

Г. Г. Горюшко, канд. хім. наук,  
Г. С. Григор'єва, д-р хім. наук,  
Н. Ф. Конахович, канд. хім. наук,  
О. М. Величко

## ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА СТРУКТУРУ І ВЛАСТИВОСТІ ФОСФОЛІПІДНОГО БІШАРУ ЛІПОСОМ

*Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ*

Незалежно від етіології порушень процесів вільнорадикального окислення та антиоксидантного статусу організму (стрес, серцево-судинні патології, запалення, вплив ксенобіотиків та ін.), їх неминучим наслідком є ураження клітинних мембран. Це актуалізує пошук лікарських засобів на основі антиоксидантів, здатних інгібувати ліпоперекислення (ПОЛ) біомембран.

Рослинний флавоноід кверцетин (Кв) належить до ефективних біоантиоксидантів, антирадикальні властивості якого переважають такі у  $\alpha$ -токоферолу — відомій «пластці» для радикальних частинок [1]. Широкий спектр біологічної дії Кв та його виправдане визначення як «універсального фармакофора» пов'язані з антиоксидантною та антирадикальною активністю, здатністю до хелатації вільних іонів металів — каталізаторів пероксидації і впливом на ферментні системи, що визначають окислювальний статус клітин [2]. При цьому фармакотерапевтичне застосування Кв реально обмежується низькою біодоступністю і високою біодеградацією його субстанції [3]. Перспективним шляхом створення ефективної лікарської форми Кв, в першу чергу — для парентерального застосування, може бути його введення до ліпосомальної структури.

Можливість взаємодії Кв із матрицею ліпосом — фосфоліпідами за участі  $\pi$ -електронної системи кверцетину та з

утворенням водневих зв'язків із фосфатною групою ліпиду показана методом ЯМР ( $C^{13}$ ) на прикладі системи Кв — фосфатидилхолін (ФХ) ( $C_{Кв} \geq C_{ФХ}$ ) [4]. Втім, практично не вивчалася природа такого зв'язку. Особливий інтерес становить порівняльне дослідження взаємодії Кв та його ліпосомальної форми (ЛКв) з біомембранами.

**Мета** роботи — вивчення здатності Кв до структурної модифікації ліпосомально організованих фосфоліпідів і впливу ЛКв на структурно-динамічні показники модельних мембран (ФХ-ліпосом) і біомембран ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів *in vitro*. Для розв'язання цих завдань використані незалежні методи ІЧ-спектроскопії, мікрокалориметрії та флуоресцентного зондування.

### Матеріали та методи дослідження

У роботі використана фармакопейна субстанція кверцетину — 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавоно дигідрат [5]. Як модель біомембран обрані ФХ ліпосом препарату «Ліпін» (ліофілізований порошок, що містить у флаконі 500 мг ФХ і 400 мг D-лактози [6]). Ліпосомальну форму Кв (ЛКв) отримували за модифікованою методикою створення ліпосом [7]: водну суспензію ФХ (ячний лецитин) і Кв обробляли в ультразвуковому дезінтеграторі УЗДН-А в режимі середньої потужності при постійному охолодженні (з інтервалами 60 с). Отриману

емульсію послідовно фільтрували на фільтрах Millipore з утворенням ліпосом розміром 0,1–0,15 мкм, додавали кріопротектор — D-лактозу і проводили ліофільне висушування. Вміст компонентів у флаконі ЛКв: ФХ — 550 мг, Кв — 15 мг, лактоза — 320 мг.

Мембрани ендоплазматичного ретикулу (ЕР) гепатоцитів інтактних щурів лінії Вістар (маса 160–200 г) виділяли за методом диференційного центрифугування [8]. Концентрацію білка в мікросомах визначали за методом Лоурі [9].

ІЧ-спектри реєстрували на ІЧ-спектрометрі Perkin-Elmer-325 (Швеція) у таблетках КВг, які містять на 200 мг КВг по 1 мг Кв, ліпіну або ЛКв. Кінетику теплового ефекту реакцій реєстрували на мікрокалориметрі ЛКВ-2107 (Швеція) при температурі 26 °С в режимі змішування реагентів у фізіологічному розчині (рН 6,9) або у трис-НСІ буфері (рН 7,4) при робочих концентраціях: Кв і ЛКв (за вмістом Кв) —  $C_{Кв} = 1,67 \cdot 10^{-5}$  М, ліпіну (за вмістом ФХ) —  $C_{ФХ} = 0,33$  мг/мл, мембран ЕР (за вмістом білка) —  $C_{білка} = 0,167$  мг/мл.

