

## ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ ФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ С ВЫСШИМИ АЛКИЛЬНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ДЛЯ ИОНОВ НАТРИЯ *IN VITRO*

Ольга Валериановна Орлова\*, Владимир Николаевич Ослопов,  
Светлана Анатольевна Сидуллина

Казанский государственный медицинский университет

### Реферат

**Цель.** Оценить влияние новых синтезированных четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными заместителями ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ) на проницаемость клеточных мембран для ионов натрия *in vitro*.

**Методы.** *In vitro* изучено влияние разных концентраций новых четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными заместителями на проницаемость клеточной мембраны для ионов натрия по изменению скорости  $Na^+Li^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита.

**Результаты.** Малая концентрация (0,001 мкМ) вещества  $C_{10}$  увеличивала скорость  $Na^+Li^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита на 11,9%, вещества  $C_{12}$  — на 11,8%, вещества  $C_{14}$  — на 12,7%, вещества  $C_{16}$  — на 13%, вещества  $C_{18}$  — на 12,3%. Более высокие концентрации веществ (0,01–0,05 мкМ) не оказывали существенного влияния на проницаемость клеточной мембраны для ионов натрия.

**Вывод.** Увеличение скорости  $Na^+Li^+$ -противотранспорта в мембране эритроцита происходит под влиянием минимальной концентрации вещества, под действием других концентраций скорость  $Na^+Li^+$ -противотранспорта не изменяется.

**Ключевые слова:** четвертичные фосфониевые соли, мембрана эритроцита, проницаемость по натрию,  $Na^+Li^+$ -противотранспорт.

**THE EFFECT OF NEW QUATERNARY PHOSPHONIUM SALTS WITH HIGHEST ALKYL SUBSTITUENTS ON THE PERMEABILITY OF CELL MEMBRANES FOR SODIUM IONS IN VITRO** O.V. Orlova, V.N. Osloпов, S.A. Sidullina. *Kazan State Medical University, Kazan, Russia.* **Aim.** To assess the effect of newly synthesized quaternary phosphonium salts with highest alkyl substituents ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ) on the permeability of cell membranes for sodium ions *in vitro*. **Methods.** *In vitro* studied was the effect of different concentrations of new quaternary phosphonium salts with highest alkyl substituents on the cell membrane permeability to sodium ions according to the rate of  $Na^+Li^+$ -countertransport in the erythrocyte membrane. **Results.** Low concentration (0.001 mM) of substance  $C_{10}$  increased the rate of  $Na^+Li^+$ -countertransport in the erythrocyte membrane by 11.9%, substance  $C_{12}$  — by 11.8%, substance  $C_{14}$  — by 12.7%, substance  $C_{16}$  — by 13%, substance  $C_{18}$  — by 12.3%. Higher concentrations of substances (0.01–0.05 mM) had no significant effect on the cell membrane permeability to sodium ions. **Conclusion.** An increase in the rate of  $Na^+Li^+$ -countertransport in the erythrocyte membrane is influenced by minimal concentrations of a substance, under the influence of other concentrations the rate of  $Na^+Li^+$ -countertransport does not change. **Keywords:** quaternary phosphonium salts, erythrocyte membrane, permeability to sodium,  $Na^+Li^+$ -countertransport.

Важнейший этап при разработке и введении новых лекарственных препаратов — исследование биодоступности, то есть количества неизменённого вещества, достигшего плазмы крови, по отношению к исходной дозе [5].

В качестве естественной модели для исследования проницаемости биологических мембран наиболее удобна мембрана эритроцита (МЭ), так как, во-первых, эритроцит — фактически идеальная изолированная («чистая») мембрана, во-вторых, была доказана корреляция между свойствами МЭ и других клеток [4, 6].  $Na^+Li^+$ -противотранспорт ( $Na^+Li^+$ -ПТ) в МЭ может быть использован как модель *in vitro* для определения биодоступности различных веществ и лекарственных препаратов.

Целью исследования была оценка влияния новых синтезированных веществ  $C_{10}$ ,

$C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ , обладающих ранозаживляющим, антибактериальным и фунгицидным действием, на проницаемость клеточных мембран для ионов натрия в модели *in vitro*.

