

О. М. Ляхов<sup>1</sup>, к.б.н., І. Ю. Яковлева<sup>2</sup>, С. А. Олійник<sup>2</sup>, д.б.н.

## ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОДІЇ ЕРГОГЕННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТАУРИНУ ТА ЯКТОНУ З ФОСФОЛІПІДНИМИ ЛЕНГМЮРІВСЬКИМИ МОНОШАРАМИ

<sup>1</sup> Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, м.Київ

<sup>2</sup> Національний університет фізичного виховання та спорту України, м.Київ

Сучасні методи терапії гострих та хронічних інтоксикацій передбачають використання великої кількості різноманітних засобів, серед яких не останнє місце належить метаболічним препаратам, в тому числі непротеїногенній амінокислоті таурину та похідному бурштинової кислоти яктону.

Таурин широко використовується в лікуванні отруєнь, спричинених синтетичними піретроїдами [1] та серцевими глікозидами [2]. Крім того, таурин є ефективним засобом терапії широкого спектру інших патологічних станів та має радіопротекторну, антиоксидантну, нейроефекторну, гепато- та кардіопротекторну дію [3], є основною діючою речовиною вітчизняного препарату краталу, який є кардіопротектором, має актопротекторні, ергогенні властивості [4]. Зважаючи на те, що ряд інтоксикацій супроводжуються активацією вільнорадикального окиснення, ураженнями нервової, серцево-судинної та гепатобілярної систем [5], таурин може розглядатися як потенційний засіб у складі комплексної терапії токсичних уражень різної етіології.

Яктон є перспективною вітчизняною розробкою, лікувальні та профілактичні властивості якого у відношенні токсичної дії барбітуратів встановлені в дослідженнях на тваринах [6].

Впровадження в клінічну практику лікарських препаратів неможливе без з'ясування механізму їх дії. Однією з початкових стадій ре-

алізації фармакологічного ефекту препаратів є взаємодія з клітинною мембраною, в якій певну роль відіграє мембранотропна активність на рівні ліпідного бішару біологічних мембран.

Метою роботи було дослідження механізму дії таурину та яктону на модельних біологічних мембранах — мономолекулярних плівках Ленгмюра з синтетичних та природних фосфолипідів за умов їх формування та повільного рівномірного стискування від газоподібної фази до твердотілого стану.

### Матеріали та методи дослідження

Було досліджено таурин ("Sigma", США), яктон {сукцинат моно-[(2-диметиламіно) етилового ефіру] бурштинової кислоти, дослідне виробництво Інституту органічної хімії НАН України, м. Київ}, а також речовину, що входить до складу останнього, — бурштинову кислоту ("Sigma", США). У роботі використовували трис-(гідроксиметил)-амінометану гідрохлорид (Tris), природний лецитин, дистеароїлфосфатидилхолін (ДСФХ) — х.ч., "Sigma" (США); решта реактивів — х.ч., "Укрреакхім" (Україна).

Для приготування субфази використовували бідистильовану воду. Її очистку від органічних домішок здійснювали за допомогою перегонки в присутності  $\text{KMnO}_4$  та  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Досліди проводили на модифікованій ленгмюрівській ванні "Mini Trough" фірми "Jouyce Loebel Automation" (США) з використан-

ням з'ємної тефлонової ванни об'ємом 120 мл. У ванну вносили субфазу — 0,005 М буферний розчин Tris-HCl, рН  $7,4 \pm 0,1$  при температурі  $20^\circ\text{C}$ , у якій розчинювали препарати до концентрації  $10^{-4}$  та  $10^{-5}$  М. На поверхню субфази за допомогою шприца Гамільтона наносили розчин ДСФХ або лецитину в хлороформі з концентрацією ліпиду 2 мг/мл. Після формування моношару (5 хв) проводили його стискування за допомогою рухомого тефлонового бар'єру. Поверхневий тиск вимірювали за допомогою мікротерезів Вільгельмі. Ізотерми стискування реєстрували самописцем.