Заряд поля поверхні ліпосом у ліпіні та ЛКв визначали методом «іонного удару» [10]: виміряли інтенсивність флуоресценції (F) аніонного поверхневого зонда 1,8-АНС ( $C = 30$  мкМ), який вбудований у ліпосоми з кінцевою концентрацією за фосфатидилхоліном  $C_{ФХ} = 0,1$  мг/мл, у середовищі буфера 0,01 М трис НСІ та

0,1 мМ ЕДТА (рН 7,5) при іонній силі  $\mu_1 = 0,01$  ( $F_1$ ) і  $\mu_2 = 0,25$  ( $F_2$ ). Іонну силу створювали додаванням 5 М розчину NaCl. Величину заряду поверхні (Кл/м<sup>2</sup>) оцінювали за формулою:  $\sigma = 0,0077 \ln(1,05 F_2/F_1)$ .

Мікров'язкість фосфоліпідного бішару у ліпосомальній емульсії ліпіну, що містить різні концентрації введеного ЛКв, оцінювали за структурно-динамічним параметром  $J_{392}/J_{470}$  у спектрі флуоресценції вбудованого глибинного гідрофобного зонда — пірену ( $J_{392}$  і  $J_{470}$  — інтенсивність флуоресценції мономерної та димерної форм пірену). Концентрації компонентів дорівнювали: ліпіну —  $C_{ФХ} = 0,1$  мг/мл, пірену —  $C_{пир} = 10^{-5}$  М, ЛКв (за вмістом Кв) — у межах від  $1 \cdot 10^{-7}$  до  $1 \cdot 10^{-5}$  М. Спектри флуоресценції реєстрували в інтервалі температур 20–45 °С на спектрофлуориметрі Hitachi MPF-4, у кюветках з товщиною шару 1 см, при величині вихідної щільності монохроматора 0,75 нм.

Отримані дані обробляли методами параметричної та непараметричної статистики [11].

### Результати дослідження та їх обговорення

У табл. 1 подано частоти коливань в ІЧ-спектрах Кв, ліпіну та ЛКв у діапазоні 1800–700 см<sup>-1</sup>, порівняння яких проведено відповідно до [12].

Порівняння ІЧ-спектрів Кв, ЛКв і ліпіну дозволило виявити особливості, які характеризують взаємодію і природу зв'язку кверцетину із фосфоліпідним шаром у ЛКв:

— частота валентних  $\sqrt{C=O}$  коливань гліцерольного ланцюга ФХ однакова для ліпіну і ЛКв (1735 см<sup>-1</sup>);

— не виявлено вірогідної різниці між формою і положенням смуги валентних коливань  $\sqrt{OH}$  (3400 см<sup>-1</sup>), обумовлених міжмолекулярними водневими зв'язками;

— значно знижена відносна інтенсивність поглинання 1650–1590 см<sup>-1</sup> (для дієнових  $\sqrt{C=C}$  систем; деформаційних коливань  $\delta_{OH}$ ,  $\delta_{C-H}$ ) у спектрі ЛКв порівняно зі спектром ліпіну. При цьому поява у спектрі ЛКв триплету (1650, 1630 і 1590 см<sup>-1</sup>) у місці знаходження єдиної смуги деформаційних коливань 1640 см<sup>-1</sup> у спектрі ліпіну може бути зумовлена валентними коливаннями  $C=C_{пир}$  піронового циклу кверцетину (1670 см<sup>-1</sup>). Силова константа цих коливань знижена на 20 см<sup>-1</sup>, що можливо внаслідок збурення  $\pi$ -електронної системи в ароматичних ядрах Кв при його включенні до ЛКв;

— значні відмінності ІЧ-спектрів ЛКв і ліпіну на ділянці площинних  $\delta_{OH} + \omega_{C-H}$  (1390–1350 см<sup>-1</sup>) і позаплощинних  $\delta_{C-H}$  (900–650 см<sup>-1</sup>) дефор-

