

УДК 541.49:632.952

ВЛИЯНИЕ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТАЛЛОВ НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН© 1992 г. *Бовыкин Б.А., Омельченко А.М., Сытник Т.В.*

Обобщены результаты исследований, относящихся к проблеме действия координационных соединений металлов на биологические и бислойные липидные мембраны. Приведены последние данные авторов, определяющие механизмы действия комплексов металлов, которые являются существенными при разработке направленного синтеза физиологически активных веществ, используемых в медицине и сельском хозяйстве.

Библиография — 50 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение.....	2105
II. Взаимодействие комплексов металлов с биологическими мембранами.....	2106
III. Механизм влияния координационно ненасыщенных соединений на ионную проводимость бислойных липидных мембран.....	2110
IV. Механизм влияния на ионную проводимость бислойных липидных мембран координационно насыщенных металлокомплексов.....	2118
V. Заключение.....	2120

I. ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших задач современной химии является создание основ направленного синтеза соединений с заданной биологической активностью. Решение этой проблемы может быть достигнуто только на основе установления взаимосвязи физиологической активности с молекулярной структурой и свойствами веществ. Несмотря на определенные успехи в этой области, в настоящее время отсутствует научно обоснованная теория, позволяющая конструировать эффективные биологически активные соединения.

Одной из причин этого является то, что о проявлении активности часто судят по конечному результату действия веществ, проявляющемуся в изменении каких-либо свойств и признаков живого организма в целом (в крайнем случае, живой клетки). При этом практически не исследуются те глубинные процессы на молекулярном уровне, которые и являются причиной изменения нормального функционирования организма.

Задача создания основ направленного синтеза биологически активных соединений должна решаться через придание им свойств, позволяющих воздействовать на наиболее важные молекулярные механизмы из огромного числа механизмов нормальной жизнедеятельности живой клетки.

Среди таких механизмов необходимо выделить те, которые непосредственно связаны с функционированием клеточных мембран. Структурную основу мембран живых организмов составляют липиды, среди которых преобладают фосфолипиды. Поэтому удобными объектами для исследования механизмов действия соединений на биологические мембраны служат бислойные липидные мембраны (БЛМ), являющиеся вполне адекватными моделями клеточных мембран живых организмов [1]. С использованием данной модели был изучен механизм действия различных веществ, включая и ионы

металлов. В то же время исследования действия на клеточные мембраны координационных соединений, в том числе и биологически активных, были посвящены единичные работы.

Характерной особенностью немодифицированных БЛМ являются чрезвычайно низкая проницаемость для большинства неорганических ионов, особенно полизарядных, и, как правило, отсутствие заметной избирательности между ионами. Низкая проницаемость БЛМ для неорганических катионов обусловлена высокой энергией активации переноса (порядка 120 кДж/моль для однозарядных катионов [2]). В то же время хорошо известно, что биологические мембраны обладают высокой проницаемостью (на 5–6 порядков выше, чем у БЛМ) и проявляют ион-селективные свойства.

Механизмы ионной проницаемости и селективности биологических и искусственных мембран, несмотря на большое число работ, остаются не до конца изученными. В работе [3] обобщены накопленные литературные и собственные данные по действию катионов металлов на липидные мембраны с учетом их физико-химических свойств.

В обзоре указано, что при связывании катионов металлов с БЛМ и другими мембранными системами необходимо учитывать ряд факторов: гидролиз, поведение соединений металлов при различных рН раствора, в частности их растворимость, комплексообразующую способность и другие свойства.

Проведенное разделение катионов металлов на классификационные группы с учетом их ковалентных характеристик, дает возможность оценить последовательность связывания катионов металлов с мембранами, используя модели адсорбционного центра липидных бислоев различного состава.

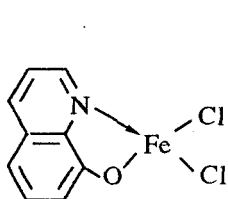
Имеющиеся данные позволяют предположить, что транспорт катионов металлов через биомембраны осуществляется с помощью специальных молекул-переносчиков. Очевидно, в транспорте катионов переходных металлов, которые важны для физиологии и токсикологии живых организмов, должны участвовать органические соединения — биолиганды, способные к координационному взаимодействию с этими катионами металлов. В связи с этим особую актуальность имеют исследования по изучению молекулярных механизмов взаимодействия комплексных соединений металлов с клеточными мембранами.

II. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ

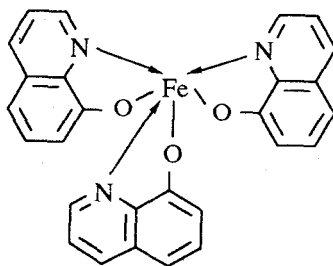
Вопросу действия координационных соединений до сих пор уделялось недостаточное внимание.

