



# Структура и функция биополимеров

УДК 536.33+547.953.2+616.12—008.318

**Е. Г. Береговая, А. Г. Горюшко,  
И. С. Чекман, В. В. Дунаев, Л. Г. Саченко**

## **ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКИХ И НООТРОПНЫХ СРЕДСТВ НА МОДЕЛЬНЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ**

*Методами спектрофотометрии и спектрофлуориметрии с применением флуоресцентного зонда пирена исследовано мембранотропное действие противоаритмических и ноотропных средств (анаприлина, этmozина, карнитина, пирацетама, фенхизола, ксантиверина феноксанола, соединений E и BC) на примере липосом из лецитина и кардиолипина, а также синаптосомальных мембран из мозга крысы. Показана способность анализируемых веществ образовывать молекулярные комплексы с липидным бислоем, вызывать возрастание его текучести. Противоаритмические и ноотропные средства ослабляют кальцийсвязывающие свойства синаптосомальных мембран и бислоя из кардиолипина.*

**Введение.** Мембранотропность противоаритмических средств обусловлена их взаимодействием с клеточной мембраной и, в частности, с ее фосфолипидным бислоем, изменением трансмембранного тока одно- и двухвалентных ионов, антирадикальным эффектом [1—6]. Способность к взаимодействию с фосфолипидными бислоями зависит от структуры физиологически активных веществ (ФАВ). Исследование методом флуоресцентного зондирования 10-ациламинопропионильных производных фенотиазина показало зависимость величины констант связывания их с фосфолипидными бислоями от структуры соединений, расположения радикалов в молекуле [7]. При использовании дифференциальной калориметрии отмечено взаимодействие амиодарона с липосомами из фосфатидилхолина, что выражается в смещении пика на термограмме [8]. В случае соединений — производных 1,2,4-триазола, хиназолина, для которых установлена противоаритмическая активность [9, 10], а также широко применяемых в медицинской практике карнитина гидрохлорида [11], производных пиридина и пиримидина [12], пирацетама [13], сведения об их мембранотропном действии в литературе отсутствуют, тогда как особенности механизма такого действия лежат в основе отнесения противоаритмических средств к определенным группам [14].

Цель работы состояла в изучении мембранотропного действия новых противоаритмических соединений, влияния их на структуру и физико-химические свойства мембран.

В настоящем сообщении методами спектрофотометрии и флуориметрии с применением флуоресцентного зонда пирена исследовано комплексообразование данных соединений с фосфолипидным бислоем — липосомами из фосфатидилхолина, влияние их на структурно-динамические характеристики модельных мембран. Ввиду того, что противоаритмические средства способны оказывать ингибирующее действие на медленный трансмембранный ток ионов кальция, был проанализирован эффект данных соединений на кальцийсвязывающие свойства фос-

© Е. Г. Береговая, А. Г. Горюшко, И. С. Чекман, В. В. Дунаев, Л. Г. Саченко, 1993

фолипидных бислоев из фосфатидилхолина и кардиолипина, а также синаптосомальных мембран из мозга крыс, содержащих кальцийчувствительные белки.

