

6. Мхехян Э. Е., Соцкий О. П. Укр. биохим. ж., 44, 5, 644—647, 1972.
7. Мхехян Э. Е., Соцкий О. П., Баджиян С. А., Акопов С. Э. Биофизика, 25, 4, 638—642, 1980.
8. Перри С., Атос Р., Брюер П. В кн.: Практическое руководство по жидкостной хроматографии. 171, М., 1974.
9. Соцкий О. П., Акопов С. Э., Саркисова Г. М., Чухаджян Г. А. Бюлл. экспер. биол., 4, 387—388, 1984.
10. Туманова С. Ю., Прохорова М. И. Нейрохимия, 1, 2, 184—199, 1982.
11. Уэллс В. В., Колинз К. А., Куртц Дж. В. В кн.: Лизосомы и лизосомные болезни накопления. 32—47, М., 1984.
12. Шамов Н. А., Векслер Я. Р., Асланова Н. Р. Вопр. мед. химии, 24, 3, 310—314, 1978.
13. Atkinson D. E., Biochemistry J., 11, 4030—4031, 1968.
14. Carroll K. K. Lipid Res., 1, 2, 171—178, 1960.
15. Lowry E., Rosenbrough N., Farr A, et al. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
16. Singer H., Hunkers G., Schafer I. Pediatrics, 49, 352—361, 1972.
17. Stoffel W., Grol M. Chem. and phys. Lipids, 13, 4, 372—388, 1974.

«Биолог. ж. Армени», т. XXXVIII, № 1, 1985

УДК 577.352

## УСТОЙЧИВОСТЬ БЛМ В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ В ПРИСУТСТВИИ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ

Л. Г. МИКАЕЛЯН, А. К. КАРАПЕТЯН, С. А. АДЖЯН

Изучена зависимость  $\tau$  БЛМ от  $\varphi$  в присутствии МА дибуканна и пропранолола. Оба местных анестетика увеличивают  $\tau$  БЛМ относительно контроля в изученном интервале  $\varphi$ .

Зависимость  $\tau$  БЛМ от концентрации дибуканна в пределах  $10^{-7}$ — $10^{-2}$  М имеет форму колокола с максимумом при концентрации  $10^{-5}$  М. При фиксированных значениях концентрации пропранолола  $10^{-4}$  М и  $\varphi$ , равном 400 мВ, увеличение pH водного раствора от 5 до 9 приводит к уменьшению  $\tau$  БЛМ.

Субклинические концентрации МА стабилизируют, а суперклинические — дестабилизируют структуру БЛМ.

Результаты обсуждаются с точки зрения современных представлений о механизме электрического пробоя БЛМ, а также возможной роли эффективной формы молекул во влиянии МА на структуру БЛМ.

*Ключевые слова:* мембраны бислоиные липидные, плоские, диэлектрическая прочность, местные анестетики.

В настоящее время большинство исследователей склоняются к мнению, что местные анестетики (МА) влияют на ключевые белки, например, ионные каналы мембран клеток. Однако до сих пор нет однозначного ответа на вопрос, является ли это влияние непосредственным или опосредовано липидной компонентой мембран. Альтернативные точки зрения на эту проблему детально рассматриваются в недавно опубликованном обзоре [12]. Из сказанного следует, что в рамках про-

блемы «стабилизирующего действия» МА на биомембраны [27] исследование взаимодействия МА с липидами в бислоях имеет исключительно важное значение.

Данные последних лет, полученные с помощью методов ЭПР, ЯМР и флуоресцентной спектроскопии, показывают, что МА увеличивают жидкость липидного бислоя [10, 17, 21]. Выяснились также некоторые детали межмолекулярного взаимодействия МА с молекулами липидов. Оказалось, что МА внедряется в липидный бислой и взаимодействует с липидными молекулами как электростатически, так и гидрофобно, причем степень погружения зависит от рН [16].