Считалось, что роль металла в комплексе заключается в создании подходящей транспортной формы для лигандов или же, если ион металла сам проявляет биологическую активность, то комплексное соединение необходимо для транспорта металла через клеточную мембрану [4].

Альберт [5] показал, что соединение железа (III) с 8-оксихинолином (Ох) имеет состав 1:3. Ни лиганд, ни ион Fe(III) не обладают биологическим действием, но очень эффективны при подавлении патогенных микроорганизмов в комплексе состава 1:1



$\text{Fe}(\text{Ox})\text{Cl}_2$



$\text{Fe}(\text{Ox})_3$

Автор высказал предположение, что соединение, содержащее три депротонированные молекулы 8-оксихинолина $\text{Fe}(\text{Ox})_3$, единственное из всех возможных, которое проникает через клеточные мембраны микроорганизма. Координационно ненасыщенные комплексы, по мнению автора, слишком прочно связываются с мембранами. После попадания в клетку $\text{Fe}(\text{Ox})_3$ распадается с образованием комплексов состава 1:1 и 1:2, которые и оказывают биологическое действие. В пользу того, что наиболее липофильный комплекс оказывает токсичное действие на патогенные микроорганизмы, свидетельствует тот факт, что введение гидрофобных групп в молекулу 8-оксихинолина приводит к ослаблению антибактериального действия комплексного соединения.

Подобные же выводы сделаны в работе [6], где подтверждено, что только координационно насыщенные и нейтральные комплексы меди(II) с низкомолекулярными липофильными компонентами плазмы проникаемы через клеточные мембраны.

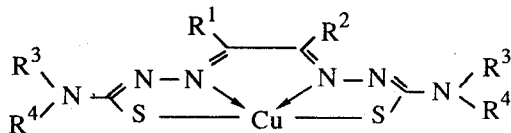
В [7] показано, что комплекс меди (II) — церулоплазмин (ЦПЛ), представляющий собой медьсодержащий сывороточный α -2-гликопротеин, синтезируется в печени и затем поступает в сыворотку и плазму крови. Физиологические функции ЦПЛ состоят в ферментативной оксидазной и ферроксидазной активностях, участии в обмене железа и меди в организме, включающем транспорт ионов $\text{Cu}(\text{II})$ через плазматические мембраны.

В указанной выше монографии говорится, что *бис*-тиосемикарбазоны, представляющие собой тетрадентатные комплексообразующие вещества, обладают заметной противоопухолевой активностью. Наиболее изучено производное, у которого R^1 — этоксиэтил, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4$ — H (кетоксаль-*бис*-тиосемикарбазон, H_2KTS). Действие этих соединений обусловлено связыванием ионов меди (II) с образованием терапевтически активного комплекса.



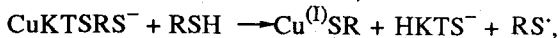
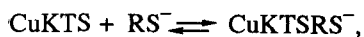
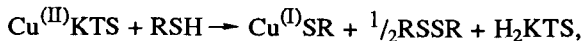
Такой комплекс выделен, изучен в растворах и твердом состоянии. Согласно рентгеноструктурным данным, он имеет квадратно-планарное строение.

Благодаря высокой устойчивости ($\lg \beta = 18,4$) комплекс почти не способен образовывать аксиальные аддукты и вступать в реакции замещения, поэтому данное соединение можно считать координационно насыщенным.



CuKTS

Полярографическим и потенциометрическим методами доказано, что указанное соединение способно к одноэлектронному восстановлению. С тиолами (например, глутатионом) реакция протекает по схеме, включающей ряд стадий:

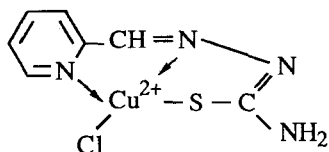


Отмечено, что скорость окисления тиолов коррелирует с цитотоксической активностью комплексов. Считается, что H_2KTS поступает в клетку только в результате реакции комплексообразования с $\text{Cu}(\text{II})$. Если реакция не идет, то лиганд локализуется в липофильной области мембраны. При восстановлении комплекса в клетке и образовании $\text{Cu}^{(\text{I})}\text{SR}$ медь, вероятно, распределяется между клеточными тиолами и поступает вовнутрь клетки, а лиганд H_2KTS выходит из клетки. В результате ингиби-

руется синтез ДНК и митохондриальное окислительное фосфорилирование, что и составляет в конечном итоге цитотоксическое действие комплексного соединения.

Разобранный пример описывает механизм действия координационно насыщенного комплекса на клеточную мембрану, причем комплексобразование протекает на поверхности мембраны с участием иона металла, находящегося в тканях опухолевой клетки. Только за счет этого процесса происходит транспорт физиологически активного комплексного соединения через биологическую мембрану.

