

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

**САДЧЕНКО АЛІНА ОЛЕГІВНА**



УДК 577.352.2

**ФІЗИЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ  
СУБСТАНЦІЙ НА ФАЗОВИЙ СТАН МОДЕЛЬНИХ ФОСФОЛІПІДНИХ  
МЕМБРАН**

03.00.02 – біофізика

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фізико-математичних наук

Харків-2016

Дисертацією є рукопис.

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

**Науковий керівник:** доктор фізико-математичних наук, професор  
**Лисецький Лонгін Миколайович**,  
Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України,  
провідний науковий співробітник відділу  
молекулярних та гетероструктурованих матеріалів

**Офіційні опоненти:**

доктор фізико-математичних наук, професор  
**Гордієнко Ольга Іванівна**, виконуючий обов'язки  
завідувача відділу низькотемпературного  
консервування Інституту проблем кріобіології і  
кріомедицини НАН України.

доктор фізико-математичних наук, старший  
науковий співробітник **Єсилевський Семен  
Олександрович**, провідний науковий співробітник  
відділу фізики біологічних систем Інституту фізики  
НАН України

Захист відбудеться –02” лютого 2017 р. о 14<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої  
вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В.Н.  
Каразіна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4.

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

Автореферат розіслано –29” грудня 2016 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради



Берест В.П.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Однією з найважливіших задач сучасної біофізики є з'ясування механізмів впливу різних хімічних речовин на фазовий стан фосфоліпідних мембран. Ця задача є складовою загальної проблеми, яку в літературі називають “drug-membrane interactions” – взаємодія фармпрепаратів з клітинними мембранами. Оскільки нативні клітинні мембрани мають складну структуру і не завжди визначений склад, для біофізичних досліджень звичайно використовують модельні фосфоліпідні мембрани (найпростішим класичним прикладом є мультиламелярні структури гідратованого дипальмітоїл-фосфатидилхоліну (ДПФХ) та інших фосфоліпідів. Аналіз літератури дозволяє вказати три аспекти досліджень у цьому напрямку. По-перше, зв'язок між мембранотропною дією і терапевтичною активністю встановлений для низки фармпрепаратів: локальних анестетиків, деяких антибіотиків тощо. Далі, мембранотропна дія фармпрепарату тісно пов'язана з проникністю мембрани для нього, і визначення взаємодії препарату з модельними мембранами може бути важливим для визначення характеристик їхньої проникності. Нарешті, оскільки модельні фосфоліпідні мембрани є прикладами ліотропних рідкокристалічних фаз, дослідження впливу біологічно активних субстанцій (БАС) на фазові стани модельних мембран дає важливу інформацію для рішення загальних питань фізики складних рідин. Як правило, внесення БАС призводить до зниження температур фазових переходів у ланцюгу «гель – ріпл-фаза – рідкий кристал» ( $L_{\beta'} \rightarrow P_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$ ), але в багатьох випадках картина істотно ускладнюється. Наявні дані охоплюють лише обмежене коло БАС, і не існує загальноприйнятих уявлень про зв'язок між молекулярною будовою БАС та їх поведінкою в фосфоліпідній мембрані. Зокрема, практично не досліджені ефекти сукупної дії різнорідних речовин, коли, окрім взаємодії БАС – ліпід, можливий вплив взаємодії БАС між собою в упорядкованому середовищі мембрани.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано у рамках наукових тем Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України в рамках НДР, а саме, «Розробка нових наноматеріалів на основі гетероструктурованих рідких кристалів і ліотропних фаз гідратованих фосфоліпідів для застосування в медико-біологічних і біофізичних дослідженнях» (шифр «Гетерофаза-2», № держреєстрації 0113U001842); за темою відомчого держзамовлення ВФТПМ НАН України «Механізми надмолекулярного впорядкування та утворення нанорозмірних гетероструктур в багатокомпонентних рідкокристалічних системах і створення нових функціональних матеріалів на їх основі» (шифр «Наноспіраль-2» № держреєстрації 0112U001903); пошуковими темами «Зміни структурно-функціональних властивостей модельних біомембран за індивідуальної та сукупної дії лікарських субстанцій» (шифр «Модуль» № держреєстрації 0113U001836); «Вивчення мембранотропної дії лікарських субстанцій» (шифр «Мелодія» № держреєстрації 0114U001505); «Зміни

фазового стану ліпідного бішару як один з чинників дії біологічно активних субстанцій» (№ держреєстрації 0113U006037); «Специфіка відгуку ліпідного наноматеріалу на присутність люмінесцентних зондів та біологічно активних субстанцій» (шифр «Оркестр» № держреєстрації 0115U003433).

**Мета і задачі дослідження.** Метою цієї роботи є визначення механізмів індивідуальної і сукупної дії біологічно активних субстанцій (БАС) на термодинамічні та структурні параметри модельних ліпідних мембран. Для досягнення цієї мети було необхідно вирішення таких основних задач:

- Визначення індивідуальної дії БАС (антимікробних препаратів; антибіотиків; кріопротекторів; психотропних препаратів тощо) на фазовий стан модельних ліпідних мембран.
- Встановлення ефектів сукупної мембранотропної дії БАС у квазібінарних системах на основі модельних ліпідних мембран, що містять: антимікробні препарати, термотропні мезогенні речовини, біологічно важливі іони.
- Порівняння мембранотропної дії індивідуальної діючої речовини та фармпрепарата на його основі, виявлення внеску допоміжних речовин у мембранотропну дію фармпрепаратів та порівняння фармпрепаратів-аналогів.
- Проведення теоретичного аналізу кореляцій між молекулярними параметрами БАС та їх мембранотропною активністю.

**Об'єкт досліджень** – прояви мембранотропної дії БАС в модельних ліпідних мембранах.

**Предмет досліджень** – термодинамічні та структурні параметри модельних ліпідних мембран, що містять біологічно активні субстанції.

**Методи дослідження:** диференціальна скануюча калориметрія (ДСК), малокутове рентгенівське розсіювання, Фур'є-ІЧ-спектроскопія, оптична мікроскопія

**Наукова новизна результатів роботи:**

1. Вперше визначено вплив кріопротекторів групи оксиетильованих похідних гліцерину, внесених до модельної мембрани на основі ДПФХ, на її структурні параметри і термодинамічні характеристики фазових переходів. При цьому ламелярна рідкокристалічна фаза зберігається до повної заміни води кріопротектором, а період повторюваності ламелярної структури змінюється із зростанням температури в  $L_{\alpha}$ -фазі аналогічно його зміні при внесенні кріопротекторів до модельної мембрани.
2. Вперше встановлена неадитивність зміни термодинамічних параметрів фазових переходів мембрани при сукупній дії низки пар речовин (БЧАС + аспірин, ціанобіфеніл + азоксібензол, нітратів срібла і лужних металів) з можливістю зміни знаку мембранотропної активності.
3. Вперше відзначено ущільнювальний вплив іонів срібла на ліпідну мембрану, який призводить до появи, при температурах на 6-7° вище переходу в  $L_{\alpha}$ -фазі, ознак фазового розділення та утворення додаткової

ущільненої фази, частка котрої збільшується із зростанням концентрації іонів срібла.

4. Вперше методом диференціальної скануючої калориметрії показана можливість визначення відмінностей між фармпрепаратами-аналогами за їх різним впливом на параметри фазових переходів модельної мембрани ДПФХ.

**Практичне значення одержаних результатів.** Показано можливість реєстрації відмінностей мембранотропній дії фармпрепаратів-аналогів, а також ефектів сукупної мембранотропної дії компонентів фармпрепаратів, що може бути використано в доклінічних тестуваннях розроблюваних лікарських засобів.

**Особистий внесок здобувача.** В опублікованих із співавторами наукових працях особистий внесок здобувача полягає: у роботах [1, 3, 8, 10, 11, 12] – пошук літератури, проведення контрольних експериментів, участь у написанні статей та тез доповідей; у роботі [2] – участь у приготуванні зразків, участь у проведенні експериментів, підготування тексту рукопису статі; у роботах [4, 6, 17] приготування зразків для малокутового рентгенівського розсіювання, проведення калориметричних вимірювань, обговорення результатів, участь у написанні статей та тез; у роботах [5, 7, 14, 15, 16, 18, 20, 21] – отримання та обробка калориметричних даних, написання тез; у роботах [9, 22] – отримання та обробка калориметричних даних, обчислення молекулярних параметрів БАС, проведення кореляційного аналізу; у роботах [13, 19] приготування зразків для ІЧ спектроскопії, проведення калориметричних вимірювань, обговорення результатів, участь у написанні статей та тез. Постановка задачі та інтерпретація отриманих даних здійснювалися спільно з науковим керівником та співавторами наукових публікацій.

