

УДК 612111015-02/616

БІОФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ТА МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ З НЕНАРКОТИЧНИМИ АНАЛЬГЕТИКАМИ В УМОВАХ ГОСТРОГО БОЛЬОВОГО СИНДРОМУ

Ю. І. ГУБСЬКИЙ¹, Т. А. БУХТІАРОВА¹, Г. Г. ГОРЮШКО¹, Н. В. ЛІТВИНОВА¹,
Г. І. ПАРАМОНОВА², Т. М. КУРАПОВА¹, О. М. ВЕЛИЧКО¹, Л. П. БАБЕНКО¹

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ;

²ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ;
e-mail: iurigala@ukr.net

Методами флуоресцентного зондування та спектрофотометрії було виявлено зміни біофізичних властивостей – мікрів'язкості та плинності ліпідного бішару, заряду поверхні, молекулярної організації ліпідно-протеїнового матриксу мембран еритроцитів щурів в умовах гострого больового синдрому – ноцицептивного болю запального генезу. Досліджено особливості фізико-хімічної взаємодії неопіоїдних анальгетиків, а саме парацетамолу, аспірину, антипірину, кеторолаку, піродазолу, кетопрофену, мекфенамінату натрію, індометацину, німесуліді з мембранами еритроцитів інтактних щурів та за пероксидної модифікації мембран, спричиненою розвитком гострого больового синдрому – ноцицептивного болю, що може істотно впливати на фармакодинаміку і фармакокінетику анальгетиків, що вивчалися і що слід враховувати в процесі пошуку нових фізіологічно активних сполук з анальгетичною дією.

Ключові слова: гострий больовий синдром, неопіоїдні анальгетики, мембрани еритроцитів, оксидативний стрес, пероксидна модифікація мембран, флуоресцентне зондування мембран, мікрокалориметрія.

Актуальною проблемою біохімічної фармакології є вивчення молекулярних та клітинних механізмів розвитку гострого та хронічного болю, що супроводжує низку найпоширеніших патологічних станів, зокрема онкологічних та важких запальних і дегенеративних хвороб, а також пошук на цій основі нових ефективних лікарських засобів (ЛЗ) анальгетичної дії. Разом з тим, розв'язання клітинних та молекулярних механізмів болю, а потому і його ефективний фармакологічний контроль за допомогою анальгетиків неопіоїдної природи, залишається складним та невирішеним завданням сучасної клінічної та молекулярної фармакології [1–5].

Встановлено, що сильний біль призводить до системної патофізіологічної реакції цілісного організму з розвитком біохімічного синдрому оксидативного стресу, численними зсувами метаболічних та імунологічних процесів [6–8], що підтверджено результатами наших експериментальних досліджень [9, 10]. Згідно з одержан-

ими даними, модельований на білих щурах експериментальний больовий синдром запального генезу (ноцицептивний біль) супроводжується змінами активності процесів ліпопероксидації в сироватці крові, еритроцитах, головному мозку, активацією процесів обмеженого протеолізу, а також збільшенням вмісту в крові окремих фракцій пептидів із середньою молекулярною масою, що є характерним для оксидативного стресу.

Разом з тим, добре відомо, що первинна взаємодія фізіологічно активних сполук (ФАС) із біофазою, тобто, передусім із ліпідним бішаром і поверхневими рецепторними протеїнами клітинних мембран, які зазнають молекулярних зрушень в умовах пероксидної модифікації, саме й зумовлює ключові етапи біотрансформації та фармакодинаміки ЛЗ, тобто подальші прояви його специфічної метаболічної та фізіологічної активності [11], у тому числі анальгетичної дії. До того ж раніше нами на різних моделях оксидативного стресу

було показано, що активація вільнорадикальної пероксидації молекулярних структур клітини в умовах стимуляції ліпопероксидації призводить до змін біофізичних властивостей мембран (поверхневого заряду, мікрор'язкості та плинності бішару, протеїн-ліпідних взаємодій) і, у свою чергу, супроводжується істотними змінами термодинамічних та кінетичних констант взаємодії ФАС різного походження та ЛЗ із біофазою [12–14]. Існують також відомості про можливість структурної модифікації клітинних мембран за їх взаємодії з ненаркотичними анальгетиками (НА) та нестероїдними протизапальними лікарськими засобами (НПЗЛЗ) [15–17].

Виходячи з вищенаведеного, метою роботи було дослідження на експериментальній моделі ноцицептивного запального болю, в умовах гострого больового синдрому (ГБС), методами флуоресцентного зондування, спектрофотометрії та мікрокалориметрії біофізичних властивостей мембран еритроцитів та характеристик взаємодії з мембранними структурами найпоширеніших НА та НПЗЛЗ.

