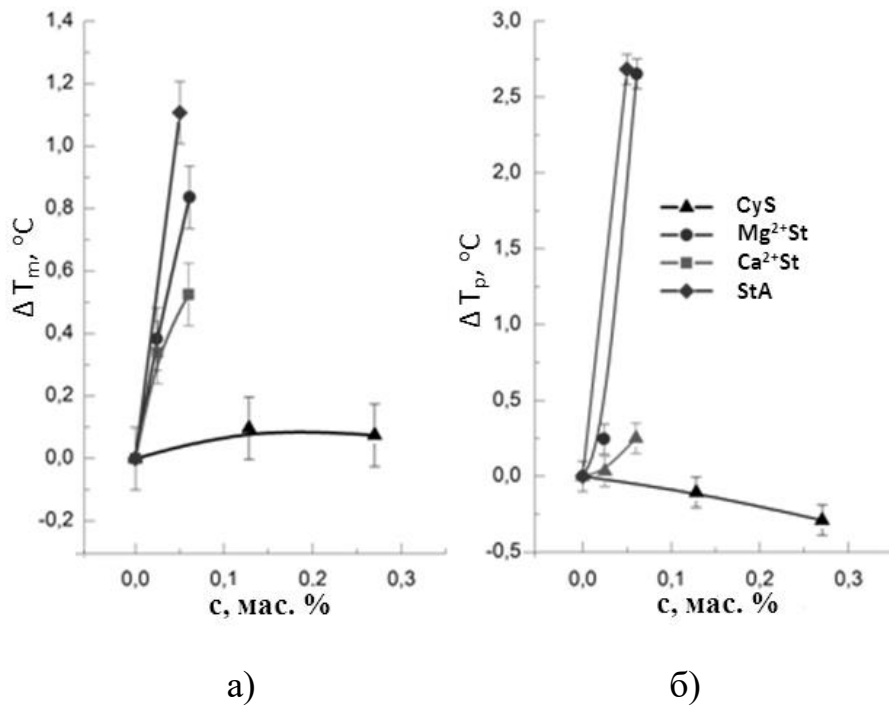


Рисунок 3.11. Зсув T_m (а) і T_p (а) мембрани ДПФХ в присутності циклосерину (C), стеаратів магнію (Mg^{2+}St) і кальцію (Ca^{2+}St) та стеаринової кислоти (StA).

Вплив Mg^{2+}St і Ca^{2+}St якісно схожий, але перший ближче до дії StA (Рис. 3.11, Рис. 3.12). Цей висновок можна зрозуміти з урахуванням того, що площа поперечного перерізу полярної частини досліджуваних ЛР становить $\text{Ca}^{2+}\text{St} > \text{Mg}^{2+}\text{St} > \text{StA}$. Таким чином, досліджені ЛР впливають як на поверхню, так і на об'єм ліпідної мембрани.

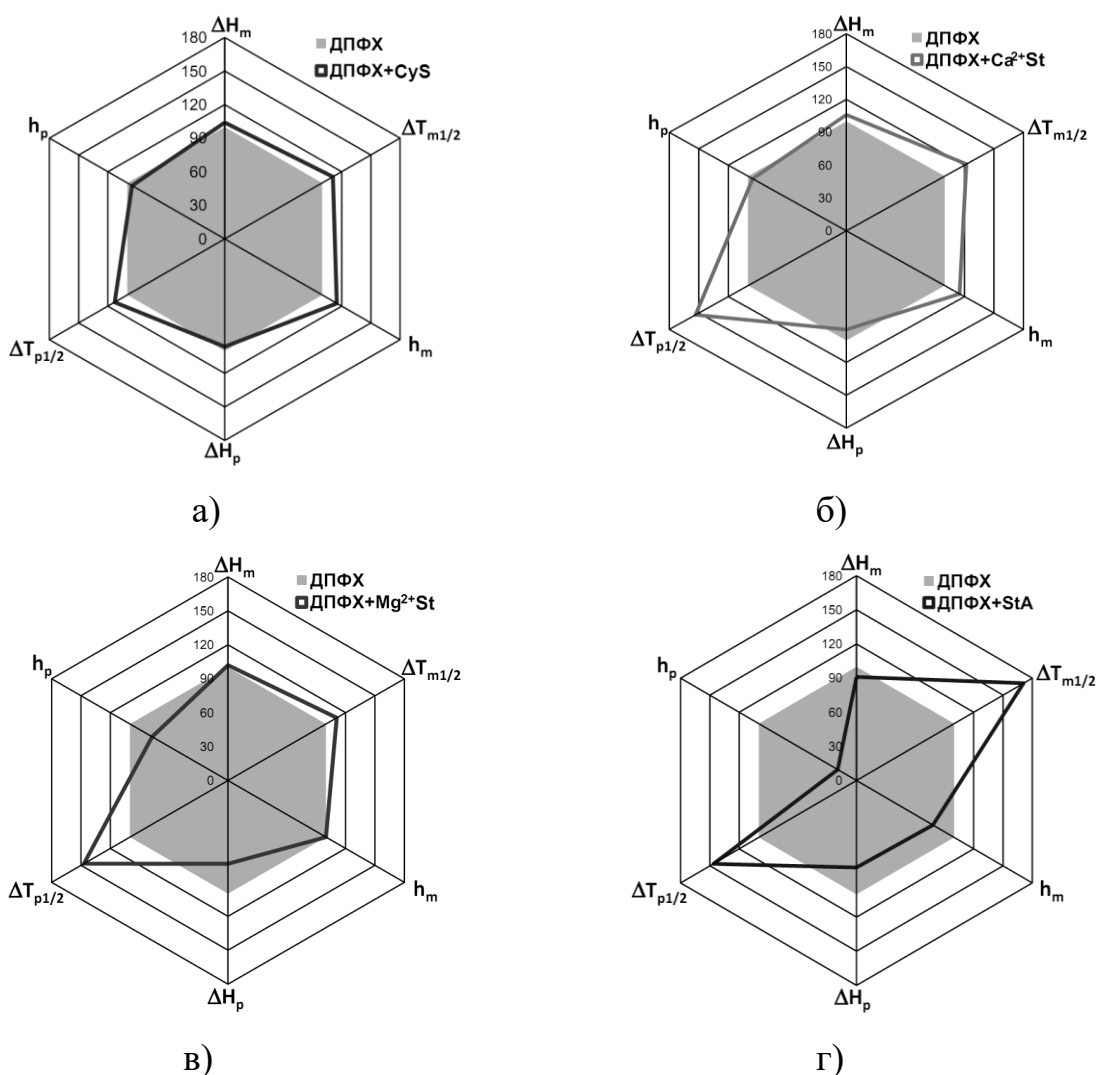


Рисунок 3.12. Пелюсткові діаграми термодинамічних параметрів мембрани ДПФХ в присутності ЛР: CyS (а), Ca^{2+}St (б), Mg^{2+}St (в), StA (г). По осях відкладено ентальпію (ΔH_m , ΔH_r) напівширину ($\Delta T_{m1/2}$, $\Delta T_{p1/2}$) і гістерезис (h_m , h_p) обох фазових переходів та їх відсоткову зміну у порівнянні з мембраною ДПФХ без домішок.

Наступним кроком є дослідження спільної МД стеаратів з циклосерином. Спільне введення кожного стеарату з CyS приводило до додаткового підвищення T_m і T_p з неадитивною концентраційною залежністю, тобто до синергізму їх МД; у той же час, для CyS зі StA спостерігалася адитивність МД (Рис. 3.13).

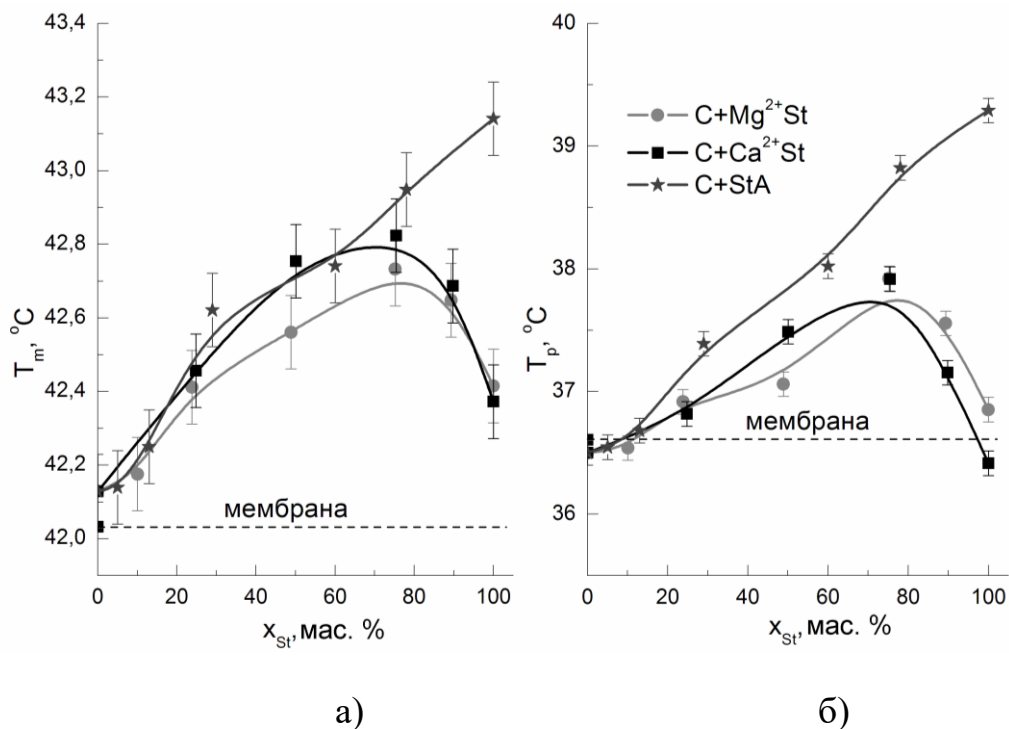


Рисунок 3.13. T_m (а) і T_p (б) мембрани ДПФХ при спільному введенні 2 мас.% ЛР.

Причини такого синергетичного ефекту не цілком зрозумілі. Можна стверджувати, що він не залежить ні від зменшення розподілу ЛР на мембрану (інакше ефект буде зменшений), ні від збільшення розподілу CyS (інакше поведінка $T_p(x_{st})$ буде протилежною, див. Рис. 3.10, Рис. 3.11, б). Отже, виникнення спільного ефекту може полягати в збільшенні розподілу стеаратів у мембрану. Ще одним можливим синергетичним механізмом є комплексотворення між ЛР. Дійсно, раніше повідомлялося про формування комплексу

між двома препаратами, що призводить до антагонізму спільної МД [89]. Варто відзначити, що поведінка суто бінарних систем «пальмітинова кислота - стеаринова кислота» [207] принципово відрізняється від спостережуваних ефектів: повідомляється про зниження температури плавлення суміші на 6-10 °С. Крім того, як відомо, StA індукує неламелярну фазу в ліпідних мембранах [204] та істотно знижує кооперативність мембрани ДПФХ [208].

Значення ефекту спільної МД J_{AB} були оцінені за рівнянням 3.4. Значення J_{AB} зростало зі збільшенням концентрації ЛР і було більшим для передпереходу, ніж для основного фазового переходу (Табл. 3.4). В цілому, ефект спільної МД з CyS зменшувався у послідовності $\text{Ca}^{2+}\text{St} \geq \text{Mg}^{2+}\text{St} > \text{StA} \sim 0$, що вказує на визначальну роль структури полярної частини ЛР у спільній МД.

Таблиця 3.4

Значення J_{AB} у мембранах ДПФХ із вмістом циклосерину (CyS), кальцію стеарату (Ca^{2+}St), магнію стеарату (Mg^{2+}St) та стеаринової кислоти (StA)

Суміш	Передперехід		Основний перехід	
	2 %	5 %	2 %	5 %
CyS + Ca^{2+}St	0,9	2,2	0,4	0,5
CyS + Mg^{2+}St	0,5	1,4	0,3	0,4
CyS + StA	~ 0	—	~ 0	—

3.4. Взаємодія лікарських речовин з багатокомпонентними мембранами

Оскільки ліпідний склад мембран може істотно впливати на взаємодію з ними ЛР, наступним наближенням до реальних мембран є використання багатокомпонентних мембран. Ми порівняли МД деяких ЛР в модельних мембранах різного ліпідного складу. Були використані: а) стандартна мембрана ДПФХ; б) мембрана ДПФХ-Ц, що містить цереброзиди, – для імітації ліпідного складу шкіряних покривів; в) трикомпонентна мембрана ДПФХ-ДПФЕ-Х, що містить холестерин, наближена за складом до мембран еритроцитів (Рис. 3.14). Трикомпонентна мембрана демонструє двофазну поведінку, характерну для сумішей ФХ та ФЕ при даному співвідношенні компонентів [137, 209], і дає два калориметричних піки – широкий та вузький, які відповідають холестерин-збагаченій та холестерин-збідненій фазам.

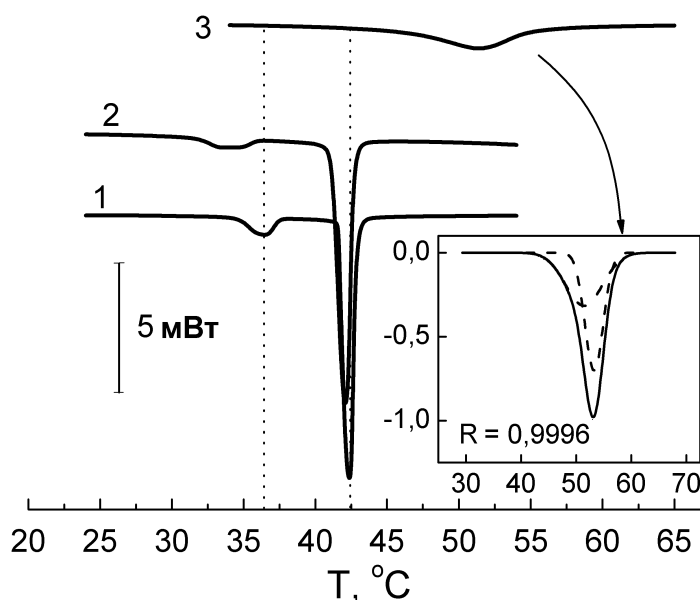


Рисунок 3.14. ДСК-термограми модельних ліпідних мембран: 1 - ДПФХ, 2 - ДПФХ-Ц, 3 - ДПФХ-ДПФЕ-Х. На вставці: розкладання піку фазового переходу мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Х на 2 компоненти: широкий пік – холестерин-збагачена фаза, вузький пік – холестерин-збіднена фаза.

При додаванні цереброзидів в ДПФХ спостерігається зниження T_m і T_p (див. Табл. 3.5), що, мабуть, відображає підвищення ступеня гідратації поверхні мембрани. Таке припущення добре узгоджується з даними [145, 210] про те, що енергія міжмолекулярної взаємодії між різними типами ліпідів у сумішах ДПФХ-Ц виявляється менше середньої енергії взаємодії, а середня площа на молекулу - більше. Невелике розширення піку характерно для ліпідних сумішей [137] і відображає зменшення кооперативності [211, 212]. У зазначених роботах також встановлено, що цереброзиди добре змішуються з ДПФХ і утворюють однофазну ліпідну систему в усьому концентраційному діапазоні, тому дану мембрану можна розглядати як однофазну систему.

Таблиця 3.5

Термодинамічні параметри мембран за даними ДСК при нагріванні. Для мембран ДПФХ і ДПФХ-Ц наведені значення в форматі «основний перехід / передперехід», для мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Х - значення в форматі «широкий пік / вузький пік»

Мембрана	Температура переходу, °C	Ентальпія, кДж/моль	Напівширина, °C	Гістерезис, °C	Асиметрія, °C
ДПФХ	42,0 / 36,3	34,0 / 4,5	0,8 / 1,8	1,3 / 5,9	-0,1 / 0,3
ДПФХ-Ц	41,7 / 33,4	36,5 / 3,6	0,9 / 3,0	1,4 / 5,3	0 / -0,3
ДПФХ-ДПФЕ-Х	51,4 / 53,2	25,0 / 33,6	11,8 / 3,3	0,7 / 0,6	– / –

Для досліджень були обрані речовини з різними механізмами взаємодії з мембраною: лауринова кислота, що взаємодіє з об'ємом мембрани; каолін, який адсорбується на її поверхні; фенспірид, що містить як гідрофільні, так і гідрофобні фрагменти, завдяки яким у взаємодії з ним беруть участь як поверхня мембрани, так і її об'єм.

3.4.1. Фенспірид

Фенспірид – протизапальна ЛР внутрішньої дії, яка легко всмоктується у шлунку. У всіх досліджених мембранах, Фенспірид викликав приблизно однакове, лінійне за концентрацією, зниження температур фазових переходів (Рис. 3.15). При цьому гістерезис у всіх типах мембран залишався невеликим (в межах 1 °С), що дозволяє зробити висновок про рівномірне зменшення впорядкування ліпідів в мембрані.

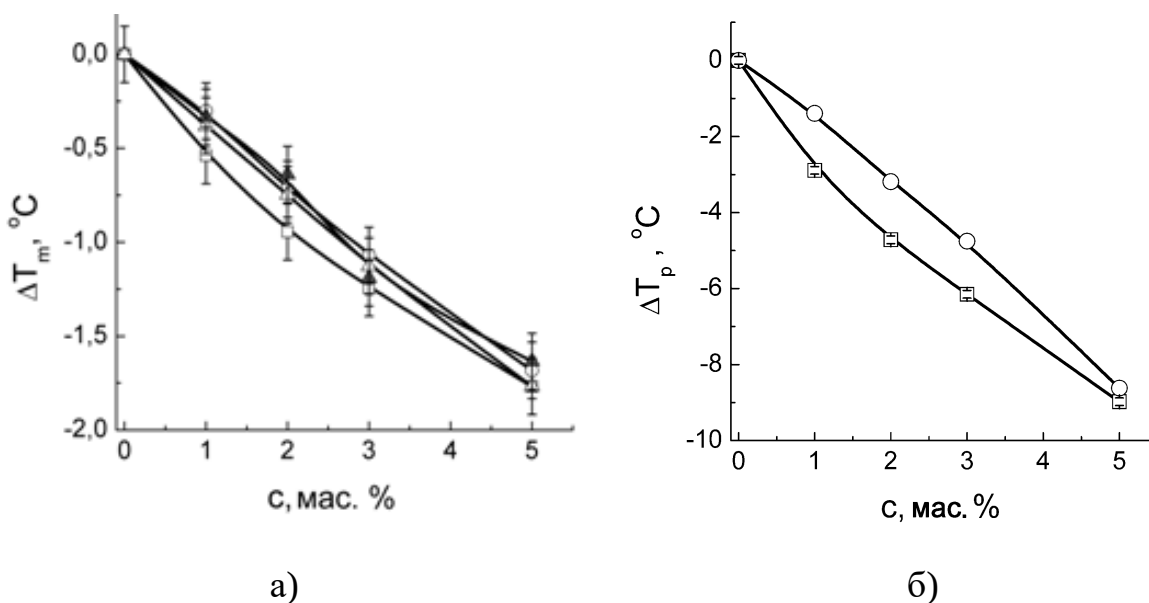


Рисунок 3.15. Залежність ΔT_m (а) та ΔT_p (б) від концентрації фенспіриду у мембранах ДПФХ ($\square$), ДПФХ-Ц ($\circ$) і ДПФХ-ДПФЕ-Х (Δ).

Досить виражена МД фенспіриду, певно, обумовлена особливостями його хімічної будови. Фенспірид - напівжорстка молекула, трохи менша за довжиною, ніж холестерин. Будова полярної частини фенспіриду дозволяє припустити, що він, як і холестерин [213], розташований нижче поверхні мембрани, але не досягає її центру. При цьому жорсткий бензольний фрагмент молекули на гнучкому алкільному ланцюжку має підвищену свободу обертання, яка, в поєднанні з невеликим значенням ліпофільності, приводить до значного порушення упаковки ліпідів, що, безперечно, сприяє його всмоктуванню.

3.4.2. Лауринова кислота

Лауринова кислота (ЛК) має антимікробну дію, зокрема, проти пневмококів та стрептококів, причому найбільшу серед всіх насичених жирних кислот, що робить її перспективною для використання в медичних цілях [214]. Встановлено, що антимікробна активність жирних кислот визначається довжиною і ступенем насиченості їх ланцюгів, що дозволяє припустити її безпосередній зв'язок з МД.

МД лауринової кислоти в мембранах ДПФХ і ДПФХ-Ц – підвищення температури фазових переходів – типова для всіх довголанцюгових жирних кислот в ФХ [204, 215]. На Рис. 3.16 спостерігається істотне збільшення T_m , тоді як $T_{p1/2}$ зменшується. Цікаво, що в присутності цереброзидів форма піку переходу сильно порушується (що, мабуть, пов'язано зі зміною кінетики формування P_β -фази [216]), а при додаванні ЛК - відновлюється до початкового значення (Рис. 3.16, в). Таким чином, цереброзиди і ЛК взаємно компенсують дію один одного, що цілком зрозуміло в рамках моделі оптимізації упаковки молекул у мембрані [217].

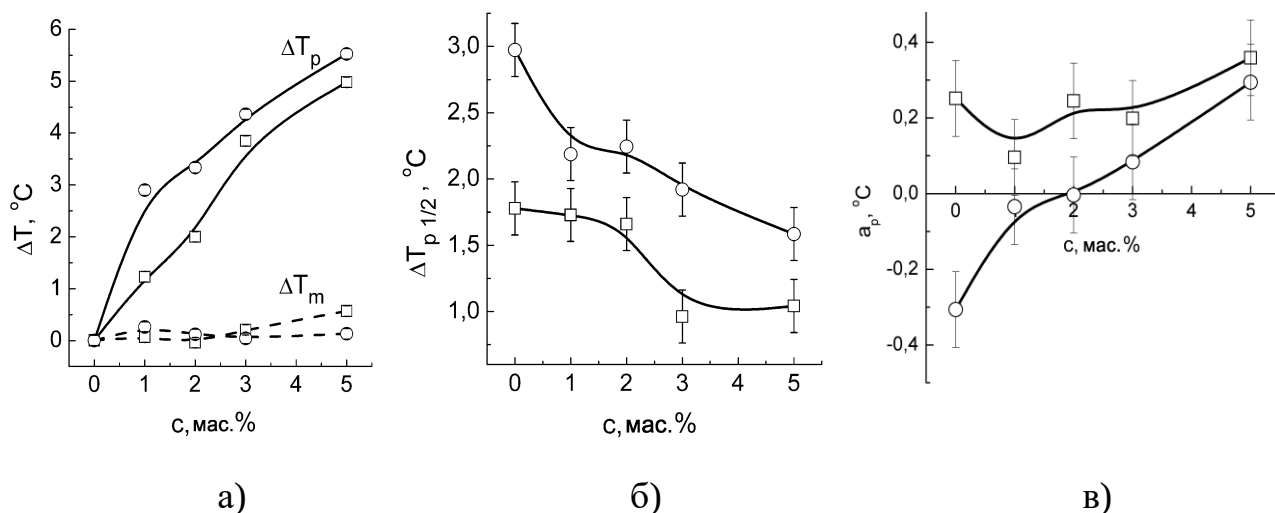


Рисунок 3.16. МД лауринової кислоти: зміна температур фазових переходів (а), напівширини (б) та асиметрії (в) передпереходу в мембранах ДПФХ (□) і ДПФХ-Ц (○) при нагріванні.

ЛК в мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х по-різному впливає на вузький та широкий піки (Рис. 3.17). Для вузького піку спостерігається немонотонна концентраційна залежність T_m^s з мінімумом при 2% ЛК, а для широкого піку залежність T_m^b (с) при тих самих концентраціях виходить на насичення. З підвищенням концентрації ЛК напівширина вузького піку зростає, а широкого - зменшується. При цьому ентальпія широкого піку зростає за рахунок вузького, тоді як сумарна ентальпія обох піків у межах похибки не змінюється. Спостережувані зміни свідчать про те, що ЛК вбудовується в обидві ліпідні фази, але справляє на них якісно різний вплив. Оскільки найбільші зміни термодинамічних параметрів спостерігаються для широкого піку, можна припустити, що ЛК краще вбудовується в низькотемпературну фазу ліпідів, збагачену ДПФХ. Це узгоджується з даними [218] про те, що жирні кислоти мають більшу спорідненість до ДПФХ порівняно з ДПФЕ.