**Материалы и методы.** В работе использовали ( $\pm$ )-1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанола гидрохлорид (анаприлин — 1) (ХФЗ «Здоровье трудящихся», Харьков); 2-карбозоксиамино-10-(3-морфолинпропионил)-фенотиазина гидрохлорид (этмозин — 2) («Олайкфарм», Рига); *D,L-N*-(1-карбокси-2-оксипропил)-триметиламмония хлорид (карнитин — 3) (НПО «Витамин», Киев); 2-оксо-1-пирролидинилацетамид (пирацетам, ноотропил — 4) («Польфа», Польша), а также новые соединения — производные 1,2,4-триазола (вещество Е — 5), хиназолина (фенхизол — 6, ВС — 7), метилксантинов (феноксанон — 8, ксантиверин — 9), синтезированные и любезно предоставленные для работы И. А. Мазуром, В. А. Прийменко, Е. Г. Кнышем, Р. С. Синяк, С. Н. Гармашем, Н. М. Романенко (Запорож. мединститут). Вновь синтезированные соединения очищены двукратной перекристаллизацией из спирта. Липосомы из фосфолипидов готовили в соответствии с [15], для чего спиртовые растворы индивидуальных фосфолипидов (лецитин-стандарт, 10 %-й раствор в спирте и кардиолипин-стандарт, 0,5 %-й раствор в спирте, изготовленные на Харьковском предприятии по производству бактериальных препаратов) высушивали на ротаторном испарителе до постоянной массы, сухой остаток взбалтывали в определенном объеме трис-НСI-буфера (20 ммоль/л трис-НСI, 140 ммоль/л NaCl, pH 7,4) до получения суспензии, которую затем озвучивали на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2 (22 кГц) в течение 10 мин. Синаптосомальные мембраны из мозга крыс получали по методике [16], концентрацию белка определяли микробиуретовым методом [17]. Изменение кальцийсвязывающей способности мембран под влиянием ФАВ регистрировали индикаторным методом с арсеназо-III (А-III) в качестве индикатора [18]. Комплексообразование ФАВ с фосфолипидным бислоем изучали спектрофотометрическим методом [19]. Влияние ФАВ на вязкость бислоя оценивали с помощью флюоресцентного зонда пирена [7, 20]. Спектры поглощения записывали на спектрофотометре «Shimadzu MPS-5000», спектры флюоресценции — на спектрофлюориметре «Hitachi MPF-4» (Япония) в кварцевых 1 см-кюветах.

**Результаты и обсуждение.** Электронные спектры поглощения растворов в трис-НСI-буфере (pH 7,4) соединений 1—9, молекулы которых содержат ароматические кольца, азотсодержащие гетероциклы различного строения, а также хромофоры С=О, СОО-групп, в условиях эксперимента ( $C_{\text{ФАВ}} \approx 50$  мкмоль/л) характеризуются полосами поглощения в УФ-области 210—230 нм, за исключением фенхизола (6), для которого при концентрации 50 мкмоль/л наблюдается полоса поглощения в области 310—350 нм. Инкубация данных соединений в среде в присутствии липосом из фосфатидилхолина (концентрация фосфолипида  $C_{\text{ФЛ}} = 0,33$  ммоль/л) способствовала изменению оптической плотности в спектрах ФАВ, что указывало на взаимодействие их с бислоем. Изменения оптической плотности на длине волны  $\lambda$  ( $\Delta D_{\lambda}$ ) растворов соединений 4—8 как функции концентрации ФАВ представлены на рис. 1. Величины  $\Delta D_{\lambda}$  определяли как разность  $\Delta D_{\lambda} = D_{\lambda}^i - D_{\lambda}^0$ , где  $D_{\lambda}^i$  и  $D_{\lambda}^0$  — оптическая плотность ФАВ в присутствии и в отсутствие липосом соответственно. Спектры поглощения ФАВ в смеси с липосомами записывали против растворов в той же концентрации. Как видно из рис. 1, с возрастанием концентрации ФАВ в спектрах соединений 4 (218 нм), 5 (234 нм), 2 (240 нм) наблюдается гиперхромный эффект, а для соединений 6, 8 (284 нм) имеет место уменьшение оптической плотности. Анализ зависимостей  $1/\Delta D_{\lambda} = f(1/C_{\text{ФАВ}})$  выявил наличие линейных участков (рис. 2), что в соответствии с методом [19] может свидетельствовать об образовании молекулярных комплексов ФАВ с фосфолипидным бислоем. При титровании липосом анаприлином, карнитином, соединением ВС и ксантиверином не было получено надежных данных для оценки констант равновесия. Величины эффективных констант рав-

новесия для ряда соединений приведены в таблице, откуда следует, что полученные значения  $K_p$  одного порядка. Это указывает на примерно одинаковую эффективность взаимодействия антиаритмических соединений с бислоем: более высокая  $K_p$  для препарата Е, меньшие — для феноксанола, пирacetам, фенхизола, этмозина.