Матеріали і методи

Експерименти проводили на білих нелінійних щурах-самцях трьохмісячного віку (150–200 г) розведення віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Моделювання гострого болю хімічного генезу проводили за допомогою формалінового тесту, який є експериментальною моделлю, що широко використовується у разі вивчення ефективності анальгезуючої дії ФАС та ЛЗ [18]. За допомогою комп'ютерної програми «Lady Pain v.3» реєстрували тривалість поведінкових проявів за повний період спостереження (60 хв після інтраплаттарної ін'єкції 5%-го розчину формаліну).

Для фармакокінетичних досліджень було обрано фармакопейні субстанції таких ЛЗ із класів НА і НПЗЛЗ: парацетамол (Paracetamol – N-(4-гідроксифеніл)етанамід), ацетилсаліцилова кислота (Aspirin – 2-ацетоксибензойна кислота, АСК), антипирин (Phenazone – 2-дигідро-1,5-диметил-2-феніл-3Н-піразол-3-он), кеторолак (Ketorolac – (±)-5-бензоіл-2,3-дигідро-1Н-піролізин-1-карбонова кислота), піродазол (1,2-ди(n-метоксифеніл)-6,7-дигідро-5Р-піроло-[1,2-a]імідазолу гідробромід), кетопрофен (Ketoprofenum – 2-(3-бензоілфеніл)

пропанова кислота), натрію мефенамінат (N-(2,3-диметилфеніл)антранілової кислоти натрієва сіль), індометацин (Indometacin – 2-{1-[(4-хлорофеніл)карбоніл]-5-метокси-2-метил-1Н-індол-3-іл}оцтова кислота), німесулід (Nimesulide – N-(4-нітро-2-феноксифеніл)метано-сульфонамід).

Кров для досліджень забирали через 30 хв після введення формаліну за максимального виявлення гострої больової реакції (період ноцицептивного болю) [9, 19], що пов'язаний, головним чином, із безпосередньою активацією тонких немієлінових С-волокон, які передають імпульсацію від больових рецепторів. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) та седиментацію еритроцитарних мембран проводили за [20]. Для вивчення фізико-хімічних параметрів взаємодії анальгетиків із сироватковим альбуміном людини (САЛ) використовували препарат фірми Reanal (Угорщина).

Вивчення біофізичних параметрів структурної організації мембран еритроцитів проводили методами гасіння протеїнової флуоресценції акриламідом, флуоресцентного зондування глибинним гідрофобним зондом піреном і поверхневим аніонним зондом 1-анілінонафталін-8-сульфонатом (1,8-АНС) [21–23]. Для характеристики змін біофізичних параметрів структурної організації мембран еритроцитів за ГБС та за взаємодії з досліджуваними ФАС, що виявляють анальгетичну активність, визначали: константу гасіння протеїнової флуоресценції власних мембранних протеїнів акриламідом – константу Штерна–Фольмера (K_{sv}), вірогідність індуктивно-резонансного переносу енергії (W) з еритроцитів на флуоресцентний зонд пірен та зміни мікрор'язкості (F_{392}/F_{450}) і полярності (F_{371}/F_{392}) середовища пірену, вбудованого в мембрани еритроцитів інтактних тварин та в умовах ГБС.

За результатами спектрофотометричного титрування суспензії еритроцитів (C = 0,025 мг/мл) розчином досліджуваного ЛЗ для кожної сполуки визначали зміни абсорбції за довжини хвилі λ : $\Delta A_{\lambda} = A_{\lambda(Ep+Lz)} - A_{\lambda(Lz)}$ і для монокомплексів графічно оцінювали значення констант зв'язування ($K_{зв}$) із графіка $1/\Delta A_{\lambda} = f(1/C_{ЛЗ})$. За одержаними значеннями $K_{зв}$ розраховували біодоступність (БД) ЛЗ із застосуванням кореляційного рівняння: $БД = (-7,8 \pm 0,9) \cdot 10^4 \cdot 1/K_{зв} + (91,9 \pm 3,5)$.

З метою вивчення природи та кінетики хімічної взаємодії ЛЗ ($C = 3,3 \cdot 10^{-5}$ М) із САЛ ($C = 0,33$ мг/мл) було проведено мікрокалориметричні дослідження у 0,9%-му розчині натрію хлориду в режимі змішування при 26 °С на мікрокалориметрі LKB-2107 (Швеція). Розрахунки теплового ефекту реакції проводили на 1 л розчину за 10-хвилинний період часу з моменту змішування [24].

Результати та обговорення

Як показано нами раніше [9], під час гострого ноцицептивного болю (ГНБ), контролюваного за розвитком відповідних поведінкових реакцій, в еритроцитах щурів відбувається активація процесів ліпопероксидації, що є характерним проявом розвитку оксидативного стресу – реакції на потужний больовий подразник. За цих умов (табл. 1), спостерігаються істотні зрушення нормальної структури еритроцитарних мембран, які характеризуються змінами їхньої осмотичної резистентності та зсувами біофізичних характеристик мембран.