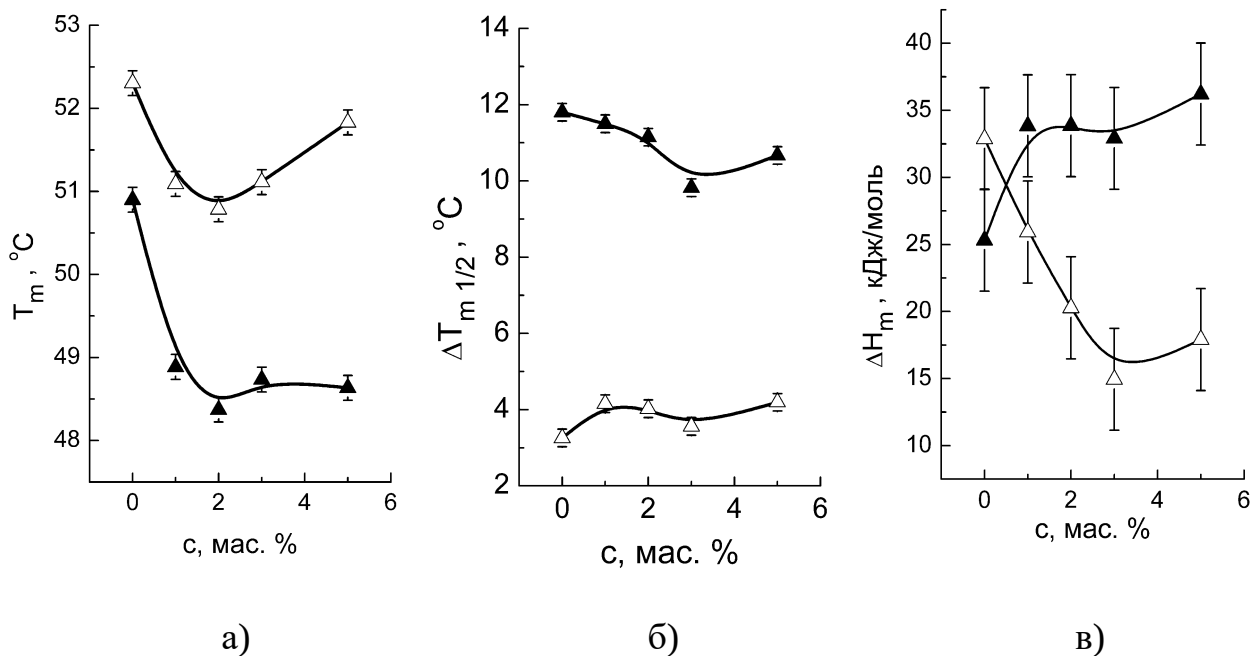


Рисунок 3.17. Вплив лауринової кислоти на температуру (а), напівширину (б) і ентальпію (в) піків фазових переходів у мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х: ▲ - широкий пік, Δ - вузький пік.

3.4.3. Каолін

Каолін (тонкодисперсна біла глина) використовується у фармакології та косметології як наповнювач та адсорбент. Дія каоліну на мембрани ДПФХ і ДПФХ-Ц якісно різна: спостерігається зниження T_m і T_p в мембрані ДПФХ і збільшення цих параметрів в мембрані ДПФХ-Ц (Рис. 3.18). При цьому напівширина в мембрані ДПФХ не змінюється, а в ДПФХ-Ц зменшується в бік значень цього параметра для мембрани ДПФХ; гістерезис і асиметрія не змінюються в обох типах мембран. Більш істотний вплив каоліну на T_p вказує на його взаємодію з полярною поверхнею мембран. Відомо, що частинки каоліну добре адсорбують ДПФХ на своїй поверхні, в результаті чого біологічна дія каоліну істотно змінюється [219 - 221]. Спостережувані відмінності можна пояснити зміною гідратації мембран в результаті адсорбції, яка підвищується для мембрани ДПФХ і знижується для мембрани ДПФХ-Ц.

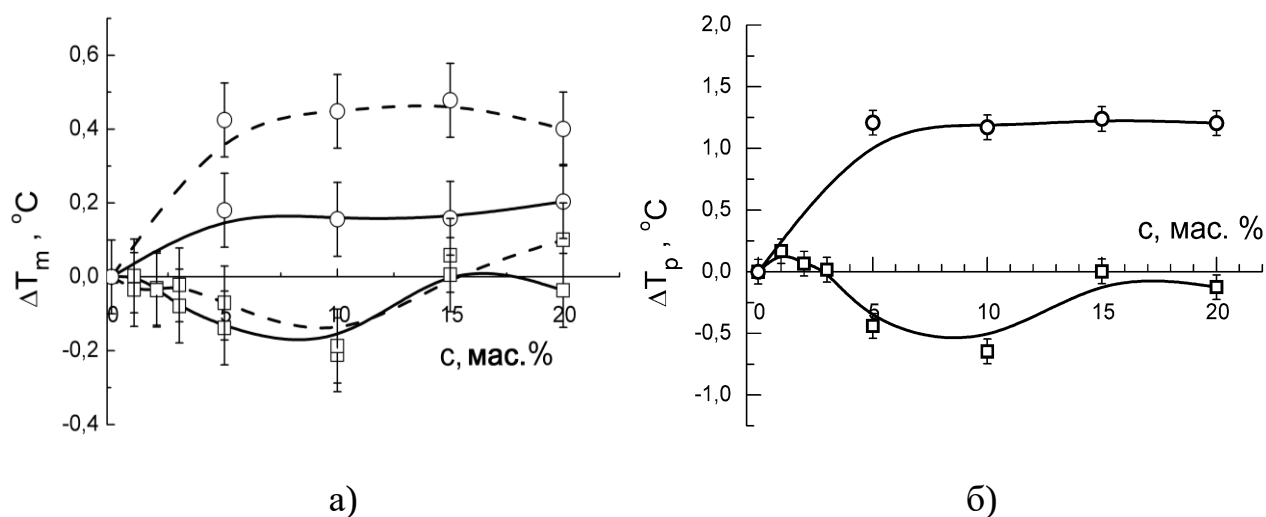


Рисунок 3.18. МД каоліну: залежність ΔT_m (а) та ΔT_p (б) в мембранах ДПФХ ($\square$) і ДПФХ-Ц ($\circ$): суцільна лінія - нагрівання, штрихова - охолодження.

У мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х каолін індукує зміни в обох ліпідних фазах (Рис. 3.19). Температура плавлення вузького і широкого піку знижується

в присутності каоліну в усьому дослідженому концентраційному діапазоні, причому набагато більше, ніж для мембрани ДПФХ ($\Delta T_m^s = -1,2\text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta T_m^b = -1,6\text{ }^\circ\text{C}$, тоді як для ДПФХ $\Delta T_m = -0,2\text{ }^\circ\text{C}$). З підвищенням концентрації каоліну спостерігалось зростання ΔH_m^b і зменшення ΔH_m^s . В цілому ці зміни узгоджуються з даним вище трактуванням зміни гідратації мембрани при адсорбції на каоліні, однак, треба враховувати, що гідратація ліпідних композицій досить неоднорідна [222].

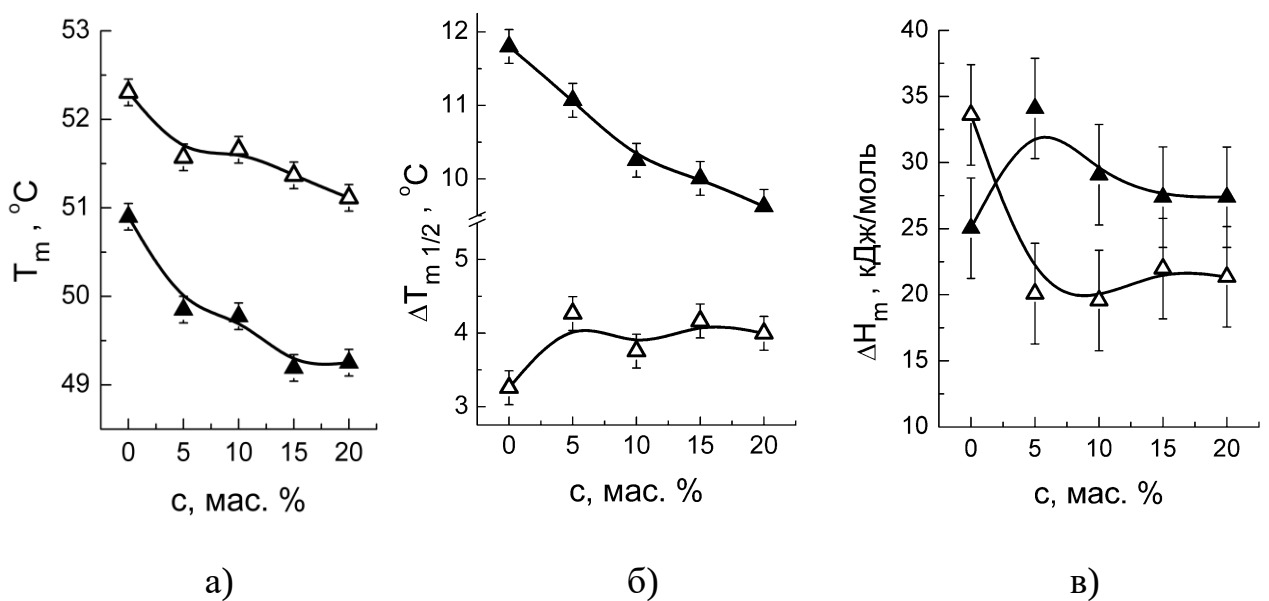


Рисунок 3.19. Вплив каоліну на температуру (а), напівширину (б) і ентальпію (в) піків фазових переходів в мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х: ▲ - широкий пік, △ - вузький пік.

Зміна значень напівширини ДСК-піків (Рис. 3.19, б) свідчить про зміни кооперативності фазового переходу, які мають протилежний характер в різних ліпідних фазах: у низькотемпературній фазі кооперативність підвищується, тоді як у високотемпературній - знижується. Сукупність спостережуваних змін може також свідчити про перерозподіл ліпідів між фазами - певно, холестерин частково перерозподіляється з низькотемпературної до високотемпературної фази. Латеральний перерозподіл ліпідів добре відомий при

вбудовуванні в мембрану білків [223] і відбувається, зокрема, за механізмом гідрофобної відповідності [224]. Латеральна неоднорідність ліпідів в мембрані приводить до перерозподілу гідратації ліпідів і вважається одним з ключових факторів, що впливають на стабільність мембрани в цілому [225]. Таким чином, перерозподіл ліпідів в мембрані можливий як у разі вбудовування сторонньої молекули в бішар, так і в разі адсорбції на поверхні, що і спостерігається, по всій видимості, в присутності каоліну.

На підставі аналізу отриманих даних, можна сказати, що вплив ліпідного складу на МД не залежить від механізму зв'язування ЛР з мембраною.

3.5. Висновки до розділу 3

1. Встановлено і охарактеризовано мембранотропну дію водорозчинних лікарських речовин на прикладі тилорону та диметилсульфоксиду при їх адсорбції на мембрані ДПФХ. Запропоновано феноменологічну модель, яка описує мембранотропну дію даних водорозчинних лікарських речовин як появу додаткового латерального тиску на мембрану, позитивного для космотропів та негативного для хаотропів.
2. В рамках моделі адсорбції Фрейндліха встановлено, що для Ce^{3+} зсув T_m на одиницю концентрації на порядок більший, ніж для Ca^{2+} , що є одним з факторів біологічної дії іонів церію при його конкуренції з Ca^{2+} .
3. При спільному введенні тилорону і ДМСО в мембрану ДПФХ встановлено перевагу мембранотропної дії тилорону, тоді як в парі тилорон-гіпромелоза спостерігалася адитивність МД обох речовин.
4. Показано зміну ефектів спільної мембранотропної дії в залежності від хімічної будови речовини. Так, для стеаратів кальцію і магнію спостерігався ефект синергізму мембранотропної дії з циклосерином, а для стеаринової кислоти – адитивність мембранотропної дії.

5. Показано, що вплив ліпідного складу на мембранотропну дію не залежить від типу зв'язування лікарських речовин з мембраною. Так, латеральний фазовий поділ ліпідів спостерігався при зв'язуванні як з поверхнею, так і з об'ємом мембрани.

Результати, викладені в цьому розділі, опубліковані у роботах: [1]; [2]; [3]; [4]; [8]; [11]; [13]; [14]; [16]; [17]; [18]; [19]; [21]; [22].

Розділ 4. ВЗАЄМОДІЯ МОДЕЛЬНИХ ЛІПІДНИХ МЕМБРАН З ЛІКАРСЬКИМИ РЕЧОВИНАМИ У КІНЕТИЧНОМУ РЕЖИМІ

Важливими характеристиками взаємодії речовин з ліпідними мембранами є їх кінетичні параметри, до яких належить дифузія, енергія активації, кооперативність тощо. Тому в наступному розділі індивідуальна та сумісна взаємодія ЛР з модельними ліпідними мембранами досліджувалася у кінетичному режимі, який є ще одним кроком у бік відтворення цих процесів *in vivo*.

4.1. Кінетика взаємодії ДМСО і тилорону з мембраною ДПФХ

Для дослідження спільного впливу ЛР на ліпідну мембрану, а також можливого впливу порядку їх введення проводилися кінетичні дослідження. Відомо, що ДМСО є потужним водорозчинним мембранотропним агентом, і його вплив на мембрану відрізняється в різних діапазонах концентрацій [129,175,177]. У цьому дослідженні ми використовуємо відносно низьку концентрацію ДМСО (7 мол.% відносно сухого ДПФХ, або 0,1 мол.% водного розчину). При концентрації ДМСО, використаній в наших експериментах, помітних змін у профілях ДСК не спостерігалось. Тилорон при додаванні до мембрани ДПФХ в тій самій концентрації, істотно знижує температуру плавлення мембрани, і пік передпереходу зникає.

Кінетику взаємодії ЛР з мембраною вивчали шляхом додавання до неї водних розчинів тилорону та ДМСО і отримання серії послідовних ДСК-термограм (Рис. 4.1). При цьому були використані різні схеми введення розчинів речовин в мембрану, а саме:

I. (1)тилорон(2)ДМСО - послідовне введення ЛР: спочатку тилорон, потім відбувається ДСК сканування, поки не з'являться зміни у ДСК-

термограмах, потім додається ДМСО та відбувається подальше сканування таким же чином;

II. (1)ДМСО(2)тилорон - аналогічно схемі I, але введення ДМСО передує введенню тилорону;

III. (тилорон+ДМСО) - одночасне введення ЛР.

Спостережувані зміни у ДСК-термограмах були зумовлені низкою процесів, а саме: (1) дифузією ЛР через водну фазу, (2) їх взаємодію та адсорбцією на поверхні мембрани, (3) проникненням через мембрану (4) розподілом у міжбішарову водну фазу, (5) сорбцією на внутрішній поверхні мембрани тощо.

У схемі I після введення тилорону (Рис. 4.1) спостерігалось розмивання піку передпереходу, а також розділення піку основного фазового переходу, для кількісної характеристики якого було виконане розщеплення піків на гаусіани (Рис. 4.2). Високотемпературний пік ($T_m^e = 41,9\text{ }^{\circ}\text{C}$) відповідає піку плавлення мембрани ДПФХ без домішок, а низькотемпературний пік ($T_m^u = 41,3\text{ }^{\circ}\text{C}$) відповідає піку плавлення мембрани ДПФХ, насиченої тилороном концентрацією 7 мол.%. Низькотемпературний пік визначається як: $\eta = S_1 / (S_1 + S_2)$, де S_1 і S_2 - площі низько та високотемпературного піків, відповідно (Рис. 4.2). Припускаючи, що (а) в системі існує лише два типи мембран (насичені тилороном і чисті мембрани ДПФХ), і (б) ентальпії плавлення цих мембран приблизно рівні, здається розумним, що параметр η відбиває долю мембрани, насичену тилороном. Таким чином, перерозподіл площ піків свідчить про збільшення кількості ліпідів, взаємодіючих з тилороном.

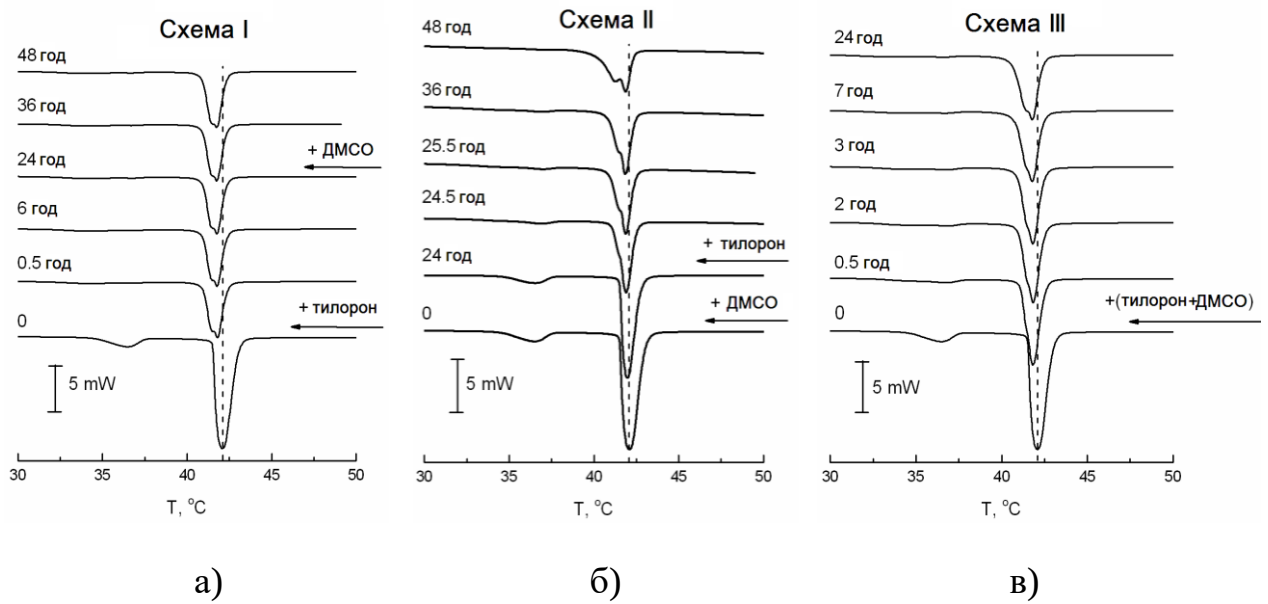


Рисунок 4.1. ДСК-термограми мембрани ДПФХ при введенні ДМСО і тилорону. Час, що минув з початку експерименту, позначається на графіках.

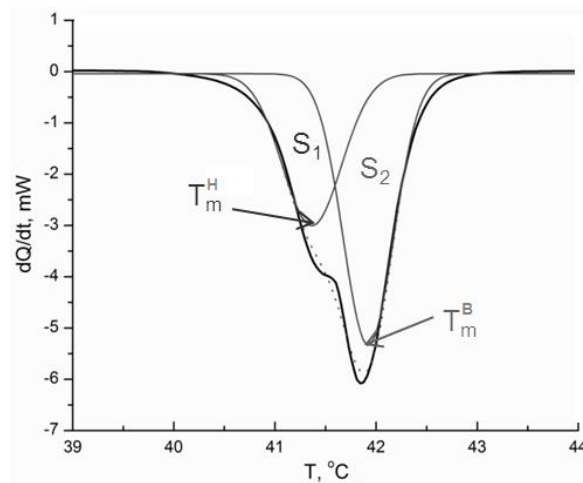


Рисунок 4.2. Розщеплення піку основного фазового переходу: низькотемпературний пік (максимум T_m^H , область S_1) відповідає мембрані, насиченій тилороном; високотемпературний пік (максимум T_m^B , площа S_2) відповідає чистій мембрані ДПФХ. Пунктирна лінія позначає оригінальну криву.

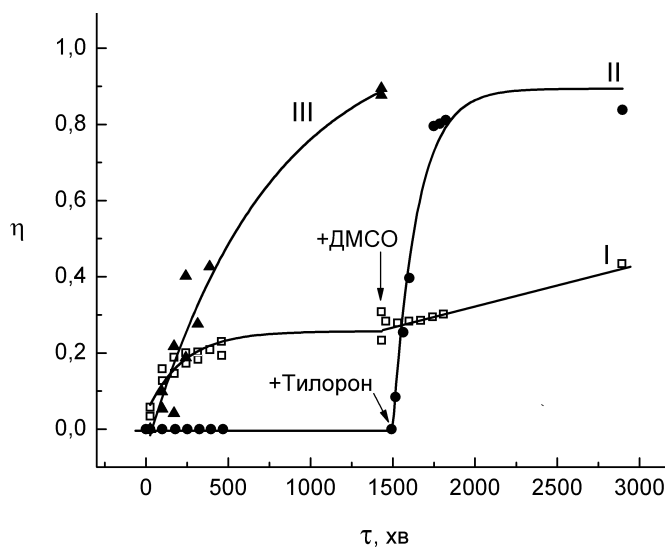


Рисунок 4.3. Кінетичний профіль параметра η для різних схем введення тилорону та ДМСО. Римські цифри відповідають кінетичним схемам.

На схемі II додавання ДМСО не викликало помітних змін на ДСК термограмах протягом 24 год, але подальше введення тилорону привело до вираженого розділення піку основного фазового переходу під час послідовних сканувань, оскільки все більша кількість тилорону потрапляє в мембрани (Рис. 4.1). Тим часом положення T_m^e і T_m^h залишаються однаковими, зберігаючи відстань 0,6 °С. Низькотемпературний пік η збільшується протягом ~ 9 год, після чого досягається насичення. Втім, після додавання тилорону спостерігається різке подальше зростання η , набагато більше, ніж у попередній схемі (Рис. 4.3, профілі I та II).

У схемі III проведено одночасне введення суміші (тилорон + ДМСО). Як і в попередніх схемах, пік передпереходу стає розмитим, а пік основного переходу розділяється на два піки (41,9 °С та 41,4 ÷ 41,6 °С). Положення високотемпературного піку, з $T_m^e = 41,9$ °С (відповідає чистій мембрані ДПФХ), залишається незмінним з часом, тоді як можна відзначити незначне зростання T_m^h . Профіль η східний зі схемою II дещо меншою швидкістю (Рис. 4.3).

Виходячи з проведених кінетичних досліджень, можна окреслити два типи процесів, а саме: сорбція ЛР на мембрані та дифузія ЛР через ліпідні

бішари та водні прошарки. Ці процеси наявно не розділяються в умовах рівноваги, але стають очевидними при кінетичних дослідженнях: поява T_m^H є маркером сорбції тилорону на мембрані, а збільшення η відбиває кінетику розподілу тилорону всередині ліпідних бішарів. Слід зазначити також, що часовий масштаб розподілу тилорону на мембрану ($\leq 1-10^2$ сек) значно менший порівняно з процесами, обумовленими дією дифузії (10^3-10^6 сек).

Хоча ДМСО має незначний вплив на фазову поведінку мембрани ДПФХ у вибраній концентрації, але виявляє істотну зміну кінетики взаємодії тилорон-ліпідна мембрана - прискорює розподіл тилорону всередині бішарів, що спостерігається як різке зростання значення η (Рис. 4.3, профіль II). Швидкість розподілу тилорону зростає в такому порядку: схема I < схема III < схема II.

Таким чином, схема введення ЛР є важливою, оскільки чим більш рівномірно та цілісно ДМСО змінює мембрану, тим швидше відбувається проникнення тилорону. Цей висновок добре узгоджується з відомою функцією ДМСО як підсилювача проникності клітинної мембрани через збурення мембранної структури [174 - 184].

4.2. Кооперативність фазових переходів мембран ДПФХ і ДМФХ

Важливою кінетичною характеристикою ліпідних мембран є розмір кооперативного домену (CN). Загальноприйнято, що для правильного визначення параметрів фазового переходу в ліпідних системах потрібні дуже низькі швидкості сканування (0,1 К/хв), щоб наблизити процес до рівноваги та мінімізувати інструментальне розширення піків ДСК [64, 226]. У той же час, криві фазових переходів ліпідних мембран часто вимірюються при більш високих швидкостях, що забезпечує чіткість калориметричних піків [29].

Величина CN була визначена для основного фазового переходу модельних ліпідних мембран ДПФХ і ДМФХ за формулою:

$$CN = 4RT_m^2/(\Delta T_{m1/2} \Delta H_m), \quad (4.1)$$

де R – універсальна газова стала.

Дослідження, проведені в широкому діапазоні швидкостей сканування x (від 0,1 до 40,0 К/хв), свідчать, що при $x \rightarrow 0$ зниження швидкості сканування приводить до різкого збільшення CN , що є однією з причин великого розкиду (на 1-2 порядки) значення CN в літературних даних (Рис. 4.4).