маційних коливань також відображають внесок  $\pi$ -електронів ароматичних ядер і дієнових систем Кв у складі ЛКв;

— відмінності між спектрами ліпіну та ЛКв для частот коливань  $\sqrt{C-N}$  (1155–1140 см<sup>-1</sup>) холінової групи, а також валентних коливань  $\sqrt{P=O}$  (1250–1180 см<sup>-1</sup>),  $\sqrt{P=O}$ ,  $\sqrt{PO-C_{алк}}$  (1090–990 см<sup>-1</sup>) і  $\sqrt{P-OC}$  (970–710 см<sup>-1</sup>) головної фосфатної групи ФХ свідчать про структурні зміни фосфоліпиду в ліпосомах ЛКв.

Аналіз характерних змін в ІЧ-спектрі ЛКв, порівняно зі спектрами ліпіну та Кв, підтверджує входження Кв до фосфоліпідного шару ліпосом ЛКв за участі його потужної  $\pi$ -електронної системи, а також можливе утворення хімічних зв'язків за принципом комплементарної або стекінг-взаємодії.

Для висновку про природу зв'язку між компонентами у процесі утворення ЛКв корисною є інформація про величину і напрямок (знак) теплового ефекту реакції у системі Кв — ліпін. Дійсно, мікрокалориметричне дослідження взаємодії Кв з ліпіном (рис. 1, а, рН 6,9) показало ендотермічний характер теплового ефекту цієї реакції із максимумом поглинання тепла на 1-й хвилині після змішування компонентів. Це вказує на гідрофобну природу зв'язування кверцетину з ліпі-

Таблиця 1

Частоти коливань в ІЧ-спектрах кверцетину, його ліпосомальної форми і ліпіну в таблетках KBr,  $t = 25^\circ C$

| Співвідношення частот коливань $\nu_{макс}$ см <sup>-1</sup>    |                                      |                                      |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Кв  | ЛКв                                  | Ліпін                                |
| 1670 <sub>с</sub> ( $C=C_{піроновий\ цикл}$ )                   | 1735 ( $C=O$ )                       | 1735 ( $C=O$ )                       |
| 1610 <sub>с</sub> ( $C=C_{аром}$ )                              | 1650, 1630 1590 ( $-C=C$ , $C-H$ ),  | 1640 ( $OH$ )                        |
| 1545-1510 <sub>с</sub> ( $OH_{енол}$ )                          | 1465 ( $OH$ , $CH_3$ )               | 1465-1450 ( $sCH_3$ , $OH$ )         |
| 1455 <sub>сл</sub> , 1425 <sub>ср</sub> ( $OH$ , $C-H_{плоч}$ ) | 1410 ( $C-H$ , $CH_3$ )              | 1430 ( $CH_3$ , $C-H$ )              |
| 1360 <sub>с</sub> , 1310 <sub>с</sub> ( $OH_{плоч}$ )           | 1370 ( $OH_{плоч}$ , $C-H$ )         | 1390-1355 ( $CH_3$ )                 |
| 1240 <sub>с</sub> , 1210 <sub>с</sub> ( $C-O-C$ )               | 1320 ( $OH$ , $CH_3$ )               | 1340 ( $OH$ , $CH_3$ )               |
| 1163, 1140 ( $C-C_{аром}$ )                                     | 1230, 1177 ( $P=O$ , $P-OC$ )        | 1260-1200 ( $P-OC$ , $P=O$ )         |
| 1010 <sub>с</sub> , 1000 <sub>ср</sub> ( $C-OC$ )               | 1155 ( $C-N$ )                       | 1163 ( $C-O-C$ )                     |
| 930 <sub>сл</sub> ( $C-H_{позаплоч}$ )                          | 1080-1060 ( $PO-C_{алк}$ , $C-O-C$ ) | 1140 ( $C-N$ )                       |
| 885 <sub>сл</sub> , 820-780 <sub>ср</sub> ( $C-H$ )             | 965 ( $P-OC_{алк}$ , $C-H$ )         | 1090-1070 ( $PO-C_{алк}$ , $C-O-C$ ) |
|   | 770-710 ( $P-O$ , $C-H$ )            | 970 ( $P-OC_{алк}$ , $C-H$ )         |
|   |                                      | 780-720 ( $P-O$ , $C-H$ )            |