Для визначення доступності гасника власної флуоресценції мембранних протеїнів – акриламідом – до флуорофорів проведено флуориметричне титрування суспензій еритроцитарних мембран акриламідом в концентраціях 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 М з подальшим розрахунком константи гасіння за формулою: $K_{SV} = (F_0 - F_n) / [Q]$, де F_0 і F_n – флуоресценція суспензії мембран еритроцитів до та після взаємодії з акриламідом, $[Q]$ – концентрація гасника [21, 22]. Як свідчать результати, наведені в табл. 1, в умовах гострого ноцицептивного болю в мембранах еритроцитів виявляється істотне зменшення значення K_{SV} , а також W (вірогідності індуктивно-резонансного переносу енергії з еритроцитів як донора

електронів на акцептор – флуоресцентний зонд – пірен). Оскільки саме флуоресценція триптофанових залишків є найчутливішою до змін конформації протеїну та фізичного стану його мікрооточення [25], одержані результати вказують на суттєві зсуви у внутрішньомембранній організації протеїнових молекул, ущільнення структури протеїнів і зменшення доступності акриламідом до триптофанілових радикалів, та, вірогідно, на порушення стану гідрофобних ланок і послаблення протеїн–ліпідних взаємодій внаслідок пероксидної модифікації мембрани.

До того ж, в умовах ГБС збільшується порівняно з контролем мікрів'язкість гідрофобного середовища, в якому розміщується пірен, що можливе за рахунок ушкодження ліпідного бішару внаслідок активації пероксидації мембранних ліпідів [9].

Відомо [21, 22], що флуоресцентний зонд 1,8-АНС утворює комплекси як із ліпідами, так і з протеїнами, адсорбується та флуоресцює на поверхні мембран. Експериментальні дані щодо вивчення впливу розвитку гострого болю на біофізичні властивості поверхні еритроцитарних мембран, одержані за допомогою 1,8-АНС і використані для вивчення залежності показника $(F_0 - F_n) / F_0$ від зворотної концентрації зонда $(1/C_{АНС})$ були представлені нами в роботі [9]. Значення показника $(F_0 - F_{n_{min}}) / F_0$, а також величини констант зв'язування зонда з мембранами $K_{зв}$, M^{-1} і число центрів зв'язування (N) у нормі та за ГБС розраховано за [21] і наведено в табл. 2. Як видно, за оксидативного стресу, спричиненого розвитком гострого болю, константа зв'язування зонда 1,8-АНС значно знижується, проте при цьому зростає число центрів зв'язування N , що є, очевидно, результатом пероксидної модифікації ліпідних і протеїнових молекул поверхневого

Таблиця 1. Вплив гострого больового синдрому (ГБС) на фізико-хімічні показники мембран еритроцитів та їхню осмотичну резистентність

Група тварин	ОРЕ, у. о.	Показники флуоресцентного зондування еритроцитів акриламідом та піреном		
		K_{SV} , M^{-1}	W , у. о.	F_{392} / F_{450} , у. о.
Контрольна	49,9	$4,96 \pm 0,38$	0,354	8,043
За ГБС	33,9*	$3,87 \pm 0,08^*$	0,309	9,218

* $P < 0,05$; для осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) та показників в табл. 2 – розрахунки за непараметричним критерієм U (Вілкоксона); решта показників в табл. 1 є розрахунковими параметрами, які одержано на підставі середніх арифметичних відповідних фізико-хімічних параметрів

Таблиця 2. Біофізичні показники взаємодії флуоресцентного зонда 1,8-АНС з мембранами еритроцитів

Група тварин	Параметри зондування мембран еритроцитів 1,8-АНС		
	$(F_o - F_n)_{\min}/F_o$	$K_{зв}, M^{-1}$	N, у. о.
Контрольна	0,749	2,01·10 ⁴	1,34
За ГБС	0,640	0,82·10 ⁴	1,56

ГБС – гострий больовий синдром

бішару мембрани та, в свою чергу, може впливати на взаємодію з еритроцитарними мембранами фізіологічно активних сполук в ЛЗ.

Як показано на рис. 1 і 2, за вищезазначених змін біофізичних властивостей мембран еритроцитів, що спричинюються ГБС, було встановлено значні відмінності в параметрах взаємодії та зв'язування з мембранами досліджених деяких неопіодних анальгетиків із класів НА та НПЗЛЗ.