Обробка ізотерм стиску базувалася на результатах досліджень Sishen Feng та співавт. [7], які показали, що ізотерма стискування моношару в області "двомірна рідина" — "двомірне тверде тіло" може бути описана рівнянням:

$$A = \omega_0 + \omega_1 / (f_1 \exp(\pi \omega_1 / qkT) - 1),$$

де  $A$  — площа на молекулу,  $\pi$ ; — поверхневий тиск, мН/м;  $f_1$  і  $q$  — безрозмірні константи, що характеризують неідеальність змішування в системі ліпід-вода;  $\omega_0$  — площа поперечного перерізу молекули лецитину;  $\omega_1$  — площа, що зайнята молекулою води на поверхні субфази;  $\overset{\circ}{A}^2/k$  — константа Больцмана, Дж/К;  $T$  — абсолютна температура, К.

Розрахунки проводили за таких припущень: 1) площа поперечного перерізу ліпідних молекул дорівнює такій, отриманій за допомогою кристалографічних досліджень; 2) на границі розподілу субфаз-повітря з ліпідом взаємодіє тільки один шар води, тобто  $\omega_1 = 9,65 \overset{\circ}{A}^2$  ( $0,0965 \text{ nm}^2$ ) на 1 молекулу (в загальному випадку  $\omega_1$  має дорівнювати  $9,65 \overset{\circ}{A}^2 / L$ , де  $L$  — кількість шарів води в області полярних груп).

Параметри  $f_1$  та  $q$  визначали шляхом апроксимації ізотерми стискування і використовували для подальших розрахунків. Зокрема, за допомогою цих параметрів розраховували зміни вільної енергії границі розподілу субфаз-повітря, які виникають при появі ліпідів, та енергетичні коефіцієнти, що відповідають взаємодіям субфаз-субфаза, субфаз-ліпід та ліпід-ліпід ( $H_{11}$ ,  $H_{12}$  та  $H_{22}$ , відповідно), за рівнянням [7]:

$$\Delta G = kT [q \ln f_1 + (q-1) \ln (X_1^2)] = H_{11} X_1^2 + 2H_{12} X_1 X_2 + H_{22} X_2^2,$$

де  $G$  — зміна вільної енергії поверхні субфаз-повітря, що виникає

при появі ліпідів, кал;  $X_1$  і  $X_2$  — молярні частки води та ліпідів відповідно на границі розподілу субфаза-повітря;  $H_{11}$ ,  $H_{12}$  і  $H_{22}$  — енергетичні коефіцієнти, які відповідають взаємодіям субфаза-субфаза, субфаза-ліпід та ліпід-ліпід, кал.

Це рівняння записується для трьох різних точок ізотерми (початок, кінець, середня точка) та отримана система лінійних рівнянь розв'язується відносно енергетичних коефіцієнтів. Таким чином, можливо розділити зміну вільної енергії поверхні на три складові, які можна аналізувати окремо. Для розгляду величини, що характеризує всю поверхню в цілому, було вибрано значення  $\Delta G$  в середній точці ізотерми стискування ( $X_1=0,70$ ) [7].

Спеціальні розрахунки показали, що в умовах досліду параметр  $\omega_1$  дорівнює  $9,65 \text{ \AA}^2$  ( $0,0965 \text{ nm}^2$ ) на 1 молекулу, тобто заміна води буферним розчином не впливає на значення цього параметру. При апроксимації ізотерм стискування природного лецитину параметр  $\omega_0$  приймали таким, що дорівнював  $60 \text{ \AA}^2$  ( $0,060 \text{ nm}^2$ ) на 1 молекулу [7, 8], а синтетичного ДСФХ —  $40 \text{ \AA}^2$  ( $0,040 \text{ nm}^2$ ) на молекулу [8].

#### Результати та їх обговорення

Результати впливу досліджених сполук на структурні та енергетичні параметри ізотерм стискування моношарів з синтетичного ДСФХ представлені в табл. 1. Слід відмітити, що присутність катіонів  $\text{Tris}^+$  та аніонів  $\text{Cl}^-$  в концентрації  $0,005 \text{ M}$  при використанні замість води як субфази буферного розчину достовірно не впливає на характеристики ізотерм стискування моношарів (табл. 1).