**Апробація роботи.** Основні результати досліджень були представлені та обговорені на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях: міжнародная междисциплинарная научная конференция «Биологически активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения», Новый Свет, Украина 27 мая – 1 июня 2013; 3rd European Lipidomic Meeting (ELM 2013), Pardubice, Czech Republic 2 - 4 July, 2013; XXI та XXII International School-Seminar «Spectroscopy of molecules and crystals» Beregove, Crimea, Ukraine, 22-29 September 2013 and Zakarpattia, Ukraine 27 September - 4 October 2015; 3th and 4th International Conference «Nanobiophysics: fundamental and applied aspects», Kharkiv 7-10 October 2013 and Kyiv 1-4 October 2015; конференція молодих вчених «Проблеми теоретичної фізики» Київ 24 – 27 грудня 2013; XIV Kharkiv Young Scientists Conference on Radiophysics, Electronics, Photonics and Biophysics, Kharkiv 14 – 17 October 2014; 39-я ежегодная конференция молодых ученых, посвященная 70-летию ЮНЕСКО «Холод в биологии и медицине» Харьков– 20-21 мая 2015; VI з'їзд українського біофізичного товариства, Луцьк - Світязь, Україна 27-29 травня 2015 р; X Міжнародної конференції молодих науковців "Біологія: від молекули до біосфери", Харків, 2 – 4 грудня 2015; 7th International conference physics of liquid matter: Modern problems, Kyiv, Ukraine 27-30 May 2016 та були опубліковані в тезах доповідей цих конференцій.

**Публікації.** Основні результати дисертаційної роботи опубліковано в 30 наукових працях, з них 9 статей в фахових вітчизняних та закордонних журналах [1–9], та розділ в колективній монографії [10] і 12 тез доповідей міжнародних і національних наукових конференцій [11–22].

**Структура та обсяг роботи.** Дисертація складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку літературних джерел та додатка. Загальний обсяг дисертації складає 168 сторінок. Дисертація містить 75 рисунків, 13 таблиць. Список використаних джерел (192 найменувань) займає 24 сторінки. Додаток займає 5 сторінок.

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

У **першому розділі «Взаємодія речовин різних хімічних і фармацевтичних класів з ліпідними мембранами»** дано короткий огляд основних типів модельних мембран, наведено відомості про вплив неліпідних компонентів на властивості ламелярних і везикулярних ліпідних структур. На основі проведеного аналізу літературних даних зроблено висновки про необхідність подальшого детального вивчення механізмів взаємодії БАС з модельними мембранами, а також сформульовано мету та задачі дослідження.

У **другому розділі «Матеріали та методи»** обґрунтовано вибір об'єктів дослідження та дана їх характеристика, розглянуто фізичні основи застосованих експериментальних методів (диференціальної скануючої калориметрії (ДСК), малокутового рентгенівського розсіювання, Фур'є-ІЧ спектроскопії, оптичної мікроскопії), детально викладена методика експериментів.

Квантово-хімічні розрахунки з використанням напівемпіричного методу AM1 здійснювали на базі програмного пакету MOPAC 2012 версія 15.347W (вільна академічна ліцензія) MOPAC2012. Для розрахунку коефіцієнта ліпофільності ( $\log P$ ) БАС використовували ресурси віртуальної обчислювальної хімічної лабораторії (<http://www.vcclab.org>).

**Третій розділ «Дослідження індивідуальної мембранотропної дії біологічно активних субстанцій»** присвячено вивченню індивідуальної дії біологічно активних субстанцій на модельні мембрани. Для цього були отримані ДСК-термограми модельних мембран, що містять речовини різних хімічних класів (рис. 1). Мембранотропна дія БАС відображається в зміні профілю ДСК-термограм. Для всіх БАС були отримані температури основного переходу модельної мембрани  $T_m$ , його ентальпії  $\Delta H_m$ , ентропії  $\Delta S_m$ , напівширини  $\Delta T^{1/2}$  та гістерезису ( $h$ ), а також розраховано розмір кооперативного домену ( $CU$ ) (табл. 1).

Розмір кооперативного домену визначають за формулою:

$$CU = 4RT_m^2 / \Delta T_m^{1/2} \Delta H_m, \quad (1)$$

де  $R$  — універсальна газова стала.

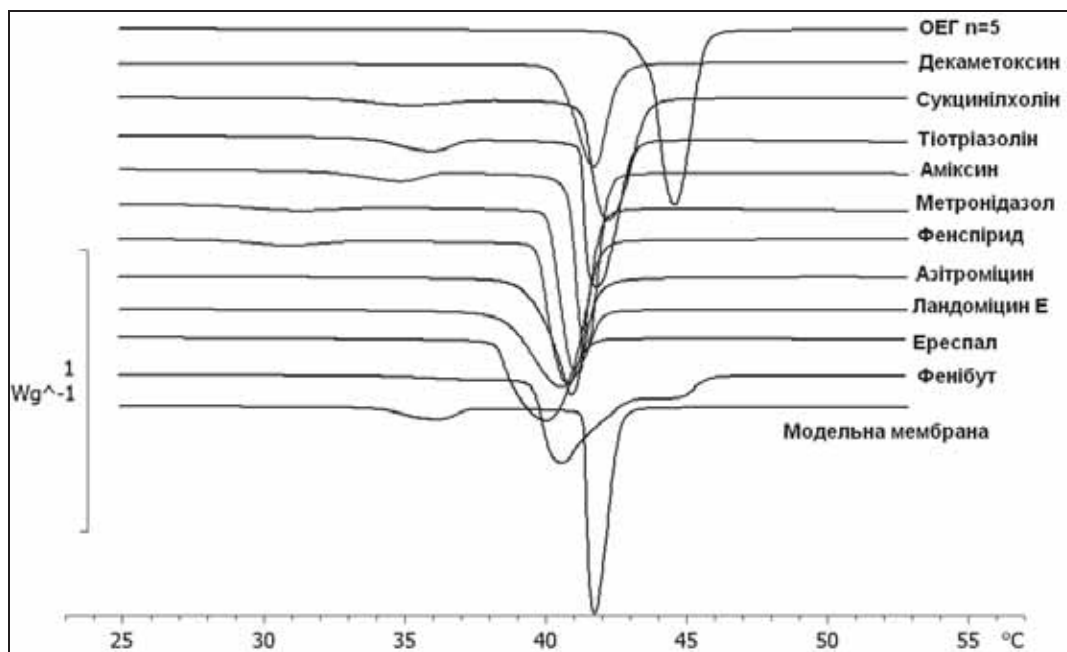


Рисунок 1. ДСК-термограми модельних ліпідних мембран, що містять БАС

Таблиця 1. Мембрантропна активність БАС та термодинамічні параметри модельних мембран ДПФХ, що містять 1 % БАС.

Назва БАС	$a$ , °C	$\Delta H_m$ , кДж/моль	$\Delta S_m$ , Дж/моль·К	$h$ , °C	$\Delta T^{1/2}$ , °C	$CU$
—	—	35,7	113,3	1,0	1,1	95
Азітроміцин	-0,5	33,8	107,4	1,0	1,2	100
Аміксин	-0,3	41,8	132,8	1,1	1,1	72
Аспірин	-1,0	33,5	106,5	3,2	1,9	31
Гліцерин	0,1	34,0	108,0	0,7	1,2	133
Декаметоксин	-0,4	34,3	109,0	1,5	1,7	64
Етамбутол	-0,1	33,0	104,3	2,1	1,9	47
Етоній	-0,3	51,4	163,4	1,6	1,4	40
Ландоміцин Е	-0,9	34,9	111,4	1,0	1,2	90
Метронідазол	-0,3	40,2	127,9	1,0	1,2	82
Мірамистин	-0,4	52,3	166,5	1,3	1,2	48
ОЕГ <sub>n=5</sub>	0,2	31,7	100,5	0,5	1,2	192
ОЕГ <sub>n=25</sub>	0,0	35,3	112,1	0,5	0,9	198
ОЕГ <sub>n=30</sub>	0,0	34,2	108,7	0,6	1,1	150
Сукцинілхолін	0,1	36,0	114,2	1,1	1,2	83
Тіотриазолін	0,0	36,3	115,3	1,2	1,2	75
Тіоній	-0,4	47,0	149,4	1,8	1,4	39
ТМА	0,3	27,9	88,4	1,3	1,2	95
Транквілар	0,0	54,2	172,0	1,1	1,4	57
Уроканова к-та	0,1	30,8	97,9	1,1	1,2	95
Фенспірид	-0,6	34,3	109,2	1,1	1,3	90
Експериментальні похибки	$\pm 0,1$	$\pm 1,8$	$\pm 2,3$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 25$

Найбільш інформативним та чутливим параметром з усіх отриманих виявився  $T_m$ , на основі якого було обчислено параметр мембранотропної активності БАС ( $a$ ). Параметр мембранотропної активності відображає зсув температури основного фазового переходу мембрани (який може бути позитивним або негативним), при введенні у систему 1% домішки:

$$a = (T_m - T_m^0) / c, \quad (2)$$

де  $T_m^0$  — температура фазового переходу вихідної модельної мембрани;

$T_m$  — температура фазового переходу модельної мембрани з БАС;

$c$  — концентрація БАС.

Встановлено, що більшість БАС знижують  $T_m$  пропорційно до їх вмісту в мембрані (рис. 2), проте деякі речовини здатні підвищувати  $T_m$ , що відображає зміни енергії ліпід-ліпідної взаємодії. Далі більш детально розглянемо випадки «нетипового» впливу БАС на модельні мембрани.