У табл. 3 наведено результати спектрофотометричного титрування суспензій еритроцитів інтактних тварин та тварин в умовах ГБС розчинами досліджуваних ЛЗ ($C = 0,025$ мг/мл) на довжинах хвиль, зазначених для кожної сполуки. Виявлено неоднаковий характер змін ΔA_λ в спектрах абсорбції як залежно від групи тварин (контроль – дослід), так і від хімічної природи сполук.

Результати титрування суспензій еритроцитів інтактних тварин та в умовах ГБС – залежність $\Delta A_\lambda = f(C_{ЛЗ})$ як зміни абсорбції ΔA_λ в спектрах доданих до суспензії сполук від їх концентрації (рис. 1). Як видно з наведених даних на рис. 1, а, реакції комплексоутворення парацетамолу з мембранами еритроцитів супроводжуються зміною знака коефіцієнта молярного погашення ϵ : для еритроцитів інтактних тварин ΔA_λ зменшується і знижується ϵ , але для еритроцитів в умовах ГБС ΔA_λ збільшується і підвищується ϵ , що свідчить про різні механізми взаємодії сполуки з контрольними еритроцитами та такими за ГБС.

Збільшення ΔA_λ визначено також для взаємодії суспензії еритроцитів в умовах ГБС з АСК – рис. 1, б; однак у цьому разі залежність ΔA_λ від концентрації АСК для суспензії еритроцитів інтактних тварин має складний характер і залежить від концентрації ФАС. Як було визначено авторами [26], АСК здатна утворювати вільні радикали за рахунок хелатуючої і окислювальної

дії стосовно Fe^{2+} , що може зумовлювати складну концентраційну залежність взаємодії ФАС з еритроцитами.

Зміни показника адсорбції ΔA_λ у разі взаємодії мембран еритроцитів з кеторолаком (рис. 1, в) мають однаково негативний знак ϵ як для еритроцитів інтактних тварин, так і еритроцитів тварин в умовах ГБС.

Виходячи з одержаних експериментальних даних та з припущення утворення монокомплексів молекул досліджуваних ЛЗ з мембраною еритроцитів методом подвійних оборотних координат для парацетамолу, АСК (дослід), кеторолаку та мефенамінату Na за рівнянням $1/\Delta A_\lambda = f(1/C_{ЛЗ})$ було розраховано значення констант зв'язування $K_{зв}$ в нормі та у разі модифікації мембран в умовах ГБС (табл. 4). Одержані величини параметрів зв'язування визначають четвертий порядок констант як для інтактних тварин, так і для тварин, що одержували парацетамол в умовах ГБС; у той час як у тварин, одержуючих кеторолак, АСК (за ГБС) і мефенамінат Na величина $K_{зв}$ з мембранами в умовах ГБС є на порядок вищою, ніж для зразків, одержаних в інтактних тварин.

Наведені результати підтверджують факт комплексоутворення досліджуваних ЛЗ із мембранними протеїнами еритроцитів, що зазнає значних змін в умовах ГБС; крім того, вищі величини показника $K_{зв}$ досліджених анальгетиків у реакції з еритроцитами порівняно з такими у разі взаємодії із сироватковим альбуміном [15, 27] свідчать про можливість участі також ліпідної складової у взаємодії з мембранними структурами.

Можна припустити, що зв'язування досліджених молекул ЛЗ анальгетичної дії з мембранами еритроцитів обумовлені як хімічною структурою сполук, термодинамікою комплексоутворення, так і кінетикою їх взаємодії з біофазою. Із метою додаткового вивчення при-