Локализация ФАВ в бислое при взаимодействии может отражаться на его структурно-динамических характеристиках и, в частности, вы-

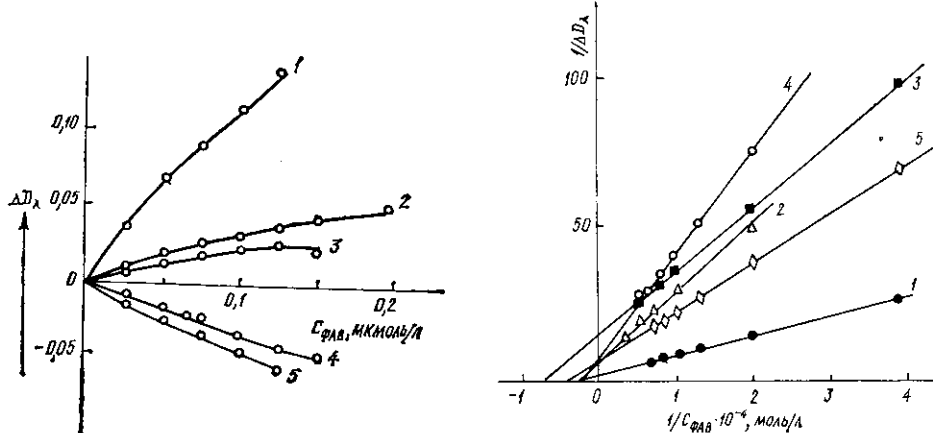


Рис. 1. Изменение оптической плотности растворов  $\Delta D$  при взаимодействии противоаритмических соединений с липосомами из фосфатидилхолина ( $C_{\text{ФЛ}} = 25$  мкмоль/л;  $C_{\text{ФЛ}} = 0,33$  ммоль/л; рН 7,4, 25 °С): 1 — этмозин (2),  $\lambda = 240$  нм; 2 — пирacetам (4),  $\lambda = 218$  нм; 3 — соединение Е (5),  $\lambda = 234$  нм; 4 — фенхизол (6),  $\lambda = 284$  нм; 5 — феноксанол (8),  $\lambda = 284$  нм

Рис. 2. Зависимость  $I/\Delta D = f(1/C_{\text{ФАВ}})$  по данным спектрофотометрического титрования липосом из фосфатидилхолина растворами ФАВ: 1 — этмозин (2); 2 — пирacetам (4); 3 — соединение Е (5); 4 — фенхизол (6); 5 — феноксанол (8)

зывать изменение микровязкости бислоя. О влиянии исследуемых ФАВ на микровязкость бислоя судили по изменению интенсивности флюоресценции полос в спектрах мономерной ( $I^{\text{м}}_{\text{фл}}$  392 нм) и эксимерной ( $I^{\text{э}}_{\text{фл}}$  470 нм) форм пирена, встроенного в бислои: вероятность образования в растворе эксимера  $I^{\text{э}}/I^{\text{м}}$  (степень эксимеризации  $\beta$ ) возрастает с увеличением скорости движения молекулы зонда в бислое, т. е. при уменьшении микровязкости. Инкубация бислоя в среде с анаприлином приводила к изменениям в спектре флюоресценции раствора, появлению коротковолнового плеча полосы флюоресценции пирена, что затрудняло достоверное определение параметра  $I^{\text{э}}/I^{\text{м}}$ . С возрастанием концентрации фенхизола в растворе наблюдалось тушение флюоресценции обеих форм пирена, что связано, по-видимому, с поглощением возбуждающего света. В результате перекрытия  $\lambda_{\text{возб}}$  (334 нм) пирена и полосы поглощения фенхизола (310—350 нм) параметр  $I^{\text{э}}/I^{\text{м}}$  не мог быть определен. Данные об изменении степени эксимеризации пирена ( $\Delta$ ), встроенного в бислои из фосфатидилхолина, при инкубации последнего в среде исследуемых ФАВ представлены в таблице (концентрация фосфолипида  $C_{\text{ФЛ}} = 0,33$  ммоль/л;  $C_{\text{ФЛ}} = 0,2$  ммоль/л). Как видно, инкубация бислоя в среде противоаритмических соединений способствует снижению микровязкости, степень эксимеризации возрастает. Из исследуемых ФАВ наибольшее влияние на структурно-динамический параметр «микровязкость» оказывают соединения Е, этмозин, ВС и ксантиверин. Комплексообразование исследуемых ФАВ с бислоем сопровождается снижением его микровязкости, что также может отражаться на свойствах его поверхности, в частности при связывании ионов кальция.