Объектом исследования были фармакологически активные вещества — четвертичные фосфониевые соли с высшими алкильными заместителями:  $C_{10}$  —  $[(C_6H_5)_3P^+C_{10}H_{21}]Br^-$ ,  $C_{12}$  —  $[(C_6H_5)_3P^+C_{12}H_{25}]Br^-$ ,  $C_{14}$  —  $[(C_6H_5)_3P^+C_{14}H_{29}]Br^-$ ,  $C_{16}$  —  $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$ ,  $C_{18}$  —  $[(C_6H_5)_3P^+C_{18}H_{37}]Br^-$ .

Изучали влияние этих веществ в различной концентрации на скорость  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ *in vitro*. Определение скорости  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ (в мкМ лития на 1 л клеток в час) проводили по методу М. Санесса и соавт. [6]: определяли обмен внутриклеточного лития в нагруженных этим ионом клетках на внеклеточный натрий из среды инкубации. Концентрацию лития регистрировали методом атомной абсорбционной спектроскопии в эмиссионном режиме.

**Влияние фармакологически активных веществ  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  на скорость  $Na^+Li^+$ -противотранспорта ( $Na^+Li^+$ -ПТ) в мембране эритроцита ( $M \pm m$ ) *in vitro***

| Вещество | Исходное значение скорости $Na^+Li^+$ -ПТ | Скорость $Na^+Li^+$ -ПТ, мкМ Li/л клеток в час, при различной концентрации веществ $C_{10}$ - $C_{18}$ , мкМ |         |        |         |         |
|----------|---|--|---------|--------|---------|---------|
|          |   | 0,001  | 0,005   | 0,01   | 0,025   | 0,05    |
| $C_{10}$ | 337±5                                     | 403±13*  | 370±4*  | 322±7  | 362±5   | 376±1   |
| $C_{12}$ | 337±5                                     | 398±15*  | 350±24* | 303±12 | 322±15  | 323±15  |
| $C_{14}$ | 337±5                                     | 430±27*  | 381±5*  | 359±7  | 355±8   | 343±7   |
| $C_{16}$ | 337±5                                     | 443±39*  | 441±42* | 369±20 | Гемолиз | Гемолиз |
| $C_{18}$ | 337±5                                     | 416±10*  | 368±4*  | 327±5  | 365±14  | 381±6   |

Примечание: \*статистически значимые различия с исходным значением скорости  $Na^+Li^+$ -ПТ ( $p < 0,05$ ).

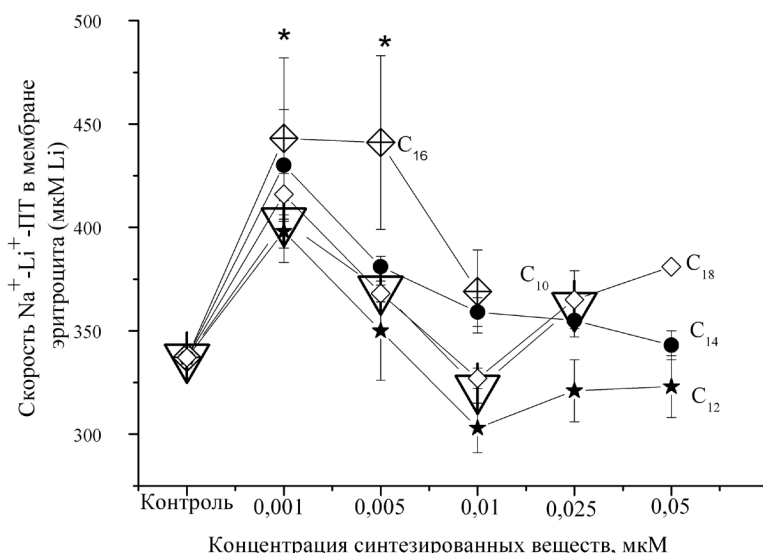


Рис. 1. Влияние концентрации фармакологически активных веществ  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  на скорость  $Na^+Li^+$ -противотранспорта ( $Na^+Li^+$ -ПТ) в мембране эритроцита.