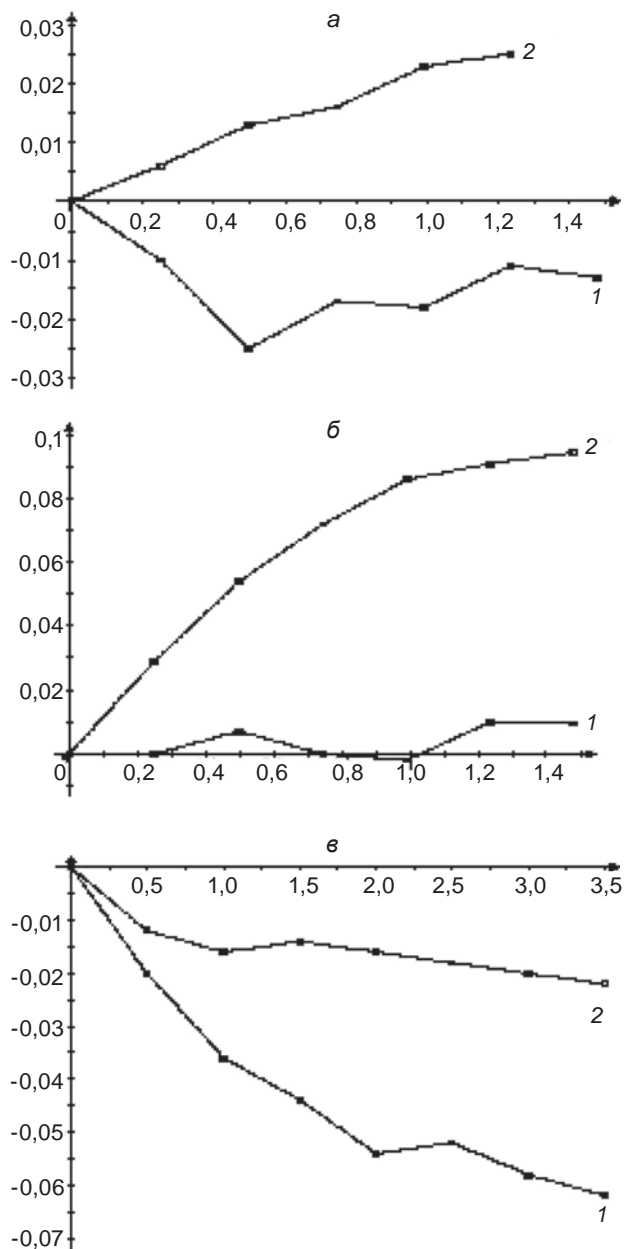


Рис. 1. Залежність $\Delta A_\lambda = f(C_{ЛЗ})$: парацетамол (а), аспірин (б), кеторолак (в). Вісь абсцис – $C_{ЛЗ} \cdot 10^5, M$; вісь ординат – ΔA_λ ; 1 – контроль, 2 – дослід (ГБС)

роди взаємодії досліджуваних ЛЗ із класу НА із біоструктурами було проведено дослідження методом мікрокалориметрії кінетики їх взаємодії з молекулами САЛ. Кінетичні криві і величину теплового ефекту реакції (Q , ккал/ M^{-1}) наведено в табл. 5 та на рис. 3.

Проведені експерименти виявили різний характер теплових ефектів за взаємодії досліджуваних анальгетиків із САЛ: у разі

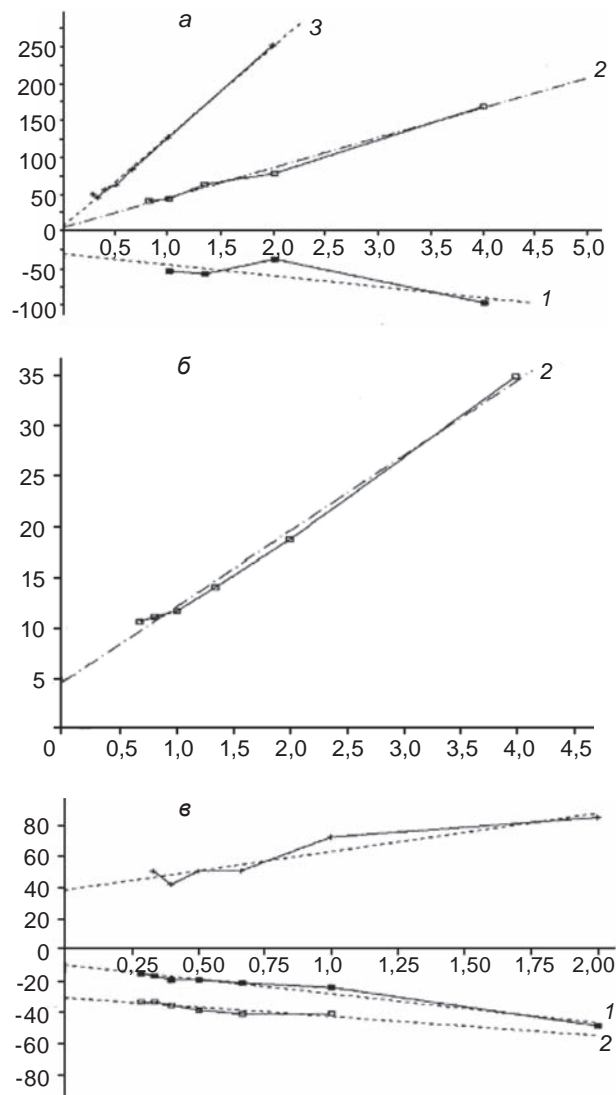


Рис. 2. Залежність $1/\Delta A_\lambda = f(1/C_{ЛЗ})$: парацетамол (а), аспірин (б), кеторолак (в). Вісь абсцис: $(1/C_{ЛЗ}) \cdot 10^{-4}, M^{-1}$; вісь ординат: $1/\Delta A_\lambda$; 1 – контроль, 2 – дослід (ГБС), 3 – ЛЗ + САЛ