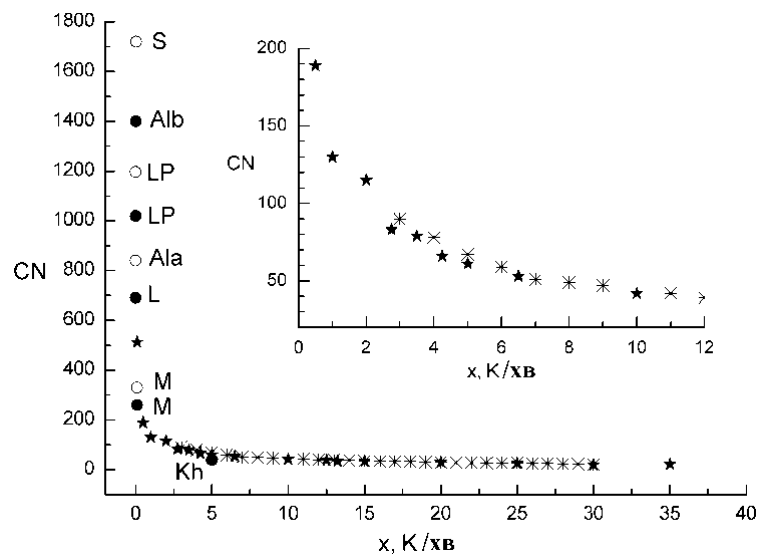


Рисунок 4.4. Розмір кооперативного домену мембран ДПФХ (★, ●) і ДМФХ (*, ○) при різних швидкостях сканування (★, * власні данні; ●, ○ літературні дані: S [227], Alb [133], LP [137], Ala [147], L [228], M [135], Kh [229]). Вставка ілюструє різницю між значеннями CN для ДПФХ і ДМФХ в залежності від x .

На підставі отриманих даних встановлено гіперболічну залежність $CN(x)$:

$$CN(x) = c + b/(x + a), \quad (4.2)$$

де a , b , c – константи, наведені в Таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Параметри гіперболічної апроксимації залежності $CN(x)$ згідно формули 4.2, R – коефіцієнт детермінації

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

На рис. 4.5 і 4.6 зображено залежності від швидкості сканування для всіх термодинамічних параметрів, що використовуються для визначення CN (форм. 4.1). Видно, що T_m і ΔH_m мембран ДПФХ дещо змінюються з ростом x , що добре узгоджується з даними, отриманими в [64, 230]. При $x \rightarrow 0$ значення ΔH_m близькі до 34 кДж/моль, а T_m наближається до значення 41,4 °С, встановленими у літературі [49, 133, 135, 137]. Навпаки, значення $(\Delta T_{m1/2})^{-1}$ і $(d\eta/dT)_{T_m}$ розходяться при $x \rightarrow 0$, аналогічно значенням CN . Збільшення $\Delta T_{m1/2}$ від швидкості сканування відоме як інструментальне розширення піку [49, 231].

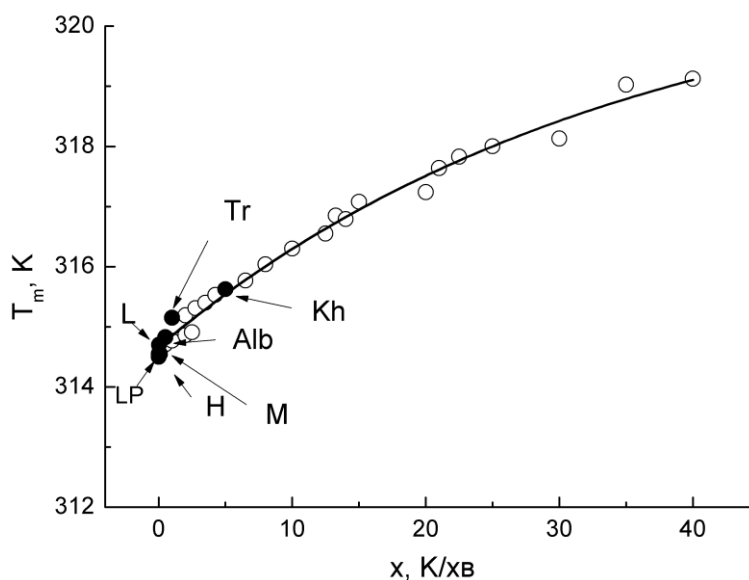
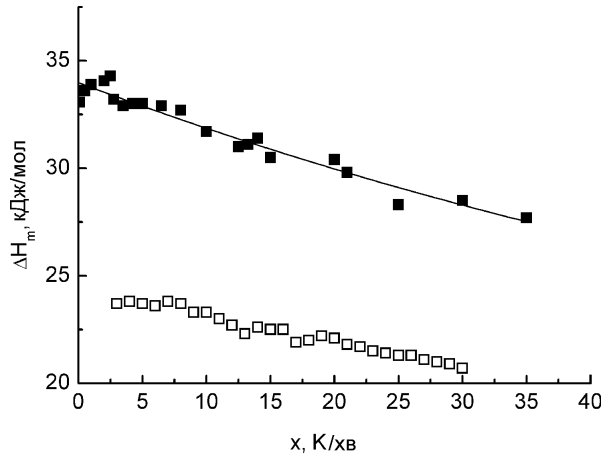
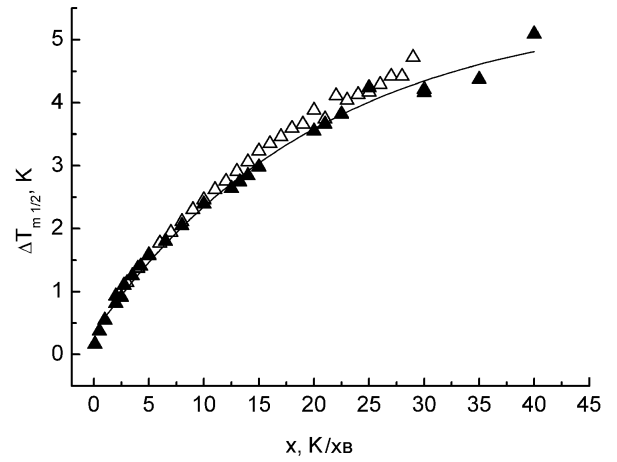


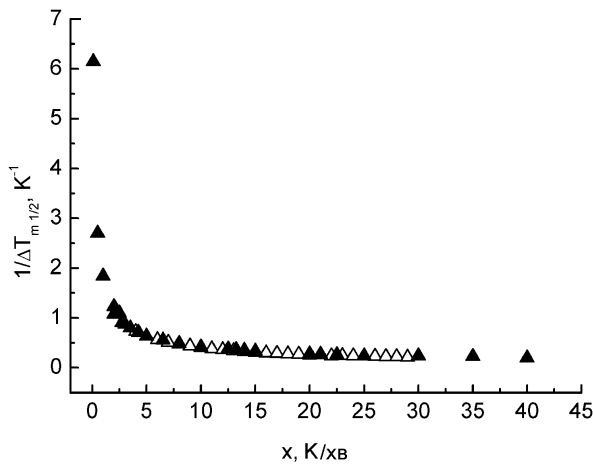
Рисунок 4.5. Температура основного фазового переходу мембран ДПФХ при різних x (○ - власні данні; ● - літературні дані: Tr [232], H [233]. Інші підписи див. на Рис. 4.4).



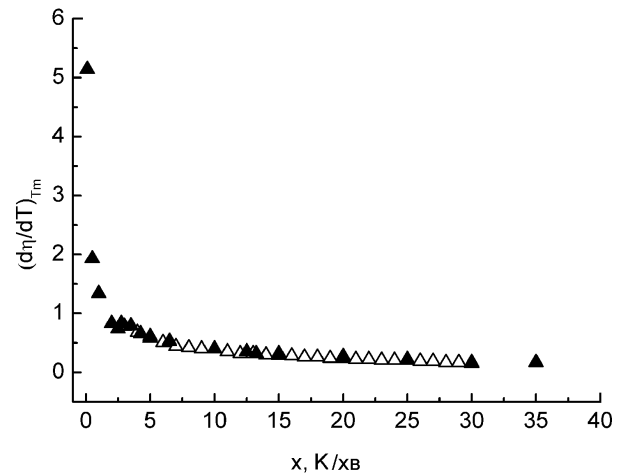
а)



б)



в)



г)

Рисунок 4.6. Ентальпія ΔH_m (а), напівширина $\Delta T_{m1/2}$ (б), $(\Delta T_{m1/2})^{-1}$ (в) та $(d\eta/dT)_{Tm}$ (г) піку основного фазового переходу модельних мембран ДПФХ (закриті символи) та ДМФХ (відкриті символи) при різних швидкостях сканування.

У Табл. 4.2 наведені значення термодинамічних параметрів, що використовуються для визначення CN при різних швидкостях сканування. Як видно, $(\Delta T_{m1/2})^{-1}$ і $(d\eta/dT)_{Tm}$ найбільш залежать від x і є визначальними для CN (x). Залежність $(\Delta T_{m1/2})^{-1}$ від x (Рис. 4.6, в) визначається за (4.2) при $a = 0,32$, b

$= 2,47$, $c = 0,14$ та $R = 0,991$. Звідси можна отримати екстрапольоване значення $1/\Delta T_{m1/2}(0) = 7,86 \text{ K}^{-1}$ що відповідає $\Delta T_{m1/2}(0) = 0,13 \text{ K}$ та узгоджується з [49]. Ця ненульова напівширина відображає скінченний розмір кооперативного домену при $x \rightarrow 0$ та скінченну швидкість фазового переходу. Такий саме висновок можна зробити з залежності $\Delta T_{m1/2}(x)$ до $\sim 0,03 \text{ K/хв}$ [40]. Підставивши власні значення до рівняння (4.1), отримали $CN(0) = 717$, що, з урахуванням експериментальної похибки, близько до значення $CN = 691$, отриманого у [49, 154].

Таблиця 4.2

Характеристики термодинамічних параметрів основного фазового переходу мембрани ДПФХ при $x = 0,1 \div 40 \text{ K/хв}$

Параметр	Одиниця виміру	Діапазон значень	Відносна зміна, %
ΔT_m	К	$314,7 \div 319,1$	1,4
ΔH_m	кДж/моль	$34,3 \div 27,7$	19,2
$\Delta T_{m1/2}$	К	$5,09 \div 0,16$	96,9
$1/\Delta T_{m1/2}$	K^{-1}	$6,14 \div 0,20$	96,7
η	—	$0,6 \div 0,4$	33,3
$(d\eta/dT)_{T_m}$	—	$5,14 \div 0,17$	96,7
CN	—	$512 \div 21$	95,7

Зрозуміло, що визначення CN при високих швидкостях сканування ($x > 5 \text{ K/хв}$) є некоректним, оскільки в таких умовах система далека від рівноваги. Зокрема, різниця між значеннями CN для ДПФХ і ДМФХ майже зникає (див. Рис. 4.4). З іншого боку, вимірювання при низьких швидкостях ($x \ll 0,1 \text{ K/хв}$) є дуже часомісткими, а пік передпереходу стає майже непомітним через слабкий тепловий потік. Крім того, при низьких швидкостях ска-

нування незначні зміни x можуть привести до істотної різниці в розрахованих значеннях CN (див. Рис. 4.4). Таким чином, необхідні рівні швидкості сканування для правильного порівняння CN в різних системах, що є критично важливим при $x \sim 0$.

На Рис. 4.7 ДСК-термограми мембран ДПФХ показані на «проміжних» швидкостях сканування $0,1 \div 2,5$ К/хв, які використовуються в більшості сучасних калориметричних експериментів [49, 29, 158, 231]. Як можна бачити, при $x = 0,1$ К/хв значення $\Delta T_{m1/2}$ стає порівняним до експериментальної похибки.

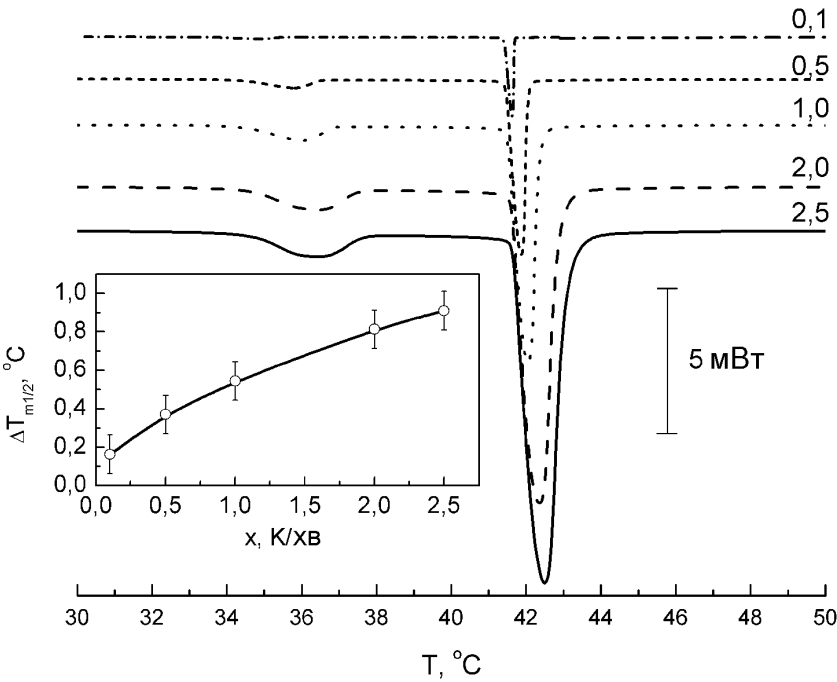


Рисунок 4.7. ДСК-термограми гідратованого ДПФХ при різних x (значення показані в К/хв на кривих). Вставка: напівширина піку основного фазового переходу як функція швидкості сканування.

На основі цих міркувань можна запропонувати простий критерій для вибору оптимальної швидкості сканування для конкретного калориметра: значення $\Delta T_{m1/2}$, як одного з найважливіших параметрів для визначення $CN(x)$, повинно бути принаймні у кілька разів вище за експериментальну по-

хибку його визначення. У наших експериментальних умовах це відповідає швидкості сканування $0,5 \div 1,0$ К/хв.

4.3. Енергія активації дегідратації стеаратів кальцію і магнію

Функціонування води в живих системах є досить складним, але загально визнано, що воно відіграє ключову роль у структурі та функції клітин, і, зокрема, забезпечує рушійну силу у формуванні структури ліпідного бішару клітинної мембрани [234]. Гідратаційні властивості компонентів лікарських засобів мають суттєвий вплив на їх практичне використання, тому взаємодії з водою представляють великий інтерес у процесі розробки лікарських засобів. $Mg^{2+}St$ і $Ca^{2+}St$ позначають як низькогігроскопічні речовини, які втім мають декілька кристалогідратних модифікацій [235, 236], які впливають на їх біодоступність [236, 237]. Крім того, молекула гідратної води може брати участь у міжмолекулярних взаємодіях між $Mg^{2+}St$ та іншими речовинами, утворюючи водні містки [238].

Широко використовуваним параметром, що характеризує кінетику різних процесів, є енергія активації (E_a). Методом ТГА (Рис. 4.8) була визначена E_a дегідратації $Ca^{2+}St$ і $Mg^{2+}St$ за допомогою рівняння Кіссінджера:

$$\ln \frac{x}{T_{dh}^2} = - \frac{E_a}{RT_{dh}} + const, \quad (4.3)$$

де T_{dh} - температура дегідратації.

Встановлено, що $E_a(Ca^{2+}St) = 359 \pm 36$ кДж/моль, що на 30% більше ніж $E_a(Mg^{2+}St) = 268 \pm 5$ кДж/моль (Рис. 4.9). Це може бути важливо при утворенні ними міжмолекулярних комплексів з ЛР та, згодом, ефектів спільної МД (див. п. 3.3).

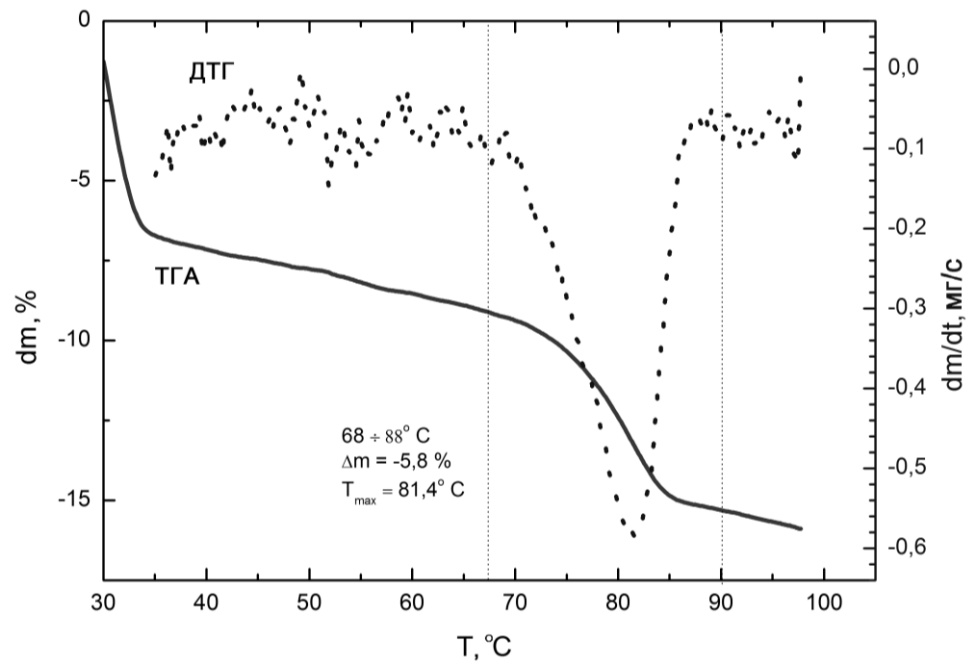


Рисунок 4.8. Термограми ТГА і ДТГ Mg^{2+}St ($x = 2 \text{ K/хв}$)

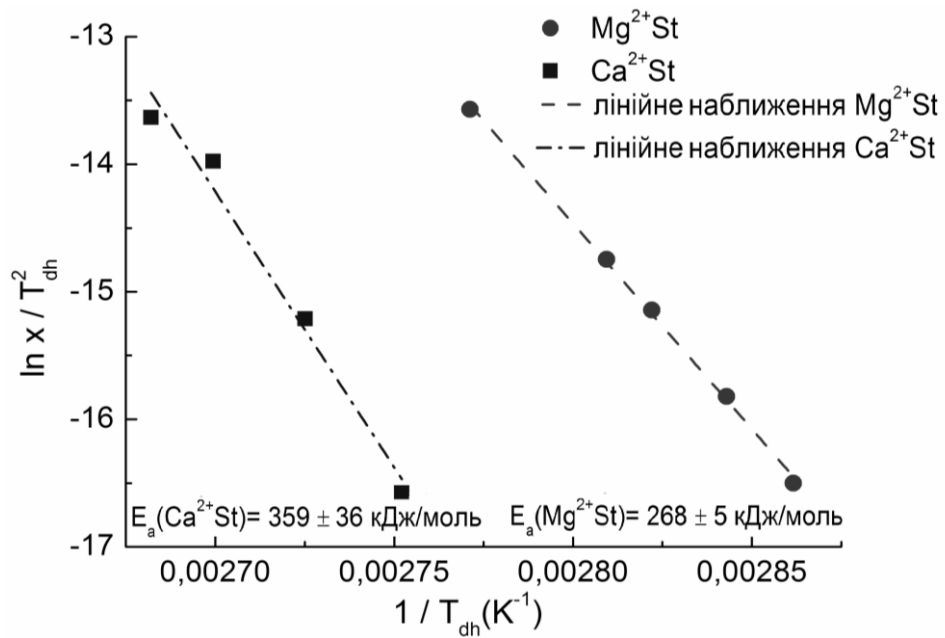


Рисунок 4.9. Визначення E_a десорбції зв'язаної води Ca^{2+}St та Mg^{2+}St .

4.4. Енергія активації фазових переходів мембран ДПФХ і ДМФХ

Для висвітлення кінетичних аспектів змін параметрів фазових переходів були використані порівняно високі швидкості сканування (до 30 К/хв). ДСК-термограми, отримані для зразків ДПФХ та ДМФХ при нагріванні, показані на Рис. 4.10. Ці дані свідчать, що максимуми ДСК піків суттєво залежать від швидкості сканування. Можуть бути дві основні причини цієї залежності - інструментальна (теплове відставання через нерівномірне нагрівання зразку) та власна кінетика процесу плавлення [239].

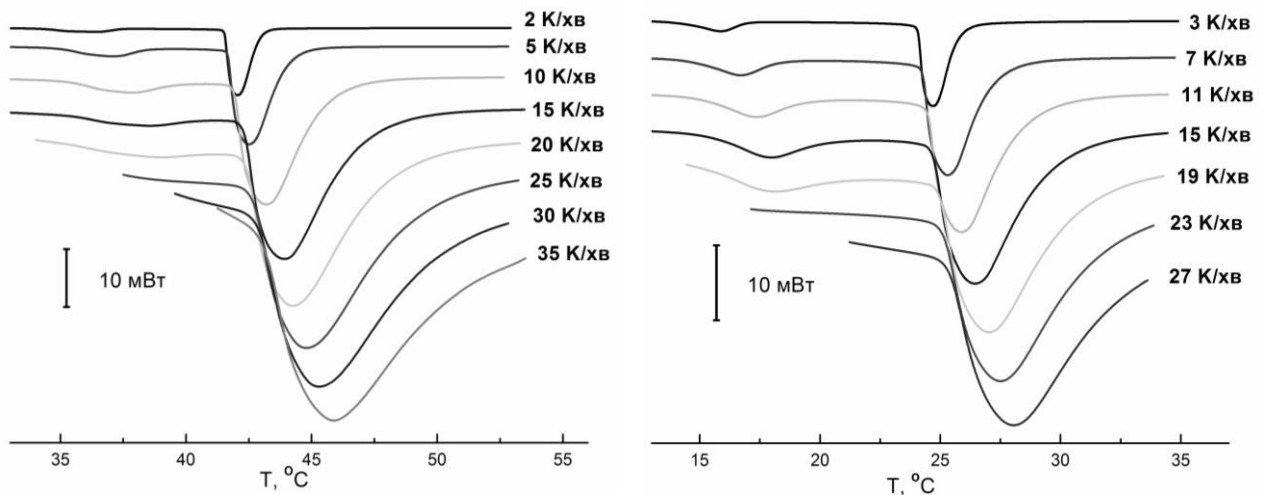


Рисунок 4.10. Вихідні ДСК термограми при різних швидкостях сканування (швидкості вказані у підписах).

Значення E_a фазових переходів мембран ДПФХ і ДМФХ визначали за допомогою модифікованого рівняння Кіссінджера для неізотермічної кінетики при $\alpha = 2 \div 35$ К/хв:

$$\log\left(\frac{\alpha}{T_m^2}\right) = -\frac{E_a}{RT_m} + \log\left(\frac{AR}{E_a}\right) + \log(f'(\theta)) \quad (4.4)$$

де θ – частка молекул, що зазнали фазовий перехід до температури;

A – константа.

Залежність θ від швидкості сканування x , необхідної для цього, можна отримати із вихідних ДСК-термограм. Встановлені параметри E_a для всіх досліджуваних переходів показано в таблиці 4.3. Як можна бачити, значення E_a для ДПФХ вище, ніж для ДМФХ. Запропонований метод дає значення E_a відповідно до літературних даних [240].

Таблиця 4.3

Значення E_a , розраховані за (4.4), для мембран ДПФХ та ДМФХ

Параметр	Основний перехід (T_m)		Передперехід (T_p)	
	ДПФХ	ДМФХ	ДПФХ	ДМФХ
E_a , кДж/моль	$77 \pm 0,2$	$73 \pm 0,2$	631 ± 32	422 ± 38

При додаванні лауринової кислоти до мембрани ДПФХ спостерігається зростання E_a основного фазового переходу (Рис. 4.11).

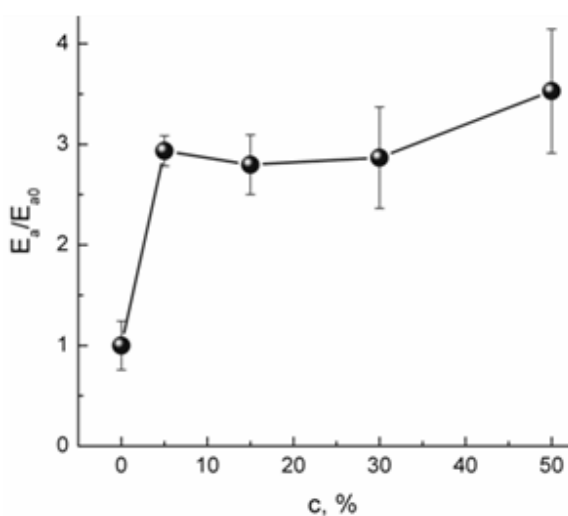


Рисунок 4.11. Відносна зміна E_a основного фазового переходу мембрани ДПФХ в присутності лауринової кислоти.