Одним з параметрів, що характеризують ізотерму стискування моношару, є площа, яка припадає на одну молекулу ліпідів при нульовому поверхневому тиску ( $S_0$ ). Цей параметр визначається шляхом екстраполяції кінцевих ділянок ізотерми, які відповідають стану моношару "тверде тіло", до нульового значення поверхневого тиску. Завдяки простоті визначення параметр  $S_0$  досить часто використовується для описання ізотерм стискування.

Найбільш суттєвий вплив на значення розрахованих параметрів моношарових плівок з ДСФХ (табл. 1) нами виявлено для таурину, причому в концентрації  $10^{-4} \text{ M}$  відбувалось достовірне збільшення значень енергетичних коефіцієнтів, що характеризують взаємодії між молекулами води поблизу моношару ( $H_{11}$ ), між молекулами води та ліпідів ( $H_{12}$ ), та вільної енергії поверхні, що виникає при появі ліпідів ( $\Delta G$ ). Достовірно зменшення значень розрахованих параметрів моношарів було зафіксовано для взаємодій між молекулами ліпідів в моношарі ( $H_{22}$ ) та площі, яка припадає в поверхні на одну молекулу ліпідів ( $S_0$ ).

Ймовірним поясненням суттєвого зменшення площі на одну молекулу можна вважати окислювальне руйнування молекул ліпідів під дією сірчаної кислоти, яка утворюється при гідролізі таурину [3]. Це також може призводити й до зниження загальної кількості ліпідів, про що свідчить зменшення рівня взаємодій між молекулами ліпідів в моношарі. Опосередковано таке зниження молекул ліпідів може впливати й на взаємодії між молекулами води та молекулами води та ліпідів, а саме зменшення молекул

ліпідів буде призводити до більш легкої взаємодії між молекулами води (збільшення  $H_{11}$ ) та збільшення гідروفільності молекул ліпідів (збільшення ( $H_{12}$ )). Відносне зростання кількості полярних молекул води в поверні буде призводити до збільшення вільної енергії поверхні, про що свідчить зміна параметру  $\Delta G$ .

Вплив яктону на розраховані параметри фосfolіпідних моношарів виявився значно нижчим, ніж у таурину, та не відрізняється від значень термодинамічних параметрів моношарових плівок при взаємодії з ними бурштинової кислоти. Це може бути свідченням того, що певну роль в такому прояві має взаємодія з ліпідами карбоксильних груп бурштинової кислоти, тоді як диметиламінове угруповання не впливає на ліпідну плівку. Проте, зважаючи на низький рівень взаємодії яктону та бурштинової кислоти з фосfolіпідними плівками, це припущення потребує додаткової перевірки.

З аналізу результатів взаємодії досліджених сполук з моношаровими плівками з природного лецитину можна стверджувати (табл. 2), що характер впливу цих препаратів на лєнгмюрівські моношари з ДСФХ та лецитину не має принципових відмінностей. Це може свідчити про подібний механізм взаємодії ергогенних лікарських засобів як з насиченими так і з ненасиченими фосfolіпідами. Очевидно, що найбільш суттєвим у такому впливі препаратів на моношарові плівки є взаємодія речовин з зарядженими групами фосfolіпідів, а саме, залишками фосфату та холіну, тоді як взаємодія з вуглеводневими ланцю-

Таблиця 1

Вплив таурину та яктону на енергетичні та структурні параметри моношарів з синтетичного дистеароїлфосфатидилхоліну ( $M \pm m, n=3$ )

Характер досліду	$S_0$ , $\text{nm}^2/\text{молекула}$	$H_{11}$ , кал/моль	$H_{12}$ , кал/моль	$H_{22}$ , кал/моль	$\Delta G$ , кал/моль
Буфер ( $0,005 \text{ M Tris-HCl}$ , $\text{pH } 7,4$ )	$0,64 \pm 0,01$	$44 \pm 4$	$-50 \pm 1$	$-399 \pm 13$	$-25 \pm 1$
Таурин, $10^{-4}$ , M	$0,52 \pm 0,03^*$	$54 \pm 3^*$	$-66 \pm 2^*$	$-354 \pm 8^*$	$-36 \pm 3^*$
Таурин, $10^{-5}$ , M	$0,55 \pm 0,03^*$	$51 \pm 2$	$-64 \pm 3^*$	$-371 \pm 12$	$-32 \pm 3^*$
Яктон, $10^{-4}$ , M	$0,62 \pm 0,02$	$44 \pm 2$	$-52 \pm 4$	$-383 \pm 18$	$-23 \pm 3$
Яктон, $10^{-5}$ , M	$0,61 \pm 0,03$	$42 \pm 4$	$-49 \pm 2$	$-401 \pm 11$	$-25 \pm 2$
Бурштинова к-та, $10^{-4}$ M	$0,62 \pm 0,01$	$45 \pm 2$	$-52 \pm 2$	$-387 \pm 9$	$-22 \pm 2$