МА влияют также на электрические свойства плоских бислоевых липидных мембран (БЛМ). Оки [19] показал, что МА дипукаин (дибукаин), тетракаин, кокаин и прокаин (новокаин) при их симметричной аппликации к БЛМ в низких концентрациях увеличивают, а в высоких — уменьшают электрическое сопротивление мембран по постоянному току. Оки показал также, что в присутствии МА разрушающая БЛМ концентрация  $Ca^{2+}$ , вводимая асимметрично, увеличивается в 25 раз. В этой работе впервые на плоских БЛМ было показано стабилизирующее влияние низких концентраций МА на структуру бислоя.

В предыдущей работе [5] нами было показано, что дипукаин, пропранолол и лидокаин при симметричном добавлении к БЛМ в низких концентрациях увеличивают их электрическое сопротивление и устойчивость в электрическом поле.

Цель данной работы состояла в выяснении зависимости стабилизирующего эффекта МА на БЛМ от потенциала  $\phi$ , устойчивости БЛМ от концентрации МА, выявлении вклада заряженной и незаряженной формы МА в стабилизацию БЛМ.

**Материал и методика.** БЛМ формировали из 2%-ных растворов суммарной фракции фосфолипидов мозга быка в *n*-декане или смеси *n*-декана и *n*-гептана. Водный раствор содержал 100 мМ NaCl; рН раствора изменяли добавлением HCl и NaOH. В экспериментах использовали кристаллический дипукаингидрохлорид, который растворяли в экспериментальном растворе, а также ампулированный пропранололгидрохлорид для инъекции (ГДР). Методика измерения времени жизни ( $\tau$ ) БЛМ в электрическом поле подробно изложена в работе [7]. Напряжение на БЛМ подавали от генератора прямоугольных импульсов, сконструированного в нашей лаборатории. Регистрацию  $\tau$  БЛМ осуществляли на осциллографе с памятью марки С8-11. Использовались хлорсеребряные электроды собственного изготовления без агарового мостика. Натяжение БЛМ измеряли по методу, описанному в работе [4]. Электрическую емкость БЛМ измеряли на частоте 159 Гц и напряжении 30 мВ. Среднее время жизни ( $\tau$ ) БЛМ получали на 85—140 мембранах.

**Результаты и обсуждение.** Зависимость  $\tau$  БЛМ от  $\phi$ . На рис. 1 представлена зависимость  $\tau$  БЛМ от  $\phi$  в контроле и в присутствии  $10^{-5}$  М пропранолола и дипукаина. Видно, что с увеличением  $\phi$  от 350 до 700 мВ  $\tau$  контрольных БЛМ уменьшается. Этот результат качественно согласуется с данными работы [1].

В присутствии местных анестетиков характер зависимости  $\tau$  от  $\phi$  практически не изменяется. Однако видно, что увеличиваются абсолютные значения  $\tau$  БЛМ, причем дипукаин более эффективен. Небольшое

снижение  $\tau$  БЛМ при высоких значениях  $\varphi$  связано, по-видимому, с ограниченностью временной разрешающей способности измерительной цепи.

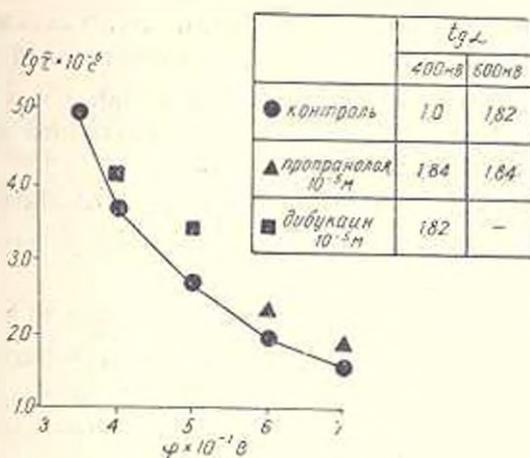


Рис. 1. Зависимость логарифма  $\tau$  БЛМ от  $\varphi$  в контроле и в присутствии  $10^{-5} M$  пропранолола и дибуканина. В таблице даны значения тангенса угла наклона зависимости логарифма плотности распределения от логарифма на малых временах, при 400 и 600 мВ.