Запропонована модифікація неізотермічного кінетичного методу визначення E_a може бути застосована до різноманітних реакцій, які мають неодиначний еквівалентний порядок.

4.5. Висновки до розділу 4

1. Запропоновано методику вивчення кінетики спільної мембранотропної дії, за допомогою якої показано полегшення пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності ДМСО.
2. Запропоновано критерій вибору оптимальної швидкості сканування, який мінімізує помилку при визначенні кооперативності фазових переходів ліпідних мембран.
3. Методом ТГА в різних кінетичних режимах встановлено, що енергія активації дегідратації Ca^{2+}St на 30% більше ніж Mg^{2+}St , що може бути важливо при утворенні ними міжмолекулярних комплексів з лікарськими речовинами та, згодом, ефектів спільної мембранотропної дії.
4. Методом ДСК встановлено що значення енергії активації фазових переходів для ДПФХ вище, ніж для ДМФХ і підвищуються в присутності лауринової кислоти.

Основні результати цього розділу викладені у роботах: [5]; [7]; [9]; [10]; [15].

Розділ 5. МЕМБРАНОТРОПНА ДІЯ КОМПОНЕНТІВ ФАРМПРЕПАРАТІВ НА МОДЕЛЬНІ МЕМБРАНИ РІЗНОГО ЛІПІДНОГО СКЛАДУ

5.1. Полімерні носії фармпрепаратів на основі поліакриламідну

Зіркоподібні декстран-поліакриламідні сополімери – це новітні матеріали, які використовуються для доставки лікарських речовин. Вони відрізняються за своїми поверхневими властивостями: нейтральні (D-g-РАА) і поліаніонні (D-g-РАА(РЕ)), ненавантажені або навантажені наночастинками золота (AuNPs) або срібла (AgNPs), які суттєво впливають на їх фармакологічні властивості. Так, у дослідженнях на тваринах поліаніонна форма показала більшу ефективність у порівнянні з нейтральною [241]. На підставі цього постає питання встановлення зв'язку поверхневих властивостей сополімерів та їх взаємодії з модельними мембранами різного ліпідного складу.

Для досліджень були обрані мембрани ДПФХ, поверхня якої в цілому електронейтральна, а також від'ємно заряджені мембрани ДПФХ-ДПФГ та ДПФХ-КЛ (див. п. 2.1), які моделюють негативний заряд зовнішньої мембрани нативних клітин. Оригінальні ДСК-термограми чистих ліпідних мембран показані на Рис. 5.1. Для нейтральних ДПФХ і негативно заряджених ДПФХ-ДПФГ мембран спостерігаються піки передпереходу (T_p) і основного фазового переходу (T_m). Для мембрани ДПФХ температури піків переходів становлять $T_p = 36,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_m = 41,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, а для мембрани ДПФХ-ДПФГ – $T_p = 37,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_m = 42,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, що відповідає літературним даним [137, 228]. Для мембрани ДПФХ-КЛ виявлено лише один широкий пік. Процедура розщеплення (див. п. 2.7) дає два окремі піки з коефіцієнтом детермінації не менше 0,98: $T_m^* = 38,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (низькотемпературний) та $T_m = 40,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (високотемпературний). За аналогією з фазовою поведінкою мембрани ДПФХ, що містить холестерин

[115], ці піки можна віднести, відповідно, до фаз, збагачених КЛ та КЛ-збіднених [242, 243].

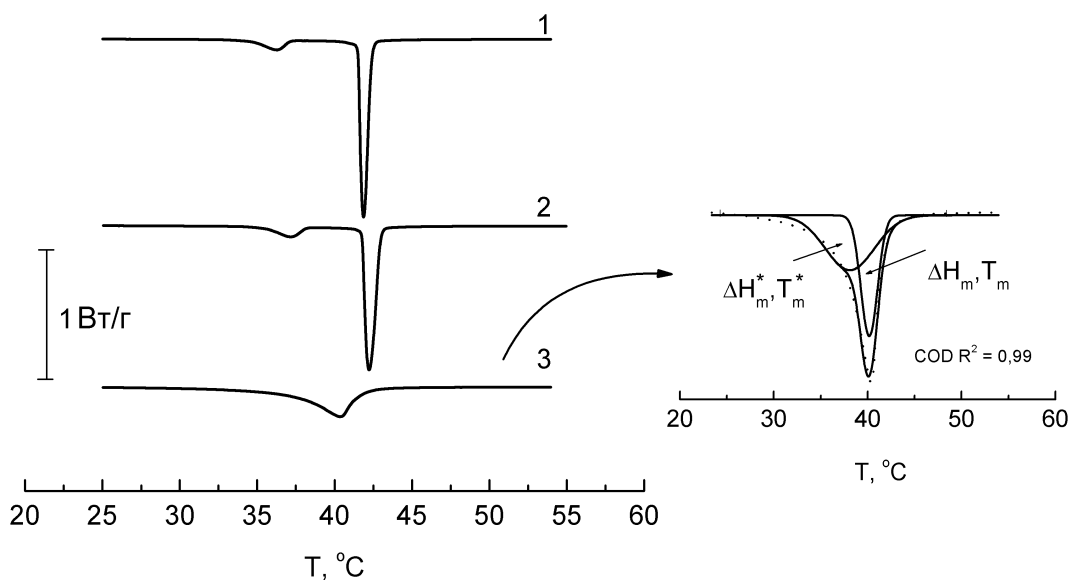


Рисунок 5.1. Нормовані ДСК-термограми мембрани ДПФХ без домішок (1), мембрани ДПФХ-ДПФГ (2) і мембрани ДПФХ-КЛ (3). На вставці показано розщеплення піку плавлення ДПФХ-КЛ.

Першим кроком було вивчення мембранотропного ефекту полімерів у нейтральній однокомпонентній мембрані ДПФХ. D-g-РАА і D-g-РАА(РЕ), як чисті, так і навантажені AgNPs, не викликали помітного впливу на параметри основного фазового переходу мембран ДПФХ. Це може бути пов'язано з відсутністю взаємодій (або слабкою взаємодією) у досліджуваній системі. Певне підвищення температури передпереходу спостерігалось в присутності D-g-РАА(РЕ). В той же час, для полімерів з AuNPs виявлено досить значне збурення властивостей мембран (Рис. 5.2). Найбільш помітний ефект відзначено для системи D-g-РАА-AuNPs: зменшення T_p , збільшення T_m і $\Delta T_{p1/2}$. Таким чином, D-g-РАА-AuNPs розширює діапазон температур складчастої фази і суттєво знижує кооперативність передпереходу.

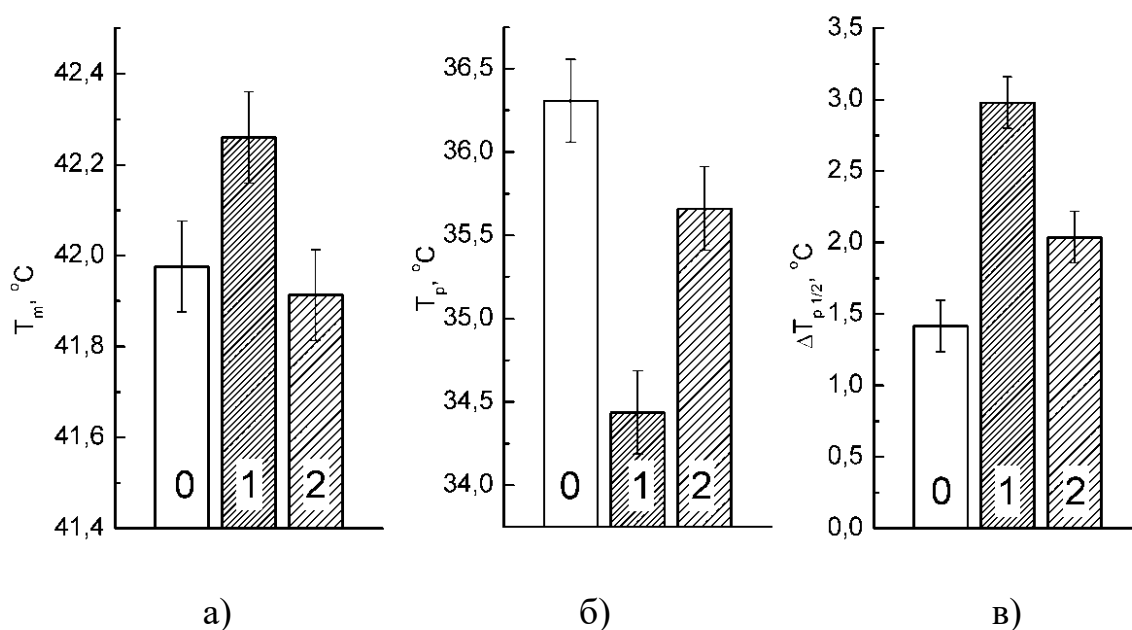


Рисунок 5.2. Температура основного фазового переходу (а), температура передпереходу (б) і напівширина передпереходу (в) для мембрани ДПФХ без домішок (0), ДПФХ, що містить D-g-PAA-AuNPs (1), і ДПФХ, що містить D-g-PAA(PE)-AuNPs (2).

На наступному етапі використовувалася негативно заряджена мембрана ДПФХ-ДПФГ, оскільки очікувалося, що вплив полімер-ліпідних взаємодій може бути більш значним у заряджених мембранах. Суміші ДПФХ-ДПФГ зазвичай використовуються як модельні ліпідні мембрани у біомедичних дослідженнях [244 - 246].

У мембрані ДПФХ-ДПФГ найбільш виражений ефект спостерігався для передпереходу. Всі полімери зменшували температуру передпереходу (Рис. 5.3, а). Ненавантажені D-g-PAA та D-g-PAA(PE) знижували ентальпію передпереходу та основного фазового переходу. Полімери з AgNPs мали незначний ефект порівняно з тими, що містять AuNPs – так само, як і в мембрані ДПФХ. Як D-g-PAA-AuNPs, так і D-g-PAA(PE)-AuNPs приводять до збільшення напівширини передпереходу (Рис. 5.3, б), що є показником зниження кооперативності.

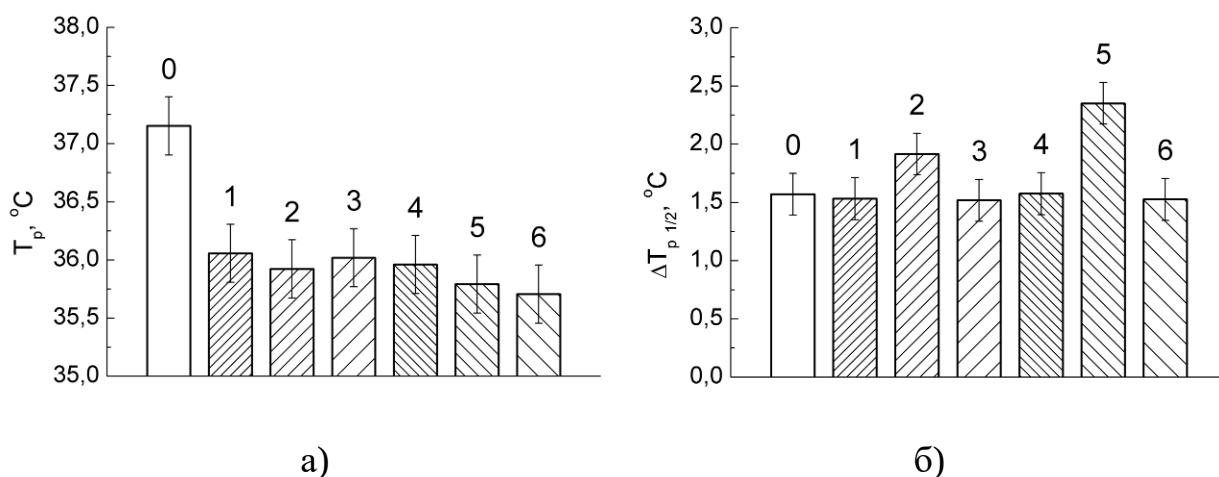


Рисунок 5.3. Температура (а) і напівширина (б) піку передпереходу мембрани ДПФХ-ДПФГ, що містить полімери: 0 - чиста мембрана, 1 - Dg-PAA, 2 - Dg-PAA-AuNP, 3 - Dg -PAA-AgNPs, 4-Dg-PAA(PE), 5-Dg-PAA(PE) -AuNPs, 6-Dg-PAA(PE) -AgNPs.

Наступним рівнем складності мембрани є багатокомпонентна негативно заряджена мембрана на основі ДПФХ і суміші природних кардіоліпінів. Хоча багатокомпонентна мембрана ДПФХ-КЛ є кращим наближенням до біологічних мембран (наприклад, внутрішньої мембрани мітохондрій), вона більш складна для інтерпретації даних. Поряд із зникненням піку передпереходу спостерігалось помітне розширення піку плавлення (порівняно з мембраною ДПФХ). Мембранотропні ефекти D-g-PAA на мембрані ДПФХ-КЛ виявилися більш вираженими порівняно з D-g-PAA(PE) (Рис. 5.4). Окрім інших полімерів, чистий D-g-PAA(PE) викликав збільшення T_m^* і кооперативності фазових переходів в мембрані. Всі полімери з НЧ індукували зниження T_m^* і кооперативності. Крім того, полімери з AgNPs приводили до зменшення T_m .

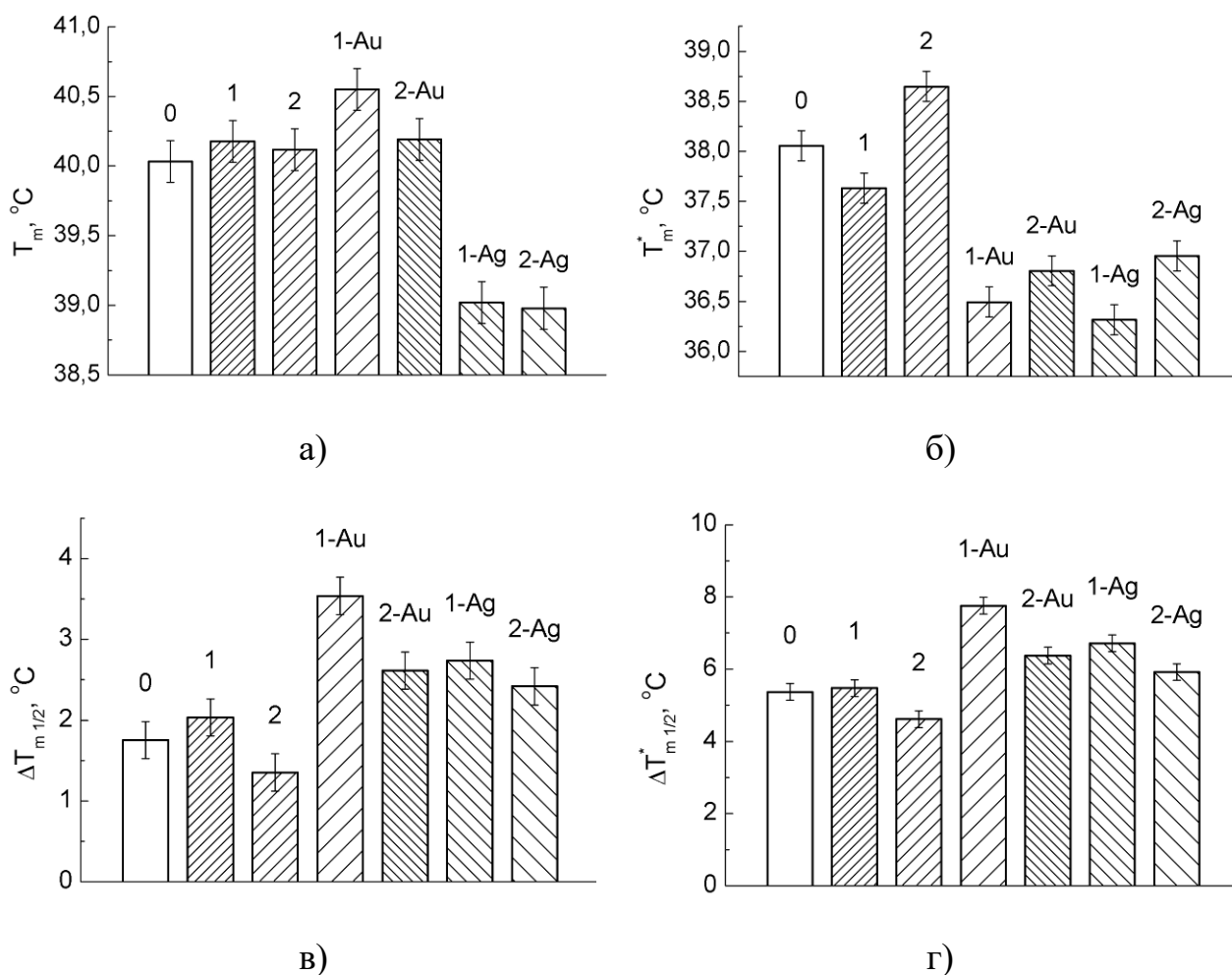


Рисунок 5.4. Температура (а, б) і напівширина (в, г) високотемпературних (а, в) та низькотемпературних (б, г) піків фазового переходу мембрани ДПФХ-КЛ: 0 - чиста мембрана; 1 - з D-g-РАА та відповідними НЧ; 2 - з D-g-РАА(РЕ) та відповідними НЧ.

Спостережувані ефекти для всіх типів полімерів в різних модельних ліпідних мембранах підсумовані в Таблиці 5.1. Як можна бачити, негативно заряджені мембрани ДПФХ-ДПФГ і ДПФХ-КЛ більш чутливі до введення полімерів, ніж мембрана ДПФХ. Крім того, зміни передпереходу були більш вираженими, ніж зміни в основному фазовому переході, що є результатом взаємодії з поверхнею досліджуваної системи. В цілому можна сказати, що зміни поверхневих властивостей досліджених сополімерів (зарядовий стан,

характеристики адсорбованих наночастинок), безумовно, відбиваються на їх МД, але встановлення конкретних механізмів потребує ретельних додаткових досліджень.

Таблиця 5.1

Вплив полімерів на мембрани різного ліпідного складу

Мембрана Полімер	ДПФХ (0)	ДПФХ- ДПФГ (-)	ДПФХ-КЛ (-)
D-g-PAA	немає ефекту	$T_p \downarrow$	немає ефекту
D-g-PAA-AgNPs	немає ефекту	$T_p \downarrow$	$T_m \downarrow, T_m^*, CN \downarrow, \Delta H_m^* \downarrow$
D-g-PAA-AuNPs	$T_p \downarrow; CN \downarrow$	$CN \downarrow, T_p \downarrow$	$T_m^* \downarrow, CN \downarrow, \Delta H_m \uparrow$
D-g-PAA(PE)	$T_p \uparrow$	$T_p \downarrow$	$T_m^* \uparrow, CN \downarrow$
D-g-PAA(PE)-AgNPs	немає ефекту	$T_p \downarrow$	$T_m \downarrow, T_m^* \downarrow$
D-g-PAA(PE)-AuNPs	незначне $T_p \downarrow; CN \downarrow$	$CN \downarrow, T_p \downarrow$	$T_m^* \downarrow$

5.2. Кон'югати метотрексату і бетулонової кислоти

Останні роки похідні цитостатика метотрексату (МТ) знаходяться під пильною увагою, оскільки зниження токсичності МТ є необхідним для оптимізації протиракової терапії. Три типи кон'югатів МТ з імуномодулятором бетулоновою кислотою (БК) - SA-1, SA-9 і SA-188, були синтезовані і досліджені як у модельних ліпідних мембранах, так і у *Caco-2* клітинах*. Мембранотропні властивості кон'югатів оцінювали на основі їх проникності в клітини та їх здатності впливати на термодинамічні параметри модельних ліпідних мембран. Використовувалися два типи модельних ліпідних мембран: ДПФХ та ДПФХ-ДПФЕ-Х, яка імітує ліпідний склад клітин ентероцитів.

* Данні отримані компанією «Enamine», м. Київ.

При введенні ЛР в мембрану ДПФХ вони мали різну дію на її термодинамічні параметри (Рис 5.5, а). Як можна бачити, МТ, на відміну від інших сполук, практично не змінює термодинамічні параметри мембрани, що може вказувати на відсутність його зв'язування з мембраною (ймовірно, через низьку розчинність у воді). Навпаки, БК, має істотний вплив на мембрану: вона розмиває основний фазовий перехід, пов'язаний з плавленням залишків пальмітинової кислоти, і усуває предперехід, пов'язаний зі зміною гідратації і упаковки фосфатидилхолінового фрагменту ДПФХ. Отже, БК як структурна частина кон'югатів, може сприяти їх взаємодії з мембраною.

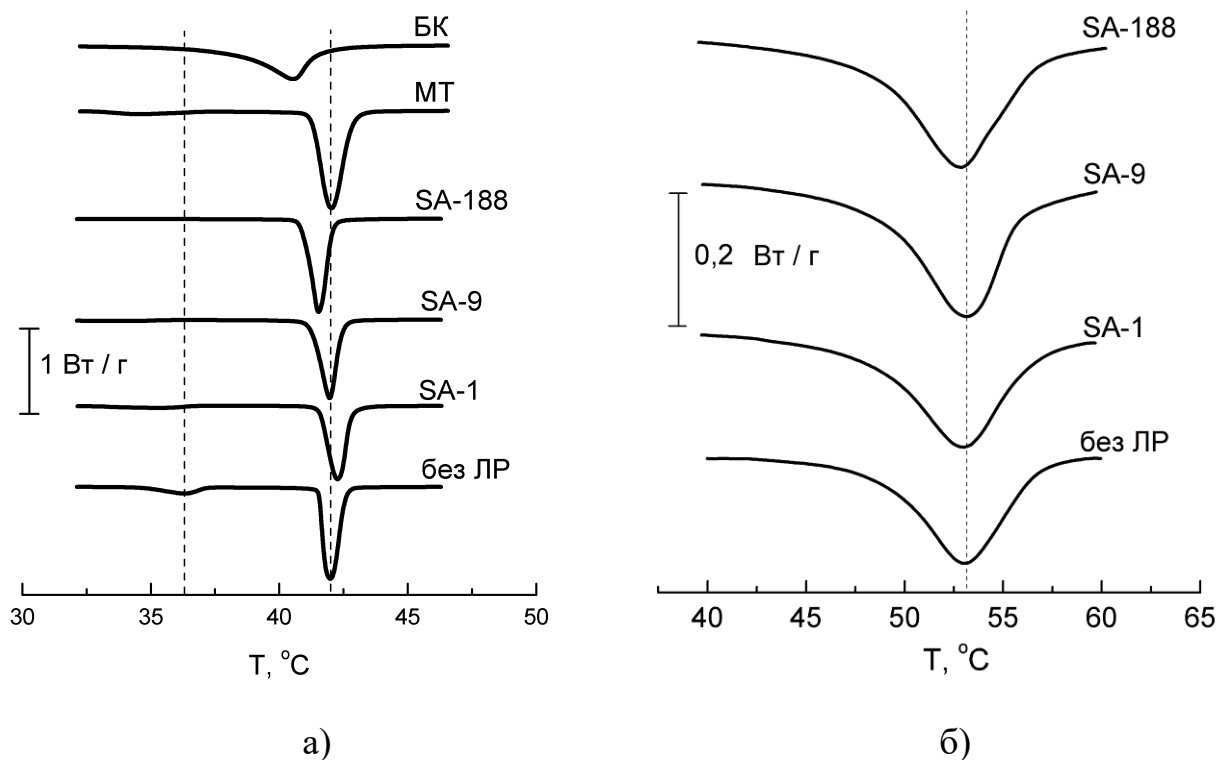


Рисунок 5.5. Нормовані ДСК-термограми мембран ДПФХ (а) та ДПФХ-ДПФЕ-Х (б), що містять МТ, БК та їх кон'югати.

У низці кон'югатів МТ-БК значення ΔT_m достовірно зменшувалося в присутності SA-188. Усі кон'югати викликали зниження ΔT_p (Рис. 5.6) і ΔH_p (Рис. 5.7), найбільш виражене для SA-188. Разом з тим, усі кон'югати прибли-

зно однаково підвищували $\Delta T_{p1/2}$ (Рис. 5.7), що відображає зменшення кооперативності предпереходу і збільшення латеральної неоднорідності упаковки ліпідів. Таким чином, всі досліджені кон'югати викликають зміни термодинамічних параметрів мембрани ДПФХ, що свідчить про їх зв'язування з мембраною – певно, за рахунок бетулонового фрагменту.