Случай координационно ненасыщенного комплекса реализуется при взаимодействии 2-формилпиридинтиосемикарбазона ($\text{H}\alpha$) с $\text{Cu}(\text{II})$. Комплекс $[\text{Cu}\alpha\text{Cl}]^0$, где α -тридентатный лиганд



в отличие от CuKTS легко вступает в реакции аддуктообразования, например, с этилендиамином. Устойчивость такого комплекса $[\text{Cu}\alpha\text{enCl}]$ — $\lg\beta = 5,53$. Комплекс $[\text{Cu}\alpha\text{Cl}]$ восстанавливается при взаимодействии с тиолами внутри клетки, но не разлагается в отличие от CuKTS , а дает аддукт.

Особый интерес представляет действие на биологические мембраны комплексов платины и металлов платиновой группы, которые обладают значительной противоопухолевой активностью.

В 1969 г. обнаружено, что некоторые комплексы платины обладают антиканцерогенным действием. Для этих комплексов исследовано влияние заряда, геометрического строения, устойчивости и т.д. на противоопухолевую активность.

Отмечено, что отсутствие противоопухолевой активности у заряженных комплексов платины связано с неспособностью их проникать через клеточные мембраны. В работе [8] исследовано взаимодействие *цис*-дихлородиаминплатины(II) с фосфатным переносчиком в митохондриях. Предположено, что полностью или частично гидролизованный комплекс взаимодействует в митохондриях с переносчиком фосфата и модифицирует в нем SH-группу. Такое взаимодействие, по мнению авторов, может частично объяснить противоопухолевую активность комплексного соединения.

Интересные данные получены Стеценко с соавт. [9] по изучению электропроводности раствора NaCl ($c = 1 \cdot 10^{-2} - 0,15 \text{ M}$) при действии изомеров $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ ($c = 3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$). Причина влияния *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ на электропроводность раствора заключается в ассоциативном взаимодействии ион-дипольного типа ионов Cl^- с полярными молекулами (*цис*-изомера). Наличие прямой связи между противоопухолевой активностью и способностью *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ понижать электропроводность электролита позволяет предположить, что ассоциация биологически активного *цис*-изомера способствует сохранности его во внеклеточной жидкости, где концентрация ионов хлора высока, и доставке его в неизменном виде через клеточную мембрану до места реакции с ДНК опухолевой клетки [9].

Исходя из представлений о размере молекулы комплекса (расстояние между атомами хлора составляет 340 пм) и радиуса пор клеточной мембраны (400 пм), через которые растворенные вещества проходят в любом направлении по градиенту концентрации, в [7] сделано предположение, что *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ будет проникать в клетку в результате пассивной диффузии. Такой механизм подтверждается экспериментами, позволяющими различать пассивную диффузию от активного транспорта. Определялась скорость накопления *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ в клетках асцидной опухоли Эрлиха, а данные анализировались на основе кинетического уравнения Михаэлиса-Ментена. В пользу предположения о прохождении *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ через мембраны

путем диффузии свидетельствует и то, что на скорость накопления препарата в клетках не влияют вещества, способствующие мембранной проницаемости [7].

Биологическая активность соединений во многом определяется также их способностью изменять функциональную активность мембранных структур. Комплексы ингибируют действие ферментов мембран, взаимодействуя с поверхностными или глубоколежащими SH-группами АТФазы. Так, у анионных комплексов Pt^{2+} и Pd^{2+} состава $K_2[MX_4]$, где $X = NO_2^-, Cl^-, Br^-, I^-, SCN^-$, с увеличением способности лигандов к перераспределению электронной плотности от иона комплексообразователя в указанном ряду X ингибирующие свойства меняются по-разному. Для палладия(II) ингибирующее действие комплексов растет, а для платины(II) — уменьшается. Это указывает на различные механизмы действия комплексных соединений. Соединения Pt^{2+} при контакте с ферментом восстанавливаются до Pt^0 , образуя «цепки». Соединения же Pd^{2+} действуют как акцепторы электронов, образуя комплексы с электронодонорными группами фермента [10].

Отмечается, что в ряду соединений $Q_2[PdBr_4]$, где $Q = K^+, (CH_3)_3NH^+, (C_2H_5)_4N^+$, с увеличением размера и гидрофобности катиона ингибирующее действие мембранной АТФазы уменьшается. Большие размеры катионов и ионных ассоциатов, вероятно, затрудняют подход комплексов к активному центру фермента, вследствие чего $[(C_2H_5)_4N]_2[PdBr_4]$ не обладает ингибирующим действием. Эта же закономерность наблюдается у комплексов меди(II) — $[(CH_3)_3NH]_2[CuCl_4]$ и других соединений.

Интенсификация работ по изучению веществ, механизм биологического действия которых связан с их взаимодействием с биологическими мембранами, способствовали исследования Мюллера и соавт. [11]. Им удалось разработать метод формирования бислойных липидных мембран, являющихся адекватной моделью липидного матрикса мембран любых живых организмов.