Эти результаты показывают, что при низкой концентрации пропранолола и дибуканина увеличивают устойчивость БЛМ в электрическом поле, т. е. оказывают стабилизирующее действие на структуру БЛМ. Этот эффект МА не зависит от величины напряжения. Таким образом, наши данные, полученные с помощью адекватного определения устойчивости плоских БЛМ, подтверждают результаты Окс, показывающие стабилизирующее влияние низких концентраций МА на структуру БЛМ.

Для интерпретации полученных результатов обратимся к представлениям, развитым в последние годы в теории электрического пробоя мембран [2]. Согласно этой теории, пробой БЛМ связан с появлением и развитием дефектов типа сквозных пор в матриксе мембраны под влиянием электрического поля. Процесс пробоя БЛМ в электрическом поле происходит, по крайней мере, в две стадии: стадию рождения дефекта и стадию его роста (диффузии в пространстве радиусов) до критических размеров. Двустадийность процесса разрыва БЛМ в электрическом поле была экспериментально показана в работах [3, 6]. Каждая стадия имеет свое характеристическое время, и сумма этих времен определяет  $\tau$  БЛМ при данном потенциале. Если характеристические времена стадий имеют близкие значения, то функция распределения  $\tau$  БЛМ не является экспоненциальной, если же они сильно отличаются, то функция распределения  $\tau$  БЛМ описывается простой экспоненциальной зависимостью. В координатах  $\ln F \sim t(\ln \tau)$ , где  $F$ —плотность распределения,  $\tau$ —время жизни БЛМ в области малых времен, значение  $tg \alpha$  наклона кривой этой зависимости соответствует числу стадий пробоя БЛМ.

В таблице на рис. 1 представлены значения  $\lg \bar{\tau}$  для контрольных БЛМ и в присутствии МА при  $\varphi$ , равном 400 и 600 мВ. При 400 мВ в контроле регистрируется одностадийный процесс разрыва БЛМ, при 600 мВ—двухстадийный. В присутствии МА для обоих значений  $\varphi$  обнаруживаются две стадии разрыва БЛМ. Это указывает на то, что в присутствии МА характеристические времена стадий пробоя БЛМ приобретают близкие значения. Более того, поскольку возрастают  $\bar{\tau}$  БЛМ, то следовательно, увеличиваются по абсолютной величине и характеристические времена стадий.

На основании полученных данных можно заключить, что увеличение  $\bar{\tau}$  БЛМ при действии низких концентраций МА связано с повышением общей устойчивости мембран.

В работе [2] выведена также формула для расчета  $\bar{\tau}$  БЛМ. Основными параметрами, от которых сильно зависит  $\bar{\tau}$ , являются коэффициенты поверхностного и линейного натяжения мембраны, температура и потенциал. В меньшей степени  $\bar{\tau}$  зависит от толщины, вязкости и электрической емкости мембраны.

*Зависимость  $\bar{\tau}$  БЛМ от концентрации дибуканна.* В этой серии экспериментов изучали влияние дибуканна в широком спектре изменения его концентраций на  $\bar{\tau}$  БЛМ при  $\varphi$ , равном 400 мВ. Результаты, представленные на рис. 2, показывают, что при концентрациях  $10^{-7}$ — $10^{-6}$  М

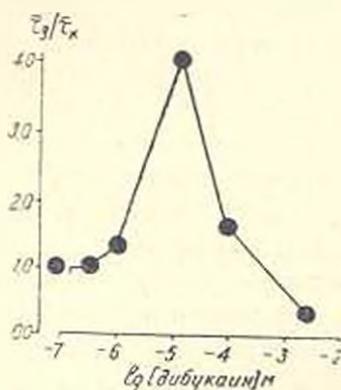


Рис. 2. Зависимость отношения  $\bar{\tau}$  БЛМ в присутствии дибуканна и в контроле от концентрации дибуканна,  $\varphi = 400$  мВ.