У мембрані ДПФХ-ДПФЕ-Х зміни ДСК-профілей у присутності кон'югатів менш виражені, ніж у мембрані ДПФХ (Рис 5.5, б). Як було вказано вище, мембрана ДПФХ-ДПФЕ-Х демонструє двофазну поведінку (див. вставку на Рис. 3.14). При введенні кон'югатів температури фазових переходів знижуються (Рис. 5.8, а), а піки переходів розширюються (Рис. 5.8, б). Розширення піків більш виражено для холестерин-збагаченої фази, що дозволяє припустити переважне зв'язування кон'югатів саме з нею.

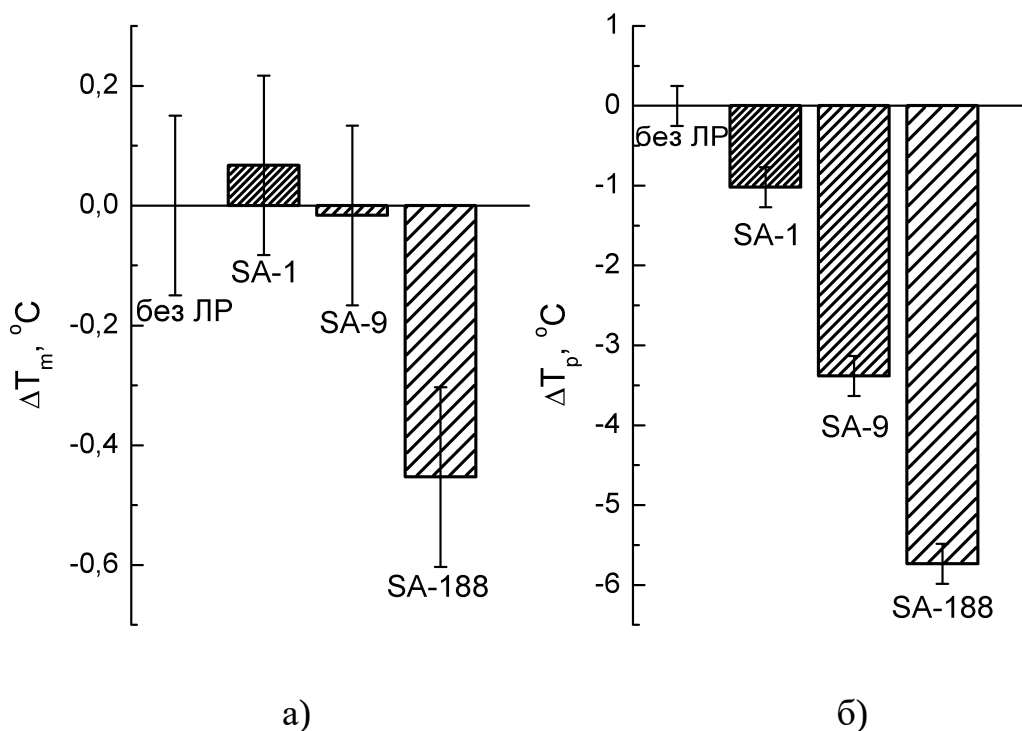


Рисунок 5.6. Значення ΔT_m (а) та ΔT_p (б) мембрани ДПФХ в присутності кон'югатів.

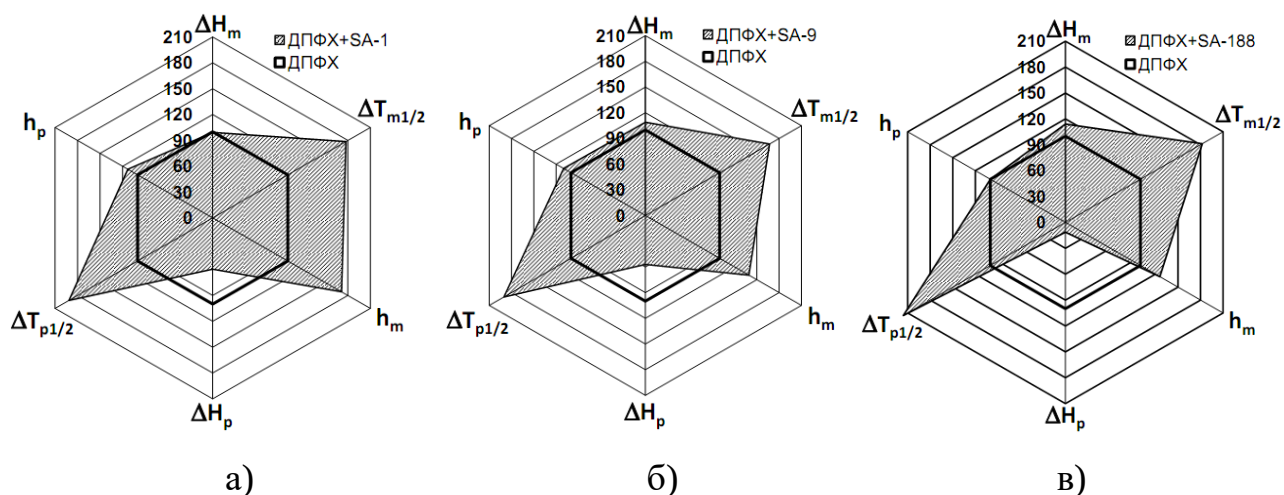


Рисунок 5.7. Термодинамічні параметри мембрани ДПФХ в присутності кон'югатів SA-1 (а), SA-9 (б), SA-188 (в) відсоткова зміна у порівнянні з мембраною ДПФХ без домішок.

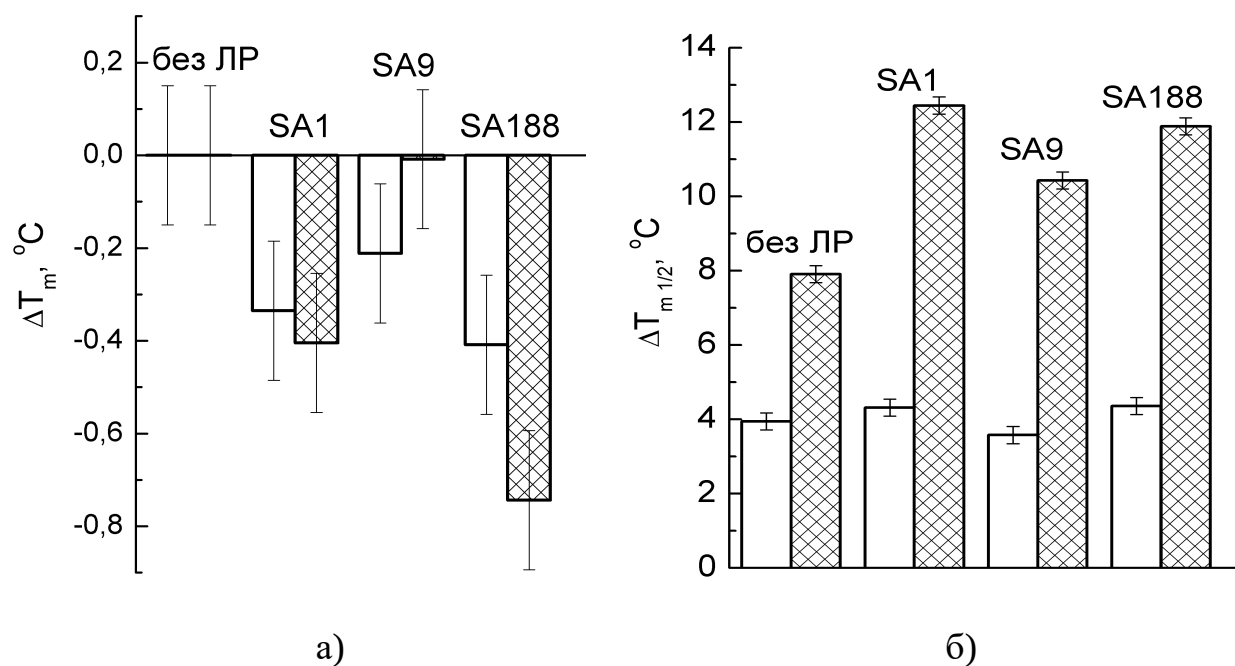


Рисунок 5.8. Зсув температур (а) та напівширина (б) піків фазових переходів мембрани ДПФХ-ДПФЕ-Х в присутності кон'югатів: Х-збагачена фаза (штрихування) і Х-збіднена фаза ліпідів (без штрихування).

Відмінності у хімічній будові кон'югатів полягають у різному розташуванні бетулонових фрагментів (з'єднання по різних карбоксильним групам МТ) та у додаванні β -фенілетиламінового фрагменту (у кон'югаті SA-188). Для зіставлення отриманих результатів з літературними даними було отримано параметр мембранотропної активності a як ΔT_m для мембрани ДПФХ в розрахунку на одиничну концентрацію речовини ($a = \Delta T_m/c$). Для SA-188 ($\log P$ 6,3) значення $a \approx -0,1^\circ\text{C}$, що близькою до дії холестерину ($\log P$ 7,5). Разом з тим, для SA-1 ($\log P$ 5,3) і SA-9 ($\log P$ 5,4) $a \approx 0$, що говорить про наявність інших істотних факторів, які визначають їх взаємодію з мембраною, окрім ліпофільності.

Для виявлення цих факторів було проведено квантово-хімічні розрахунки та отримано низку молекулярних параметрів кон'югатів (Табл. 5.2) і проведено їх кореляційний аналіз з термодинамічними параметрами досліджуваних модельних ліпідних мембран – a , T_p і T_m , найбільш специфічними до присутності сторонніх компонентів, а також з проникністю P клітин *Caco-2* (Табл. 5.3). Слід зазначити зворотну кореляцію проникності і ліпофільності для даного набору речовин: з підвищенням $\log P$ проникність знижується. Це, можливо, пов'язано з підвищенням розчинності кон'югату в мембрані. Крім $\log P$ і $\log S$, одним з молекулярних параметрів, що мають найбільш високу кореляцію з a , є коефіцієнт анізотрії k . Цей коефіцієнт отриманий як $k = (x-y)/(x+y)$ з геометричних розмірів молекули ($x > y > z$). Для сферичної молекули $k = 0$, для нитки $k \rightarrow 1$. Передбачається, що анізотрична молекула у розчині здійснює вільне обертання навколо своєї довгої осі і може бути представлена еліпсоїдом обертання. Як можна побачити, з підвищенням анізотрії кон'югатів молекули підвищується проникність клітин для них.

Таким чином, для низки досліджених кон'югатів встановлено підвищення мембранотропної активності у порівнянні з МТ, яке пов'язане як зі збільшенням гідрофобності молекули, так і її анізотрії.

Таблиця 5.2

Молекулярні параметри кон'югатів МТ- БА

мол. пар-р Кон'югат	V_m, A^2	S_m, A^3	k	$\mu, Д$	$\log S$	$\log P$
SA-1	1261,02	1011,01	0,43	9,53	-5,25	5,33
SA-9	1275,82	1000,96	0,39	6,43	-5,31	5,36
SA-188	1399,69	1094,03	0,25	11,28	-5,69	6,31

Таблиця 5.3

Коефіцієнти лінійної кореляції молекулярних параметрів кон'югатів і параметрів мембран ДПФХ (I) та ДПФХ-ДПФЕ-Х (II)

мол. пар-р кон'югату параметр мембрани	V_m	S_m	k	μ	$\log S$	$\log P$
α (I)	-0,96	-1,00	1,00	-0,65	1,00	-0,99
ΔT_m (I)	-0,97	-1,00	1,00	-0,66	1,00	-0,99
ΔT_p (I)	-0,81	-0,91	0,94	-0,35	0,92	-0,88
ΔT_m^* (II)	-0,89	-0,79	0,73	-0,99	0,77	-0,83
ΔT_m (II)	-0,84	-0,72	0,66	-1,00	0,70	-0,77
P (Caco-2)	-0,70	-0,83	0,87	-0,19	0,84	-0,78

5.3. Антибіотик грамїцидин S

Грамїцидин S (GS), антибіотик широкого спектру дії, що характеризується безпосереднім зв'язуванням з ліпідним бішаром мембран бактеріальних та еукаріотичних клітин [247 - 249]. На сьогодні молекулярний механізм мембранотропної дії GS розкритий не повністю, і одним з важливих його аспектів, що потребує прояснення, є залежність від ліпідного складу мембрани. Це могло б бути корисним в диференціації терапевтичної (антибактеріальної) і негативної побічної (гемолітичної) дії GS.

Дослідження МД GS проводилося у 4-х типах мембран: у електронейтральній мембрані ДПФХ, негативно зарядженій мембрані із вмістом ДПФГ, а також у мембранах ДПФХ-Ц та ДПФХ-Х. Внесення GS у мембрану ДПФХ у концентраціях $1 \div 8$ моль приводило до виникнення на ДСК-термограмах додаткового низькотемпературного піку T_m^* , отриманого при розкладанні піків (див. п. 2.7), розташованого на $0,1 \div 0,6$ °C нижче вихідного піку ДПФХ (Рис. 5.9). Згідно з [250] додатковий пік T_m^* можна співвіднести з дією олігомерів GS.

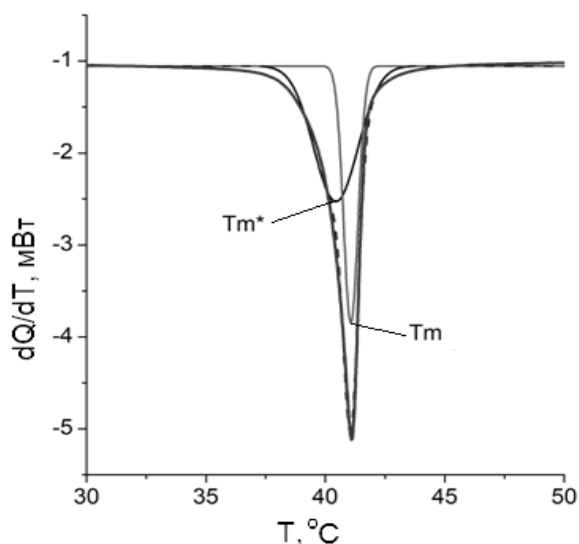


Рисунок 5.9. Розщеплення піку ДСК на компоненти для системи ДПФХ + 5 моль % GS (суцільна лінія); штриховою лінією позначено огинаючу.

При введенні у мембрану ДПФХ, що містить GS, розчинів CaCl_2 встановлено адитивність МД GS та іонів Ca^{2+} (Рис. 5.10). Як можна бачити, зі збільшенням концентрації розчину CaCl_2 відбувається підвищення температур обох піків, проте характер концентраційних залежностей не змінюється. Зв'язування GS і CaCl_2 з ліпідним бішаром приводить до розширення ДСК-піків (Рис. 5.11), що свідчить про підвищення його неоднорідності.

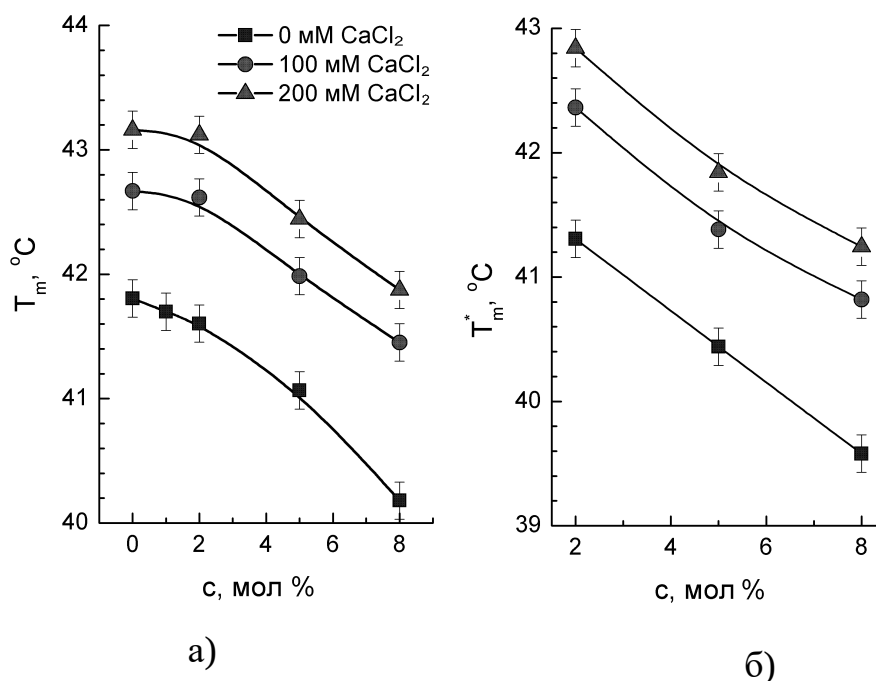


Рисунок 5.10. Значення T_m (а) та T_m^* (б) для мембрани ДПФХ із вмістом GS за різних концентрацій водних розчинів CaCl_2 (концентрації вказано у підписах).

Внесення GS приводило до низькотемпературного зсуву піків фазових переходів в усіх досліджуваних типах мембран (Рис. 5.12). У мембрані ДПФХ-ДПФГ зниження T_m і T_m^* було менш вираженим, проте ΔH_m і $\Delta T_{m1/2}^*$ зростали сильніше (данні не наведено) - можливо, за рахунок того, що негативно заряджений ДПФГ зв'язує позитивно заряджений GS, приводячи до його перерозподілу в мембрані. У мембрані ДПФХ-Ц всі ефекти, виявлені

для ДПФХ, були виражені слабше, що, мабуть, говорить про зменшення розподілу GS в мембрану ДПФХ в присутності цереброзидів.

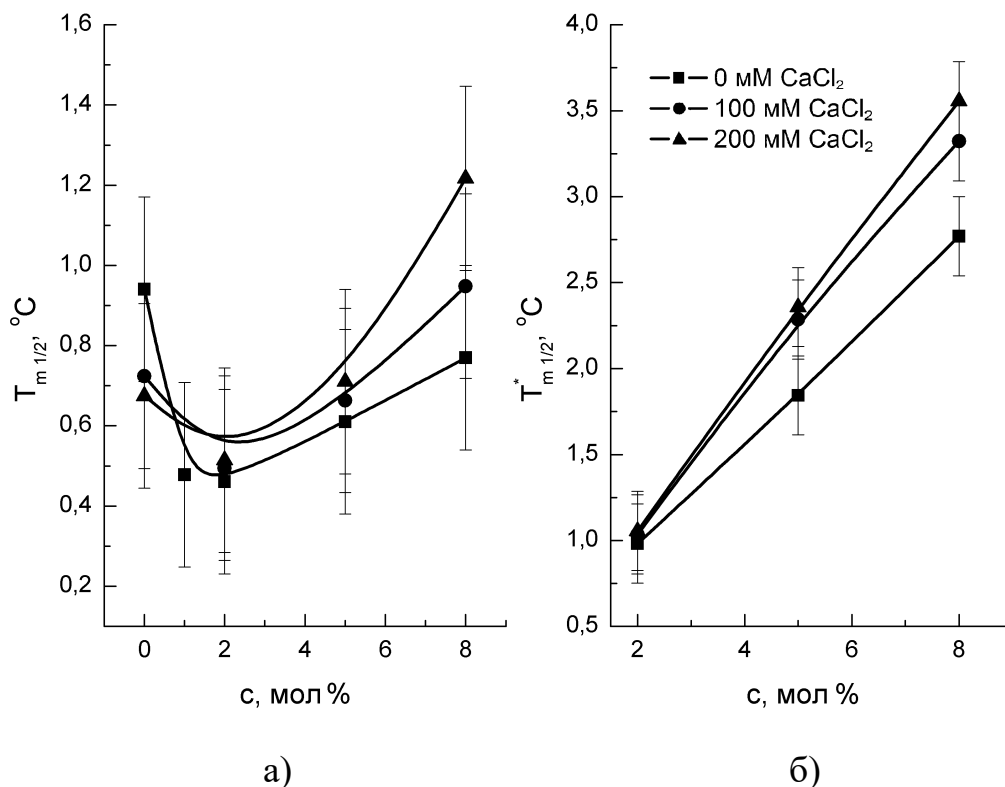


Рисунок 5.11. Значення $T_{m1/2}$ (а) та $T_{m1/2}^*$ (б) для мембрани ДПФХ із вмістом GS за різних концентрацій водних розчинів CaCl_2 (концентрації вказано у підписах).

Найбільший ефект GS спостерігався в присутності холестерину. Перш за все, слід зазначити, що у вихідній мембрані ДПФХ-Х спостерігається 2 ДСК-піки фазових переходів, що відповідають, згідно численним літературним даним, Х-збагаченій (пік $T_m(+)$) і Х-збідненій (пік $T_m(-)$) ліпідним фазам (Рис. 5.12, б). Концентраційні залежності піку $T_m(-)$ були в цілому подібні до T_m для мембрани ДПФХ, тоді як залежності для $T_m(+)$ і T_m^* були подібні між собою і в цілому набагато сильніше виражені. Так, при 5 моль% GS зниження T_m^+ становило 3,8 °C, а зниження T_m^* - 5,9 °C. У цілому отримані термодина-

мічні характеристики вказують на велику спорідненість GS до холестерину, що приводить до істотного збільшення його розподілу в мембрану, з перевагою одного типу зв'язування над іншим.

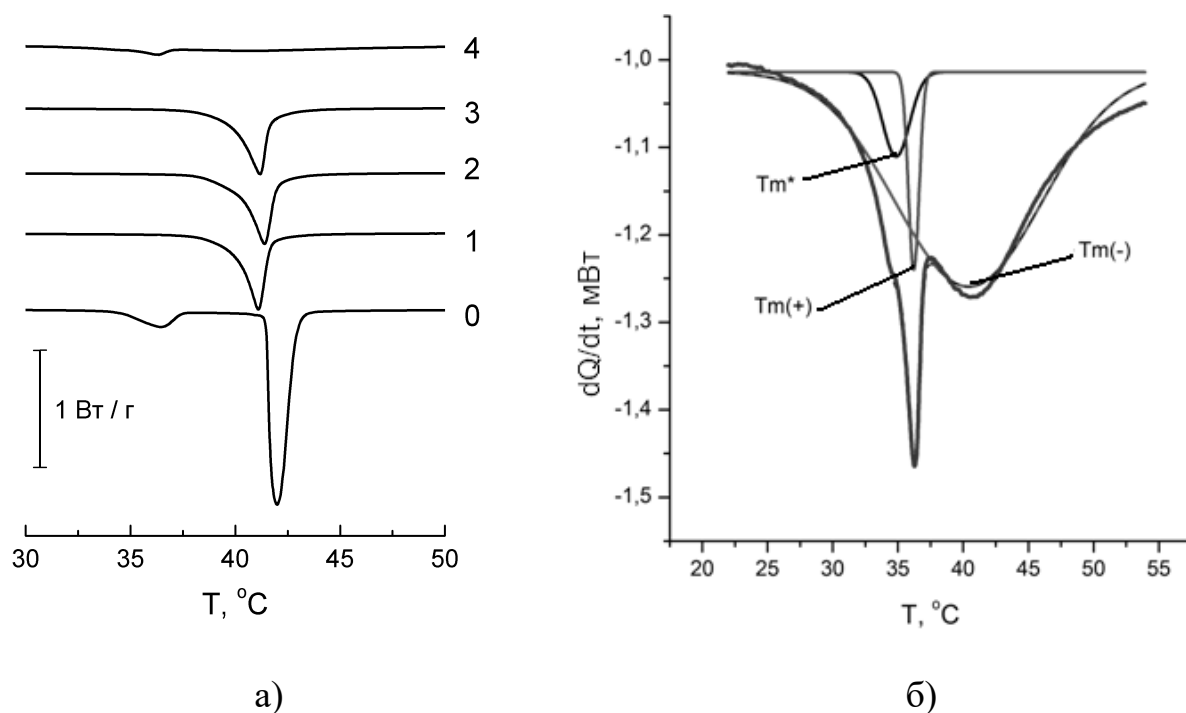


Рисунок 5.12. а) Нормовані ДСК-термограми плавлення модельних ліпідних мембран, що містять 5 % GS: 0 – мембрана ДПФХ без домішок; 1 – ДПФХ; 2 – ДПФХ-ДПФГ; 3 – ДПФХ-Ц; 3 – ДПФХ-Х; б) Розщеплення піку ДСК на компоненти для системи ДПФХ-Х + 5 мол. % GS (суцільна лінія): штриховою лінією позначено огинаючу.

Залежності $\Delta T_m(c)$ були проаналізовані окремо по кожному піку за допомогою аналога рівняння адсорбції Фрейндліха (3.1). Результати апроксимації для мембрани ДПФХ-Х із GS показано на Рис. 5.13.

Результати розрахунків МД для всіх досліджених систем наведено у Табл. 5.4.