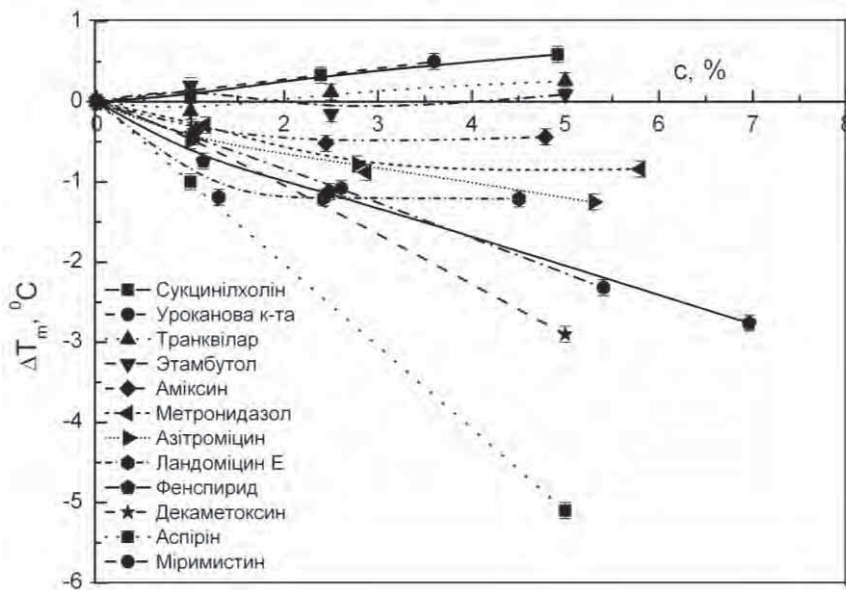


Рисунок 2. Температура основного фазового переходу модельних мембран, що містять БАС

Так, присутність  $\text{AgNO}_3$  в модельних ліпідних мембранах призводить до підвищення температур фазових переходів у широкому діапазоні концентрацій  $\text{AgNO}_3$  (рис. 3). Як можна бачити, температура передпереходу ( $T_p$ ) з концентрацією зростає набагато швидше, ніж  $T_m$ .

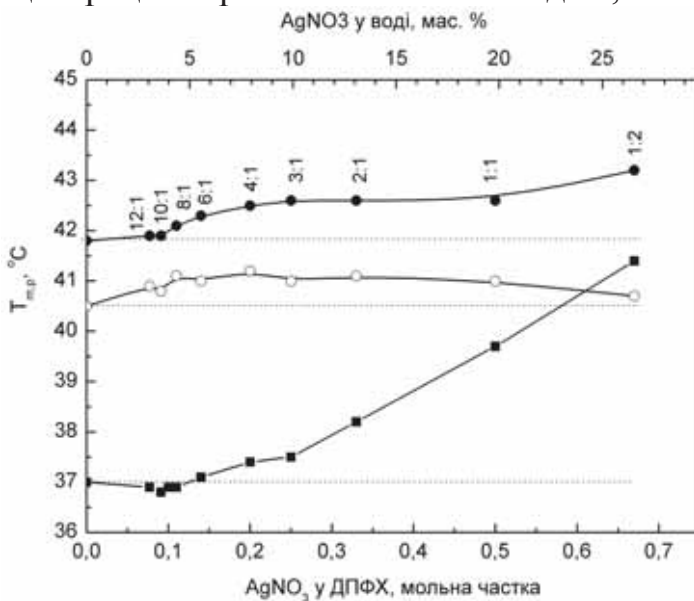


Рисунок 3. Концентраційні залежності температур фазових переходів модельних мембран, що містять нітрат срібла: основний перехід при нагріванні (●) та охолодженні (○), передперехід при нагріванні (■)



Слід відзначити, що така поведінка спостерігається для багатьох систем, у яких БАС зв'язується із полярною поверхнею мембран, оскільки передперехід, пов'язаний саме із перебудовою у пакуванні полярних частин ліпідних молекул. Зареєстровано додатковий високотемпературний пік фазового переходу; спостерігається перерозподіл інтенсивностей піків при підвищенні вмісту  $\text{AgNO}_3$ , і при мольному співвідношенні ДПФХ:  $\text{AgNO}_3$  3:1 залишається тільки високотемпературний пік.

Внесення фенібуту до модельних мембран призводить до розщеплення піку основного переходу на три складові, що може бути наслідком утворення різних фаз. З підвищенням концентрації фенібуту відбувається перерозподіл відносного внеску окремих складових фазового переходу (рис. 4).

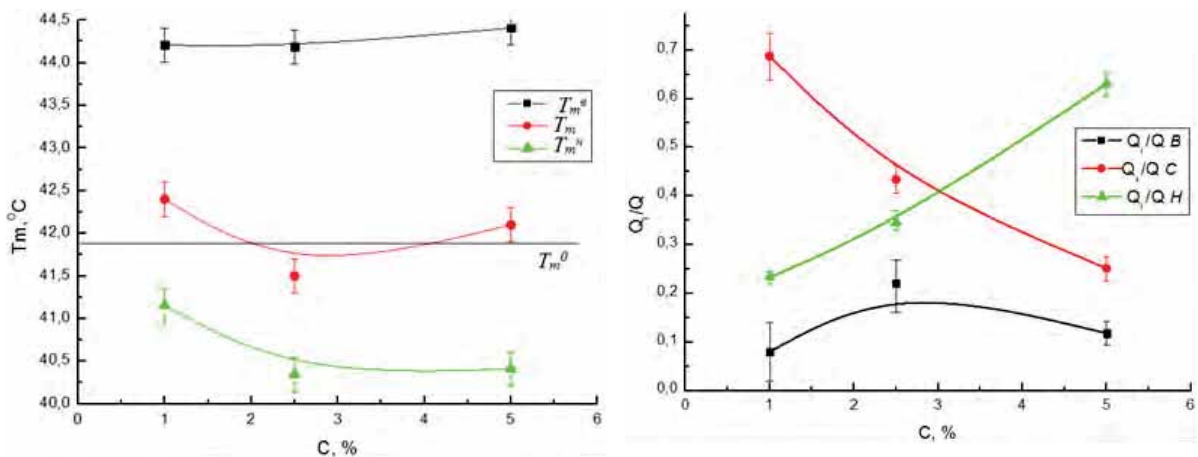


Рисунок 4. Концентраційні залежності температур піків-складових основного фазового переходу (а) та доля кожного піку  $Q_i$  відносно загальної площі піків  $Q$  (б) для модельних мембран, що містять фенібут

Вказані особливості мембранотропної дії фенібуту, зареєстровані на модельних мембранах, можуть впливати на проникність клітинних мембран. Введення фенібуту в суспензію сперматозоїдів коропа призводить до зниження енергії активації процесу перенесення води через ліпідний бішар ( $E_a$ ) на  $\sim 25\%$ . Механізм такого підвищення проникності може полягати у створенні зон мікро-неоднорідностей (дефектів), через які дифузія полегшується.

Одним з практично важливих і порівняно мало досліджених типів БАС є кріопротектори, зокрема оксиетильовані похідні гліцерину (ОЕГ) з різним ступенем полімеризації (ОЕГ<sub>n=5</sub>, ОЕГ<sub>n=25</sub>, ОЕГ<sub>n=30</sub>), отримані в Інституті проблем кріобіології та кріомедицини НАНУ. При поступовій заміні води в субфазі ліпідної мембрани на ОЕГ<sub>n</sub> від 0 до 100% температура основного фазового переходу  $T_m$  зростає, але не досягає значень для зневодненого ДПФХ (рис. 5). Для ОЕГ<sub>n=5</sub> при  $\sim 30$  мас.% спостерігається зростання ентальпії переходу, що свідчить про утворення інтердигітованої гель-фази. Показано, що кріопротектори групи ОЕГ<sub>n</sub> «заміняють» воду при дегідратації ДПФХ мембрани. При цьому зниження сольватуючої здатності субфази відбувається у напрямку: вода > гліцерин > ОЕГ<sub>n=5</sub> > ОЕГ<sub>n=25</sub> > ОЕГ<sub>n=30</sub>, що відповідає

зменшенню питомої кількості полярних груп, які ефективно сольватують ліпідну мембрану.

Методом малокутового рентгенівського розсіювання проведено порівняння впливу гліцерину, оксиетильованого гліцерину та інших мембранотропних БАС на період повторюваності бішарів в гель-фазі, ріпл-фазі ( $P_{\beta}$ ) та високотемпературній ( $L_{\alpha}$ ) рідкокристалічній фазі гідратованих фосfolіпідів. Для мембран, що містять гліцерин, період повторюваності  $D$  для гель- і ріпл- фази збільшується до концентрації гліцерину  $\sim 60\%$ . При більш високих концентраціях  $D$  різко падає, що відображає формування інтердігітованої гель-фази. Для мембран, що містять ОЕГ<sub>n=5</sub>,  $D$  зменшується зі збільшенням концентрації кріопротектора у всіх фазах.