С использованием данной модели проведен ряд работ по изучению действия различных реагентов на БЛМ [11]. Однако исследованию координационных соединений были посвящены единичные статьи.

Так, в работе [12] показано, что в присутствии ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} и тетрахлортрифторметилбензимидазола (ТТФБ) бислойные липидные мембраны из липидов мозга имеют N-образную вольт-амперную характеристику (ВАХ). Уменьшение проводимости БЛМ при увеличении напряжения авторы объясняют образованием координационных соединений типа $[M(ТТФБ)_n]^{2+}$. Как предполагается в [13], переносчиком через мембрану в данном случае служит комплекс катионов металлов с ТТФБ, а причиной появления падающего участка на ВАХ является распад комплекса под влиянием разности потенциалов между липидной фазой мембраны и водным раствором.

Известны также немногочисленные работы по изучению транспорта катионов металлов через липидные бислои липосом, протекающего с участием органических лигандов. Например, свободные жирные кислоты повышают проницаемость липосом для Yb^{3+} , Tb^{3+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Co^{2+} [14].

В работе [15] показано, что гипогликемические сульфонилмочевины (глибенкламид и гликлазид) увеличивают проницаемость озвученных везикул из дипальмитоилфосфатидилхолина для Rb^{3+} и Ca^{2+} .

В связи с недостатком опубликованного фактического материала и отсутствием систематических исследований в области мембранной активности координационных соединений металлов, являющейся одной из важнейших предпосылок к созданию теории направленного синтеза биологически активных веществ, нами было предпринято изучение молекулярных механизмов взаимодействия координационных соединений металлов и плоских БЛМ, чему посвящены работы [16–30]. В каждом конкретном случае основным вопросом, который требовалось решить, был вопрос о составе мембраноактивной формы комплексного соединения.

Для изучения природы адсорбирующихся и проникающих частиц были использованы методы генерации трансмембранной разности электрических потенциалов (РЭП) при асимметричном добавлении агентов к БЛМ [31], метод ВАХ БЛМ, находящихся также в асимметричных условиях в отношении концентрации агентов, а также метод измерения внутримембранной РЭП, основанный на компенсации 2-й гармоники переменного тока [32].

В ряде случаев центральный ион в составе комплексного соединения может быть координационно ненасыщенным по лиганду. При этом можно предположить возможность образования мембранно-транспортной формы состава: центральный ион — органический лиганд — анион электролита. С учетом этого механизмы действия координационно насыщенных и ненасыщенных соединений на БЛМ должны существенно различаться. Нами была проведена экспериментальная проверка этих предположений в хлоридных растворах и изучены механизмы переноса анионов хлора координационно ненасыщенными металлосодержащими соединениями.

Следует подчеркнуть, что вещества — переносчики анионов хлора через мембрану, несомненно, должны обладать значительной биологической активностью. Об этом свидетельствуют данные, указывающие на важность поддержания хлорного гомеостаза для нормального функционирования живой клетки. Например, мембранные потенциалы митохондрий и клеток печени имеют хлорную природу.

III. МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ КООРДИНАЦИОННО НЕНАСЫЩЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

В качестве объектов исследования действия координационно ненасыщенных соединений изучены комплексы, обладающие различными биологическими свойствами.

Так, комплексное соединение меди(II) с ϵ -капролактамом (КЛ)-препарат фитон (картоцид) — обладает высокой фунгицидной активностью против возбудителя ложной мучнистой росы [33].

Фитон Л (лабораторный) получен при кипячении в абсолютном спирте хлорида меди (II) и КЛ в молярном отношении 1:3 в течение 1 ч. По данным рентгеноструктурного анализа монокристалл фитона Л имеет ионную структуру [34]. Молекула состоит из катионов $[\text{Cu}(\text{КЛ})_6]^{2+}$, имеющих кристаллографическую симметрию с катионом Cu^{2+} в центре симметрии, и анионов $[\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_3]_2^-$. Таким образом, формула фитона Л

$[\text{Cu}(\text{КЛ})_6][\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_3]_2$. ϵ -Капролактамы являются моодентатными лигандами и координируются с Cu^{2+} через атом кислорода.

Фитон Т (технический) представляет собой дихлороакватрикапролактаммедь(II) формулы $\text{Cu}(\text{КЛ})_3\text{Cl}_2\text{H}_2\text{O}$. Синтез фитона Т осуществляется путем сплавления исходных компонентов.