Нами был проведен анализ влияния соединений 1—9 на кальций-связывающие свойства модельных мембран (липосом из фосфатидилхолина или кардиолипина) и синапсомембранных мембран из мозга крыс

индикаторным методом с А-III в качестве индикатора. В соответствии с [18, 21] А-III образует прочный комплекс с ионом  $\text{Ca}^{2+}$  (1:1), характеризующийся полосой поглощения  $\lambda_{\text{макс}} = 652$  нм, что позволяет определять микромолярные концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Чтобы исключить примеси в исследуемых растворах ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , добавляли 12 мкмоль/л Na-ЭДТА. В условиях эксперимента ( $C_{\text{ФЛ}} = 3,3$  ммоль/л, синапсомембранных мембран из мозга крыс — 0,1 мг/мл по белку) это позволяло

*Величины констант равновесия при взаимодействии бислоя из лецитина с противоритмическими соединениями и изменение под их влиянием степени эксимеризации встроенного в бислой пирена ( $\Delta$ )*

Соединение	$K_p$ , моль <sup>-1</sup> ·л	$\Delta^*$
Анаприлин (1)	—	—
Этмозин (2)	$(3,0 \pm 0,5) \cdot 10^3$	0,27
Карнитин (3)	—	0,09
Пирацетам (4)	$(2,0 \pm 0,5) \cdot 10^3$	0,14
Е (5)	$(7,3 \pm 0,6) \cdot 10^3$	0,28
Фенхизол (6)	$(2,0 \pm 0,5) \cdot 10^3$	—
ВС (7)	—	0,19
Феноксанон (8)	$(3,5 \pm 0,4) \cdot 10^3$	0,60
Ксантиверин (9)	—	0,20

\* Величина  $\Delta$  определена как  $\beta_i - \beta_0 / \beta_0$ , где  $\beta_i$  и  $\beta_0$  — степень эксимеризации пирена в присутствии и в отсутствие ФАВ соответственно. Концентрация пирена  $C = 10$  мкмоль/л,  $C_{\text{ФЛ}} = 0,33$  ммоль/л,  $C_{\text{ФАВ}} = 0,20$  ммоль/л, 20 °С; достоверность различий величин  $\Delta p < 0,05$ .

поддерживать концентрацию свободного кальция не более 0,83 мкмоль/л, которая учитывалась при спектрофотометрическом титровании. Титрование растворов А-III, инкубированных в среде липосом или синапсомембранных мембран, хлоридом кальция осуществляли в отсутствие и с добавкой ФАВ ( $C_{\text{ФАВ}} = 50$  мкмоль/л). Долю связанного комплекса ( $\text{Ca}^{2+}$  — А-III) находили из выражения:

$$\alpha = \frac{[\text{Ca}^{2+} - \text{А-III}]}{[\text{А-III}]_{\text{общ}}} = \frac{D_i - D_{\text{мин}}}{D_{\text{макс}} - D_{\text{мин}}}, \quad (1)$$