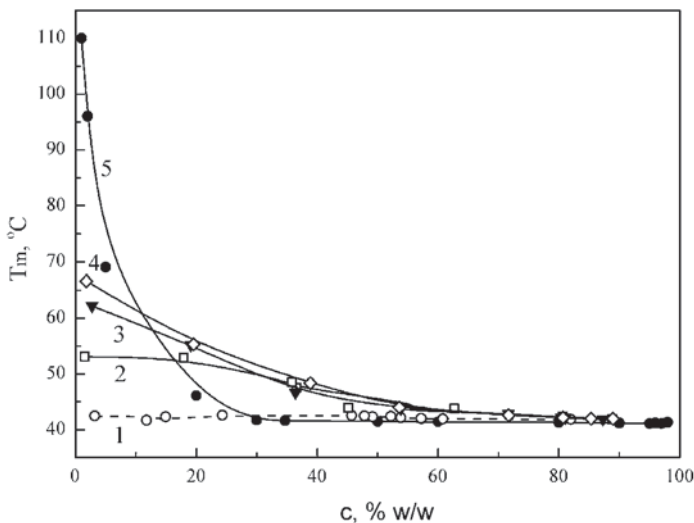


Рисунок 5. Температура основного фазового переходу ДПФХ мембрани в залежності від концентрації води у системі для субфаз вода/гліцерин (1), вода/ОЕГ<sub>n=5</sub> (2), вода/ОЕГ<sub>n=25</sub> (3), вода/ОЕГ<sub>n=30</sub> (4) при однаковій концентрації ДПФХ в субфазі 40 % та концентрації води як субфази (5)

Взагалі, внесення БАС може приводити до різних типів залежності  $D$  від температури в  $L_{\alpha}$ -фазі (рис. 6), що корелює зі змінами  $D$ , спричиненими внесенням цих речовин до референтної системи ДПФХ–вода. Це аналогічно змінам кроку спіралі, тобто періоду спіральної структури в холестеричних рідких кристалах. В обох випадках це пов'язано зі зміною ступеня впорядкованості в цих рідкокристалічних фазах.

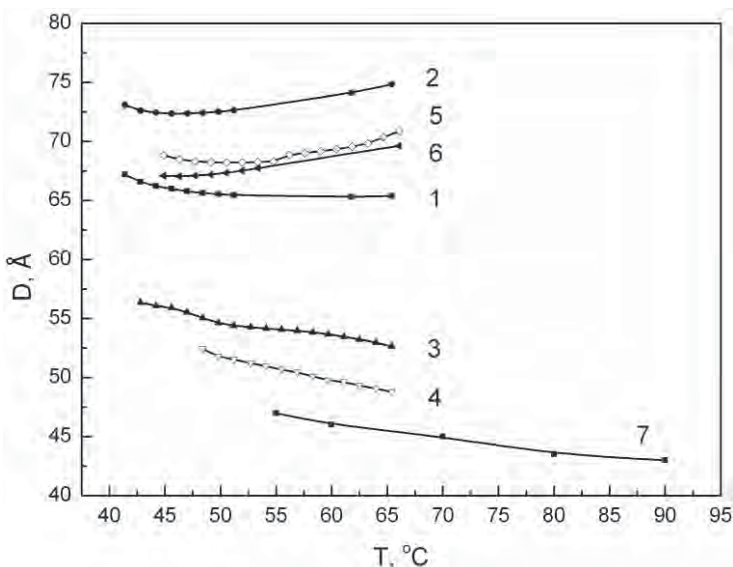


Рисунок 6. Період повторюваності  $D$  від температури в  $L_{\alpha}$  фазі вихідної модельної мембрани (1) та мембран, що містять гліцерин (2), ОЕГ<sub>n=5</sub> (30%) (3), ОЕГ<sub>n=5</sub> (60%) (4), уроканову кислоту (5), нітрат срібла (6), ДМСО (7) (дані по ДМСО [V.I.Gordeliy, e.a., Biophys.J., 1998])

Метою четвертого розділу «Дослідження сукупної мембранотропної дії біологічно активних субстанцій» було визначення мембранотропної дії БАС у складі багатокомпонентних систем, а саме вивчення сукупної мембранотропної дії різних пар БАС в квазібінарних системах та встановлення впливу БАС у складі фармпрепаратів на модельні мембрани.

Суть метода квазібінарних систем полягає у наступному. Мультибіншарова структура ДПФХ розглядається як середовище, в якому може відбуватися взаємодія двох БАС. Відхилення від адитивності  $\Delta T_m$  по концентрації вказують на наявність специфічних ефектів сукупної дії досліджуваних БАС, в тому числі внаслідок утворення ними надмолекулярних комплексів. При цьому максимальне відхиленням експериментальної залежності від адитивності вказує на найбільш вірогідну стехіометрію утвореного комплексу.

На концентраційних залежностях  $\Delta T_m$  квазібінарних систем, що містять бісчетвертинні амонієві сполуки (БЧАС) та аспірин у різних мольних співвідношеннях (рис. 7) можна бачити, що їх сукупний ефект не є адитивним по концентраціям компонентів. В значному діапазоні вмісту БЧАС навіть спостерігається інверсія знака  $\Delta T_m$ : БЧАС та аспірин індивідуально призводять до зниження  $T_m$ , а їх сукупна дія призводить до зростання  $T_m$ . Таким чином, сукупна мембранотропна активність двох БАС може мати знак, протилежний знаку мембранотропної активності кожної БАС окремо.

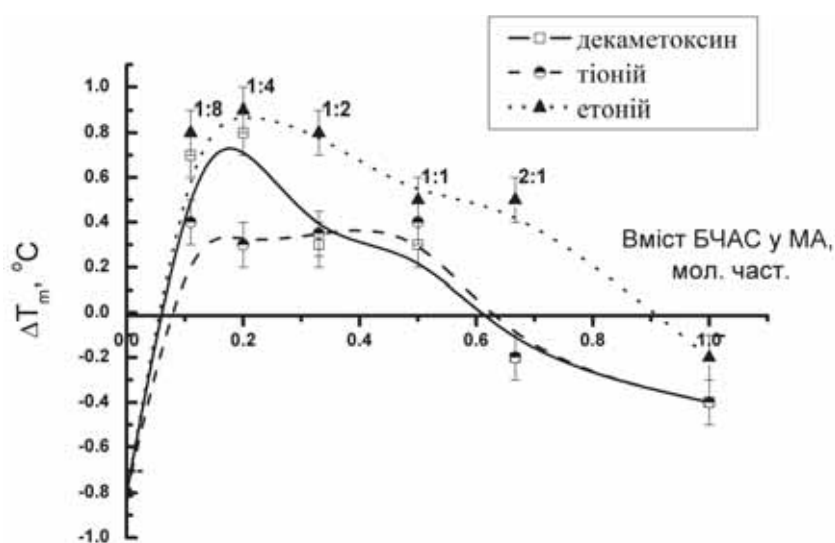


Рисунок 7.

Концентраційні залежності зсуву температури основного фазового переходу модельних мембран що містять БЧАС та аспірин. Додатково позначені мольні співвідношення БЧАС:аспірин

Наступним етапом дослідження є перевірка можливості екстраполяції висновків, зроблених для модельної системи, на дію досліджуваних речовин на живі системи. Тестування сукупної мембранотропної дії декаметоксину та аспірину було проведено на еритроцитах людини. Було показано, що швидкість декаметоксин-індукованого гемолізу в присутності аспірину істотно уповільнюється, що може бути наслідком конкурентного зв'язування декаметоксину з мембранами еритроцитів та з аспірином.

Для перевірки зв'язку між комплексоутворенням БАС і відхиленням термодинамічних параметрів мембрани від адитивності нами були підібрані пари молекул, для яких наявність або відсутність комплексоутворення відома

задалегідь. Холестерилолеїлкарбонат (ХОК), 4-аміл-4'-ціанобіфеніл (5СВ) і суміш азокси-нематиків ЖК-440 — це типові представники мезогенних речовин, що утворюють термотропну рідкокристалічну фазу. Утворення комплексів 5СВ з ЖК-440 проявляється у змінах температур фазових переходів. Нами ці речовини вперше досліджені як компоненти ліотропних рідких кристалів, аналогічно БАС. Для мембран з речовинами, що не утворюють комплекс (ХОК+5 СВ), була отримана адитивна концентраційна залежність  $\Delta T_m$ . У присутності речовин, що утворюють комплекс (ЖК-440 + 5СВ), ця залежність була неадитивною (рис. 8). Таким чином, ефекти комплексоутворення відображаються в мембранотропній дії БАС на концентраційних залежностях  $\Delta T_m$  квазібінарних систем.