дибукаин не оказывает влияния на устойчивость мембран. Достоверное изменение  $\bar{\tau}$  БЛМ наблюдается при концентрации анестетика, равной  $5 \times 10^{-6}$  М. С увеличением концентрации дибуканна до  $10^{-5}$  М  $\bar{\tau}$  БЛМ достигает максимального значения. Дальнейшее увеличение концентрации дибуканна приводит к снижению этого показателя, а в области концентраций  $5 \times 10^{-4}$ — $10^{-3}$  М устойчивость мембран падает ниже контрольного значения в 3,5—4 раза. Таким образом, кривая зависимости стабилизирующего влияния низких концентраций третичных аминов вискозности  $\bar{\tau}$  БЛМ от концентрации дибуканна представляет собой колокол с максимумом при концентрации 0,01 мМ.

Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе данными. В частности, они подтверждают данные Оки [19], касающиеся

ся стабилизирующего влияния низких концентраций третичных аминов на структуру БЛМ. Розенберг [21] наблюдал упорядочивающий эффект 0.1 мМ тетракамина на структуру синапсомозга. Недавно полученные результаты экспериментов на монослоях из фосфатидилсерина [29] показали, что уже при концентрации пропранолола  $5 \times 10^{-6}$  М обнаруживается расширение монослоя. Что касается дестабилизирующего влияния высоких концентраций МА, то в литературе имеется большое количество такого рода данных, полученных на различных липидных модельных системах, микросомальных и синапсомальных фракциях, форменных элементах крови и срезах мозга. Эти данные детально обсуждаются в ряде обзоров [15, 27, 28]. Здесь важно указать, что высокие концентрации МА различной природы, как правило, увеличивают жидкость мембранных липидов, снижают температуру фазового перехода липидов, разупорядочивают структуру мембран, т. е. дестабилизируют ее. Более важным, с точки зрения идентичности объектов, является совпадение полученных нами данных с данными Оки [19], которые показали, что высокие концентрации МА уменьшают устойчивость плоских БЛМ.

*Влияние двух форм МА на  $\tau$  БЛМ.* При нейтральных (физиологических) значениях рН третичные аминовые анестетики в водном растворе существуют в двух формах: заряженной, или катионной, и в нейтральной форме. Электрофизиологические данные показывают, что обе формы способны блокировать нервный импульс [23]. В этой связи интересно было выяснить, являются ли обе формы МА эффективными с точки зрения их влияния на устойчивость БЛМ.

В данной серии экспериментов мы изучали влияние пропранолола в концентрации  $1 \times 10^{-4}$  М на  $\tau$  БЛМ при двух значениях рН водного раствора. Необходимо отметить, что в литературе фигурируют два значения рК пропранолола. Согласно Фадки и др. [22] рК—7,5, а по данным Саса и др. [26], рК—9,45. Несмотря на значительное расхождение между этими данными, ясно, однако, что с увеличением рН раствора доля нейтральной формы должна возрастать.

Результаты этих экспериментов, представленные в таблице, показывают, что при рН 5  $\tau$  контрольных БЛМ равно  $190 \pm 40$  мс, а в присутствии пропранолола— $500 \pm 55$  мс. При рН 9 в контроле оно составляет  $360 \pm 35$  мс, а в присутствии пропранолола— $100 \pm 20$  мс. Таким образом, в кислых средах пропранолол увеличивает устойчивость БЛМ в электрическом поле, а в щелочных—уменьшает. Из таблицы видно, что эффект дестабилизирующего действия пропранолола на БЛМ выражен сильнее, поскольку увеличение основности водного раствора  $\tau$  БЛМ увеличивает устойчивость БЛМ. Относительное увеличение  $\tau$  БЛМ в присутствии пропранолола составляет 2,6 раза, в то время как относительное уменьшение—3,6 раза. Если принять, что рК пропранолола 9,45 (это значение представляется нам более реальным, поскольку рК дибукаина—анестетика, близкого по химической структуре к пропранололу,—8,5 [26]), то при рН 5, согласно уравнению Гендерсона-Хассельбаха  $\log_{10} \left( \frac{[AH^+]}{[A]} \right) = pK - pH$ , где  $[AH^+]$  и  $[A]$ —концент-