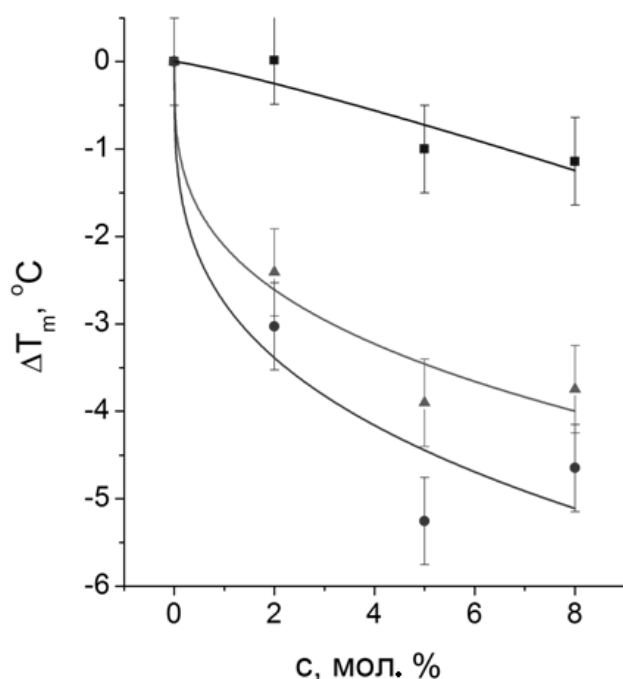


Рисунок 5.13. Зсув температури плавлення мембрани ДПФХ-Х при різних концентраціях GS: ■ – пік $T_m(-)$; ▲ – пік $T_m(+)$; ● – пік T_m^* . Суцільні лінії – апроксимація за ф.3.1.

Таблиця 5.4

Дія GS (5 мол. %) у модельних мембранах різного ліпідного складу за даними ДСК: 1 – мембранотропна активність (ф. 2.12); 2,3 – параметри апроксимації (ф. 3.1); 4, 5 – напівширина та зміна ентальпії у порівнянні із мембраною без GS для основного фазового переходу

Параметр Мембрана	1	2		3		4	5
	a_m , °C	осн. пік (T_m)		дод. пік (T_m^*)		$\Delta T_{m1/2}$, °C	$\Delta \Delta H_m$, кДж/моль
		k	1/n	k	1/n		
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-Ц	-0,2	—	—	—	—	2,1	-15
ДПФХ-Х	-1,5	-0,11/ -2,11	1,2/ 0,3	-2,76	0,3	11,2	-17

Синергізм МД холестерину та GS у мембрані ДПФХ можна бачити на діаграмі зсуву температури плавлення ліпідної мембрани (Рис. 5.14). Видно, що спільне додавання GS та холестерину має більший ефект, ніж їх сумарна індивідуальна дія. Одним з можливих механізмів цього є збільшення розподілу GS в мембрану, що містить холестерин, в порівнянні з мембраною ДПФХ. Згідно [222], введення 10 % холестерину не викликає фазового розділення мембрани ДПФХ, але приводить до неоднорідності упаковки ліпідів; на межах цих неоднорідностей гідратація мембрани підвищується. Це може становити інший механізм полегшення розподілу GS у мембрану.

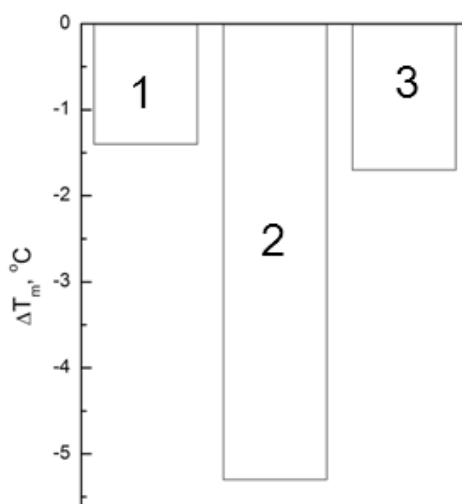


Рисунок 5.14. Зсув температури плавлення мембрани ДПФХ при внесенні: 5 мол. % GS (1); 10 мас. % холестерину (2); 10 мас. % холестерину та 5 мол. % GS (3).

Характеристики коливань метиленових груп були отримані за допомогою розщеплення відповідних смуг на 4 (для νCH_2) або 3 (для δCH_2) піки; для кожного з них було визначено значення максимуму та напівширини (Рис. 5.15). Коефіцієнт детермінації становив $R > 0,99$, що говорить про коректність проведеного розщеплення. Введення холестерину приводило до змен-

шення напівширини вказаних смуг νCH_2 , а додавання GS посилювало цей ефект. Обидві речовини підвищували гомогенність упаковки метиленових ланок. Таким чином, дані ІЧ-спектроскопії узгоджуються з результатами ДСК.

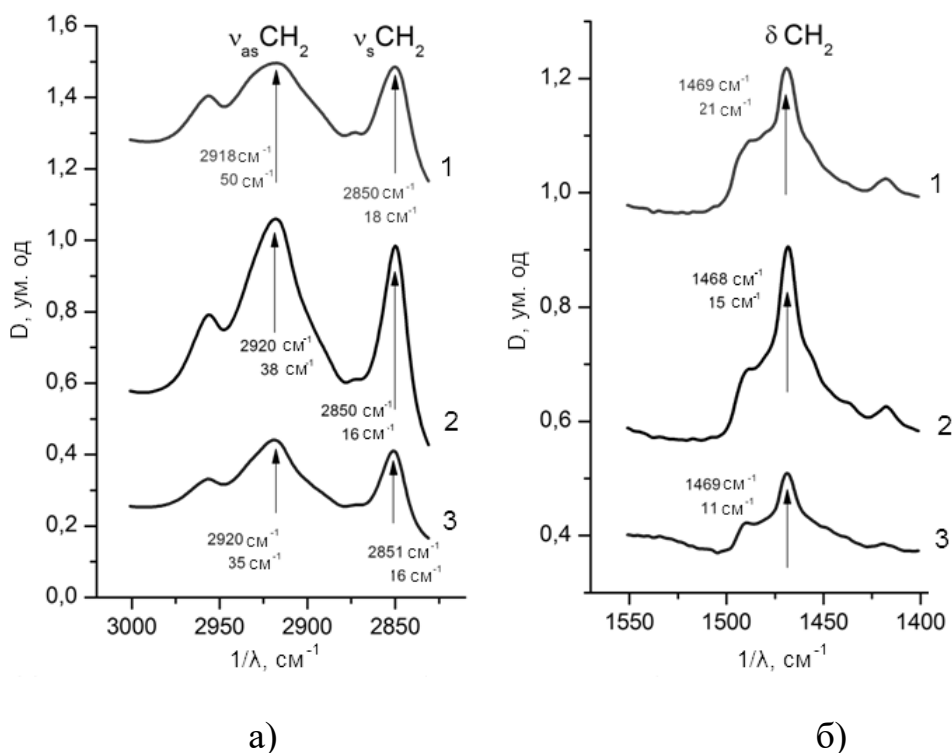


Рисунок 5.15. Характеристики смуг поглинання ДПФХ $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$ (2850 cm^{-1}), $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ (2918 cm^{-1}), та δCH_2 (1469 cm^{-1}): 1– мембрана ДПФХ без домішок; 2 – мембрана ДПФХ-Х; 3 – мембрана ДПФХ-Х із вмістом 8 мол. % GS. Числа у підписах стрілок: верхнє – максимум піку, нижнє – напівширина піку.

Смути поглинання карбонільних груп ДПФХ аналізували на підставі розщеплення основної смуги $\nu\text{C}=\text{O}$ 1734 cm^{-1} на дві компоненти: груп, зв'язаних з водою (низькочастотна компонента) та не зв'язаних (високочастотна компонента). В полярній області мембрани спостерігається взаємне ослаблення дегідратуючої дії холестерину і GS на фосфатні групи ДПФХ (Рис. 5.15, а), а

також збільшення гідратації карбонільних груп ліпідів в присутності GS (Рис. 5.15, б).

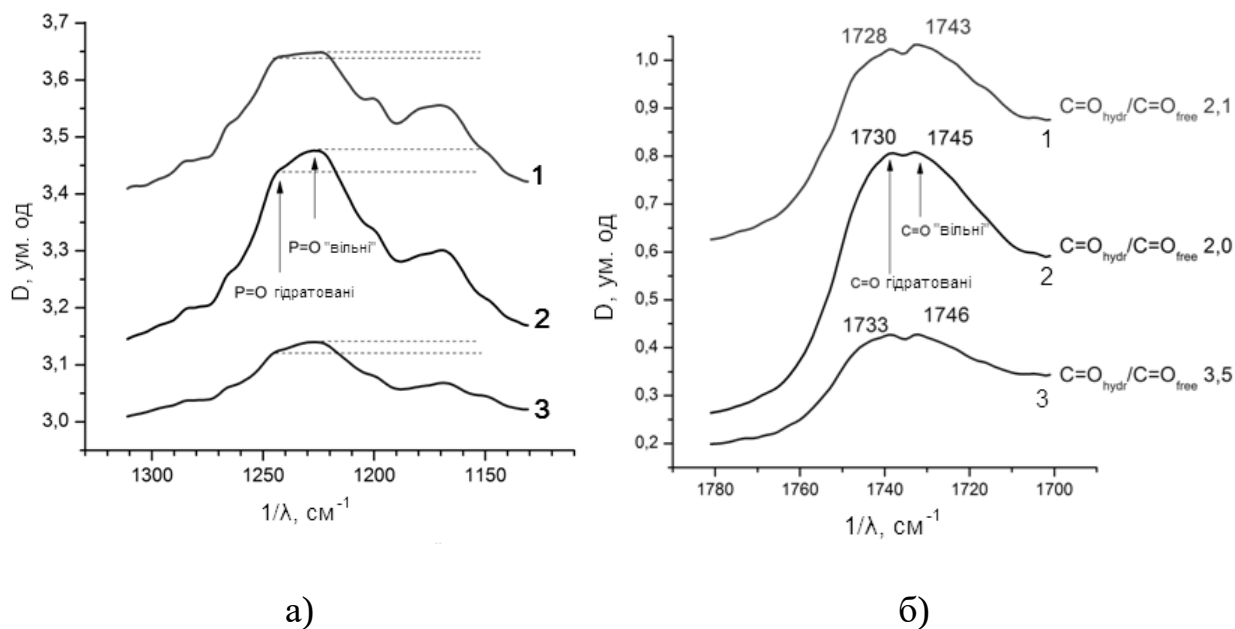


Рисунок 5.15. Характеристики смуг поглинання $\nu\text{P=O}$ та C=O (1734 cm^{-1}) груп ДПФХ: 1 – мембрана ДПФХ без домішок; 1 – мембрана ДПФХ-Х; 3 – мембрана ДПФХ-Х із вмістом 8 мол. % GS. У підписах над спектрами – хвильові числа максимумів складових піків; зправа від спектрів – значення співвідношення площин низькочастотної та високочастотної компоненти.

В цілому, МД GS якісно змінюється в залежності від ліпідного складу мембрани, що відображується у змінах смуг метиленових, карбонільних і фосфатних груп ліпідів (Табл. 5.5). У негативно зарядженій мембрані, що містить ДПФГ, GS викликає дегідратацію фосфатних груп та порушення упаковки вуглеводневих ланцюгів, тоді як у мембрані ДПФХ-Х ефект зворотній. Таким чином, у мембранах різного ліпідного складу не простежується чіткої кореляції між гідратацією поверхні мембрани та впорядкуванням алкільних ланцюгів, що може свідчити про існування додаткових керуючих механізмів в таких системах.

Таблиця 5.5

**Зміни коливань функціональних груп ліпідів в присутності GS у
мембранах різного складу**

Група Мембрана	CH ₂	C=O	P=O
ДПФХ-ДПФГ	напівширина $\nu_{as}CH_2$ та $\delta CH_2 \uparrow$	без змін	гідратація $\downarrow$
ДПФХ-Ц	напівширина νCH_2 $\downarrow \delta CH_2 \uparrow$	без змін	без змін
ДПФХ-Х	напівширина νCH_2 та $\delta CH_2 \downarrow$	гідратація $\uparrow$, гіп- сохромний зсув	гідратація $\uparrow$

5.4. Висновки до розділу 5.

1. Встановлено 2 типи зв'язування граміцидину S з ліпідними мембранами, які відповідають зв'язуванню мономерів і олігомерів. За результатами дослідження ряду модельних мембран різного складу показано істотне підвищення зв'язування граміцидину S з мембраною ДПФХ:холестерин. При спільному введенні в мембрану ДПФХ GS і іонів Ca²⁺ (100 і 200 мМ CaCl₂) встановлено їх незалежне зв'язування з мембраною.
2. Показано, що кон'югати метотрексату і бетулонової кислоти у багатокомпонентній ліпідній мембрані, що містить холестерин, переважно зв'язуються з холестерин-збагаченою ліпідною фазою. Встановлено високі коефіцієнти лінійної кореляції між деякими молекулярними параметрами кон'югатів (коефіцієнтом ліпофільності і коефіцієнтом анізотропії) і параметрами їх мембранотропної дії (температурами фазових переходів мембран ДПФХ та ДПФХ-ДПФЕ-Х і проникністю Caco-2 клітин).

3. Встановлено, що поліакриламідні полімери з наночастинками Au в нейтральній і поліаніонній формі виявляли найбільш сильну мембранотропну дію у всіх типах мембран в порівнянні з ненавантаженими полімерами та полімерами з наночастинками Ag. Негативно заряджені мембрани ДПФХ-ДПФГ і ДПФХ-КЛ виявилися більш чутливими до введення полімерів, ніж мембрана ДПФХ.

Основні результати цього розділу викладені в роботах: [6]; [12]; [20]; [23]; [24].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі дано вирішення актуальної наукової задачі – встановлення ефектів спільної дії лікарських речовин у багатокомпонентних системах на основі модельних ліпідних мембран у рівноважному та кінетичному режимах. Основні результати можна підсумувати таким чином:

1. Встановлено та охарактеризовано мембранотропну дію водорозчинних ЛР тилорону та диметилсульфоксиду при їх адсорбції на мембрані ДПФХ. Запропоновано феноменологічну модель, що описує мембранотропну дію водорозчинних ЛР як появу додаткового латерального тиску на мембрану, позитивного для космотропів і негативного для хаотропів.
2. У рамках моделі адсорбції Фрейндліха встановлено, що для Ce^{3+} зсув температури основного фазового переходу на одиницю концентрації на порядок більше ніж для Ca^{2+} , що є одним з факторів біологічної дії іонів церію при його конкуренції з Ca^{2+} .
3. Показано зміну ефектів спільної мембранотропної дії антибіотику циклосерину в залежності від хімічної будови допоміжної речовини. Так, в разі стеаратів кальцію і магнію мав місце ефект синергізму, а для стеаринової кислоти – адитивність їх мембранотропної дії з циклосерином.
4. Запропоновано методику вивчення кінетики спільної мембранотропної дії, за допомогою якої показано полегшення пасивної трансмембранної дифузії тилорону в присутності ДМСО.
5. Встановлено, що у багатокомпонентній ліпідній мембрані, яка містить холестерин, кон'югати метотрексату та бетулонової кислоти переважно зв'язуються з холестерин-збагаченою ліпідною фазою. Встановлено високі коефіцієнти лінійної кореляції між молекулярними параметрами кон'югатів (коефіцієнтом ліпофільності та коефіцієнтом анізотропії) і параметрами їх мембранотропної дії (температурами фазових переходів мембрани ДПФХ та проникністю *Caco-2* клітин).

6. За результатами дослідження ряду модельних ліпідних мембран різного складу показано істотне підвищення зв'язування граміцидину S з мембраною ДПФХ:холестерин. При спільному введенні в мембрану ДПФХ граміцидину S та іонів Ca^{2+} встановлено їх незалежне зв'язування з мембраною.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 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.
2. 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.
3. Vashchenko O.V., Kasian N.A., Budianska L.V. Comparative study of stearic acid, calcium and magnesium stearates as dopants in model lipid membranes // Func. Mater. 2018. Vol. 25 (2). P. 300-307.
4. 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 (3). P. 422-431.
5. Lonhus K., Budianska L., Lisetski L. Meaning of activation energy in phospholipid multibilayers phase transitions // Chem. Phys. Lipids. 2017. Vol. 206. P. 53-59.
6. 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(1). P. 9-16.
7. 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. P. 123-129.

8. Vashchenko O.V., Kasian N.A., Budianska L.V., Brodskii R.Ye., Beshpalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospholipid membranes // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 275. P. 173-177.

9. 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 (2). P. 795-801.

10. Vashchenko O.V., Sadchenko A.O., Budianska L.V. Hydration properties of drug compounds by the evidence of thermogravimetry analysis // 7th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 27-30 May 2016: abstracts. Kyiv, 2016. P. 40.

11. Budianska L.V., Vashchenko O.V. Pharmaceutical interactions in model lipid bilayers by means of differential scanning calorimetry // VII intern. conf. for young scientists, 6-10 June 2016: abstracts. Kharkiv. 2016. P. 150.

12. 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 Укр. конф. з органічної хімії, 19-23 вересня 2016: тези доп. Полтава, 2016. С. 285.

13. Будянская Л.В., Ващенко О.В., Касян Н.А., Садченко А.О. Совместное действие компонентов лекарственных препаратов в модельных липидных мембранах // Школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения», 11-14 сентября 2016: тезисы докл. Харьков, 2016. С.7.

14. Budianska L., Vashchenko O., Kasian N., Sadchenko A. Combined action of pharmaceuticals in model lipid bilayers studied by means of differential scanning calorimetry // YSF-2016, 10-14 October 2016: abstracts. Kharkiv, 2016. BMP-10.

15. Budianska L.V., Kasian N.A., Vashchenko O.V. Some aspects of joint

drugs action in lipid membrane // VIII intern. conf. for professionals & young scientists LOW TEMPERATURE PHYSICS, 29 May - 2 June: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 160.

16. Будянская Л.В., Ващенко О.В., Касян Н.А. Различия в индивидуальном и совместном действии стеаратов кальция и магния // Международная школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения», 10-13 сентября 2017: тезисы докл. Харьков, 2017. С. 16.

17. 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 // XXIII Galyna Puchkovska Intern. School-Seminar “Spectroscopy of molecules and crystals”, 20-25 September 2017: abstracts. Kyiv, 2017. P. 113.

18. Budianska L.V., Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N. Distinction in individual and joint membranotropic action of calcium and magnesium stearates // 5th intern. conf. «NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects», 2 – 5 October 2017: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 42.

19. Budianska L.V., Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N. Membranotropic effects of lauric acid, fenspirid and kaoline in model lipid membranes: impact of lipid composition // 8th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 18-22 May 2018: abstracts. Kyiv, 2018. P. 44.

20. 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 on model lipid membranes of various compositions // XI intern. conf. “Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials (ICEPOM – 11)”, 21-25 May 2018: abstracts. Ivano-Frankivsk, 2018. P. 33.

21. Budianska L.V., Vashchenko O.V., Kasian N.A. Comparative membrano-

tropic action of dopants in model lipid membranes of various compositions // IX intern. conf. for professionals & young scientists "LOW TEMPERATURE PHYSICS" dedicated to the 100th anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine, 4 -8 June 2018: abstracts. Kharkiv, 2018. P. 142.

22. Будянская Л.В., Ващенко О.В., Касян Н.А. Совместное мембранотропное действие лекарственных веществ в модельных липидных мембранах различного состав // Міжнародна школа-семінар «Функціональні матеріали для технічних та біомедичних застосувань», 05 – 08 вересня 2018: тези доп. Харків, 2018. С. 13.

23. Будянская Л.В., Ващенко О.В., Берест В.П., Софронов Д.С. Грамицидин S в многокомпонентных липидных мембранах: роль липидного состава // XII Міжнародна конференція по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці, 18-20 жовтня 2018: тези доп. Київ, 2018. С. 10.

24. 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: тези доп. Київ, 2018. С. 42.

25. Seydel J.K., Wiese M. Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling. Weinheim, Wiley-VCH. 2002. 349 p. <https://doi.org/10.1002/3527600639>.

26. Lúcio M., Lima J.L.F.C., Reis S., Drug-membrane interactions: significance for medicinal chemistry // Curr. Med. Chem. 2010. Vol. 17. P. 1795–1809.

27. 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.

28. Pignatello R., Musumeci T., Basile L., 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.

29. Mavromoustakos T.M. The use of differential scanning calorimetry to study drug – membrane interactions // Methods Mol. Biol. 2007. Vol. 400. P. 587-600.

30. Накагаки М. Физическая химия мембран. Москва: Мир. 1991. 255 с.

31. Singer S.J., Nicolson G.L. The fluid mosaic model of cell membranes // Science. 1972. Vol. 175. P. 720-731.

32. Eeman M., Delen M. From biological membranes to biomimetic model membranes // Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2010. Vol. 14 (4). P. 719 –736.

33. Mouritsen O.G. Life — as a matter of fat. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2005. 276 p.

34. Генис Р.Б. Биомембраны. Пер. с англ. Москва: Мир, 1997. 624с.

35. Барсуков Л.И. Биологические мембраны. Под ред. Дж. Б. С. Финдлея и В. Х. Эванза, пер. с англ., Москва: Мир. 1990. 424 с.

36. Helfrich, W. Elastic Properties of Lipid Bilayer: Theory and Possible Experiments // Z. Naturforsch. 1973. Vol. 28. P. 693-703.

37. Brockman H. Lipid monolayers: why use half a membrane to characterize protein – membrane interactions? // Curr. Opin. Struct. Biol. 1999. Vol. 9. P. 438 - 443.

38. Maget–Dana R. The monolayer technique: a potent tool for studying the interfacial properties of antimicrobial and membrane – lytic peptides and their interaction with lipid membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1999. Vol. 1462. P. 109-140.

39. Seitz P.C., Reif M., Yoshikawa K., Jordan R., Tanaka M. Dissipative Structure Formation in Lipid/Lipopolymer Monolayers // J. Phys. Chem. B. 2011.

Vol. 115. P. 2256–2263.

40. Liljeblad J.F.D., Bulone V., Rutland M.W., Johnson C.M. Supported Phospholipid Monolayers. The Molecular Structure Investigated by Vibrational Sum Frequency Spectroscopy // J. Phys. Chem. C. 2011. Vol.115. P. 10617–10629.

41. Livanec P.W., Huckabay H.A., Dunn R.C. Exploring the Effects of Sterols in Model Lipid Membranes Using Single-Molecule Orientations // J. Phys.Chem. B. 2009. Vol. 113. P. 10240–10248.

42. Pavinatto F.J., Pacholatti C.P., Montanha E.A., Caseli L., Silva H.S., Miranda P.B., Viitala T., Oliveira O.N. Jr. Cholesterol Mediates Chitosan Activity on Phospholipid Monolayers and Langmuir-Blodgett Films // Langmuir. 2009. Vol. 25 (17). P. 10051–10061.

43. Santos H.A., Garcia-Morales V., Roozeman R.-J., Manzanares J.A, Kontturi K. Interfacial Interaction between Dextran Sulfate and Lipid Monolayers: An Electrochemical Study // Langmuir. 2005. Vol. 21. P. 5475-5484.

44. Биологические мембраны. Двенадцать очерков о структуре, свойствах и функциях мембран. Под ред. Д. Парсона. Москва: Атомиздат. 1978. 230 с.

45. Nii T., Ishii F. Encapsulation efficiency of water-soluble and insoluble drugs in liposomes prepared by the microencapsulation vesicle method // Int. J. Pharm. 2005. V. 298 (1). P. 198-205.

46. Thompson A.K., Couchoud A., Singh H. Comparison of hydrophobic and hydrophilic encapsulation using liposomes prepared from milk fat globule-derived phospholipids // Dairy Sci. Technol. 2009. V. 89. P. 99-113.

47. Seddon J.M, Templer R.H. Polymorphism of lipid-water systems // Handbook of Biological Physics. 1995. Vol. 1 (3). P. 97-160.

48. Epand R. M. Lipid polymorphism in protein-lipid interactions // Bio-

chimica biophysica acta. 1998. Vol. 1376. P. 353-368.

49. Lewis R., McElhaney R. The Mesomorphic Phase Behavior of Lipid Bilayers // The Structure of Biological Membranes. ed. by P. Yeagle; CRC Press. 2012. P. 19-89.

50. Lipowsky R., Sackmann E. Physical basis of self-organization and function of membranes: physics of vesicles. // Handbook of biological physics. 1995. Vol. 1. P. 519.

51. Sun W-J., Tristram-Nagle S., Nagle J.F., Suter R.M. Structure of gel phase saturated lecithin bilayers. Temperature and chain length // Biophys. J. 1996. Vol. 71. P. 885-891.

52. McIntosh T.J. Differences in hydrocarbon chain tilt between hydrated phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine bilayers. A molecular packing model // Biophys. J. 1980. Vol. 29. P. 237–246.