где  $D_i$ ,  $D_{\text{макс}}$  и  $D_{\text{мин}}$  — оптические плотности  $i$ -го раствора, растворов А-III в условиях насыщения кальцием и в отсутствие  $\text{CaCl}_2$  соответственно. Если в растворе образуется только комплекс 1:1, а зависимость

$$\frac{\alpha}{1 - \alpha} = f(C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{общ}} - \alpha \cdot [\text{А-III}]_{\text{общ}}) \quad (2)$$

имеет линейный характер [21], то концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , связанного в комплекс, может быть определена как

$$C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{св}} = \alpha \cdot [\text{А-III}]_{\text{общ}}. \quad (3)$$

Анализ спектров исследуемых систем показал, что при малых концентрациях  $\text{CaCl}_2$  зависимость (2) имеет линейный характер (рис. 3), т. е. концентрация связанных с А-III ионов  $\text{Ca}^{2+}$  может быть найдена из выражения (3), а изменения концентрации  $\Delta C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{св}}$  под воздействием ФАВ определены как разность концентраций  $C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{св}}$  для систем  $[\text{М} - \text{А-III}]$  и  $[(\text{М} - \text{ФАВ}) - \text{А-III}]$ , где М — липосомы или синапсомембранные мембраны. Полученные значения  $\Delta C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{св}}$  при общей концентрации  $\text{CaCl}_2$  в растворе 33,1 мкмоль/л приведены на рис. 4. Погрешности в величинах  $\Delta C_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{св}}$  указаны с учетом разброса значений  $D_{652}$  и представляют среднеквадратичные отклонения ст среднего арифмети-

ческого при надежности 0,95. Как видно из этого рисунка, эффект ФАВ на кальцийсвязывающие свойства мембран зависит от их природы: для липосом электронейтрального фосфатидилхолина изменения способности связывать ионы  $\text{Ca}^{2+}$  незначительны, в то время как для липосом из отрицательно заряженного кардиолипина присутствие ФАВ вызывает уменьшение кальцийсвязывающих свойств бислоя; для соединений 2 и 3 величины  $\Delta C^{св}_{\text{Ca}}$  равны  $5,5 \pm 0,5$  и  $6,5 \pm 0,5$  мкмоль/л соответственно;

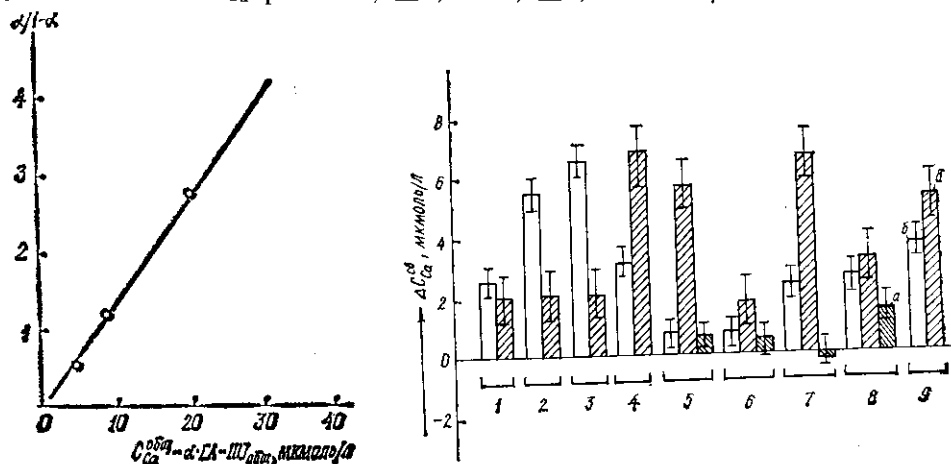


Рис. 3. Зависимость  $\alpha/1-\alpha=f(C^{общ}_{\text{Ca}}-\alpha \cdot [A-III]_{общ})$  для раствора, содержащего А-III, липосомы из фосфатидилхолина и соединение Е ( $C_{\text{ФЛ}}=3,3$  ммоль/л;  $C_{\text{Е}}=50$  мкмоль/л;  $20^\circ\text{C}$ )