На рис. 1 представлены типичные кривые генерации трансмембранной РЭП при введении CuCl_2 и фитона с одной стороны БЛМ. Введение КЛ не генерировало РЭП, что указывает на его неионную природу. Природа трансмембранной РЭП, генерируемой на БЛМ при одностороннем введении мембранных агентов, подробно изучена на примере ионогенных детергентов [31, 35]. Показано, что ход кривой роста — спада потенциала существенно зависит от величины и знака заряда адсорбирующейся частицы, поверхности БЛМ и определяется двумя процессами — адсорбцией на БЛМ ионов мембраноактивных веществ, а также трансмембранным переносом этих ионов и ионов, содержащихся в растворе электролита. Стационарный потенциал является диффузионным и возникает как следствие трансмембранного градиента адсорбирующихся ионов. Скорость генерации потенциала определяется скоростью адсорбции Cu^{2+} на поверхности БЛМ, а скорость диссипации заряда — скоростью трансмембранного переноса (т.е. величиной сопротивления мембраны). Наличие максимума на кривой роста—спада потенциала свидетельствует о том, что перенос ионов через мембрану происходит медленнее, чем их адсорбция. Существование избыточного отрицатель-

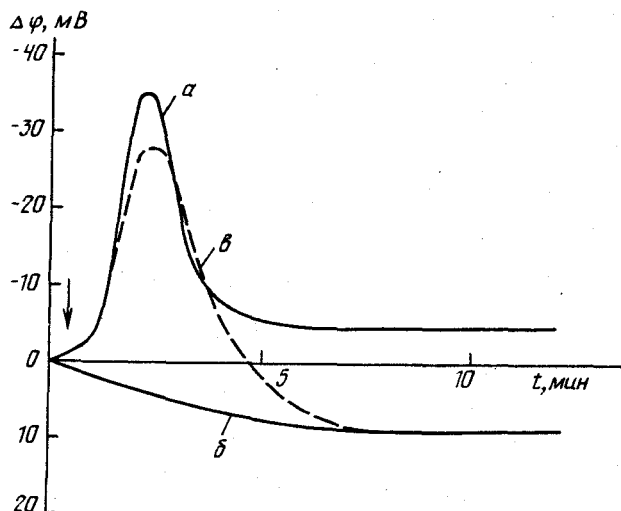


Рис. 1. Типичные кривые генерации трансмембранной разности электрических потенциалов при введении агентов с одной стороны БЛМ из липидов мозга; стрелкой указан момент введения агентов: а — CuCl_2 ; б, в — фитон; электролит — 0,01 М KCl

ного заряда у БЛМ из липидов мозга крупного рогатого скота [36], по-видимому, определяет специфическую адсорбцию ионов на мембранной поверхности.

При асимметричном добавлении диметилформамидных растворов фитонов Л и Т в омывающий БЛМ электролит положительный потенциал возникал в отделении с фитоном (рис. 1, б). Положительный знак стационарной РЭП указывал на преимущественное прохождение через БЛМ отрицательно заряженной (анионной формы фитона). Такой частицей, вероятно, могла быть $[\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_3]^-$. Иногда в отделении с фитоном регистрировали отрицательный потенциал, который затем инвертировал в течение 5–10 мин (рис. 1, в). В этом случае кривая изменения мембранного потенциала имела максимум, что связано, по-видимому, с адсорбцией координационно насыщенных комплексных катионов $[\text{Cu}(\text{КЛ})_6]^{2+}$.

На анионную природу мембранотранспортной формы фитона указывает и несимметричный вид ВАХ, снятых в присутствии фитона (рис. 2). Видно, что в отсутствие модификатора ВАХ БЛМ имеют линейный вид в интервале напряжения ± 150 мВ. В присутствии фитона с одной стороны БЛМ приобретали выпрямляющие свойства. Ток при отрицательной поляризации отделения с фитоном был больше, чем при положительной, что указывало на появление у БЛМ преимущественно анионной проницаемости.

Добавление фитона сказывалось и на величине электропроводности БЛМ. Немодифицированные БЛМ имели низкую электропроводность порядка 10^{-9} – 10^{-8} См/см². Введение CuCl_2 слегка уменьшало электропроводность, а добавление КЛ не влияло на проводимость БЛМ. Под действием диметилформамидных растворов фитонов Л и Т электропроводность БЛМ увеличивалась примерно в 100 раз (рис. 3). Следует отметить нелинейный характер зависимости электропроводности БЛМ от концентрации агентов. При концентрации фитона, близкой к 10^{-2} М, структура БЛМ нарушалась и она становилась нестабильной.

Растворимость в липидах проникающему аниону может придавать наличие в его составе молекулы ϵ -капролактама, обладающей определенной липофильностью. Логарифм коэффициента распределения КЛ в системе октанол—вода, который обычно принимают за меру липофильности, $\lg K_{o/w}$, равен 1,03 [37].