Таблиця 3. Спектральні характеристики досліджуваних анальгетиків

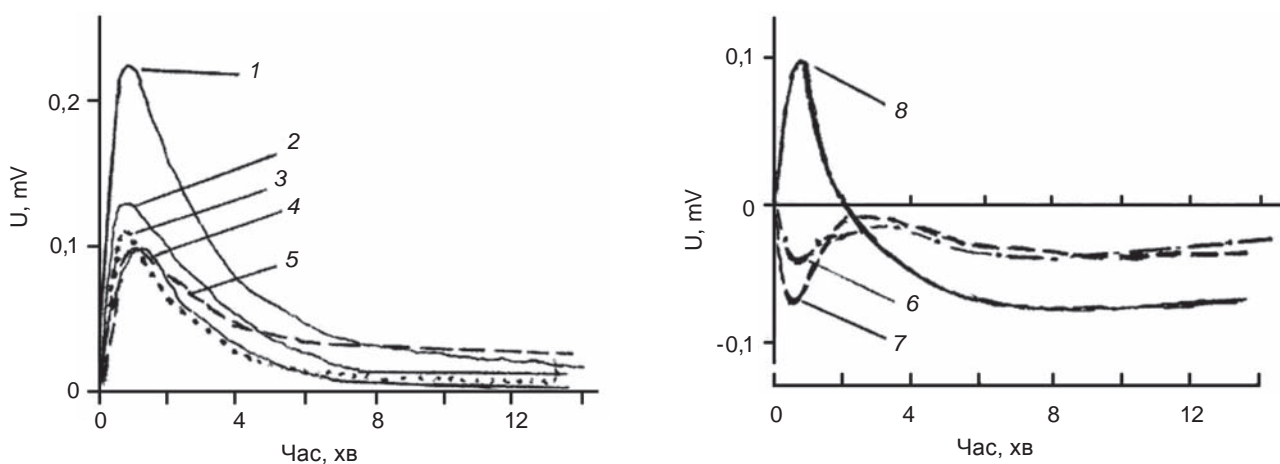
Сполука	λ_{max}, nm	$\epsilon, M^{-1} \cdot cm^{-1}$
Парацетамол	244	$5,98 \cdot 10^4$
АСК	270	$3,79 \cdot 10^2$
Кеторолак	250	$6,70 \cdot 10^3$
Піродазол	260	$1,50 \cdot 10^3$
Кетопрофен	261	$1,57 \cdot 10^4$
Антипирин	286	$7,80 \cdot 10^3$
Мефенамінат Na	286	$1,04 \cdot 10^4$
Індометацин	268	$1,16 \cdot 10^4$

Таблиця 4. Константи взаємодії (K_{3B}, M^{-1}) парацетамолу, аспірину, кеторолаку та мефенаміату Na з мембранами еритроцитів інтактних тварин, в умовах ГБС ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) і застосування ЛЗ + САЛ

Група тварин	K_{3B}, M			
	Парацетамол	АСК	Кеторолак	Мефенамінат Na
Контрольна	$(5,45 \pm 0,5) \cdot 10^4$	–	$(4,83 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(2,45 \pm 0,1) \cdot 10^4$
За ГБС	$(1,24 \pm 0,9) \cdot 10^4$	$(6,37 \pm 0,1) \cdot 10^4$	$(1,48 \pm 0,1) \cdot 10^5$	$(1,25 \pm 0,2) \cdot 10^5$
У разі використання ЛЗ + САЛ	$(5,80 \pm 0,8) \cdot 10^3$	–	$(1,61 \pm 0,1) \cdot 10^4$	–

Таблиця 5. Дані мікрокалориметричних досліджень взаємодії лікарських засобів аналгетичної дії із сироватковим альбуміном людини у фізіологічному розчині при $26\text{ }^{\circ}\text{C}$

Сироватковий альбумін людини + лікарські засоби:	Інтегральна площа під кривою	Знак теплового ефекту	Теплота реакції за 10 хв, ккал/ M^{-1}
Парацетамол	0,00840	+	12,830
Кеторолак	0,00901	-	-8,759
Піродазол	0,00933	-	-26,214
Кетопрофен	0,01133	+	1,543
Антипірин	0,01055	+	15,288
Індометацин	0,2382	+	73,302
Мефенамінат Na	0,01613	+	43,258
Німесулід	0,00289/-0,01383	+/-	6,245/-29,819

Рис. 3. Кінетика теплового ефекту взаємодії розчину сироваткового альбуміну людини з лікарськими засобами при $26\text{ }^{\circ}\text{C}$: 1 – індометацин; 2 – мефенамінат Na; 3 – кетопрофен; 4 – парацетамол; 5 – антипірин; 6 – кеторолак; 7 – піродазол; 8 – німесулід

взаємодії САЛ із кеторолаком і піродазолом спостерігається ендотермічний характер теплового ефекту, але за взаємодії САЛ із парацетамолом, кетопрофеном, антипірином,

індометацином, мефенамінатом Na – визначено екзотермічний характер реакцій. Згідно з [27] такий характер реакцій свідчить про електростатичну взаємодію, утворення водневого або

слабкого ван-дер-ваальсового зв'язку анальгетика із протеїною молекулою.