Примітка: в цій та табл. 2 \* —  $p < 0,05$  у порівнянні з буферним розчином

Вплив таурину та яктону на енергетичні та структурні параметри моношарів з природного лецитину ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Характер досліджу	$S_0$ , нм <sup>2</sup> /молекула	$H_{11}$ , кал/моль	$H_{12}$ , кал/моль	$H_{22}$ , кал/моль	$\Delta G$ , кал/моль
Буфер (0,005 М Tris-HCl, рН 7,4)	0,78±0,02	47±3	-70±5	-498±16	-36±4
Таурин, 10 <sup>-4</sup> , М	0,62±0,04*	60±5*	-86±5*	-464±10*	-48±4*
Таурин, 10 <sup>-5</sup> , М	0,65±0,04*	54±4	-81±4*	-475±12	-44±6
Яктон, 10 <sup>-4</sup> , М	0,74±0,03	43±2	-74±5	-485±12	-33±2
Яктон, 10 <sup>-5</sup> , М	0,75±0,02	42±4	-68±2	-503±11	-35±2
Бурштинова к-та, 10 <sup>-4</sup> М	0,75±0,03	46±3	-74±4	-488±13	-32±4

гами ліпідів є непринциповою.

Наявність ненасиченості вуглеводневих радикалів в молекулах лецитину (який є сумішшю похідних переважно пальмітинової, стеаринової, олеїнової, лінолевої та арахідонової кислот) призводить до деякого зростання розрахованих значень структурних та термодинамічних параметрів моношарових плівок з природного лецитину.

Також треба відзначити суттєвий вплив на моношарові плівки з фосфоліпідів таурину, який, так само як й у випадку з синтетичним ДСФХ, скоріш за все, можна пояснити взаємодією з молекулами ліпиду сірчаної кислоти, що утворюється при гідролізі таурину [3].

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено, що таурин та яктон впливають на стан та енергетичні параметри мономолекулярних плівок, іншими словами, препарати мають мембранотропну активність на рівні фосфоліпідних моношарових плівок. Найбільш сильний вплив виявляє таурин.

В попередніх дослідженнях нами було показано, що в механізмі реалізації фармакологічних ефектів

лікарських засобів певну роль відіграє їх мембранотропна активність, яка пов'язана з дією на основні сигнальні системи клітини — аденілатциклазну та поліфосфоінзитидну [9, 10]. Враховуючи, що більш значна зміна термодинамічних та структурних характеристик моношарових плівок спостерігається під впливом препаратів, які є активаторами аденілатциклазної та/або інгібіторами поліфосфоінзитидної сигнальних систем, ніж під впливом речовин з протилежною направленістю дії по відношенню до основних сигнальних систем клітини [9, 10], можна зробити припущення, що взаємодія досліджених сполук з рецепторами клітинних мембран буде відбуватися подібним чином.

Отже, в результаті проведеного дослідження виявлена мембранотропна активність таурину та яктону на рівні мономолекулярних плівок з синтетичного ДСФХ та природного лецитину, що може бути свідченням залучення мембранних ліпідів в реалізацію фармакологічної дії цих препаратів. Характер впливу таурину та яктону на моношарові плівки

принципово не відрізняється при зміні синтетичного фосфатидилхоліну на природний лецитин. Подібність у впливі препаратів на лемгюрівські моноплівки з різних ліпідів може свідчити про однаковий механізм взаємодії таурину та яктону з фосфоліпідними моношарами.