рация заряженной и нейтральной формы МА соответственно, концентрация заряженной формы в  $10^4$  раза больше концентрации нейтральной формы. При рН 9 концентрации обеих форм пропранолола принимают близкие значения. Из этого сопоставления следует, что уменьшение  $\tau$  БЛМ при рН 9 в присутствии пропранолола связано с увеличением нейтральной формы анестетика. Как было отмечено выше, устойчивость БЛМ в электрическом поле зависит от таких ее параметров, как натяжение ( $\sigma$ ) и электрическая емкость (С). В ряде экспериментов мы измеряли указанные параметры БЛМ (табл.). Как видно

Таблица

Параметры БЛМ при двух значениях рН одного раствора и контроле и в присутствии  $10^{-4}$  М пропранолола

Параметры БЛМ	Контроль		Пропранолол	
	рН5	рН9	рН5	рН9
$\tau$ (мс) $\epsilon = 400$ мВ	190±40	360±35	500±55	100±20
$\sigma$ (дин см)	3.50±0.20	4.36±0.04	4.40±0.30	4.20±0.50
С (мкф/см <sup>2</sup> )	0.490±0.01	0.500±0.02	0.532±0.01	0.545±0.02

из приведенных в таблице данных, натяжение БЛМ в присутствии пропранолола при рН 5 увеличивается в 1,26 раза и не изменяется при рН 9. Наряду с этим, электрическая емкость БЛМ в присутствии пропранолола увеличивается при обоих значениях рН. Данные табл. показывают также, что в отсутствие пропранолола при рН 9 увеличение  $\tau$  БЛМ сопровождается увеличением натяжения. Электрическая емкость БЛМ при этом не изменяется. Таким образом, на основании данных табл. можно заключить, что увеличение  $\tau$  БЛМ при рН 5 в присутствии пропранолола связано с увеличением натяжения и емкости мембран. Однако результаты, полученные при рН 9, указывают на то, что увеличение емкости БЛМ не всегда связано с увеличением их устойчивости, оно может наблюдаться даже при уменьшении устойчивости БЛМ. Этот факт свидетельствует о том, что  $\tau$  БЛМ в электрическом поле является комплексной характеристикой, которая сложным образом зависит от других параметров мембраны.

Изменение устойчивости БЛМ в электрическом поле в присутствии МА является, естественно, результатом взаимодействия молекул МА с молекулами фосфолипидов в бислое.

Как показано в ряде работ [8, 9, 16], молекулы МА, в частности, третичные и четвертичные амины, внедряются в липидный бислой и ориентируются параллельно молекулам липидов, причем ароматическая группа локализуется в области углеводородных хвостов и сильно взаимодействует с ними гидрофобными силами притяжения. Аминная группа молекулы, содержащая положительно заряженный атом азота, вступает в электростатическое взаимодействие с отрицательным зарядом гидрофильной головки молекулы фосфолипида.

Нейтрализация отрицательного заряда на поверхности мембраны катионной формой МА приведет к ослаблению электростатического отталкивания между головками липидных молекул. Этот фактор будет способствовать увеличению устойчивости БЛМ. В том же направлении будет действовать усиление гидрофобного взаимодействия из-за ослабления электростатического отталкивания. Именно этими факторами мы склонны объяснить стабилизирующий эффект МА на структуру БЛМ.

По мере роста концентрации нейтральной формы МА, т. е. при высоких рН, накопление ее в бислой до некоторой критической концентрации приведет к разбалансу между силами электростатического отталкивания и силами гидрофобного притяжения. Это может послужить причиной дестабилизации структуры БЛМ. Последнее рассуждение, однако, не может быть привлечено при объяснении данных, касающихся влияния высоких концентраций дибуканина на БЛМ, поскольку эти эксперименты проводились при значениях рН водного раствора—5,8—6,2, при которых более проникающая нейтральная форма МА [20] присутствует в пренебрежимо малых концентрациях. Одной из возможных причин дестабилизации структуры БЛМ при высоких концентрациях МА может явиться инверсия знака поверхностного заряда БЛМ, обусловленная полной нейтрализацией отрицательного заряда не только на заряженных головках фосфолипидов (фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола), но и цвиттерных фосфолипидов (фосфатидилхолина).