Реакція німесуліду із САЛ супроводжується екзотермічним ефектом в перші 1–3 хв з моменту змішування (що притаманно електростатичній взаємодії, або утворенню водневих зв'язків із біомолекулою) та подальшим пролонгованим ендотермічним ефектом, який свідчить про гідрофобну взаємодію. Переважно гідрофобну природу взаємодії із САЛ мають також кеторолак та піродазол: ендотермічний ефект реакції в перші 3 хв свідчить про комплементарне вбудовування або утворення стекінг-зв'язків у гідрофобних доменах протеїну.

Із наведених у табл. 5 даних також видно, що величина екзотермічного ефекту найбільша для реакції САЛ з індометацином та мефенаміном Na, менша – для антипірину і парацетомолу та найменша для кетопрофену. Можна вважати, що взаємодія з ендотермічним ефектом вказує на стійкий гідрофобний зв'язок із протеїною молекулою, що повинно супроводжуватися зростанням ентропії системи [28] і свідчить про високу біодоступність цих сполук. На підставі одержаних даних можна вважати, що визначений в роботі [10] високий анальгетичний ефект кеторолаку в умовах ГБС, супроводжуваного пероксидною модифікацією клітин, зумовлений саме гідрофобною взаємодією кеторолаку з мембранними протеїнами еритроцитів.

Таким чином, встановлено, що досліджені в роботі ЛЗ мають різну природу фізико-хімічної взаємодії із клітинними мембранами та САЛ як за норми, так і в умовах оксидативного стресу, який супроводжується ГБС, що може істотно впливати на їх фармакодинаміку і фармакокінетику і має враховуватися під час пошуку нових ФАС з анальгетичною дією.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С НЕНАРКОТИЧЕСКИМИ АНАЛЬГЕТИКАМИ ПРИ ОСТРОМ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ

*Ю. И. Губский¹, Т. А. Бухтиарова¹,
А. Г. Горюшко¹, Н. В. Литвинова¹,
Г. И. Парамонова², Т. Н. Курапова¹,
А. Н. Величко¹, Л. П. Бабенко¹*

¹ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев;

²ГУ «Институт геронтологии им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», Киев;
e-mail: iurigala@ukr.net

Методами флуоресцентного зондирования и спектрофотометрии установлено изменение биофизических свойств – микровязкости, тягучести липидного бислоя, заряда поверхности и молекулярной организации липидно-протеинового матрикса мембран эритроцитов крыс при остром болевом синдроме – ноцицептивной боли воспалительного генеза. Изучены особенности физико-химических взаимодействий неопиоидных анальгетиков (парацетамол, ацетилсалициловой кислоты, антипирина, кеторолака, пиродазола, кетопрофена, мефенамина та натрия, индометацина, нимесулида) с мембранами эритроцитов интактных крыс и в условиях пероксидной модификации мембран, вызванной острым болевым синдромом – ноцицептивной боли. Это может существенным образом влиять на фармакодинамику и фармакокинетику изучаемых анальгетиков и должно учитываться при поиске новых ФАС с анальгетическим действием.

Ключевые слова: острый болевой синдром, неопиоидные анальгетики, мембраны эритроцитов, оксидативный стресс, пероксидная модификация мембран, флуоресцентное зондирование, микрокалориметрия.

**BIOPHYSICAL PARAMETERS
OF ERYTHROCYTE MEMBRANES
AND MECHANISMS OF INTERACTION
WITH NON-OPIOID ANALGESICS
UNDER ACUTE PAIN SYNDROME**

*Yu. I. Gubskiy¹, T. A. Buhtiarova¹,
H. G. Goriushko¹, N. V. Litvinova¹,
G. I. Paramonova², T. N. Kurapova¹,
O. N. Velychko¹, L. P. Babenko¹*

¹SI Institute of Pharmacology and Toxicology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;

²SI D.F. Chebotarev Institute of Gerontology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: iurigala@ukr.net

Methods of fluorescent probing, spectrophotometry and microcalorimetry were applied to investigate the alterations in biophysical parameters of erythrocytes membranes, and specifically microviscosity, surface charge, molecular organization of lipid bilayer and lipid-protein interactions under conditions of acute pain syndrome produced by experimental chemical lesion. The distinctive features of non-opioid analgesics interactions and binding to the erythrocytes membranes of rats subjected to acute nociceptive pain accompanied with oxidative stress development were investigated. The abilities of analgesics under research, and namely paracetamol, aspirin, phenazone, ketorolac, pyrodazole, ketoprofen, natrium mefenamate, indometacin, nimesulide to make up physico-chemical complexes with lipoperoxidation modified erythrocytes surface and protein-lipid bilayer showed marked changes. The significance of oxidative damage of biophase under conditions of acute pain syndrome for analgesics effective pharmacodynamics and pharmacokinetics realization is under consideration.