Рис. 4. Изменение концентрации несвязанного с мембраной кальция  $\Delta C^{св}_{\text{Ca}}$  под воздействием соединений 1—9. Концентрация синаптосомальных мембран 0,1 мг/мл по белку;  $C_{\text{ФЛ}}=3,3$  ммоль/л, pH 7,4,  $20^\circ\text{C}$ ;  $C_{\text{ФАВ}}=50$  мкмоль/л;  $C^{общ}_{\text{Ca}}=33,1$  мкмоль/л (липосомы из фосфатидилхолина (а), кардиолипина (б), синаптосомальные мембраны из мозга крыс (в)); 1 — анаприлин; 2 — этмозин; 3 — карнитин; 4 — парацетам; 5 — соединение Е; 6 — фенхизол; 7 — соединение ВС; 8 — феноксанон; 9 — ксантиверин)

в меньшей степени оказывают влияние соединения 1, 4, 7 и 9. Под действием ФАВ значительно ослабляются аналогичные свойства синаптосомальных мембран: инкубация их в среде ФАВ 4, 5, 7 и 9 приводит к высвобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на  $5,5 \pm 0,8$ ;  $6,8 \pm 0,8$ ;  $5,6 \pm 0,8$  и  $6,6 \pm 0,8$  мкмоль/л соответственно, в то время как данные вещества малоэффективны в случае фосфолипидных бислоев. Учитывая тот факт, что в мозге крысы кардиолипид отсутствует [22], а вклад фосфатидилхолина в высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  невелик, эффективное взаимодействие исследуемых ФАВ с синаптосомальными мембранами может осуществляться как с участием других отрицательно заряженных фосфолипидов, так и белково-липидных комплексов, в том числе и обладающих высокоселективными кальцийсвязывающими свойствами. Падение активности кальцийсвязывающих белков под влиянием ФАВ может быть результатом конформационных пертурбаций, сопровождающихся гидрофобизацией поверхности мембраны, уменьшением полярности окружения ионов кальция, о чем свидетельствует снижение кальцийсвязывающей способности. Взаимодействие антиаритмических соединений с синаптосомальными мембранами может быть одним из факторов, определяющих функции кардиоцитов опосредованно через вегетативную нервную систему.

Как следует из результатов экспериментов, противоаритмические соединения, способные образовывать прочные комплексы с фосфолипидным бислоем и изменять его структурно-динамические свойства, могут влиять на функционирование ионных каналов и переносчиков, на диффузию ионов через липидный бислой и, следовательно, на генерацию и проведение импульса в кардиоцитах. Наблюдаемое эффективное высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  при инкубации карнитина и ксантиверина в бислое из отрицательно заряженного фосфолипида кардиолипина такое же,

как и у этмозина, что, вероятно, указывает на способность данных соединений уменьшать скорость прохождения кальция через клеточную мембрану, скорость деполяризации клеток миокарда, замедлять возбудимость волокон Пуркинье [14]. Можно полагать, что вызываемые изученными соединениями изменения физико-химических свойств мембран являются первичным звеном их антиаритмогенного действия.

Таким образом, показано, что исследованные противоаритмические и ноотропные средства обладают высокой липоидофильностью, способствуют снижению микровязкости модельных мембран, эффективно подавляют кальцийсвязывающие свойства синапсомембранных мембран из мозга крысы, проявляют избирательную активность в отношении модельных мембран из кардиолипина, понижая его способность связывать ионы кальция.