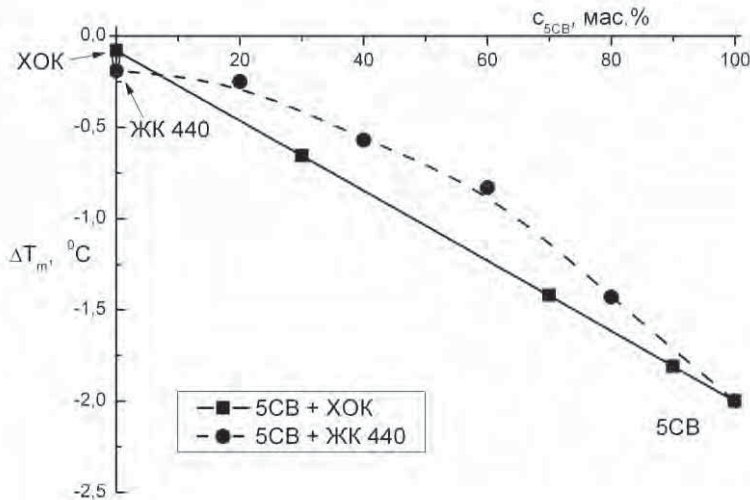


Рисунок 8.  
Концентраційні залежності зсуву температури основного фазового переходу модельних ліпідних мембран, що містять пари 5СВ+ХОК та 5СВ+ЖК440

При дослідженні сукупної дії пар нітратів срібла та лужних металів також були отримані неадитивні концентраційні залежності  $T_m$ ,  $T_p$ ,  $h$  і  $\Delta T^{1/2}$  (рис 9). Оскільки безпосередня взаємодія катіонів відсутня (завдяки силам електростатичного відштовхування), можна припустити, що їх взаємодія опосередкована мембраною і є наслідком конкурентної адсорбції.

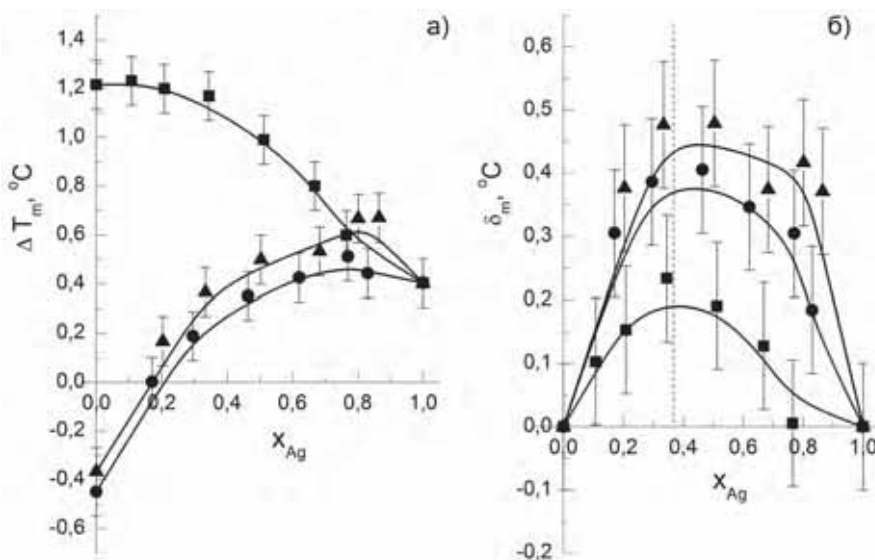


Рисунок 9. Значення зсуву  $T_m$  відносно вихідної мембрани (а) та відхилення від адитивності (б) у залежності від доли  $\text{Ag}^+$  ( $x_{\text{Ag}}$ ) для модельних мембран, що містять пари  $\text{AgNO}_3 - \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  (■),  $\text{AgNO}_3 - \text{NaNO}_3$  (▲),  $\text{AgNO}_3 - \text{KNO}_3$  (●)

Відпрацьовану методику визначення мембранотропної дії було застосовано для дослідження фармпрепаратів. До складу сучасних фармпрепаратів входить основна діюча речовина (ОДР), і набір допоміжних речовин. Мембранотропна дія фармпрепарату є результатом сукупної дії цих компонентів. Проведено порівняння мембранотропної дії низки фармпрепаратів і їх ОДР. Деякі препарати («Аспірин Комплекс», «Аміксин ІС») підвищують  $T_m$  в порівнянні з чистою ОДР, тоді як інші («Метрогіл», «Азицин») її знижують. Разом із  $T_m$  зазнає змін і  $\Delta H_m$ . Розщеплення піку основного фазового переходу, зареєстроване в мембрані з фенібуту, спостерігалось і в мембрані з препаратом фенібуту «Нообут ІС», але з дещо іншою картиною розподілу піків. Враховуючи, що концентрація ОДР у порівнюваних системах однакова, спостережувані ефекти, очевидно, обумовлені наявністю допоміжних речовин.

У Фур'є-ІЧ-спектрах мембран ДПФХ, що містять досліджувані БАС, не виявлено суттєвих змін смуг поглинання ДПФХ, що може бути пов'язано з невеликою енергією взаємодії БАС з мембраною. Виняток становив фенібут, для якого зареєстрований батохромний зсув ( $2 \text{ см}^{-1}$ ) смуги поглинання фосфатних груп ДПФХ  $\nu_s P=O$   $1082 \text{ см}^{-1}$ . Для деяких систем, зокрема в присутності метронідазолу, виявлено гіпсохромний зсув деформаційних коливань метильних груп ( $\nu_{as} CH_2$   $1469 \text{ см}^{-1}$ ), який свідчить про підвищення кількості *gosh*-конформацій метильних груп ДПФХ і добре корелює зі зниженням  $T_m$  і  $T_p$  в ДСК-експерименті (див. табл. 1). У той же час, для «Ереспалу» смуги  $\nu_s CH_2$  і  $\nu_{as} CH_2$  зазнають батохромного зсуву (середня кількість *gosh*-конформацій на один ланцюг ДПФХ зменшується). Найбільш чутливими до присутності БАС в мембранах виявляються смуги груп, що беруть участь у гідратації (гідроксильних груп води та карбонільних і фосфатних груп ДПФХ). Встановлено, що в присутності БАС змінюється співвідношення пов'язаних з водою і вільних груп  $C=O$ , а також частка різних фракцій води. Таким чином, встановлено вплив досліджених БАС на гідратацію мембран - вплив ОДР відрізнявся від впливу фармпрепарату на його основі.

З огляду на виявлені відмінності мембранотропної дії фармпрепарата і його ОДР, було проведено порівняльне дослідження мембранотропної активності препаратів-аналогів метронідазолу і азітроміцину. Виявлені достовірні відмінності у залежностях  $T_m$ ,  $T_p$  та  $\Delta H_m$  від концентрації ОДР для модельних мембран, що містили чистий метронідазол, а також його препарати «Метрогіл», «Метронідазол Юрія-фарм» та «Трікасайд». Для азітроміцину та його препаратів-аналогів було отримано немонотонні  $T_m$  від концентрації ОДР (рис. 10). Для пояснення мембранотропної дії азітроміцину було запропоновано механізм двостадійного розподілення азітроміцину у модельні мембрани з послідовним зв'язуванням із різними ділянками вуглеводних ланцюгів. Таким чином, на порівняно простих системах вперше показано можливість чіткої реєстрації відмінностей у мембранотропній дії фармпрепаратів-аналогів.

В цілому можна зазначити, що в досліджуваних фармпрепаратах визначальну мембранотропну дію має ОДР. Внесок допоміжних речовин в мембранотропну дію фармпрепаратів виявлявся в: (а) зміні  $T_m$  – підвищенні або зниженні; (б) зміні коефіцієнта розподілу ліпід / вода; (в) перерозподілі ліпідів

між фазами; (г) зміні гідратаційних параметрів. Для пояснення цього запропоновано механізм сукупної мембранотропної дії гідрофільної та гідрофобної речовин, згідно з яким взаємодія речовин не є безпосередньою, а опосередкована ліпідною мембраною через зміну відповідних коефіцієнтів розподілу ліпід-вода.

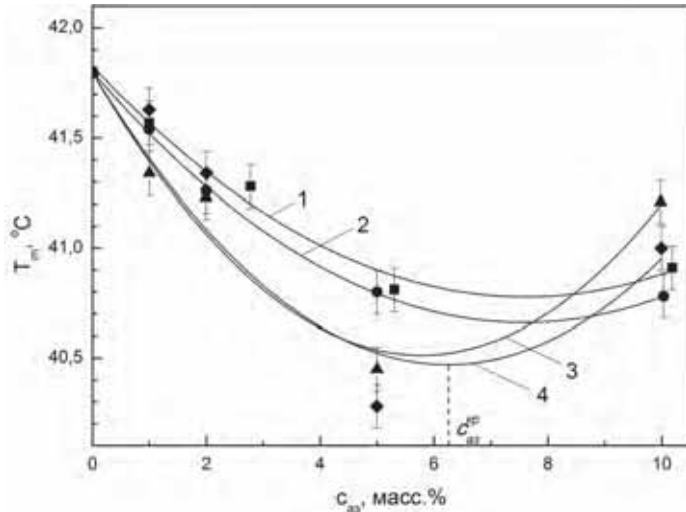


Рисунок 10. Концентраційні залежності  $T_m$  для модельних мембран, що містять азітроміцину дигідрат (1) та препарати азітроміцину: «Азіцин» (2), «Азітроміцин» (3) та «Хеоміцин» (4)

У п'ятому розділі «Теоретичний аналіз кореляцій між молекулярними параметрами бас та їх мембранотропною активністю» запропоновано класифікацію мембранотропних ефектів, яка базується як на літературних, так і власних (розділ 3) даних (рис.11). Можна виокремити два основні механізми мембранотропної дії БАС, а саме: (1) переважна взаємодія БАС з гідрофобною частиною ліпідів (абсорбція) та (2) переважна взаємодія з гідрофільною частиною (адсорбція). Такі взаємодії призводять до (1) зміни об'єму неполярної області мембрани внаслідок збільшення/зменшення вільного об'єму та (2) зміни об'єму полярної області мембрани внаслідок процесів гідратації/дегідратації. В рамках обох механізмів можливе підвищення або зниження  $T_m$ , а також утворення нових фаз.