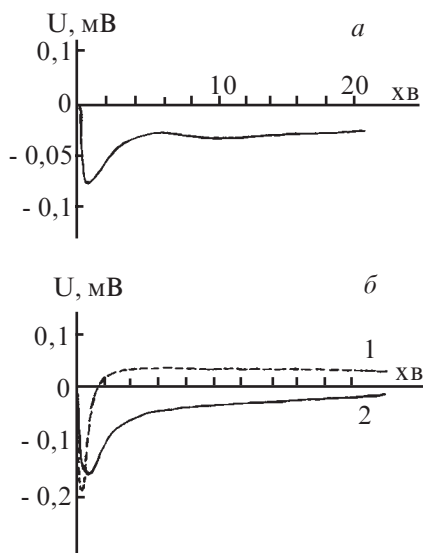


Рис. 1. Кінетика теплового ефекту  $U$  реакцій в системах:

$a$  — ліпін — Кв, фізіологічний розчин, рН 6,9;  $b$  — мембрани ЕР гепатоцитів — Кв (крива 1); мембрани ЕР гепатоцитів — ЛКв (крива 2); трис-НС1 буфер, рН 7,4;  $t + 26^\circ\text{C}$

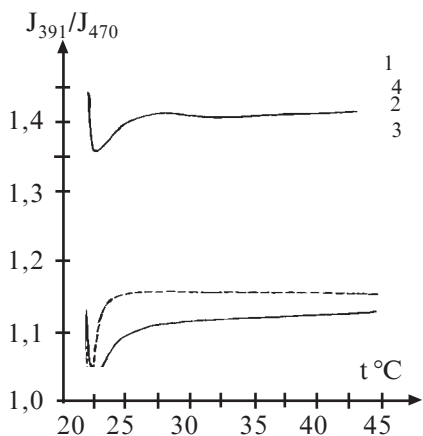


Рис. 2. Температурна залежність параметра флуоресценції зонда-пірену  $J_{392}/J_{470}$ , введеного у фосфоліпідний шар ліпіну, в системі ліпін — ЛКв:

1 — ліпін (за вмістом ФХ),  $C_{\text{ФХ}} = 0,1$  мг/мл;  $C_{\text{ЛКв}} = 0$ ; 2–4 — ліпін,  $C_{\text{ФХ}} = 0,1$  мг/мл;  $C_{\text{ЛКв}}$  (за вмістом Кв):  $1 \cdot 10^{-7}$  М (крива 2),  $5 \cdot 10^{-7}$  М (крива 3),  $1 \cdot 10^{-6}$  М (крива 4)

ном, що здійснюється переважно за рахунок комплементарної або стекінг-взаємодії, але за відсутності електростатичних, водневих або Ван-дер-Ваальсових зв'язків, утворення яких повинно супроводжуватись екзотермічним ефектом [13].

Результати мікрокалориметричних досліджень і відображені в ІЧ-спектрах ЛКв зміни в структурі як вбудованого кверцетину, так і холинової та фосфатної груп ліпиду дають підстави вважати, що відбувається пакування молекул кверцетину в гідрофобних зонах фосфоліпідного бішару ліпосом ЛКв.

Про структурну модифікацію ФХ у ЛКв, порівняно із ліпіном, свідчить також характер змін заряду поверхні ліпосом, оцінка якого проведена із використанням аніонного флуоресцентного зонда 1,8-АНС [10].

У табл. 2 наведено показники інтенсивності флуоресценції 1,8-АНС-зонда, вбудованого на поверхні ліпосом ліпіну та ЛКв, при різних значеннях іонної сили ( $F_1$  і  $F_2$  відповідно), а також розраховані значення заряду поверхні  $\sigma$  (Кл/м<sup>2</sup>).

Заряд поверхні  $\sigma$  для ліпіну значно вищий, ніж для ЛКв, тобто введення кверцетину вірогідно знижує заряд поверхні ліпосом (на 28 %), що сприяє її деполізації та підвищенню гідрофобності. Слід відзначити, що такий ефект досягається при масовому співвідношенні Кв : ФХ у складі ЛКв, яке дорівнює 1 : 37,

тобто при значній перевазі концентрації ФХ. Втім, відносно невеликої кількості Кв виявилось достатньо для модифікації поверхні фосфоліпідного шару, що вказує на високу мембранотропність цієї речовини — «гостя» у ліпосомах ЛКв.