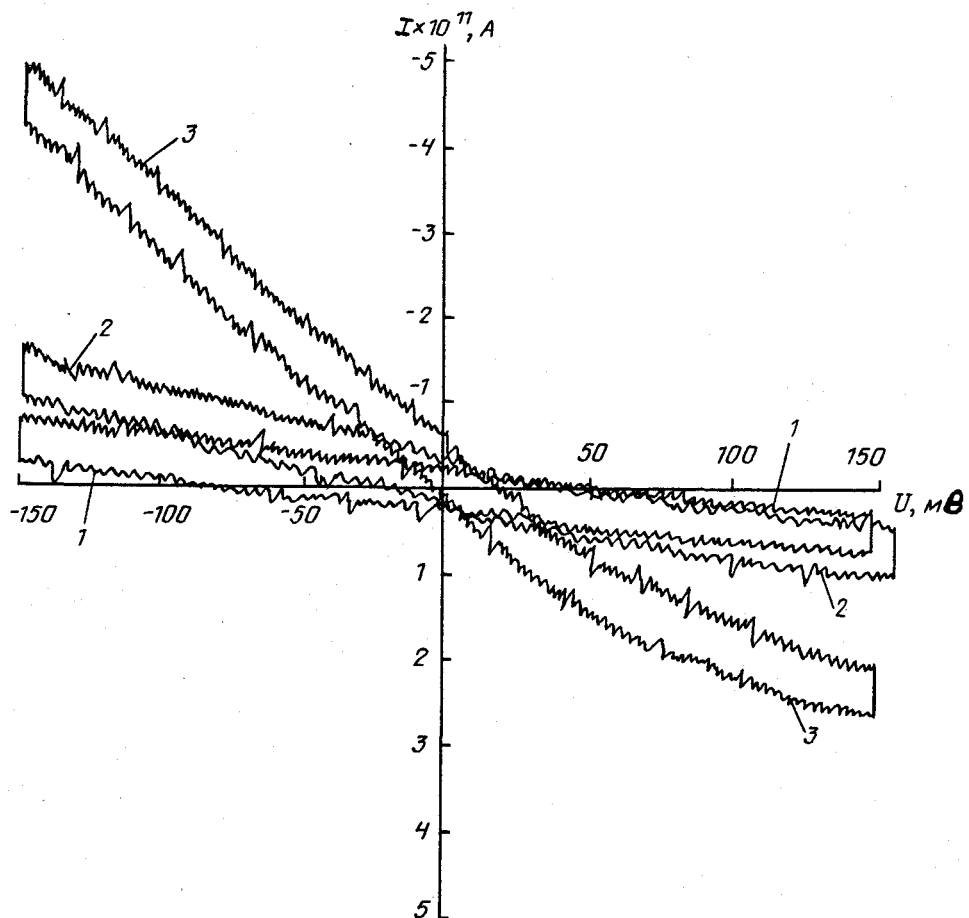


Рис. 2. Вольт-амперные циклические характеристики БЛМ из липидов мозга в присутствии различных концентраций фитона с одной стороны: 1 — фитон отсутствует; 2 — $1,7 \cdot 10^{-4}$; 3 — $5,4 \cdot 10^{-4}$ моль/л; скорость развертки потенциала 1 мВ/с; электролит — 0,01 М КСl

Совокупность полученных данных позволила предположить, что координационно ненасыщенное соединение CuCl_2 с КЛ должно обладать способностью к присоединению и трансмембранному переносу анионов хлора, тогда как координационно насыщенный комплекс из этих веществ не будет обладать этим свойством.

Изменяя условия синтеза, выделяли координационно ненасыщенное соединение состава $[\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]$ (желтый цвет, пластинчатая форма кристаллов) из водного или водно-этанольного раствора при соотношении $\text{CuCl}_2:\text{КЛ} = 1:3$. Координационно насыщенное соединение $[\text{Cu}(\text{КЛ})_6\text{Cl}_2](\text{КЛ})_2$ (зеленый цвет, игольчатая форма) получено из бензольного раствора при добавлении к CuCl_2 избытка (более 3М на 1М CuCl_2) КЛ [21]. Исследование мембранной активности этих соединений показало, что действительно $[\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})]$ обладает мембранной активностью, подобной активности фитона Т, т.е. формирует анионную мембранотранспортную форму, по-видимому, состава $[\text{Cu}(\text{КЛ})\text{Cl}_3]^-$. В то же время действие $[\text{Cu}(\text{КЛ})_6\text{Cl}_2](\text{КЛ})$ сводилось к адсорбции катионного комплекса на поверхности БЛМ и качественно не отличалось от действия простой соли Cu^{2+} .

Другим важным биологически активным соединением является комплекс цинка с этилентеиомочевинной.