**Summary.** Membranotropic action of antiarrhythmic and nootropic drugs (anaprilin, etmozine, carnithine, piracetam, phenhisole, ksantiverine, phenoxanone, compounds E and VS) was studied on liposomes from lecithine, cardiolipine and synaptosomal membranes of rabbit brain by means of spectrophotometry and spectrofluorometry using fluorescent probes of pyrene. The ability of these compounds to form complexes with lipid bilayer, increase of its motility, was shown. The studied physiologically active compounds decrease calcium-binding properties of synaptosomal membranes and of bilayer from cardiolipine.

**Резюме.** Методами спектрофотометрії і спектрофлюориметрії із застосуванням флюоресцентного зонда пірена досліджено мембранотропну дію протиаритмічних та ноотропних засобів (анаприліну, етмозину, карнітину, пірацетаму, фенхізолу, ксантиверину, феноксанону, сполук Е і ВС) на прикладі ліпосом з лецитину і кардіоліпіну, а також синапсомембранных мембран з мозку щурів. Показано здатність розглянутих речовин створювати молекулярні комплекси з ліпідним бішаром, спричиняти його плинність. Протиаритмічні і ноотропні засоби послаблюють властивість синапсомембранных мембран та бішару з кардіоліпіну пов'язувати кальцій.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поротиков В. И., Лазарев А. В., Глезер Г. А. Современные представления об ионных механизмах ритмии сердца и возможных механизмах действия антиаритмиков // Успехи физиол. наук.— 1984.— 15, № 3.— С. 42—63.
2. Вигитнова М. Б., Качарова В. Г., Сакс В. А. Стабилизация фосфолипидов мембран кардиоцитов — новый подход к профилактике нарушений сердечного ритма в острую стадию инфаркта миокарда // Тез. докл. VI Всесоюз. съезда фармакологов.— Ташкент, 1988.— С. 71.
3. Овчинников И. В. Влияние обзидана и поводрила на фосфолипидный состав миокарда // Фармакология и токсикология.— 1983.— 46, № 5.— С. 37—40.
4. Чекман И. С. Биохимические и физико-химические механизмы действия лекарственных средств // Тез. докл. VI Всесоюз. съезда фармакологов.— Ташкент, 1988.— С. 408.
5. Chatelain P., Brofelle R., Laruel R. Decrease in lipid mobility in rat erythrocyte membrane after amyodarone chronic treatment // Biochem. Pharmacol.— 1987.— 36, N 9.— P. 1564—1565.
6. Erdreich A., Pahamimott H. The possible involvement of the phospholipid phase of membranes in mediating the effects of verapanil on  $Ca^{2+}$ -transport // Ibid.— N 11.— P. 1775—1780.
7. Владимиров Ю. А., Добрецов Н. В. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран.— М.: Наука, 1980.— 248 с.
8. Ferreira J., Chatelain P., Caspers J., Ruyschaert J. M. Differential effect of amyodarone and propranolol on lipid dynamics and enzymatic activities // Biochem. Pharmacol.— 1987.— 36, N 24.— P. 4245—4250.
9. Стец В. П., Береговая Е. Г., Дунаев В. В. и др. Исследование антиаритмической активности хиназопирина // Фармакология и токсикология.— 1990.— 53, № 3.— С. 15—17.
10. Стец В. П. Фармакологическое изучение новых производных азолов и азинов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Казань, 1988.— 42 с.
11. Дунаев В. В., Тишкин В. С., Береговая Е. Г. Фармакологическое исследование противоаритмических свойств препарата карнитина хлорида для инъекций. Нарушения ритма и проводимости // Тез. докл. Пленума правления укр. науч. кардиол. о-ва.— Запорожье, 1990.— С. 31.