В заключение необходимо рассмотреть еще один аспект взаимодействия молекул МА с липидными молекулами. Речь идет о роли геометрии молекулы в определении устойчивой конформации липидных фаз. Согласно теории, развитой Израэлашвили с соавт. [13], устойчивость липидных фаз определяется как  $i = \frac{V}{a \cdot l}$ , где  $V$ —объем молекулы,  $l$ —ее полная длина,  $a$ —площадь, полярной головки. Устойчивой фазе соответствует условие  $i \geq 1$ ; неустойчивой— $i < 1/3$ . Основываясь на этих представлениях, стабилизацию БЛМ низкими концентрациями МА и наших экспериментах можно объяснить, во-первых, переводом молекул лизоформ липидов (в тех или иных количествах, присутствующих в липидном растворе [25]) в конфигурацию, образующую устойчивую структуру; во-вторых, взаимодействием МА с фосфатидилэтаноламином, который составляет 35% суммарной фракции фосфолипидов мозга [25]. Как показали недавние исследования [16], тетракаин с большим сродством взаимодействует с этим фосфолипидом, стабилизируя переход бислоя от ламеллярной в гексагональную структуру [11]. Считается, что тетракаин в этом случае действует как клин.

Структура молекул дибуканина и пропранолола дает основание считать их форму также клиновидной. Учитывая преимущественное связывание этих МА с молекулами фосфатидилэтанолamina, можно предположить, что стабилизирующий эффект низких концентраций МА на структуру БЛМ связан с изменением геометрии молекул фосфолипидов. По мере роста концентрации МА и постепенного заполнения в мембра-

не «мест» с большим сродством. МА будут взаимодействовать с липидами, формирующими устойчивые фазы (фосфатидилхолин). В результате этого взаимодействия устойчивость фазы уменьшится, что и обусловит дестабилизацию структуры БЛМ.

Мы сознаем, конечно, что сделанные выше предположения, в достаточной степени спекулятивны применительно к бислоям с гетерогенным липидным составом, в которых имеется фазовое разделение [14] и доменная структура [18]. Тем не менее нам кажется, что процессы стабилизации и дестабилизации, которые могут развиваться на границах доменов, не могут не отразиться на устойчивости БЛМ в целом.

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность Апакиану И. М. за большой вклад в создание условий для проведения экспериментов, а также Аракеляну В. Б. и Меликяну Г. Б. за полезное обсуждение результатов работы.

Ереванский физический институт ГКНЭ СССР

Поступило 25 X 1984 г.

## ՆԼՔ-Ի ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷԼԵԿՏՐԱԿԱՆ ԳԱՇՏՈՒՄ ՏՆՂԱՅԻՆ ԱՆՆՍՏՆՏԻՎՆԵՐԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՄԸ

Լ. Կ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Չ. Կ. ԿԱՐԱԳՅՏՅԱՆ, Ս. Ա. ՉԱԶՅԱՆ

Ուսումնասիրված է Լրկչերտ յիպոդային թաղանթներին (ՆԼՔ) կյանքի միջին տևողության ( $\psi$ ) կախվածությունը էլեկտրական լարման արժեքից ( $\varphi$ )  $0.01\text{Մ}$  խտությունը տեղային անհետեւիկների (SIL)՝ դիրեկայինի և պրոպրանոլի առկայության դեպքում: Նրկու SU-ն էլ մեծացնում են ՆԼՔ-ի  $\tau$  կոնտրոլի համեմատ՝ լարման ուսումնասիրվող  $350-700$  մՎ տիրույթում:

ՆԼՔ-ի  $\tau$  կախվածությունը դիրեկայինի խտությունից  $10^{-7}-10^{-2}$  Մ տիրույթում գանգաձև է և Մ մաքսիմումը զտնվում է  $10^{-5}$  Մ կետում, Յույց է տրված, որ SU  $10^{-2}$  Մ խտության արժեքի դեպքում մեծացնում են ՆԼՔ-ի  $\tau$   $\varphi$ -ի  $350-700$  մՎ տիրույթում:

Պրոպրանոլի ( $10^{-4}$  Մ) և գ-ի ( $100$  մՎ) հաստատուն արժեքների պայմաններում ջրային լուծույթի pH-ի փոփոխումը 5-ից մինչև 9-ը հանդեպնում է ՆԼՔ-ի  $\tau$  արժեքի անկմանը:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ SU-ի կլինիկականից ցածր կոնցենտրացիաները կայունացնում են, իսկ կլինիկականից բարձրը՝ ապակայունացնում ՆԼՔ-ի կառուցվածքը: SU-ի կայունացնող էֆեկտը հատկապես պայմանավորված է զրանց լիցքավորված ձևի, իսկ ապակայունացնողը՝ շիզոք ձևի ազդեցությամբ:

Ստացված տվյալները թննարկվում են ՆԼՔ-ի էլեկտրական խզման մեխանիզմի արդի պատկերացումների, ինչպես նաև՝ ՆԼՔ-ի կառուցվածքի վրա SU-ի ազդեցության էֆեկտիվ ձևի հնարավոր դերի համաձայն:

# STABILITY OF BILAYER LIPID MEMBRANES IN THE ELECTRIC FIELD IN THE PRESENCE OF THE LOCAL ANESTHETICS

L. G. MIKAELYAN, A. C. KARAPETYAN, S. A. ADGYAN

Dependence of mean lifetime ( $\bar{\tau}$ ) of bilayer lipid membranes (BLM) on the potential ( $\varphi$ ) in the presence of two local anesthetics (LA) dibucaine and propranolol of  $10^{-4}$  M has been studied.

Both LA increase  $\bar{\tau}$  of BLM at all values of  $\varphi$  (350—700 mV). Dibucaine is a more effective one.

Dependence of  $\bar{\tau}$  of BLM on the concentration of dibucaine in the range of  $10^{-7}$ — $10^{-2}$  M is of bell shape and has a maximum at  $10^{-5}$  M.

At the constant values of  $\varphi$  (400 mV) and concentration of propranolol, the increase of pH of water solution from 5 to 9 decreases  $\bar{\tau}$  of BLM.

The data on the mechanism of electric breakdown of BLM, as well as on the possible role of effective shape of molecules in stabilizing and destabilizing action of LA on structure of BLM are discussed.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абидор И. Г., Аракелян В. Б., Пастушенко В. Ф., Тарасевич М. Р., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А. Докл. АН СССР, 240, 733, 1978.
2. Аракелян В. Б. Автореф. канд. дисс., М., 1980.
3. Крусяков П. М., Булавченко П. И. В сб.: Физико-химия модельных клеточных мембран. Владивосток, 1981.
4. Крусяков П. М., Ровин Ю. Г. В кн.: Физико-химия черных углеводородных пленок. М., 1978.
5. Михаэлян Л. Г., Карапетян А. К., Кургин Е. И. Биолог. ж. Армении, 36, 566, 1983.
6. Хачатрян Г. Р. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1984.
7. Чизмаджев Ю. А., Черномордик Л. В., Пастушенко В. Ф., Абидор И. Г. В кн.: ИНИТ, серия Биофизика мембран, 2, М., 1982.
8. Boulanger Y., Schreier S. J.C.P. Smith. Biochemistry, 10, 6824, 1981.
9. Browing J. L., Akutsu H. Biochem. Biophys. Acta, 694, 172, 1982.
10. Butler K. W., Schneider H. J.C.P. Smith. Arch. Biochem. Biophys., 154, 518, 1973.
11. Hornby A. P., Cullis P. R. Biochem. Biophys. Acta., 647, 285, 1981.
12. Franks N. P., Lieb W. R. Nature, 300, 487, 1982.
13. Israelaschvili J. N., Mitchel D. J., Ninham B. W. Biochem. Biophys. Acta., 470, 185, 1977.
14. Jain M. K., Wu M. N., Morgan K. T., Briggs S. M., Murray R. K. Chem. Phys. Lipids, 17, 71, 1976.
15. Kaufman R. D. Anesthesiology, 46, 49, 1977.
16. Kalusky E. C., Smith J. C. P. Biochemistry, 22, 6011, 1983.
17. Lee A. G. Biochem. Biophys. Acta., 448, 34, 1976.
18. McCammon I. A., Deutch J. M. J. Amer. Chem. Soc., 97, 6675, 1975.
19. Ohki S. Biochem. Biophys. Acta., 219, 18, 1970.
20. Ohki S., Graef C., Pant H. Biochem. Biophys. Acta., 643, 495, 1981.
21. Papaflopoulos D., Jacobson K., Poste G., Shepherd G. Biochem. Biophys. Acta., 394, 504, 1975.
22. Phudke R. S., Kumar N. V., Hosur R. V., Kulkarni V. M., Saran A. Proc. Symp. on Steric Effects in Biomolecules, Eger Hungary, 1981.
23. Ritchie J. M., Ritchie B. R. Science, 162, 1394, 1968.
24. Rosenberg P. M. In: Molecular Mechanisms of Anesthesia (Progress in Anesthesiology, 2), 325, Raven Press, 1980.
25. Rouzer G., Nelson G., Fetscher S., Simon G. In: Biological Membranes, ed. Chapman D., Acad. Press, 1968.