53. Sum A.K., Faller R., de Pablo J.J. Molecular simulation study of phospholipid bilayers and insights of the interactions with disaccharides // Biophys J. 2003. Vol. 85. P. 2830–2844.

54. Parente R.A., Lentz B.R. Phase behavior of large unilamellar vesicles composed of synthetic phospholipids // Biochemistry. 1984. Vol. 23. P. 2353-2362.

55. Tenchov B.G., Boyanov A.I., Koynova R.D. Lyotropic polymorphism of racemic dipalmitoylphosphatidylethanolamine. A differential Scanning calorimetry study // Biochemistry. 1984. Vol. 23. P. 3553-3555.

56. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. Липидные мембраны при фазовых превращениях. Москва: Наука. 1988. 135 с.

57. Blume A. Apparent molar heat capacities of phospholipids in aqueous dispersion. Effects of chain length and head group structure // Biochemistry. 1983. Vol. 22. P. 5436-5442.

58. Boggs J.M. Lipid intermolecular hydrogen bonding: influence on structural organization and membrane function // *Biochim. Biophys. Acta*. 1987. Vol. 906. P. 353-404.
59. Cevc G. How membrane chain melting properties are regulated by the polar surface of the lipid bilayer // *Biochemistry*. 1987. Vol. 26. P. 6305-6310.
60. Викторов А.П., Передрий В.Г., Щербак А.В. Взаимодействие лекарств и пищи. Киев: Здоровья. 1991. 240 с.
61. Кукес В.Г. Взаимодействие лекарственных средств // *Фармакол. и токсикол.* 1991. Вып. 2. С. 82-85.
62. Orme M. Drug absorption in the gut // *Br. J. Anaesth.* 1984. Vol. 56. P. 59-67.
63. Cullis P.R., Fenske D.B., Hope M.J. Physical properties and functional roles of lipids in membranes // *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, Elsevier Science, Amsterdam. 1996. Vol. 31 (3). P. 1–33.
64. 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, Methods in Membrane Lipids*. 2007. Vol. 400. P. 171–195.
65. Pinheiro M., Silva A.S., Pisco S., Reis S. Interactions of isoniazid with membrane models: Implications for drug mechanism of action // *Chemistry and Physics of Lipids*. 2014. Vol. 183. P. 184–190.
66. Castillo J.A., Clapés P., Infante M.R., Comas J., Manresa Á. 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. of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006. Vol. 57. P. 691–698.
67. Knobloch J., Suhendro D.K., Zieleniecki J.L. Shapter J.G., Köper I.

Membrane–drug interactions studied using model membrane systems // Saudi Journal of Biological Sciences. 2015. Vol. 22 (6). P. 714–718.

68. 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 // Chemistry and Physics of Lipids. 2006. Vol. 144. P. 85–95.

69. Sadchenko A.O., Vashchenko O.V., Kasian N.A., Budianska L.V., Lisetski L.N. Correlations between thermostability of multibilayer lipid structure and molecular parameters of guest molecules // Funct. Mater. 2016. Vol. 23 (2). P. 230–235.

70. Collins K.D. Ions from the Hofmeister series and osmolytes: effects on proteins in solution and in the crystallization process // Methods. 2004. Vol. 34. P. 300–311.

71. Walrafen G.E. Raman Spectral Studies of the Effects of Urea and Sucrose on Water Structure // J. Chem. Phys. 1966. Vol. 44 (10). P. 3726.

72. Jenkins H.D.B., Marcus Y. Viscosity B-Coefficients of Ions in Solution // Chem. Rev. 1995. Vol. 95. P. 2695.

73. Collins K.D. Sticky ions in biological systems // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. Vol. 92. P. 5553–5557.

74. Collins K.D. Ion hydration: Implications for cellular function, polyelectrolytes, and protein crystallization // Biophys. Chem. 2006. Vol. 119. P. 271–281.

75. Zangi R. Can Salting-In/Salting-Out Ions be Classified as Chaotropes/Kosmotropes? // J. Phys. Chem. B. 2010. Vol. 114. P. 643–650.

76. 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.

77. Galinski E.A. Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, water-solute interaction, stress protection // Experientia. 1993. Vol. 49.

P. 487-496.

78. Plumridge T.H., Waigh R.D. Water structure theory and some implications for drug design // *J. Pharm. Pharmacol.* 2002. Vol. 54. P. 1155-1179.

79. Singh L.R., Poddar N.K., Dar T.A., Kumar R., Ahmad F. Protein and DNA destabilization by osmolytes: the other side of the coin // *J. Iran Chem. Soc.* 2011. Vol. 88 (3). P. 117-125.

80. 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). 1074-1085.

81. 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.

82. 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.

83. 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.

84. Балткайс Я.Я., Фатеев В.А. Взаимодействие лекарственных веществ. Москва: Медицина. 1991. 304 с.

85. Перцев И.М., Башура Г.С., Алюшин М.Т., Дмитриевский Д.И. К вопросу взаимодействия лекарственных и вспомогательных веществ // *Фармация.* 1973. Вып. 5. С. 67.

86. Barrera N.P., Morales B., Torres S., Villalon M. Principles: mechanisms and modeling of synergism in cellular responses // *Trends Pharmacol. Sci.* 2005. Vol. 26 (10). P. 526–532.

87. Chen J., Raymond K. Roles of rifampicin in drug-drug interactions: un-

derlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2006. Vol. 5 (3). <https://doi.org/10.1186/1476-0711-5-3>.

88. Caruso B., Sánchez J.M., García 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.* 2012. Vol. 66 (3). P. 461-475. doi 10.1007/s12013-012-9494-3.

89. Kasian N. A., Pashynska V. A., Vashchenko O. V., Krasnikova A. O., Gömöry A., Kosevich M. V. and 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. P. 3155-3162. doi: 10.1039/c4mb00420e.

90. Belli S. P-glycoprotein, cholesterol and the lipid bilayer: in vitro studies of their mutual interactions // PhD thesis, Zurich, ETH. 2008. 167 p.

91. Lee C.K., Uchida T., Kitagawa K., Yagi A., Kim N.S., Goto S. Relationship between lipophilicity and skin permeability of various drugs from an ethanol-water-lauric acid system // *Biol. Pharm. Bull.* 1994. Vol. 17 (10). P. 1421–1424.

92. 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. <https://doi.org/10.1007/s00249-014-0946-0>.

93. 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.

94. 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 (1). P. 125–134.

95. Caseli L., Pavinatto F.J., Nobre T.M., Zaniquelli M.E., Viitala T., Oliveira O.N. Chitosan as a removing agent of β -lactoglobulin from membrane models // *Langmuir*. 2008. Vol. 24. P. 4150–4156.

96. 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.

97. Ricci M., Oliva R., Del Vecchio P., Paolantoni M., Morresi A.P., Sassi P. DMSO-induced perturbation of thermotropic properties of cholesterol-containing DPPC liposomes // *Biochim. Biophys. Acta*. 2016. Vol. 1858. P. 3024–3031.

98. Severcan F., Durmus H.O., Eker F., Akinoglu B.G., Haris P.I. Vitamin D2 modulates melittin–membrane interactions // *Talanta*. 2000. Vol. 53. P. 205–211.

99. 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 HII phase formation in dioleoylphosphatidylcholine model membranes // *Biochim. Biophys. Acta*. 1987. Vol. 905. P. 222–226.

100. Pashynska V., Stepanian S., Gomöry A., Vekey K., Adamowicz L. Competing intermolecular interactions of artemisinin-type agents and aspirin with membrane phospholipids: combined model mass spectrometry and quantum-chemical study // *Chem. Phys.* 2015. Vol. 455. P. 81–87.

101. Pashynska V., Stepanian S., Gomory A., Vekey K., Adamowicz L. New cardioprotective agent flokalin and its supramolecular complexes with target amino acids: an integrated mass-spectrometry and quantum-chemical study // *J. Mol. Struct.* 2017. Vol. 1146. P. 441–449.

102. Sargent D.F., Schwyzer R. Membrane lipid phase as catalyst for peptide-receptor interactions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Biochemistry*. 1986. Vol. 83. P.

5774-5778.

103. Mantsch H.H., McElhaney R.N. Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy // *Chem. Phys. Lipids*. 1991. Vol. 57. P. 213-226.

104. 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.

105. 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.

106. 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.

107. 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 (4). P. 590-606.

108. Bouwstra J.A., Dubbelaar F.E.R., Gooris G.S., Ponc M. The lipid organisation in the skin barrier // *Acta Derm. Venereol.* 2000. Vol. 208. P. 23 - 30.

109. Groen D., Gooris G. S., Bouwstra J. A. New insights into the stratum corneum lipid organization by X-ray diffraction analysis // *Biophys. J.* 2009. Vol. 97. P. 2242–2249.

110. Kiselev M.A. Methods for lipid nanostructure investigation at neutron and synchrotron sources // *Phys. Part. Nuclei*. 2011. Vol. 42 (2). P. 302-331.

111. 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.

112. Picquart M., Nicolas E., Lavialle F. Membrane-damaging action of ricin

on DPPC and DPPC-cerebrosides assemblies. A Raman and FTIR analysis // *Eur. Biophys. J.* 1989. Vol. 17 (3). P.143-149.

113. Feigenson G.W. Phase diagrams and lipid domains in multicomponent lipid bilayer mixtures // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. Vol. 1788. P. 47–52.

114. Ohtake S., Schebor C., Palecek S.P., de Pablo J.J. Phase behavior of freeze-dried phospholipid–cholesterol mixtures stabilized with trehalose // *Biochimica et Biophysica Acta.* 2005. Vol. 1713. P. 57 – 64.

115. 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 // *Biochemistry.* 1993. Vol. 32. P. 516 – 522.

116. Mannock D.A., Lewis R.N.A.H., McMullen T., 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 (6). P. 403–448.

117. 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.

118. 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 – 11.

119. Orczyk M., Wojciechowski K., Brezesinski G. Disordering effects of digitonin on phospholipid monolayers // *Langmuir.* 2017. Vol. 33 (15). P. 3871–3881.

120. Tominaga J., Shima T., Fons P., Simpson R., Kuwahara M., Kolobov A. What is the origin of activation energy in phase-change film? // *Jpn. J. Appl.*

Phys. 2009. Vol. 48 (3). 03A053. doi:<http://dx.doi.org/10.1143/JJAP.48.03A053>.

121. Fultz B. Phase Transitions in Materials. Cambridge: Cambridge University Press. 2009. <http://dx.doi.org/10.1017/cbo9781107589865>.

122. Blagojevic V., Obradovic N., Cvjeticanin N., Minic D. Influence of dimensionality on phase transition in VO₂ nanocrystals // Sci. Sinter. 2013. Vol. 45 (3). P. 305–311. doi:<http://dx.doi.org/10.2298/sos1303305b>.

123. Sharma D. Non-isothermal kinetics of melting and nematic to isotropic phase transitions of 5C liquid crystal // J. Therm. Anal. Calorim. 2010. Vol. 102 (2). P. 627–632. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10973-010-0837-2>.

124. Beguin A., Billard J., Bonamy F., Buisine J.M., Cuvelier P., Dubois J.C., Barny P.L. Sources of Thermodynamic Data on Mesogens // Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1984. Vol. 115. P. 1.

125. Рубин А.Б., Пытьева Н.Ф., Резниченко Г.Ю. Кинетика биологических процессов. Москва: Московский государственный университет. 1987. 312 с.

126. Mavromoustakos T.M. The use of differential scanning calorimetry to study drug-membrane interactions // Methods Mol Biol. 2007. Vol. 400. P. 587–600.

127. Araújo A.A.S., dos Santos Bezerra M., Storpirtis S., do Rosário Matos J. Determination of the melting temperature, heat of fusion, and purity analysis of different samples of zidovudine (AZT) using DSC // Braz. J. Pharm. Sci. 2010. Vol. 46 (1). P. 37–43. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502010000100005>.

128. Schoppe A., Hinz H.-J., Gerdes R., Redlich H., Rapp G. Activation energies and kinetics of glycolipid phase transitions // Chem. Phys. Lipids. 1999. Vol. 103 (1–2). P. 95–115. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0009-3084\(99\)00094-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-3084(99)00094-8).

129. Tristram-Nagle S., Moore T., Petrache H.I., Nagle J.F. DMSO produces a new subgel phase in DPPC: DSC and X-ray diffraction study // Biochim. Bio-

phys. Acta. 1998. Vol. 1369. P. 19-33.

130. 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.

131. 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.

132. 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.

133. Albon N., Sturtevant J.M. Nature of the gel to liquid crystal transition of synthetic phosphatidylcholines // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1978. Vol. 75. P. 2258–2260.

134. Wadsö I. Thermochemistry of living cell systems. / In: Jones MN, editor. // *Biochemical thermodynamics.* Amsterdam: Elsevier. 1988. P. 241–309.

135. Mabrey S, Sturtevant JM. Investigation of phase transitions of lipids and lipid mixtures by high sensitivity differential scanning calorimetry // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1976. Vol. 73. P. 3862–3866.

136. 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. P. 35–41.

137. 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 Matter Phys.* 2015. Vol. 2015, 14 p., Article ID 479318. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/479318>.

138. Denisov I.G., McLean M.A., Shaw A.W., Grinkova Y.V., Sligar S.G. Thermotropic phase transition in soluble nanoscale lipid bilayers // *J Phys Chem B*. 2005. Vol. 109 (32). P. 5580–5588.
139. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного бислоя. Москва: Наука. 1981. 296 с.
140. Gennis R.B. Biomembranes. Molecular structure and functions. 1st ed. New York: Springer. 1997. 417 p.
141. 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.
142. Shimshick E.J., McConnell H.M. Lateral phase separation in phospholipid membranes // *Biochem*. 1973. Vol. 12 (12). P. 2351–2360.
143. 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.
144. 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.
145. Mouritsen O.G., Jorgensen K. Dynamical order and disorder in lipid bilayers // *Chem Phys Lipids*. 1994. Vol. 73. P. 3–25.
146. 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.
147. Alaouie A.M., Smirnov A.I. Cooperativity and kinetics of phase transitions in nanopore-confined bilayers studied by differential scanning calorimetry // *Biophys J Biophys Lett*. 2005. Vol. 88 (2). P. 11–13.
148. Sapia P., Sportelli L. Effect of high electrolyte concentration on the co-

operativity of the main phase-transition of DPPC // *J Phys II Fr.* 1994. Vol. 4. P. 1107–1116.

149. Owusu-Ware S.K., Chowdhry B.Z., Leharne S.A., Antonijevic M.D. Phase behaviour of dehydrated phosphatidylcholines // *J Therm Anal Calorim.* 2017. Vol. 127 (1). P. 415–421.

150. Heerklotz H. The microcalorimetry of lipid membranes // *J Phys Condens Matter.* 2004. Vol. 16. P. 441–467.

151. 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.

152. Blicher A., Wodzinska K., Fidorra M., Winterhalter M., Heimburg T. The temperature dependence of lipid membrane permeability, its quantized nature, and the influence of anesthetics // *Biophys J.* 2009. Vol. 96. P. 4581–4591.

153. Kharakoz D.P. On a possible physiological role of phase transition “liquid-solid” in biological membranes // *Uspekhi Biol Khimii.* 2001. Vol. 41. P. 333–364.

154. Levy D., Briggman K. Cholesterol/phospholipid interactions in hybrid bilayer membranes // *Langmuir.* 2007. Vol. 23. P. 7155–7161.

155. Gruszecki W.I., Wojtowicz K., Misiak L.E., Smal A. Effect of zeaxanthin on the structure and dynamics of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers // *Ann Univ Mariae Curie Sklodovska.* 1991/1992. Vol. 46/47 (16). P. 143–149.

156. 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.

157. Pruchnik H., Bonarska-Kujawa D., Zylka R., Oszmianski J., Kleszczynska H. Application of the DSC and spectroscopy methods in the analysis of the protective effect of extracts from the blueberry fruit of the genus *vaccinum* in relation to the lipid membrane // *J Therm Anal Calorim.* 2018. Vol. 134. P. 679–689.

158. 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 Membr Biol*. 2007. Vol. 215(1). P. 57–68.

159. 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 // *Biophys Biochim Acta*. 2018. Vol. 1860 (2). P. 264-271.

160. Sadchenko A.O., Vashchenko O.V., Puhovkin A.Y., Kopeika E.F., Kasian N.A., Budianska L.V., Maschenko A.V., Al-Mughrabi Y.A.M., Sofronov D.S., Lisetski L.N. The characteristics of interactions of pharmaceuticals and their active ingredients with lipid membranes // *Biophysics*. 2017. Vol. 62 (4). P. 570–9.

161. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия: пер. с англ. Москва: Мир. 1982. 328 с.

162. ALOGPS 2.1 program: [electronic resource] // Virtual Computational Chemistry Laboratory – open electronic resource. web: <http://www.vcclab.org/web/alogps/>. 16.17.2017.

163. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y. Simple method of calculating octanol/water partition coefficient // *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1992. Vol. 40. P. 127-130.

164. 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 // *Journal of chemical information and computer sciences*. 1989. Vol. 29. P. 163-172.

165. Tetko I.V. Computing chemistry on the web // *Drug Discovery Today*. 2005. Vol. 10. P. 1497-1500.
166. Tetko I.V., Tanchuk V. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program // *Journal of chemical information and computer sciences*. 2002. Vol. 42. P. 1136-1145.
167. Stewart J.J.P. Computational Chemistry [electronic resource] // web: <http://OpenMOPAC.net> Chem. Theory Comput. 2012. P. 3072-3081. 23.01.2017.
168. PubChem database [electronic resource] // open chemistry database at the National Institutes of Health (NIH) of USA. web: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. 10.04.2017.
169. Stringfellow D.A., Glasgow L.A., Tilorone hydrochloride: an oral interferon-inducing agent // *Antimicrob Agents Chemother*. 1972. Vol. 2. P. 73-78.
170. Krueger R.F., Mayer G.D. Tilorone hydrochloride: an orally active antiviral agent // *Science*. 1970. Vol. 169. P. 1213-1214.
171. Chandra P., Wright G. J. Tilorone hydrochloride: the drug profile // *Top. Curr. Chem*. 1977. Vol. 72. P. 125-148.
172. Ekins S., Lingerfelt M.A., Comer J.E., Freiberg A.N., Mirsalis J.C., O'Loughlin K., Harutyunyan A., McFarlane C., Green C.E., Madrid P.B. Efficacy of tilorone dihydrochloride against ebola virus infection // *Antimicrob. Agents Chemother*. 2018. Vol. 62 (2). pii: e01711-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01711-17>.
173. Jacob S.W., Herschler R. Pharmacology of DMS // *Cryobiology*. 1986. Vol. 23. P. 14-27.
174. 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.
175. 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.

176. Smondyrev A.M., Berkowitz M.L. Molecular Dynamics Simulation of DPPC Bilayer in DMSO // *Biophys. J.* 1999. Vol. 76. P. 2472–2478.

177. Westh P. Preferential interaction of dimethyl sulfoxide and phosphatidylcholine membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. Vol. 1664. P. 217–223.

178. 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.

179. 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.

180. 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.

181. de Ménorval M.A., Mir L.M., Fernández M.L. 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). e41733. doi:10.1371/journal.pone.0041733.

182. He F., Liu W., Zheng S., Zhou L., Ye B., Qi Z. Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membranes // *Mol. Membr. Biol.* 2012. Vol. 29 (3-4). P. 107-113. doi: 10.3109/09687688.2012.687460.

183. Smith E.A., Dea P.K. Differential scanning calorimetry studies of phospholipid membranes: the interdigitated gel phase, in: A.A. Elkordy, (Eds.). *Applications of calorimetry in a wide context – differential scanning calorimetry, iso-*

thermal titration calorimetry and microcalorimetry. InTech. 2013. P. 407-444. doi: 10.5772/51882.

184. 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.

185. Hughes Z.E., Mark A.E., Mancera R.L. Molecular dynamics simulations of the interactions of DMSO with DPPC and DOPC phospholipid membranes // *J. Phys. Chem. B.* 2012. Vol. 116. P. 11911–11923.

186. Gurtovenko A.A., Anwar J. Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide // *J. Phys. Chem. B.* 2007. Vol. 111. P. 10453–10460.

187. Malajczuk Ch.J., Hughes Z.E., Mancera R.L. Molecular dynamics simulations of the interactions of DMSO, mono- and polyhydroxylated cryosolvents with a hydrated phospholipid bilayer // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. Vol. 1828. P. 2041–2055. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.05.010>.

188. Hughes Z.E., Malajczuk Ch.J., Mancera R.L. The effects of cryosolvents on DOPC- β -sitosterol bilayers determined from molecular dynamics simulations // *J. Phys. Chem. B.* 2013. Vol. 117. P. 3362–3375.

189. Hughes Z.E., Mancera R.L. Molecular dynamics simulations of mixed DOPC- β -sitosterol bilayers and their interactions with DMSO // *Soft Matter.* 2013. Vol. 9. P. 2920–2935. <https://doi.org/10.1039/c3sm27805k>.

190. Essmann U., Perera L., Berkowitz M.L. The origin of the hydration interaction of lipid bilayers from MD simulation of dipalmitoylphosphatidylcholine membranes in gel and liquid crystalline phases // *Langmuir.* 1995. Vol. 11. P. 4519-4531.

191. 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. doi:10.1021/jp809443d.

192. Evans C.H. Interesting and useful biochemical properties of lanthanides // *Trends in Biochemical Sciences*. 1983. Vol. 8. P. 445–449.

193. 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. P. 262 - 267.

194. 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.

195. 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.

196. 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 // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 73. P. 42–50.

197. 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. doi: 10.1021/la1019108.

198. 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. doi: 10.1021/la001567w.

199. Binnemans K., Görller-Walrand C. Lanthanide-containing liquid crystals and surfactants // *Chem. Rev.* 2002. Vol. 102. P. 2303-2345.

200. Ohvo-Rekilä H., Ramstedt B., Leppimäki P., Slotte J.P. Cholesterol in-

teractions with phospholipids in membranes // *Progress in Lipid Research*. 2002. Vol. 41. P. 66–97.

201. 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.

202. Фиалков Ю.Я., Житомирский А.Н., Тарасенко Ю.А. Физическая химия неводных растворов. Ленинград: Химия. 1973. 376 с.

203. Romão R.I.S., Gonçalves da Silva A.M. Phase behaviour and morphology of binary mixtures of DPPC with stearonitrile, stearic acid, and octadecanol at the air–water interface // *Chem. Phys. Lipids*. 2004. Vol. 131(1). P. 27-39.

204. Seddon J.M., Templer R.H., Warrender N.A., Huang Z., Cevc G., Marsh D. 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.

205. Webb R.J., East J.M., Sharma R.D., Lee A.G. Hydrophobic mismatch and the incorporation of peptides into lipid bilayers: a possible mechanism for retention in the Golgi // *Biochemistry*. 1998. Vol. 37. P. 673-679.

206. H. Ohvo-Rekila, P. Mattjus, J.P. Slotte, The influence of hydrophobic mismatch on androsterol/phosphatidylcholine interactions in model membranes // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. Vol. 1372 P. 331-338.

207. Danilin V.N., Dotsenko S.P., Martsinkovskiy A.V., Shabalina S.G. Phase diagrams of binary systems formed by saturated fatty acids // *Rus. J. Phys. Chem. A*. 2001. Vol. 75 (1). P. 24-26.

208. Chou T.-C. Drug combination studies and their synergy quantification using the chou-talalay method // *Cancer Res*. 2010. Vol. 70. P. 440.

209. 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.

210. 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.

211. 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.

212. 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.

213. Mojumdar E.H., Groen D., Gooris G.S., Barlow D.J., Lawrence M.J., Deme B., Bouwstra J.A. Localization of cholesterol and fatty acid in a model lipid membrane: a neutron diffraction approach // Biophys. J. 2013. Vol. 105. P. 911–919.

214. Рыбин В.Г., Блинов Ю.Г. Антимикробные свойства липидов // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. 2001. Вып. 129. С. 179-196.

215. Bothun G.D., Boltz L., Kurniawana 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.

216. 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.

217. 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.

218. Woldseth B., Christensen E., Christophersen B.O. Incorporation of stea-

ric acid (18:0) and palmitic acid (16:0) in phospholipid molecular species studied in isolated rat liver // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1993. Vol. 1167. P. 296-302.

219. Gao N., Keane M.J., Ong T., Wallace W.E. Effects of simulated pulmonary surfactant on the cyto-toxicity and DNA-damaging activity of respirable quartz and kaolin // *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. 2000. Vol. 60 (3). P. 153–167.

220. Davis J.M.G., Jaurand M.-C. (Ed.). Cellular and molecular effects of mineral and synthetic dusts and fibers. Berlin – Heidelberg: Springer-Verlag. 1994. 437 p.