Підтвердження факту структурної модифікації ФХ кверцетином у ЛКв отримане також при дослідженні впливу ЛКв на мікрів'язкість модельної мембрани ліпосом ліпіну, тобто на глибинні гідрофобні зони фосфоліпідного шару [10].

На рис. 2 наведено температурні залежності параметра флуоресценції  $J_{392}/J_{470}$  зонда-пірену, вбудованого у ліпосом ліпіну, у системі ліпін — ЛКв при різних концентраціях ЛКв (за вмістом Кв:  $10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-7}$  і  $10^{-7}$  М). Відзначмо, що зменшення значення параметра  $J_{392}/J_{470}$  свідчить про зниження мікрів'язкості фосфоліпідного бішару та зростання його рухомості.

Характерна для ліпіну тенденція температурної залежності параметра  $J_{392}/J_{470}$ , яка відображає динаміку мікрів'язкості ліпосом (рис. 2; крива 1), у цілому зберігається у присутності ЛКв, але значною мірою залежить від його концентрації у системі: при концентраціях вище  $10^{-6}$  М (за вмістом кверцетину) ліпідний бішар структурується, а нижче цього значення — розріджується. Цей ефект є найбільш вираженим при температурах вище  $37^\circ\text{C}$  (криві 2–4). Крім того, внаслідок модифікації кверцетином підвищуються температури фазових переходів ФХ: для ліпіну основний злам на кривій залежності ( $J_{392}/J_{470}$  —  $t$ ) спостерігається при  $34,8^\circ\text{C}$ , а у присутності ЛКв у концентраціях  $5 \cdot 10^{-7}$  і  $1 \cdot 10^{-7}$  М (за вмістом кверцетину) — при  $36,8$  і  $38,5^\circ\text{C}$ , відповідно. Таким чином, у системах ліпін — ЛКв з низьким вмістом ЛКв (менше  $10^{-6}$  М) знижується

Таблиця 2

Інтенсивність флуоресценції вбудованого 1,8-АНС-зонда і величини заряду поверхні  $\sigma$  ліпосом ліпіну та ЛКв

| Об'єкт         | Інтенсивність флуоресценції 1,8-АНС, при іонній силі $F$ , відн. од. |                        | Величина заряду $\sigma$ , Кл/м <sup>2</sup> |
|----------------|--|------------------------|--|
|                | $F_1$ ( $\mu = 0,01$ )   | $F_2$ ( $\mu = 0,25$ ) |  |
| Ліпін, $n = 4$ | 9,68   | 30,5                   | $(9,25 \pm 0,29) \cdot 10^{-3}$              |
| ЛКв, $n = 3$   | 12,5   | 27,5                   | $(6,64 \pm 0,53) \cdot 10^{-3}$              |



мікрів'язкість ФХ-бішару і підвищується температура його фазових переходів.

Зниження мікрів'язкості мембрани може бути наслідком ефективного входження ЛКв із меншим, ніж у ліпіну, зарядом поверхні до гідрофобної зони ліпідного шару. Підвищення ж концентрації ЛКв (понад  $10^{-6}$  М за вмістом кверцетину) змінює напрямок впливу ЛКв на в'язкість мембрани. При дослідженні ліпідів мітохондрій у присутності антиоксидантів-токоферолів аналогічний ефект пов'язували з існуванням двох механізмів дії останніх на мікрів'язкість ліпідів: розподіленням у бішарі із супровідним розрідженням ліпідів (при концентраціях токоферолу, менших  $2 \cdot 10^{-6}$  М) і безпосереднім зв'язуванням більш високих концентрацій токоферолу із рецепторами антиоксидантів (структурування ліпідів) [14].