Кровь в количестве 3 мл забирали из вены самотёком в пластиковые пробирки, смоченные гепарином (20 ЕД на 1 мл крови), содержимое перемешивали, пробирки помещали в контейнер с тающим льдом. Исследование состояло из следующих этапов: отделение эритроцитов, промывание эритроцитов, прединкубация (3 ч), промывание эритроцитов, инкубация (1 ч), определение концентрации лития, вычисление скорости  $Na^+Li^+$ -ПТ. Внесение исследуемых препаратов разных концентраций *in vitro* осуществлялось в среду В (среда с  $Na^+$  при 1 ч инкубации).

Оценку влияния фармакологически активных веществ  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  на проницаемость клеточных мембран по  $Na^+$  проводили путём подбора концентрации исследуемых веществ, не вызывающей гемолиз эритроцитов.

Гемолиз определяли визуально. Дальнейшие исследования проводили с разными концентрациями изучаемых веществ: 0,001; 0,005; 0,01; 0,025 и 0,05 мкМ.

Фармакологически активные вещества  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  увеличивали скорость  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ, однако этот эффект зарегистрирован лишь при их минимальной концентрации — 0,001-0,005 мкМ (табл. 1, рис. 1). При других концентрациях (0,01-0,05 мкМ) скорость  $Na^+Li^+$ -ПТ изменялась незначительно ( $p > 0,05$ ).

Наибольшее влияние на проницаемость по  $Na^+$  исследуемые вещества оказывали при концентрации 0,001 мкМ, при этом вещество  $C_{10}$  увеличило скорость  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ с 337 до 403 мкМ Li/л клеток в час (на 11,9%), вещество  $C_{12}$  — до 398 (на 11,8%), вещество  $C_{14}$  — до 430 (на 12,7%), вещество  $C_{16}$  — до

443 (на 13%), вещество  $C_{18}$  — до 416 мкМ Li/л клеток в час (на 12,3%). Более высокие концентрации (0,01–0,05 мкМ) не оказывали существенного влияния на проницаемость клеточной мембраны для  $Na^+$ .

### ВЫВОДЫ

1. Фармакологически активные вещества  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  в малой концентрации (0,001–0,005 мкМ) увеличивают скорость  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ в 1,2–1,3 раза, а большие концентрации существенного влияния на проницаемость по  $Na^+$  не оказывают.

2. Подобранные нами условия изучения влияния фармакологически активных веществ  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  на проницаемость клеточной мембраны для  $Na^+$  по изменению скорости  $Na^+Li^+$ -ПТ в МЭ могут быть использованы при оценке их биодоступности из лекарственных форм наружного применения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-IND-оценки системных параметров фармакокине-

тики модельно-независимым методом статистических моментов // Хим.-фарм. ж. — 1991. — №10. — С. 16–19.

2. Березовская И.В., Иванова В.М. Актуальные проблемы безопасности воспроизведённых лекарственных препаратов // Клини. исслед. лекарств. средств в России. — 2004. — №3–4. — С. 16–23.

3. Егорова С.Н. Методы моделирования *in vitro* трансдермального всасывания лекарственных средств из лекарственных форм местного действия // Казан. мед. ж. — 2000. — №2. — С. 146–147.

4. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. — М.: Медицина, 1987. — 192 с.

5. Bressole F., Bromet-Petit M., Audran M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods. Applications to pharmacokinetics // J. Chromatogr. B. — 1996. — Vol. 686. — P. 3–10.

6. Canessa M., Adragna N., Solomon H. et al. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension // New Engl. J. Med. — 1980. — Vol. 302. — P. 772–776.

7. Karifes H.T., Shiu G., Shah V.P. Validation of bioanalytical methods // Pharmaceut. Research. — 1991. — Vol. 8. — P. 421–425.

8. Shah V.P., Midha K.K., Shrihant D. et al. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. Conference report // Pharmaceut. Research. — 1992. — Vol. 9. — P. 588–592.

9. Turck D., Busch U., Heinzel G., Narjes H. Clinical Pharmacokinetics of Meloxicam // Arzneim. Forsch. — 1997. — Vol. 3. — P. 253–258.