25. Sasa M., Auner B. P., Albuquerque E. X. Eur. J. Pharmacol., 23, 97, 1973.  
27. Seeman P. Pharmacol. Rev., 24, 583, 1972.  
28. Strichartz G. Anesthesiology, 45, 421, 1976.  
29. Surewicz W. K., Leyko W. Biochem Biophys. Acta., 643, 387, 1981.

1.

«Биолог. ж. Армения», т XXXVIII, № 1, 1982

УДК 577.156

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ИНГИБИРОВАНИЯ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНАМИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНА

К. Л. ЕРЗИНҚЯН

Методами микрокалориметрии и УФ-дифференциальной спектроскопии изучено влияние гликозаминогликанов (гепарина, хондроитинсульфата, гиалуроновой кислоты) протеолитическую активность трипсина при pH среды 8,0. Установлено их ингибирующее действие на протеолитическую активность трипсина, являющееся следствием усиления в щелочной среде необратимой инактивации трипсина в присутствии гликозаминогликанов. Показано, что этот процесс связан со способностью гликозаминогликанов вызывать денатурационные изменения в молекуле фермента.

*Ключевые слова:* трипсин, гепарин, хондроитинсульфат, гиалуроновая кислота.

Согласно современным представлениям, процесс язвообразования в желудке и двенадцатиперстной кишке обусловлен нарушенном равновесии между агрессивными свойствами желудочного сока, дуоденального содержимого и резистентностью гастродуоденальной стенки.

К агрессивным факторам воздействия на слизистую гастродуоденальной стенки относятся соляная кислота, секретлируемая обкладочными клетками желудка, протеолитические ферменты желудочного сока и дуоденального содержимого [1]. Патогенное действие протеолитических ферментов дуоденального содержимого связано с «дуоденальным рефлексом», представляющим собой обратный заброс дуоденального содержимого в антральную область желудка, что приводит к подщелачиванию среды и активации протеолиза слизистой [1, 7]. В то же время в обеспечении резистентности гастродуоденальной стенки участвуют входящие в состав ее слизистой гликозаминогликаны (хондроитинсульфат, гиалуроновая кислота и другие гепариноподобные вещества) [10].

Нами с целью выяснения природы защитного физиологического действия гликозаминогликанов гастродуоденальной стенки изучено их влияние с трипсином.

*Материал и методика.* Использовались препараты трипсина и гепарина («Спофла», Чехословакия), хондроитинсульфата («Сервис», ФРГ), гиалуроновой кислоты, диметила натрия («Реактив», СССР).