Вплив гідрофобізації ліпосом на їх спорідненість із біологічною мембраною виявлено при дослідженні теплового ефекту реакцій Кв і ЛКв з ізолюваними мембранами ЕР клітин печінки (рН 7,4). Реакція кверцетину з мембраною ЕР (рис. 1, б, крива 1) в перші 1–2 хв після змішування відбувається із поглинанням тепла, що відповідає гідрофобній взаємодії [13] (завдяки комплементарній вбудові кверцетину у мембрану або стекінг-взаємодії з ліпідним шаром). Надалі відбувається екзотермічний ефект, характерний для Ван-дер-Ваальсової або електростатичної взаємодії або Н-зв'язку. Цей пролонгований ефект може бути зумовлений реакцією кверцетину як з продуктами ПОЛ, так і з білковими структурами у мембранах ЕР. При цьому реакція ЛКв з мембраною ЕР (рис. 1, б, крива 2) проходить тільки з ендотермічним ефектом, що вказує на стійку гідрофобну взаємо-

дію, яка є виключно ендотермічною і повинна супроводжуватися зростанням ентропії системи [13], що свідчить про високу проникність ЛКв крізь мембрану до клітини.

Оцінкові величини теплоти реакції Q становили (за 20 хв):

$Q_{Кв} = (-0,0438) + (+0,170)$  кал/л для реакції мембран ЕР з Кв

і  $Q_{ЛКв} = -0,271$  кал/л для реакції мембран ЕР з ЛКв.

Отримані дані свідчать, що ЛКв виявляє більшу спорідненість до мембрани ЕР, оскільки абсолютна величина  $Q_{ЛКв}$  більша, ніж  $Q_{Кв}$  для реакції з вільним Кв.

Проведені дослідження показали, що при формуванні ЛКв відбувається модифікація поверхні і структури ліпосом внаслідок входження кверцетину у гідрофобну ділянку фосfolіпідного бішару. Підвищена мембранотропність ліпосомальної форми кверцетину, порівняно із вільним Кв, яку встановлено в реакціях з модельною мембраною ліпосом і з біомембраною ЕР гепатоцитів, зумовлює зниження мікрів'язкості та деполаризацію мембрани, а отже підвищує її життєздатність.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Bors W., Michel C., Saran M. Flavonoids antioxidants: rate constants for reaction with oxygen radicals // *Methods Enzymol.* — 1994. — Vol. 234. — P. 420-429.
2. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides Theoharis C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer // *Pharm. rev.* — 2000. — Vol. 52, N 4. — P. 673-751.
3. *Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress* / E. E. Schwedhelm, R. Maas, R. Troost, R. Boger // *Clin. Pharmacokinet.* — 2003. — Vol. 42, N 5. — P. 437-459.
4. *Исследование комплекса 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавона с фосфа-*

тидилхолином / Р. С. Насибуллин, Т. И. Никитина, Ю. Г. Афанасьева, Л. В. Спирихин // *Материалы докл. 8-й Всерос. конф. «Структура и динамика молекулярных систем».* Химия и компьютерное моделирование. Бултеровские сообщения. — 2002. — № 6. — С. 1-4.

5. *Кверцетин.* АНД до Реєстр. посв. № Р.0803/07178.

6. *Реєстр лікарських засобів України, 2000 р.:* Офіц. видання / Гол. ред. О. В. Стефанов. — К.: Авіценна, 2001. — 792 с.

7. Дудниченко А. С., Краснополський Ю. М., Швець В. И. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике. — Харьков: РА-Каравелла, 2001. — 144 с.

8. Карузина М. И., Арчаков А. И. Выделение микросомальной фракции и характеристика ее окислительных систем // *Современные методы биохимии.* — М.: Наука, 1977. — С. 49-62.

9. Lowry O., Rozenbrogh N., Farr A. Protein measurements with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* — 1951. — Vol. 193, N 2. — P. 265-275.

10. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. — М.: Наука, 1989. — С. 156-157.

11. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. — К.: Морион, 2002. — 624 с.

12. Браун Д., Флорид А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ. — М.: Мир, 1992. — 300 с.

13. Ландау М. А. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. — М.: Наука, 1981. — 262 с.

14. *Влияние функциональных групп молекул токоферолов на вязкость липидов митохондрий* / Р. Ф. Керимов, А. Н. Голощапов, Е. Б. Бурлаков, А. И. Джафаров // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* — 1987. — № 5. — С. 540-542.