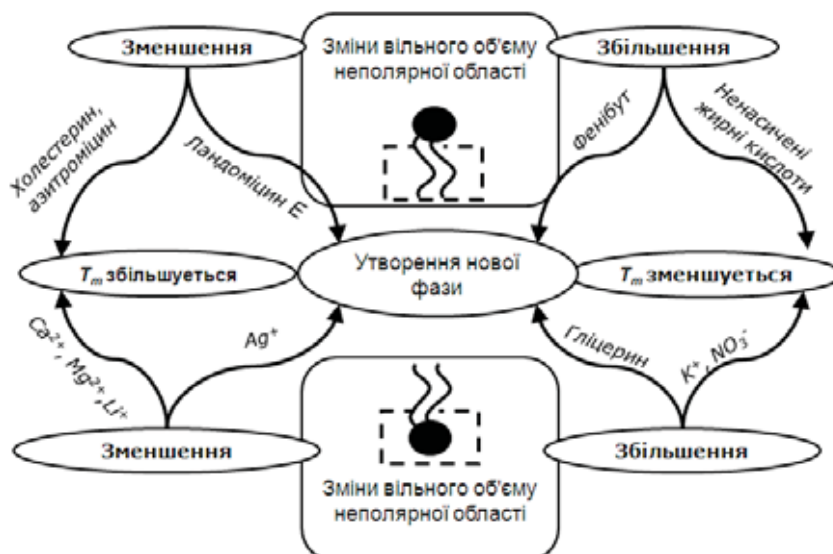
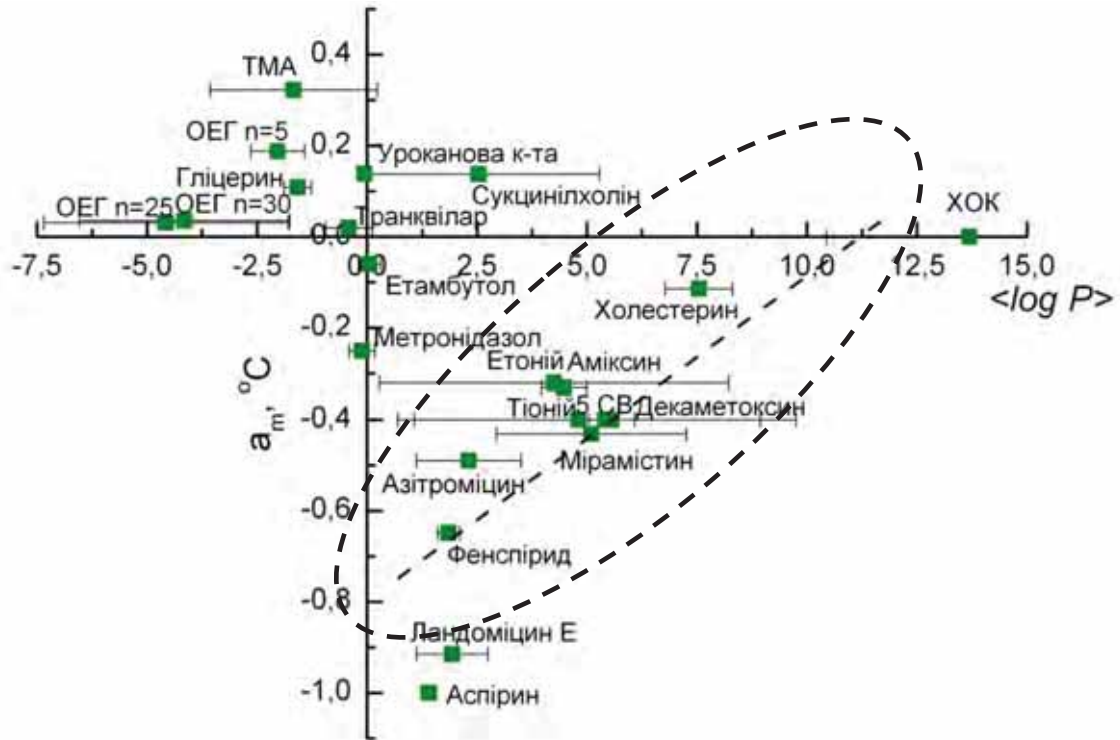
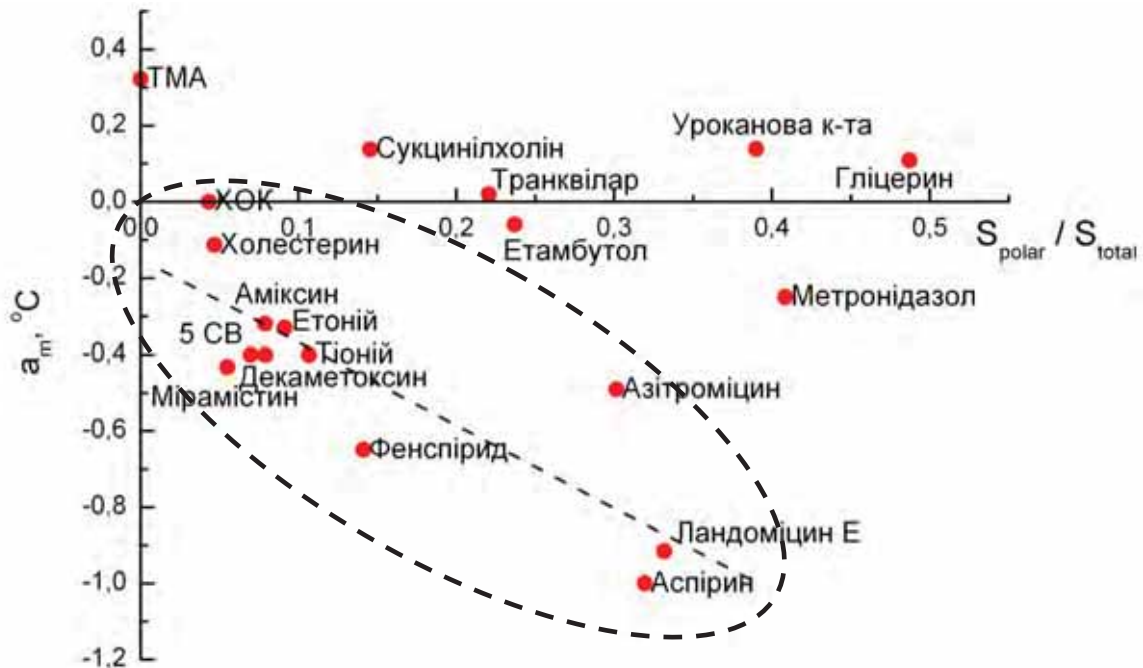


Рисунок 11. Класифікація мембранотропних ефектів

Аналіз літератури і наші експериментальні дані також дозволили виділити і класифікувати параметри БАС, що впливають на їх взаємодію з мембраною, такі як хімічна структура, ліофільність, геометричні та електростатичні параметри та ін. Молекулярні параметри всіх досліджених БАС розраховані напівемпіричним методом РМб. Розраховані параметри молекул БАС були зіставлені з їх мембранотропною активністю  $a$ , отриманою з даних ДСК (рис. 12).



а)



б)

Рисунок 12. Кореляції мембранотропної активності БАС з значеннями коефіцієнтів ліофільності (а) та долею полярної поверхні (б)

Виявилося, що гідрофільні речовини мають позитивний знак мембранотропної активності, а гідрофобні – в основному, негативний. Виокремлена група гідрофобних БАС з високим коефіцієнтом лінійної кореляції ( $|r| > 0,8$ ) між  $a$  та коефіцієнтом ліпофільності  $\log P$ , а також часткою полярної поверхні молекули  $S_{polar} / S_{total}$ . БАС цієї групи, згідно з запропонованою класифікацією, взаємодіють із мембраною за механізмом 1, тобто, переважно із її гідрофобною частиною, а інші – за механізмом 2. Для груп речовин близької хімічної природи (амонієвих сполук і похідних гліцерину) встановлена висока лінійна кореляція ( $r > 0,9$ ) мембранотропні дії з такими параметрами, як площа поверхні, об'єм і дипольний момент молекул БАС.