12. Шаварян В. В., Ягупольский Л. М. Особенности фармакодинамики некоторых новых производных пиридина и пиримидина // Тез. докл. VI съезда фармакологов Украинской ССР.— Харьков, 1990.— С. 432—433.
13. Самвелян В. М., Малакян М. Г., Баджиян С. А. Некоторые аспекты антиаритмического действия парацетама // Фармакология и токсикология.— 1990.— 53, № 6.— С. 22—23.
14. Машиковский М. Д. Лекарственные средства.— М.: Медицина, 1984.— Т. 1.— С. 400—409.
15. Лебедь О. И., Стефанов В. В., Примак Р. Г. Влияние условий ультразвуковой обработки на характеристики формирующихся липосом // Укр. биохим. журн.— 1989.— 61, № 3.— С. 96—101.
16. Лишко В. К., Терлецкая Л. Т., Гегелашвили Г. К. Взаимодействие изолированных синаптических везикул с мембранами синапсом как модель нейросекции // Биол. мембраны.— 1986.— 3, № 2.— С. 191—196.
17. Практикум по биохимии / Под ред. Н. П. Лишковой, Е. Е. Северина.— М.: Изд-во МГУ, 1979.— С. 90.
18. Kendrick N. C., Katzluff R. W., Blaustein M. P. Arsenazo III as an indicator for ionizer calcium in physiological salt solutions; its use for determination of the Ca-ATP dissociation constant // Analyt. Biochem.— 1977.— 83.— P. 433—450.
19. Свердлова О. В. Электронные спектры в органической химии.— Л.: Химия, 1985.— С. 174.
20. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов.— М.: Наука, 1989.— 277 с.
21. Bauer P. J. Affinity and stoichiometry of calcium binding by arsenazo III // Analyt. Biochem.— 1981.— 110, N 1.— P. 61—72.
22. Сим Э. Биохимия мембран.— М.: Мир, 1985.— 110 с.

Укр. НИИ фармакологии и токсикологии  
 АМН Украины, Киев  
 Мединститут, Запорожье

Получено 14.04.93

УДК 577.322:578.841

**О. С. Мирошниченко, М. Т. Бобровская,  
 М. В. Штерншис, Н. И. Ермакова, Э. А. Козлов**

**ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ  
 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОЛИЭДРИНА ВИРУСА  
 ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА (ВЯП) ЛУГОВОГО МОТЫЛЬКА,  
 PYRAUSTA STICTICALIS**

*Электрофорезом в полиакриламидном геле показано, что полиэдрин ВЯП лугового мотылька (ЛМ) имеет молекулярную массу 30 000. Установлено, что полиэдры ВЯП ЛМ включают щелочную протеазу и РНК. Определен аминокислотный состав полиэдрина, который содержит на N-конце остаток ацилированного метионина и на C-конце — тирозина. Построена пептидная карта полиэдрина.*

**Введение.** В нашей лаборатории изучены физико-химические свойства и выяснена первичная структура полиэдрина ВЯП пяти насекомых: тутового (ТШ, *Bombyx mori*) и непарного (НШ, *Porthetria dispar*) шелкопрядов, большой вошинной моли (БВМ, *Galleria mellonella*), озимой совки (ОС, *Agrotis segetum*) [1] и капустной совки (КС, *Mamestra brassicae*) [2]. Первичная структура полиэдрина ВЯП еще трех насекомых выведена из нуклеотидной последовательности соответствующих генов полиэдрина в других лабораториях мира — *Autographa californica*, *Orgyia pseudotsugata* [3], *Panolis flammea* [3]. Мы завершаем также расшифровку первичной структуры полиэдрина ВЯП кольчатого шелкопряда (КШ, *Malacosoma neustria*), а нуклеотидная последовательность гена этого полиэдрина выяснена параллельно в лаборатории биохимической генетики ИМБиГ АН Украины. Полиэдрин ВЯП ЛМ — это десятый по счету полиэдрин, первичную структуру которого мы надеемся установить. Однако прежде чем приступить к подобным исследованиям необходимо изучить некоторые очень существенные фи-

© О. С. Мирошниченко, М. Т. Бобровская, М. В. Штерншис, Н. И. Ермакова, Э. А. Козлов, 1993