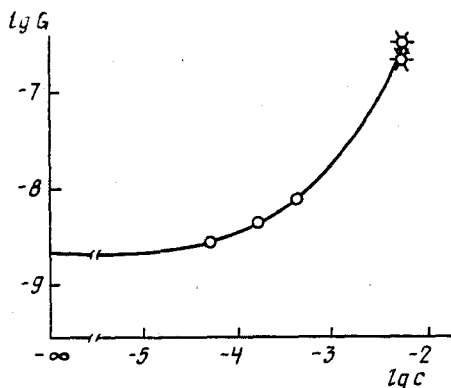


Рис. 3. Зависимость проводимости (G , см/см^2) БЛМ от концентрации фитона (c , моль/л) с одной стороны (точки, отмеченные звездочками — проводимость БЛМ, измеренная через 20 мин после введения агента)

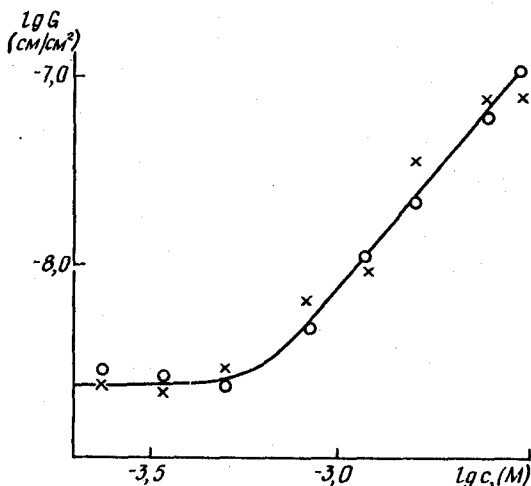


Рис. 4. Зависимость электропроводности БЛМ от концентрации комплекса (кружочки) и ZnCl_2 в присутствии $2,4 \cdot 10^{-3}$ М ЭТМ (крестики)

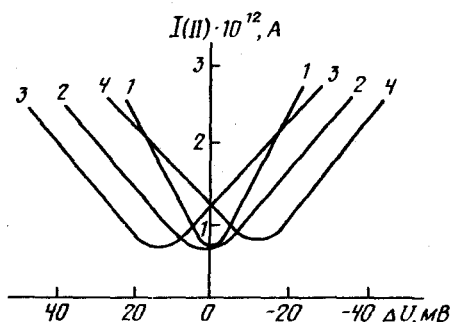
Этилентиомочевина (ЭТМ) является основным продуктом метаболизма металл-содержащих соединений цинбеа и манеба [38], обладающих значительной фунгицидной активностью [39]. Предполагается, что, попадая внутрь клетки, цинбеа и манеба подвергаются кислотному гидролизу с образованием ЭТМ, которая и оказывает токсическое действие [40]. Отсутствие фунгицидной активности самой ЭТМ объясняется ее плохой способностью проникать через клеточные стенки. При этом цинбеа и манеба рассматриваются как своеобразные депо ЭТМ. В то же время совершенно не учитывается роль катионов металлов при транспорте через клеточную мембрану в составе комплекса ZnCl_2 с ЭТМ.

Этилентиомочевина вплоть до концентрации 2 мМ не изменяет проводимость и емкость БЛМ. Методом пробных гидрофобных ионов [41] показано, что молекулы ЭТМ встраиваются на границе раствор/БЛМ [25]. При этом диполи ЭТМ ориентируются параллельно диполям фосфолипидных молекул, что приводит к увеличению дипольного скачка потенциала БЛМ.

Исследование комплексообразования ZnCl_2 с ЭТМ в водных растворах спектрофотометрическим и кондуктометрическим методами показало [26], что при концентрации ЭТМ ниже 10^{-4} М комплекс не образуется даже при 60-кратном избытке ионов цинка. При концентрациях 10^{-3} М ZnCl_2 и 10^{-4} М ЭТМ происходит образование тетраэдрического комплекса $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})\text{Cl}_2]$, в котором ЭТМ является бидентатным лигандом. При более высоких концентрациях ЭТМ происходит присоединение к иону цинбеа второй молекулы ЭТМ с образованием тетраэдрического комплекса $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})_2\text{Cl}_2]$. При этом ЭТМ выступает в роли монодентатного лиганда.

При изучении действия комплекса на БЛМ установлено [27], что он вызывает значительный рост мембранной проводимости (рис. 4). Причем это происходит при концентрации комплекса, близкой к 10^{-3} М, что в сочетании с данными по изучению комплексообразования с ЭТМ в водных растворах указывает на то, что при концентрации, меньшей 10^{-3} М, комплекс распадается в растворе на составные части и что увеличение электропроводности БЛМ вызывается воздействием именно комплексных частиц. При этом пороговый характер зависимости электропроводности БЛМ от концентрации комплекса позволил предположить принципиальную возможность

Рис. 5. Зависимость тока 2-й гармоники от приложенного напряжения в присутствии $1,7 \cdot 10^{-3}$ М ЭТМ с *цис*-стороны: 1 — БЛМ в отсутствие модификаторов; в присутствии модификаторов с одной стороны: 2 — $1,7 \cdot 10^{-3}$ М ЭТМ, 3 — $6,8 \cdot 10^{-4}$, 4 — $7,5 \cdot 10^{-3}$ М ZnCl_2 ; БЛМ из липидов мозга; электролит — 0,01 М KCl + 0,002 М ацетатный буфер



образования мембранно-активного комплекса из ZnCl_2 и ЭТМ непосредственно в растворе электролита. Результаты по влиянию ZnCl_2 на свойства БЛМ, сформированной в присутствии ЭТМ, представлены на рис. 4. Видно, что здесь так же, как и при действии комплекса, при достижении концентрации ZnCl_2 около 10^{-3} М происходит увеличение проводимости БЛМ. Это указывает на образование проникающих комплексных ионов непосредственно из более простых частиц либо в объеме электролита, либо на поверхности раздела мембрана/раствор.