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі дано вирішення актуальної наукової задачі - визначення механізмів індивідуальної та сукупної дії БАС на термодинамічні та структурні параметри модельних ліпідних мембран. Основні результати можна підсумувати таким чином:

1. У рамках єдиного методологічного підходу визначено мембранотропну дію біологічно активних субстанцій (БАС) різних хімічних класів, які полягають у зміні властивостей модельних ліпідних мембран, - термодинамічних параметрів фазових переходів, періоду повторюваності ламелярної структури, латеральному фазовому розділенні, а також зміні гідратації.
2. Встановлено високу лінійну кореляцію ( $|r| \sim 0,8$ ) між мембранотропною активністю БАС і їх коефіцієнтом ліпофільності, а також між мембранотропною активністю і часткою полярної поверхні молекули для великої групи досліджених речовин різних хімічних класів.
3. Показано, що при введенні в ліпідну мембрану кріопротекторів групи оксиетильованих похідних гліцерину  $L_{\alpha}$ -фаза зберігається аж до повної заміни води кріопротектором. При цьому сольватуюча здатність, що обумовлює температуру переходу в  $L_{\alpha}$ -фазу, знижується в ряду вода  $>$  гліцерин  $>$  ОЕГ<sub>n=5</sub>  $>$  ОЕГ<sub>n=25</sub>  $>$  ОЕГ<sub>n=30</sub>.
4. Визначено температурні залежності періоду повторюваності D ламелярної структури ліпідних мембран, що містять БАС. Встановлено, що в  $L_{\alpha}$ -фазі збільшення або зменшення D корелює зі знаком зміни D чистої мембрани при введенні в неї БАС.
5. Показана неадитивність термодинамічних параметрів фазових переходів мембрани при введенні окремих пар БАС, що може бути пов'язано з утворенням міжмолекулярних комплексів (БЧАС + аспірин, декаметосмин + уроканова кислота, термотропні мезогени) або з непрямою взаємодією, опосередкованою мембраною (нітрати).
6. Спільне введення в мембрану різних БЧАС (декаметоксин, етоній, тіоній) і аспірину призводить до підвищення температури переходу в  $L_{\alpha}$ -фазі, тоді як введення кожного з цих речовин окремо призводить до її зниження.



7. Методом диференціальної скануючої калориметрії виявлено відмінності мембранотропні дії для низки фармпрепаратів-аналогів, які обумовлені внеском допоміжних речовин.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kasian N.A. Probing of the combined effect of bisquaternary ammonium antimicrobial agents and acetylsalicylic acid on model phospholipid membranes: differential scanning calorimetry and mass spectrometry studies / N.A. Kasian, V. A. Pashynska, O.V. Vashchenko, **A.O. Krasnikova**, A.Gömöry, M.V. Kosevich, L.N. Lisetski // *Molecular BioSystems*. — 2014. — Vol. 10. — P. 3155-3162.
2. Красникова А.О. Термодинамические параметры фазовых переходов модельных липидных мембран как маркер мембранотропного действия антибиотиков в препаратах-аналогах / **A.O. Красникова**, О.В. Ващенко, Н.А. Касян, Ю.Л. Ермак, Н.А. Маркевич // *Біофізичний вісник*. — 2014. — Вип. 32 (2) — С. 27-38.
3. Ващенко О. В. Влияние нитрата серебра на фазовое состояние модельных мультибислойных мембран / О.В.Ващенко, Ю.Л. Ермак, **A.O. Красникова**, Л.Н. Лисецкий // *Биофизика*. — 2015. — Т. 60, № 2. — С. 307-315. (Vashchenko O.V. The effects of silver nitrate on the phase state of model multibilayer membranes / O.V. Vashchenko, Iu.L. Iermak, A.O. Krasnikova, L.N. Lisetski // *Biophysics*. — 2015. — Vol. 60, № 2. — P. 244–250.)
4. Bulavin L.A. Lyotropic model membrane structures of hydrated DPPC: DSC and small-angle X-ray scattering studies of phase transitions in the presence of membranotropic agents / L.A. Bulavin, D.V. Soloviov, V.I. Gordeliy, O.S. Svechnikova, **A.O. Krasnikova**, N.A. Kasian, O.V. Vashchenko, L.N. Lisetski // *Phase Transitions*. — 2015. — Vol. 88, № 6. — P. 582-592.
5. Kasian N.A. Effects of oxyethylated glycerol cryoprotectants on phase transitions of DPPC model membranes / N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova**, O.V. Vashchenko, L.N. Lisetski, A.V. Zinchenko, A.M. Kompaniets, M.V. Ratushna. // *Biopolymers and Cell*. — 2015. — Vol. 31. № 2. — P. 146–153.
6. Bulavin L.A. Small-angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry studies of DPPC multilamellar structures containing membranotropic agents of different chemical nature/ L.A. Bulavin, D.V. Soloviov, A.I. Kuklin, L.N. Lisetski, N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova**, O.V. Vashchenko, A.V. Zinchenko // *Ukrainian Journal of Physics*. — 2015. — Vol. 60, № 9. — P. 905-909.
7. Lisetski L. N. Mixtures of thermotropic mesogens as components of model DPPC membranes: effects of intermolecular interactions on phase transitions /

- L.N. Lisetski, **A.O. Krasnikova**, S.I. Torgova // *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. — 2015. — Vol. 623. — P. 113-118.
8. Vashchenko O.V. Intermolecular interactions of decamethoxinum and acetylsalicylic acid in systems of various complexity levels / O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, M.V. Kosevich, **A.O. Krasnikova**, V.A. Pashynska, D.N. Tishko, T.V. Tishko, V.P. Titar, L.N. Lisetski // *Біофізичний вісник*. — 2015. — Вип. 34 (2). — С. 5-15.
  9. Sadchenko A.O. Correlations between thermostability of multibilayer lipid structure and molecular parameters of guest molecules / **A.O. Sadchenko**, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, L.V. Budjanskaya, L.N. Lisetski // *Functional materials*. — 2016. — Vol. 23, № 2. — P. 230-235.
  10. Lisetski L.N. Liquid crystal ordering and nanostructuring in model lipid membranes. In: *Nanobiophysics: Fundamentals and Applications* / L.N. Lisetski, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova** // *Nanobiophysics Fundamentals and Applications* / Pan Stanford Publishing Ed. by V.A. Karachevtsev. — 2016. — Chapter 6. — P. 163-192.
  11. Ващенко О.В. Влияние нитрата серебра на фазовое состояние модельных мультибислойных мембран / О.В. Ващенко, Ю.Л. Ермак, **А.О. Красникова**, Н.А. Касян, Л.Н. Лисецкий // *Материалы международной междисциплинарной научной конференции «Биологически активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения»*, Новый Свет, Украина. — 27 мая-1 июня 2013. — Т. 2. — С. 431.
  12. Pashynska V.A. The harnessing of phospholipid biomimetic structures in investigations of membranotropic drugs effect / V.A. Pashynska, O.V. Vashchenko, V.V. Chagovets, N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova**, M.V. Kosevich, L.N. Lisetski // *Book of abstracts of 3rd European Lipidomic Meeting (ELM 2013)*, Pardubice, Czech Republic. — July 2-4 2013. — P. 19.
  13. Krasnikova A.O. Intermolecular interactions in a ternary system “glycerol – phospholipid – water” / **A.O. Krasnikova**, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, A.V. Zinchenko, D.S. Sofronov, L.N. Lisetski // *Book of abstracts of XXI Galyna Puchkovska international school-seminar «Spectroscopy of molecules and crystals»*, Beregove, Ukraine. — September 22-29 2013. — P. 242.
  14. Lisetski L.N. Model lipid membranes: a new vision and possibilities of applications / L.N. Lisetski, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova** // *Book of abstracts of 3rd international conference «Nanobiophysics: fundamental and applied aspects»*, Kharkov, Ukraine. — October 7-10 2013. — P. 19.
  15. Vashchenko O.V. Effects of non-lipid components on the phase states of model lipid membranes / O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, **A.O. Krasnikova**, L.N. Lisetski // *Abstracts of the V Young scientists conference «Problem of theoretical physics»*, Kyiv, Ukraine. — December 24-27 2013. — P. 22.

16. Krasnikova A.O. Modification of DPPC membrane phase behavior by oxyethylated derivatives of glycerol / **A.O. Krasnikova**, M.V. Ratushnaya, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, A.V. Zinchenko, L.N. Lisetski // Proceedings of XIV Kharkiv young scientists conference on radiophysics, electronics, photonics and biophysics, Kharkov, Ukraine. — October 14-17 2014. — BIO-5.
17. Красникова А.О. Влияние криопротекторов группы оскиэгилировавших производных глицерина на структуру и фазовые переходы модельных липидных мембран / **А.О. Красникова**, Н.А. Касян, О.В. Ващенко, Л.Н. Лисецкий, А.М. Компаниец, А.В. Зинченко, Д.В. Соловьев, Л.А. Булавин // Тезисы докладов 39-й ежегодной конференции молодых ученых, посвященной 70-летию ЮНЕСКО «Холод в биологии и медицине», Харьков, Украина. — 20-21 мая 2015г. — С. 39.
18. Ващенко О.В. Мембранотропна дія та гідратаційні властивості сукцинілхоліну / О.В. Ващенко, **А.О. Краснікова**, Н.А. Касян, Л.Н. Лисецький, Г.О. Максименко // Матеріали VI з'їзду Українського біофізичного товариства, Луцьк - Світязь, Україна. — 27-29 травня 2015. — С. 41.
19. Vashchenko O.V. Hydratation of model membranes surface in the presence of drugs bu the evidence of FTIR-spectroscopy / O.V. Vashchenko, **A.O. Krasnikova**, N.A. Kasian, L.N. Lisetski, D.S. Sofronov, L.V. Budyanskaya // XXII Galina Puchkovska international school-seminar spectroscopy of molecules and crystals, Chynadiyovo, Zakarpattia, Ukraine. — September 27 - October 4 2015. — P. 50.
20. Krasnikova A.O. Phospholipid membrane medium as a matrix to study drug-lipids interactions / **A.O. Krasnikova**, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian, L.N. Lisetski, L.V. Budyanskaya, Y.M. Al-Muhghrabi, A.V. Mashchenko // Book of abstracts of 4th International conference «Nanobiophysics: fundamental and applied aspects», Kyiv, Ukraine. — October 1-4 2015. — P. 46.
21. Садченко А.О. Некоторые аспекты мембранотропного действия лекарственных средств нообута и амиксина / **А.О. Садченко**, А.Ю. Пуговкин, Л.В. Будянская, А.В. Мащенко // Матеріали X Міжнародної конференції молодих науковців "Біологія: від молекули до біосфери", Харків, Україна. — 2-4 грудня 2015. — С. 26-27.
22. Sadchenko A.O. Search for relationship between parameters of guest molecules and their effects on model phospholipid membranes / **A.O. Sadchenko**, L.V. Budianska, O.V. Vashchenko, N.A. Kasian // Abstracts of 7th International conference physics of liquid matter: Modern problems, Kyiv, Ukraine. — May 27-30 2016. — P. 34.