УДК 576.314+577.115

Г. Г. Горюшко, Г. С. Григор'єва, Н. Ф. Коначович,  
О. М. Величко

#### ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА СТРУКТУРУ І ВЛАСТИВОСТІ ФОСФОЛІПІДНОГО БІШАРУ ЛІПОСОМ

Методами ІЧ-спектроскопії, мікрокалориметрії та флуоресцентного зондування досліджено взаємодію кверцетину з фосфоліпідними ліпосомами. Вперше отримано дані про структурну модифікацію ліпосом внаслідок входження кверцетину в гідрофобну ділянку фосфоліпідного бішару. Підвищена мембранотропність ліпосомальної форми кверцетину, порівняно з вільним Кв, супроводжується зниженням мікрров'язкості та деполаризацією мембрани.

**Ключові слова:** кверцетин, ліпосоми, біомембрани.

UDC 576.314+577.115

G. G. Goryushko, G. S. Grygoryeva, N. F. Konakchovich, O. M. Velichko

#### THE INFLUENCE OF QUERCETIN AT THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF THE PHOSPHOLIPID BILAYER OF THE LIPOSOMES

The interaction of quercetin with phospholipid liposomes was investigated by the IR-spectroscopy, microcalorimetry and fluorimetry-probe methods. For the first time data about the liposome structural modification owing to the quercetin entry into hydrophobic area of the phospholipid bilayer were obtained. The heightened membrane tropism of the liposomic quercetin, as compared with the free quercetin, was accompanied by the microviscosity reduction and the membrane depolarization.

**Key words:** quercetin, liposome, biomembrane.

УДК 612.438:612.75:577.73

А. Н. Устименко,

Л. Н. Пашинян,

А. Е. Родниченко,

Л. В. Магдич, канд. биол. наук,

Г. М. Бутенко, акад. АМН України

## ВЛИЯНИЕ ТИМЭКТОМИИ В НЕОНАТАЛЬНОМ ВОЗРАСТЕ НА ПЛОТНОСТЬ БЕДРЕННОЙ КОСТИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА/СА

*Институт геронтологии АМН Украины, Киев*

### Вступление

Тот факт, что тимус у новорожденных и молодых животных имеет большие размеры и что он подвергается инволюции у взрослых, послужил поводом высказать предположение, что тимус участвует в процессах роста организма. У животных, лишенных тимуса, было отмечено угнетение процессов роста, сопровождающееся дефектами ossification, остеопорозом и гипоплазией костей [3]. Кроме того, возрастная инволюция тимуса и возрастные изменения в функции половых желез указывают на взаимосвязь между этими двумя органами. Отмечено, что у мышей, подвергнутых тимэктомии в неонатальном периоде, наблюдалась атрофия яичников и эпидидимоорхиты [18]. Тимус яв-

ляется центральным органом иммунной системы. В нем происходит созревание и дифференцировка Т-лимфоцитов, которые также принимают участие в метаболизме костной ткани. Данные о влиянии лимфоцитов на костный метаболизм подтверждаются тем фактом, что они секретируют факторы некроза опухоли  $\alpha$  и  $\beta$  (ФНО- $\alpha$  и  $\beta$ ), которые стимулируют костную резорбцию [19]. Другой продукт секреции лимфоцитов —  $\gamma$ -интерферон — является потенциальным ингибитором интерлейкин-1 (ИЛ-1) стимулированной костной резорбции в органной культуре и подавляет формирование остеобластных клеток в костномозговой культуре клеток человека [20]. Клетки костного мозга обладают остеогенными свойствами. Главные участники ремо-

делирования кости — остеокласты и остеобласты — происходят из гемопоэтических предшественников, подобных гранулоцитарно-макрофагальным колониеобразующим клеткам (КОК-ГМ), и мезенхимальных стволовых клеток, входящих в состав стромы костного мозга, подобных колониеобразующим клеткам фибробластов (КОК-Ф) [1; 13]. Процесс ремоделирования контролируется системной и локальной продукцией цитокинов, а баланс процессов резорбции и формирования кости обеспечивает сохранение нормальной костной массы [12–14]. Существуют факторы, которые были независимо открыты в костной и иммунной системах, они специфически влияют на развитие и дифференцировку остеокластов: рецептор, активирующий ядер-