221. 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 // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2001. Vol. 175. P. 217–225.

222. Miller I.R., Bach D., Wachtel E.J., Eisenstein M. Interrelation between hydration and interheadgroup interaction in phospholipids // *Bioelectrochemistry*. 2002. Vol. 58. P. 193–196.

223. 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 // *Physical Review E*. 2007. Vol. 76. 051702.

224. Killian J.A. Hydrophobic mismatch between proteins and lipids in membranes // *Biochimica et Bio-physica Acta*. 1998. Vol. 1376. P. 401–416.

225. 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 // *Biophysical Reviews*. 2017. Vol. 9. P. 649–667.

226. Sturtevant J.M. Biochemical applications of differential scanning calo-

rimetry // *Ann Rev Phys Chem*. 1987. Vol. 38. P. 463–88

227. 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.

228. Lewis R.N.A.H. et al. In: *The structure of biological membranes*. P.L. Yeagle P.L. (Ed.), 2nd Ed. Boca Raton: CRC Press. 2004. P. 53.

229. 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.

230. Koynova R., Caffrey M. Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines// *Biochim Biophys Acta*. 1998. Vol. 376. P. 91–145.

231. Stillwell W. *An introduction to biological membranes*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. 2016. 580 p.

232. Hayashi R. *Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology* // Elsevier Science. 2002. Vol. 19. P. 668.

233. Hata T., Matsuki H., Kaneshina S. Effect of local anesthetics on the phase transition temperatures of ether- and ester-linked phospholipid bilayer membranes // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2000. Vol. 18. P. 41–50.

234. Ho C., Slater S.J., Stubbs C.D. Hydration and order in lipid bilayers // *Adv. Biochem*. 1995. Vol. 34. P. 6188-6195. doi: 10.1021/bi00018a023.

235. Murikipudi V., Gupta P., Sihorkar V. 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. doi: 10.3109/10837450.2011.618947.

236. Li J., Wu Y. Lubricants in pharmaceutical solid dosage forms // *Lubricants*. 2014. Vol. 2. P. 21-43. doi:10.3390/lubricants2010021

237. Censi R., Di Martino P. Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly soluble drugs // *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 18759-18776. doi:10.3390/molecules201018759

238. Bharate S.S., Bharate S.B., Bajaj A.N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients - a comprehensive review // *J. Excipients and Food Chem*. 2010. Vol. 1 (3). P. 3-27.

239. Schawe J., Strobl G. Superheating effects during the melting of crystallites of syndiotactic polypropylene analysed by temperature-modulated differential scanning calorimetry // *Polymer*. 1998. Vol. 39 (16). P. 3745–3751. doi:http://dx.doi.org/ 10.1016/S0032-3861(97)10330-5.

240. Yeagle P. *The Membranes of Cells*. 3rd Ed. Boston: Academic Press. 2016. 452 p.

241. 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*. 2018. Vol. 9. P. 881.

242. Yaroslavov A.A., Sybachin A.V., Zaborova O.V., Pergushov D.V., Zezin A.B., Melik-Nubarov N.S., Plamper F.A., McMuller 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.

243. Boscia A.L., Treece B.W., Mohammadyani D., Klein-Seetharaman J., Braun A.R., Wassenaar T.A., Klösgen B.E., Tristram-Nagle S. X-ray structure, thermodynamics, elastic properties and MD simulations of cardiolipin/dimyristoylphosphatidylcholine mixed membranes // *Chem. Phys. Lipids*. 2014. Vol. 178. P. 1-10.

244. 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.

245. 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 ³¹P NMR spectroscopies and conformational analysis // *Biochim. Biophys. Acta*. 2008. Vol. 1778 (11). P. 2535-2243.

246. Nassar P.M., Almeida L.E., Tabak M. Binding of dipyrindamole to DPPG and DPPC phospholipid vesicles: steady-state fluorescence and fluorescence anisotropy decay studies // *Langmuir*. 1998. Vol. 14. P. 6811-6817.

247. 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. doi: 10.1007/s10096-016-2595-y.

248. Grage S.L., Afonin S., Kara S., Buth G., Ulrich A. S. Membrane thinning and thickening induced by membrane-active amphipathic peptides // *Front. Cell Dev. Biol.* 2016. Vol. 4. P. 65. doi: 10.3389/fcell.2016.00065.

249. 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 // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1999. Vol. 1417. P. 211 – 223.

250. Afonin S., Glaser R.W., Sachse C., Salgado J., Wadhwani P., Ulrich A.S. ¹⁹F 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.

Додаток А. Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. 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: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
2. 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: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
3. 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 (2). P. 300–307. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
4. 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 (3). P. 422–431.

Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації у зарубіжних спеціалізованих виданнях:

5. Lonhus K., **Budianska L.**, Lisetski L. Meaning of activation energy in phospholipid multibilayers phase transitions // Chem. Phys. Lipids. 2017. Vol. 206. P. 53–59. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні статті).*
6. 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 (1). P. 9–16. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
7. 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. P. 123–129. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*
8. Vashchenko O.V., Kasian N.A., **Budianska L.V.**, Brodskii R.Ye., Bespalova I.I., Lisetski L.N. Adsorption of ions on model phospholipid

membranes // J. Mol. Liq. 2019. Vol. 275. P. 173–177. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

9. Kasian N., Vashchenko O., **Budianska L.**, Brodskii R., Lisetski L. Cooperative domains in lipid membrane: size determination by calorimetry // J. Therm. Anal. Calorim. 2019. Vol. 136 (2). P. 795–801. Scopus. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні статті).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

10. Vashchenko O.V., Sadchenko A.O., **Budianska L.V.** Hydration properties of drug compounds by the evidence of thermogravimetry analysis // 7th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 27-30 May 2016: abstracts. Kyiv, 2016. P. 40. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
11. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V. Pharmaceutical interactions in model lipid bilayers by means of differential scanning calorimetry // VII intern. conf. for young scientists, 6-10 June 2016: abstracts. Kharkiv. 2016. P. 150. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
12. 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 Укр. конф. з органічної хімії, 19-23 вересня 2016: тези доп. Полтава, 2016. С. 285. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, проведенні калориметричних вимірювань, інтерпретації результатів).*
13. **Будянская Л.В.,** Ващенко О.В., Касян Н.А., Садченко А.О. Совместное действие компонентов лекарственных препаратов в модельных липидных мембранах // Школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и материалы для регистрации ионизирующего излучения», 11-14 сентября 2016: тезисы докл. Харьков, 2016. С.7. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
 14. **Budianska L.,** Vashchenko O., Kasian N., Sadchenko A. Combined action of pharmaceuticals in model lipid bilayers studied by means of differential scanning calorimetry // YSF-2016, 10-14 October 2016: abstracts. Kharkiv, 2016. BMP-10. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні тези).*
 15. **Budianska L.V.,** Kasian N.A., Vashchenko O.V. Some aspects of joint drugs action in lipid membrane // VIII intern. conf. for professionals & young scientists LOW TEMPERATURE PHYSICS, 29 May - 2 June: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 160. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
 16. **Будянская Л.В.,** Ващенко О.В., Касян Н.А. Различия в индивидуальном и совместном действии стеаратов кальция и магния // Международная школа-семинар «Сцинтилляционные процессы и ма-

териалы для регистрации ионизирующего излучения», 10-13 сентября 2017: тезисы докл. Харьков, 2017. С. 16. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*

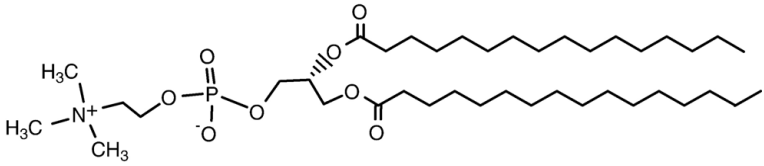
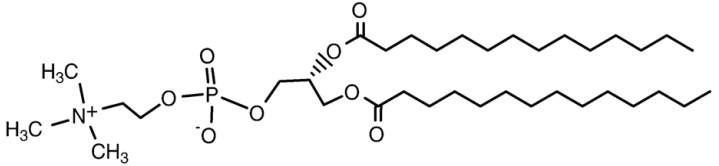
17. **Budianska L.V., Kasian N.A., Vashchenko O.V., Sofronov D.S., Lisetski L.N.** Mutual effect of amixin and DMSO in model lipid membrane by the evidence of DSC and FTIR // XXIII Galyna Puchkovska Intern. School-Seminar “Spectroscopy of molecules and crystals”, 20-25 September 2017: abstracts. Kyiv, 2017. P. 113. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
18. **Budianska L.V., Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N.** Distinction in individual and joint membranotropic action of calcium and magnesium stearates // 5th intern. conf. «NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects», 2 – 5 October 2017: abstracts. Kharkiv, 2017. P. 42. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
19. **Budianska L.V., Vashchenko O.V., Kasian N.A., Lisetski L.N.** Membranotropic effects of lauric acid, fenspirid and kaoline in model lipid membranes: impact of lipid composition // 8th intern. conf. physics of liquid matter: Modern problems, 18-22 May 2018: abstracts. Kyiv, 2018. P. 44. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*

20. **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 on model lipid membranes of various compositions // XI intern. conf. "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials (ICEPOM – 11)", 21-25 May 2018: abstracts. Ivano-Frankivsk, 2018. P. 33. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів).*
21. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V., Kasian N.A. Comparative membranotropic action of dopants in model lipid membranes of various compositions // IX intern. conf. for professionals & young scientists "LOW TEMPERATURE PHYSICS" dedicated to the 100th anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine, 4 -8 June 2018: abstracts. Kharkiv, 2018. P. 142. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
22. **Будянская Л.В.**, Ващенко О.В., Касян Н.А. Совместное мембранотропное действие лекарственных веществ в модельных липидных мембранах различного состава // Міжнародна школа-семінар «Функціональні матеріали для технічних та біомедичних застосувань», 05 – 08 вересня 2018: тези доп. Харків, 2018. С. 13. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*
23. **Будянская Л.В.**, Ващенко О.В., Берест В.П., Софронов Д.С. Грамицидин S в многокомпонентных липидных мембранах: роль липидного состава // XII Міжнародна конференція по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці, 18-20 жовтня 2018: тези доп. Київ,

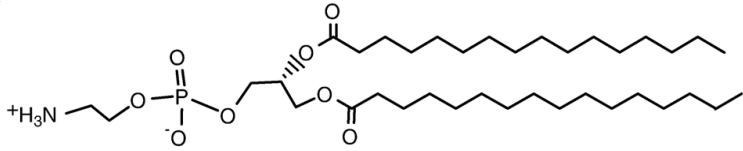
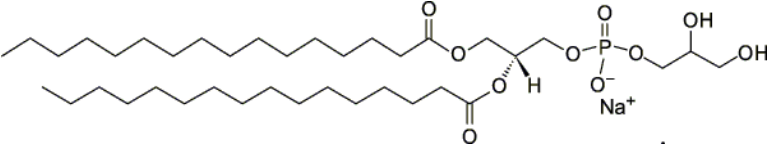
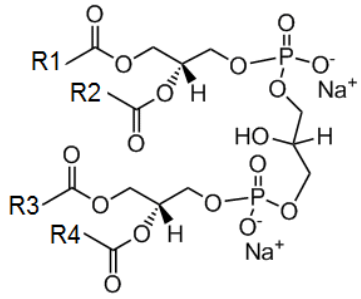
2018. С. 10. *(Особистий внесок здобувача: участь у аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, інтерпретації результатів, написанні тези).*
24. **Budianska L.V.**, Vashchenko O.V., Kasian N.A., Semenenko A.N., Lipson V.V., Zozulya S.A., Zhuravel E.V., Yurchenko V.V., Lisetski L.N. Membranotropic properties of different methotrexate – betulonic acid conjugates // Тематичний VII з'їзд Українського біофізичного товариства, 29-31 жовтня 2018: тези доп. Київ, 2018. С. 42. *(Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналізі літературних даних, підготовці зразків, проведенні експериментів, аналізі та інтерпретації результатів, написанні тези).*

Додаток Б. Структура та деякі характеристики досліджуваних речовин

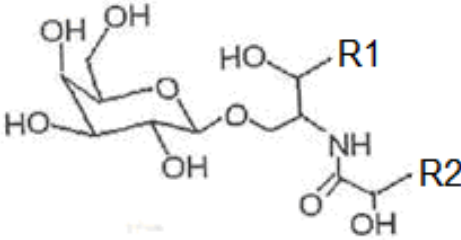
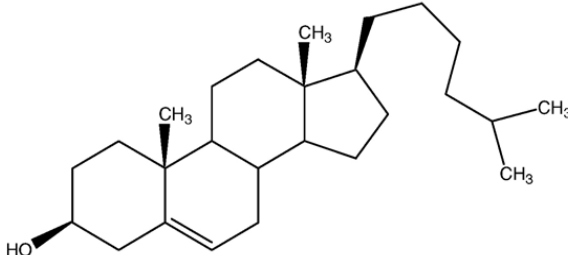
Таблиця Б1. Характеристики речовин, які використовувалися як компоненти модельних ліпідних мембран: структура, молекулярна маса (M), коефіцієнти ліпофільності ($\log P$), коефіцієнт анізотрії (k) та максимальний лінійний розмір ліпідів (r_x).

Назва	Абреві- атура	Структура	M , Да	$\log P$ [168]	k	r_x , Å
1	2	3	4	5	6	7
<i>L</i> - α -дипаль- мітоїлфосфати- дилхолін	ДПФХ		734,1	13,5	0,62	31,9
<i>L</i> - α -диміристоїл- фосфатидилхолін	ДМФХ		677,9	11,3	0,60	30,8

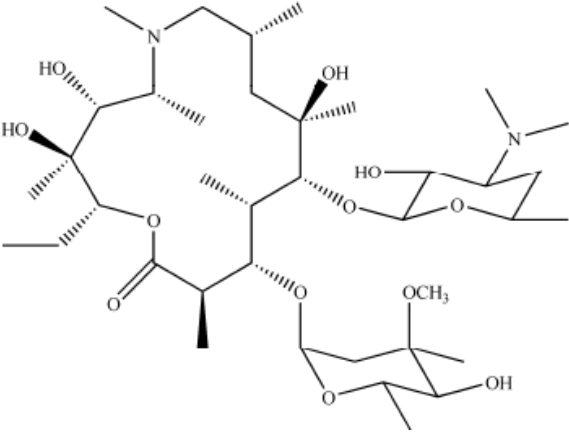
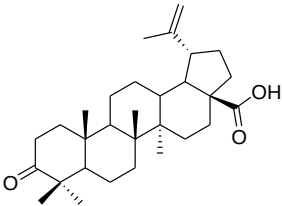
Продовження таблиці Б1

1	2	3	4	5	6	7
<i>L</i> - α -дипальмітоїл-фосфатидил-етаноламін	ДПФЕ		692,0	10,8	0,59	31,9
<i>L</i> - α -дипальмітоїл-фосфатидил-гліцерин	ДПФГ		568,9	12,2	0,46	24,2
Кардіоліпін	КЛ		—	—	—	—

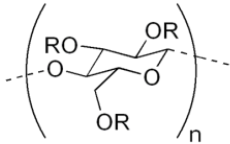
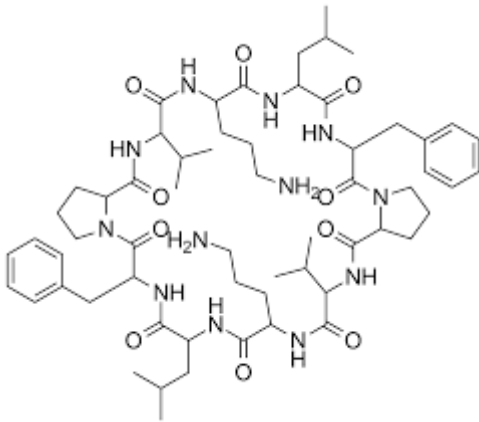
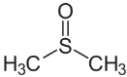
Продовження таблиці Б1

1	2	3	4	5	6	7
Цереброзиди	Ц		—	—	—	—
Холестерин	Х		386,7	8,7	0,30	15,6

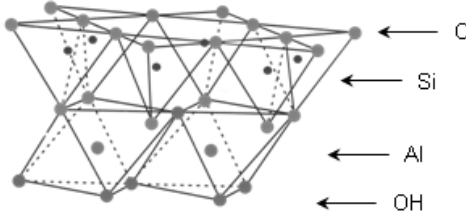
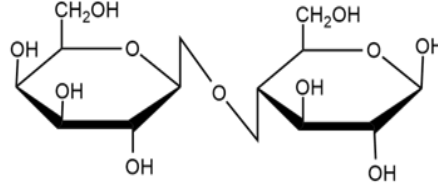
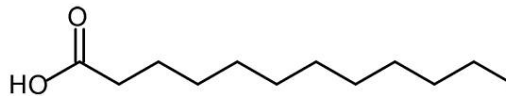
Таблиця Б2. Структурні формули та коефіцієнти ліпофільності досліджуваних лікарських речовин.

№ з/п	Назва	Структура	М, Да	logP
1	2	3	4	5
1.	Азитроміцин		749,0	4,0 [168]
2.	Бетулонова кислота		454,7	7,9 [168]

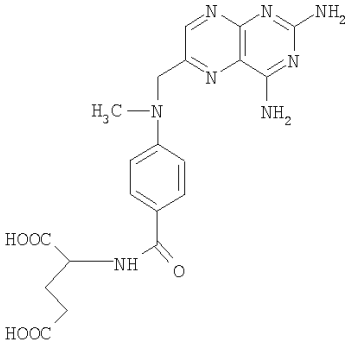
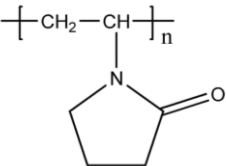
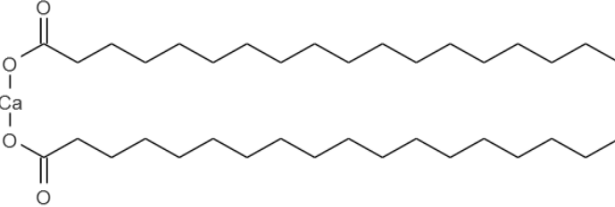
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
3.	Гіпромелоза	 $\text{R} = \text{H} \text{ or } \text{CH}_3 \text{ or } \text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	—	—
4.	Грамідин S		1141,5	4,6
5.	Диметилсульфоксид (ДМСО)		7.81	−0,6 [168]

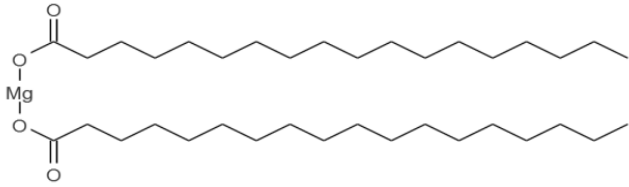
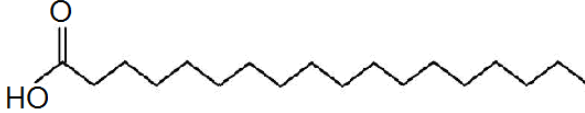
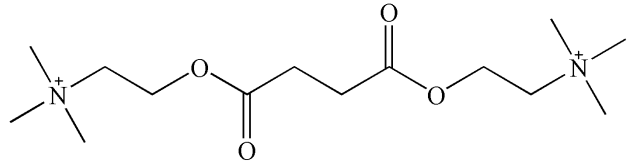
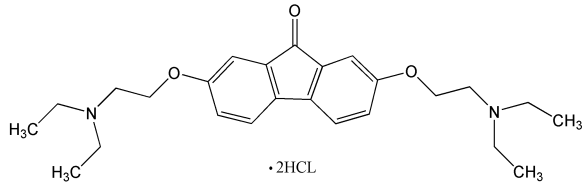
Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
6.	Каолін		—	—
7.	Лактози моногидрат		342,3	−4,7
8.	Лауринова кислота		200,3	4,2 [168]

Продовження таблиці Б2

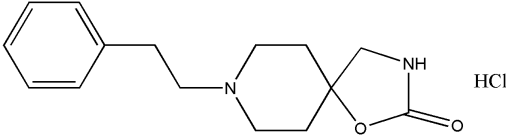
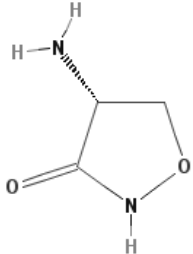
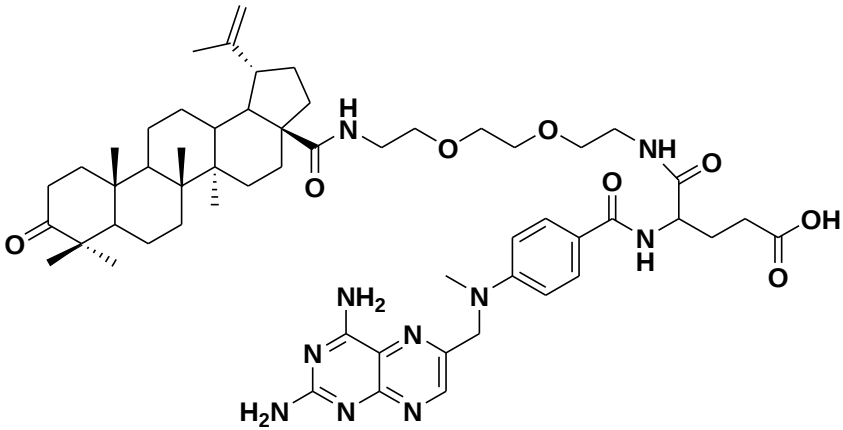
1	2	3	4	5
9.	Метотрексат		454,4	–1,8 [168]
10.	Повідон		—	—
11.	Стеарат кальцію		607	—

Продовження таблиці Б2

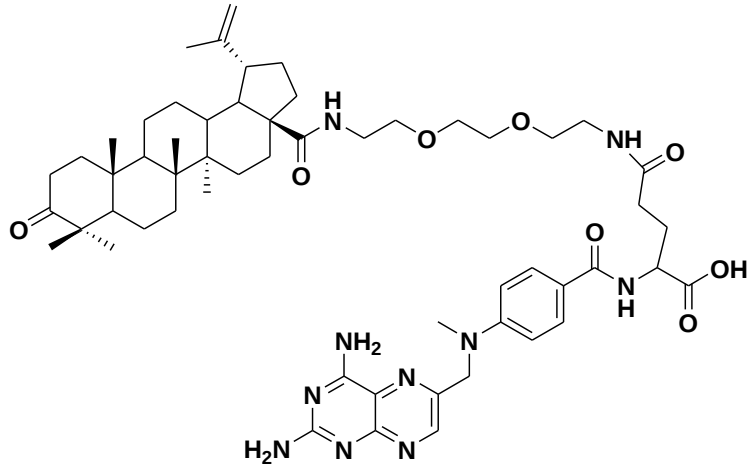
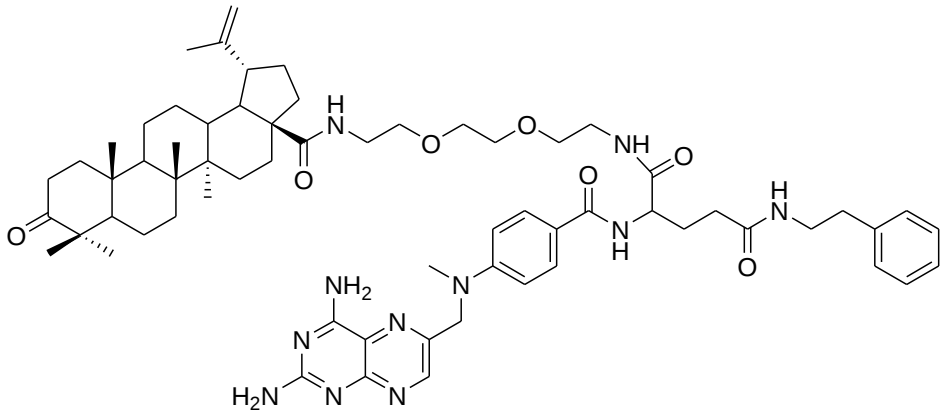
1	2	3	4	5
12.	Стеарат магнію		591,2	7,2
13.	Стеаринова кислота		284,5	7,4
14.	Сукцинілхолін		290,4	0,1
15.	Тилорону дигідрохлорид		483,5	1,7 *

* Визначено д. х. н. Мальцевим Г.В.

Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
16.	Фенспіриду гідрохлорид		296,8	2,1
17.	Циклосерин		102,1	–1,5 [168]
18.	SA-1		1021,3	5,3

Продовження таблиці Б2

1	2	3	4	5
19.	SA-9		1021,3	5,3
20.	SA-188		1124,46	6,3