## АНОТАЦІЯ

Садченко А.О. Фізичні механізми впливу біологічно активних субстанцій на фазовий стан модельних фосфоліпідних мембран. — На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2016.

Досліджено індивідуальну мембранотропну дію низки біологічно активних субстанцій (БАС) методами диференціальної скануючої калориметрії, малокутового рентгенівського розсіювання та спектрофотометрії. Встановлено закономірності впливу БАС на температуру основного фазового переходу. Для нітрату срібла та фенібуту виявлено ознаки фазового розділення. Показано, що внесення БАС може приводити до різних типів залежності періода повторюваності бішарів від температури в  $L_{\alpha}$ -фазі. Показано, що криопротектори групи оксиетильованих похідних гліцерину ОЕГ<sub>n</sub> «заміняють» воду при дегідратації ДПФХ мембрани. Проведено аналіз сукупної мембранотропної дії двох та більше БАС за допомогою метода квазібінарних фазових діаграм.

Проведено порівняння мембранотропної дії фармацевтичних аналогів, а також встановлено ефекти сумісної дії основної та допоміжних діючих речовин у складі фармпрепарату.

Класифіковано параметри БАС, що впливають на їх взаємодію з мембраною. Виокремлена група гідрофобних БАС з високим коефіцієнтом лінійної кореляції ( $|r| > 0,8$ ) між  $a$  та коефіцієнтом ліпофільності  $\log P$ , а також часткою полярної поверхні молекули  $S_{polar} / S_{total}$

**Ключові слова:** модельні ліпідні мембрани, ДПФХ, біологічно активні субстанції, фазові переходи, диференціальна скануюча калориметрія.

## АННОТАЦІЯ

Садченко А.О. Физические механизмы действия биологически активных субстанций на фазовое состояние модельных фосфолипидных мембран. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.00.02 - биофизика. - Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, 2016.

Исследовано індивідуальне мембранотропне действие ряда биологически активных субстанций (БАС) методами дифференциальной сканирующей калориметрии, малоуглового рентгеновского рассеяния и спектрофотометрии. Установлены закономерности влияния БАС на температуру основного фазового перехода. Для нитрата серебра и фенибута выявлены признаки фазового разделения. Показано, что введение БАС может приводить к разным типам зависимости периода повторяемости бислоев от температуры в  $L_{\alpha}$ -фазе. Показано, что криопротекторы группы оксиэтилированных производных глицерина «заменяют» воду при дегидратации ДПФХ-мембраны. Проведен анализ совместного мембранотропного действия двух и более БАС с помощью метода квазибинарных фазовых диаграмм.

Проведено сравнение мембранотропного действия фармацевтических аналогов, а также установлены эффекты совместного действия основного и вспомогательных веществ в составе фармпрепарата.

Классифицированы параметры БАС, влияющие на их взаимодействие с мембраной. Выделена группа гидрофобных БАС с высоким коэффициентом

линейной корреляции ( $|r| > 0,8$ ) между мембранотропной активностью  $a$  и коэффициентом липофильности  $\log P$ , а также долей полярной поверхности молекулы  $S_{polar} / S_{total}$

**Ключевые слова:** модельные липидные мембраны, ДПФХ, биологически активные субстанции, фазовые переходы, дифференциальная сканирующая калориметрия.

## SUMMARY

Sadchenko A.O. Physical mechanisms of the effects of biologically active substances on the phase state of model phospholipid membranes. – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of sciences in physics and mathematics, specialty 03.00.02 – Biophysics. V.N.Karazin Kharkiv national university, Kharkiv, 2016.

Individual membranotropic action of various biologically relevant substances has been studied by differential scanning calorimetry, Fourier IR spectroscopy and small-angle X-ray scattering (SAXS). A set of molecular parameters has been determined that defines the magnitude and sign of membranotropic activity. Most substances were shown to decrease the main phase transition temperature, with exceptions (succinilcholine, glycerol) reflecting specific intermolecular interactions. For silver nitrate and phenibut, effects of phase separation were noted. SAXS studies have shown that the repeat distance can increase or decrease with temperature in the  $L_{\alpha}$ -phase, with these changes correlated to the effects of the introduced substance on the reference DPPC-water system. The effects of introduced substances were also reflected in changes of IR absorption bands in model membranes.

Studies were carried out on the behavior of cryoprotectants from the group of oxyethylated glycerol derivatives with polymerization degree 5, 25 and 30 ( $OEG_{n=5}$ ,  $OEG_{n=25}$ ,  $OEG_{n=30}$ ) in model lipid membranes based on DPPC. It has been shown that  $OEG_n$  cryoprotectors can substitute for water in dehydration of DPPC membranes, with the solvating ability of the subphase decreasing in the order water > glycerol >  $OEG_{n=5}$  >  $OEG_{n=25}$  >  $OEG_{n=30}$ , which correlates with smaller number of polar groups effectively solvating the lipid membrane.

Joint action of different substances in model phospholipid membranes was analyzed by the method of quasibinary phase diagrams. In particular, it has been shown that membranotropic action of decamethoxinum and other bisquaternary ammonium salts could have opposite signs when these substances were introduced separately or jointly. Non-linearity of the concentration dependence of the main phase transition temperature in the membrane was also noted for joint action of two thermotropic liquid crystals forming charge transfer complexes, with linear dependence for non-interacting substances. Such behavior was also noted for nitrates of silver and alkali metals, which was ascribed to indirect interactions with the membrane (competitive adsorption).

Certain effects of the introduced substances were checked in parallel experiments on biological systems (water permeability of carp spermatozoid membranes affected by phenibut and amixine, changes in erythrocyte hemolysis rate in the joint presence of decamethoxin and aspirin)

Using experimentally obtained thermodynamic parameters of phase transitions in model phospholipid membranes, a comparison was made of membranotropic

activity of drugs-analogs used in modern pharmacotherapy, and interference effects were noted of the main drug agent and excipients.

These effects (evidenced by changes in temperature, peak halfwidth and hysteresis of phase transitions) were shown to decrease for certain substances (Metrogil, Protargol) and to increase for others (Amixine IC and Aspirin Complex). Phase separation of lipids in the membrane was noted upon addition of Noobut IC. For drugs-analogs of metronidazole and azitromycin, the membranotropic action was shown to be essentially different in the presence of different excipients. A mechanism has been proposed for the interference of membranotropic action of hydrophobic basic substance and hydrophilic excipient, with lowering of the partition coefficient of the main component in the model membrane.

Analysis of literature and our experimental data allowed us to single out and classify the factors affecting interaction of drugs with the membrane (chemical structure, molecular geometry, lipophilicity, electrostatic parameters etc.). The molecular parameters obtained by quantum-chemical calculations were compared to the measured membranotropic activities. Two cases could be distinguished, with polar fraction of the molecular surface ( $S_{polar}/S_{total}$ ) affecting or not affecting  $a_m$ , which correspond to "absorption" or "adsorption" mechanisms of guest molecules interactions with lipid membrane. Thus, the suggested parameter  $S_{polar}/S_{total}$  could be informative and appropriate for membranotropic effects determination. A group of hydrophobic substances was singled out, which showed high linear correlation coefficients ( $|r| > 0,8$ ) between membranotropic activity and lipophilicity  $\log P$ , as well as  $S_{polar} / S_{total}$ . For hydrophilic substances such correlations were not found. For groups of substances with similar chemical nature (glycerol derivatives, ammonium compounds), high linear correlations ( $r > 0.9$ ) were established between membranotropic action and such molecular parameters as surface area, volume, dipole moment. Generally, hydrophilic and hydrophobic substances showed a tendency towards positive and negative signs of membranotropic activity, respectively.

**Keywords:** model lipid membranes, DPPC, biologically active substances, phase transitions, differential scanning calorimetry.