Key words: acute nociceptive pain, oxidative stress, non-opioid analgesics, erythrocytes membranes, fluorescent probing, microcalorimetry.

1. Губський Ю. І., Хобзей М. К. Фармакотерапія в паліативній та хоспісній медицині. Клінічні, фармацевтичні та медико-правові аспекти. – К.: Здоров'я, 2011. – 352 с.
2. Бобров О. Е., Брындииков Л. Н., Кравченко А. В. и др. Лечение болевого синдрома в онкологии. – Ровно: Каллиграф, 2003. – 196 с.
3. *Approaching Death: Improving Care at the End of Life* // Marilyn J. Field and Christine K. Cassel,

Editors. – Committee on Care at the End of Life, Institute of Medicine. 1997. – P. 1–456. – <http://www.nap.edu/catalog/5801.html>

4. Portenoy R. // *Cancer*. – 1989. – **63** (11 Suppl). – P. 2298–2307.
5. Moulin D. E. // *Neurol. Clin.* – 1989. – **7**. – P. 321–331.
6. Тринус Ф. П. // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 5. – С. 4–8.
7. Бондар Г. А., Черній В. І., Бондар В. Г. та ін. Хронічний больовий синдром в онкологічних хворих. – Донецьк, 2010. – 236 с.
8. Паллиативная помощь онкологическим больным / Ред. Г. А. Новиков, В. И. Чиссов. – М., 2006. – 192 с.
9. Губський Ю. І., Бухтіарова Т. А., Горюшко Г. Г. та ін. // Медична та клінічна хімія. – 2012. – **14**, № 4(53). – С. 5–11.
10. Губський Ю. І., Бухтіарова Т. А., Парамонова Г. І. та ін. Контроль болю як проблема клінічної та молекулярної фармакології. Біохімічні та імунологічні реакції в розвитку больового синдрому / В кн.: «Актуальні питання надання паліативної та хоспісної допомоги в Україні». – Київ, 2012. – С. 115–120.
11. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. – Одесса: Астропринт, 2004. – 720 с.
12. Губський Ю. І., Стеченко О. В., Горюшко Г. Г. Дослідження молекулярних механізмів взаємодії фізіологічно активних сполук з біологічними структурами за умов перекисної патології клітини / В кн.: «Акт. питання фарм. та мед. науки та практики». – Запоріжжя, ЗДМУ. – 2006. – С. 589–590.
13. Губський Ю. І., Горюшко Г. Г., Литвінова Н. В. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2008. – **80**, № 6. – С. 79–85.
14. Губський Ю. І., Бленічев І. Ф., Горюшко Г. Г., Литвінова Н. В. та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 1–3. – С. 80–86.
15. Бухтіарова Т. А. Експериментальне обґрунтування напрямку пошуків і вивчення нових неопіоїдних анальгетиків в ряду похідних азотистих гетероциклів : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Одеса, 1998. – 35 с.
16. Губський Ю. І., Тринус Ф. П., Бухтіарова Т. А. и др. // Журн. Академії мед. наук України. – 1999. – № 1. – С. 24–28.
17. Губський Ю. І., Горюшко Г. Г., Бухтіарова Т. А. та ін. // Медична хімія. – 2000. – **2**, № 4. – С. 5–8.

18. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Методичні рекомендації. – Ред. А. В. Стефанов – К., 2001. – 527 с.
19. Чуян Е. Н., Джелдубаева Э. Р. // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. – 2005. – **18** (57), № 2. – С. 211–222. – (Серия «Биология, химия»).
20. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 119–120.
21. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М.: Наука, 1989. – 274 с.
22. Владимиров Ю. В., Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – 277 с.
23. Демченко А. П. Люминесценция и динамика структуры белков. – К.: Наукова думка, 1988. – 280 с.
24. Otagiri M., Hardee G. E., Perrin J. H. // *Biochem. Pharmacol.* – 1978. – **27**. – P. 1401–1404.
25. *Биофизика* / Ред. П. Г. Костюк. – К.: Вища школа, 1988. – 504 с.
26. Петренко Ю. М., Владимиров Ю. А. // *Эксперим. и клинич. фармакология.* – 1998. – **61**, № 1. – С. 44–50.
27. Тринус Ф., Бухтіарова Т., Ядловський О. // *Вісник фармакології та фармації.* – 2007. – № 5. – С. 13–19.
28. Ландау М. А. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. – М.: Наука, 1981. – 262 с.

Отримано 23.07.2013