Для випадку як моношарів з ДСФХ, так і мономолекулярних плівок з лецитину встановлено, що найбільш значний вплив на структурні та енергетичні характеристики моношарових плівок чинить таурин в концентрації 10<sup>-4</sup> та 10<sup>-5</sup> М.

Враховуючи дані про те, що в механізмі реалізації фармакологічних ефектів лікарських засобів певну роль відіграє їх мембранотропна активність, яка може бути пов'язана з дією на основні сигнальні системи клітини — аденілатциклазну та поліфосфоінзитидну [9, 10], ймовірно, що вплив таурину та яктону на рецептори основних сигнальних систем клітини може призводити до збільшення рівня активності аденілатциклазної сигнальної системи клітини та(або) блокувати проведення сигналу через Ca-залежну поліфосфоінзитидну систему.

## ЛИТЕРАТУРА

- Gammon D. W., Lawrence L. J., Casida J. E. Pyrethroid toxicology: protective effects of diazepam and phenobarbital in the mouse and the cockroach // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1982. — V. 66. — P. 290-296.
- <http://medi.ru/doc/a030200.htm>
- Нефёдов Л.И. Таурин (биохимия, фармакология и медицинское применение). — Минск, 1999. — 145 с.
- Коваль И. В., Олейник С. А., Вдовенко Н. В. Влияние кардиологического препарата "Кратал" на состояние антиоксидантной защиты при напряженной мышечной деятельности / Тезисы докл. Второго межд. конгресса "Спорт и здоровье", Санкт-Петербург, апрель 2005 г. — Санкт-Петербург: Олимп-СПб, 2005. — С. 122-123.
- Элленхорн М. Дж. Медицинская токсикология: диагностика и лечение отравлений у человека. Пер. с англ. — М.: Медицина, 2003. — 2092 с.
- Олійник С., Чекман І., Горчакова Н. та ін. Корекція порушень клітинного дихання при експериментальній барбітуратній інтоксикації // *Галицький лікарський вісник.* — 2000. — Т. 7. — С. 96-98.
- Feng S., Brockman L. H., Mac-Donald R. C. On osmotic-type equations of state for liquid-expanded monolayers of lipids at the air-water interface // *Langmuir.* — 1994. — V. 10. — P. 3188-3194.
- Кагава Я. Биомембраны. — М.: Выс-

шая школа, 1985. — 303 с.  
9. Ляхов О. М., Прокопенко В. В., Прокопенко Р. А., Могилевич С. Є. Взаємодія модуляторів фосфоліпідної та аденілатциклазної

сигнальних систем клітини з фосфоліпідними моношарами при різних температурах // Доповіді НАН України. — 2002. — № 12. — С. 113-118.

10. Ляхов О. М. Взаємодія фізіологічно-активних речовин з лангмюрівськими мономолекулярними плівками. / Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2006. — 19 с.

---

*А. М. Ляхов, И. Ю. Яковлева, С. А. Олейник*

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
ЭРГОГЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ  
ТАУРИНА И ЯКТОНА С ФОСФОЛИПИДНЫМИ  
ЛАНГМЮРОВСКИМИ МОНОСЛОЯМИ**

Наиболее сильное действие на структурные и энергетические характеристики фосфолипидных монослоев было обнаружено для таурина. Характер влияния веществ на фосфолипидные монослои может быть подтверждением предположения о непосредственном взаимодействии препаратов с липидным бислоем биомембран и о вовлечении рецепторов основных сигнальных систем клетки в проявлении фармакологического эффекта исследованных веществ.

*A. M. Lyakhov, I. Yu. Yakovleva, S. A. Oliyuk*

**FEATURES OF INTERACTION ERGOGENIC  
DRUGS TAURINE AND YAKTON WITH LANG-  
MUIR PHOSPHOLIPID MONOLAYERS**

The strongest influence on the structural and energy characteristics of phospholipid monolayers was revealed for taurine.

The character of influence of substances on phospholipid monolayers can be acknowledgement about the assumption on direct interaction of preparations with a biomembranes bilayer and about involving receptors of the basic cellular signalling systems in display of pharmacological effect of the investigated substances.