Для определения знака заряда проникающих частиц были изучены ВАХ БЛМ в асимметричных условиях. При этом БЛМ формировали в присутствии ЭТМ с обеих сторон мембраны, а ZnCl_2 добавляли с одной стороны. При этом ВАХ имели несимметричный вид, ток был больше при отрицательном потенциале в отделении с ZnCl_2 . Это свидетельствовало о том, что проникающими частицами являются анионы.

Измерение внутримембранной РЭП с помощью 2-й гармоники переменного тока позволило определить знак заряда адсорбирующихся частиц. Из рис. 5 видно, что положение минимума тока $I(II)$ под действием ЭТМ не изменяется. Это свидетельствует о том, что сама по себе ЭТМ не изменяет величину внутримембранной РЭП и подтверждает ее неионную природу. При введении ZnCl_2 в то же отделение ячейки, куда ранее была добавлена ЭТМ, в концентрации $6,8 \cdot 10^{-4}$ М, генерируется разность граничных потенциалов, равная +14 мВ. Это указывает на изменение поверхностного заряда *цис*-стороны БЛМ в положительную сторону за счет адсорбции катионов Zn^{2+} . При последующем увеличении концентрации ZnCl_2 до 7,5 мМ знак внутримембранной РЭП инвертируется, что свидетельствует об изменении знака заряда и соответственно природы адсорбирующейся на мембранной поверхности частицы.

Образование анионного транспортного комплекса в этом случае происходит, по-видимому, в результате присоединения анионов хлора к координационно ненасыщенному комплексу $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})\text{Cl}_2]$ с образованием аниона $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})\text{Cl}_3]^-$. Наиболее характерное координационное число для катионов Zn^{2+} равно 4. Координационная ненасыщенность $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})\text{Cl}_2]$ связана с возможностью изменения дентатности лиганда. Таким образом, можно предположить, что проникающей заряженной частицей является анион $[\text{Zn}(\text{ЭТМ})\text{Cl}_3]^-$. Наличие в составе комплекса ЭТМ придаст ему некоторую липофильность (для ЭТМ $\lg K_{\text{ов}} = -0,35$ [37]), а анионы хлора сообщают ему более благоприятный для переноса через БЛМ отрицательный заряд. Хорошо известно, что липофильные анионы обладают гораздо более высокой, чем катионы, проникающей способностью в связи с тем, что гидрофобная зона БЛМ находится под влиянием положительного электрического потенциала [42]. Большой интерес в ряду новых биологически активных веществ вызывают координационные соединения кобальта(II) с *о*-фенантролином (фен) [43, 44]. Обнаружена их значительная каталитическая активность в реакциях окисления биологических субстратов, влияние на дыхательную электротранспортную цепь митохондрий, фотосинтетический аппарат хлоропластов. Для ряда комплексов найдена рострегулирующая и бактерицидная активность. Однако мембранная активность этих соединений не была изучена. В то

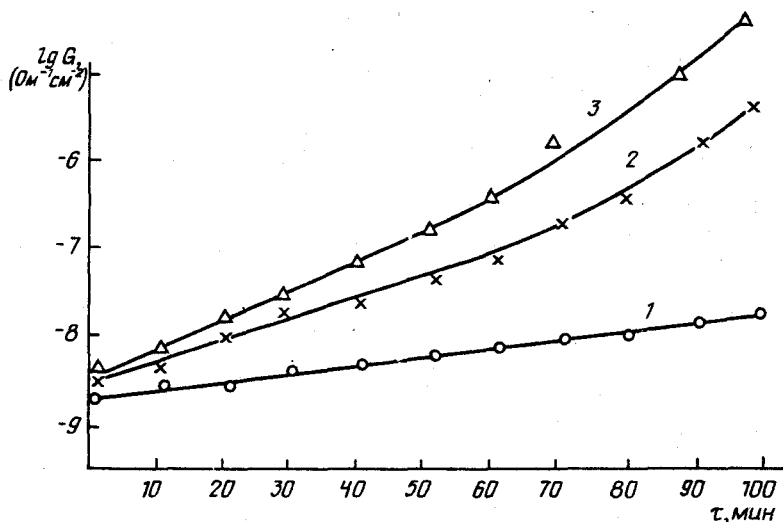


Рис. 6. Кинетика изменения проводимости БЛМ при введении $2 \cdot 10^{-4}$ М агентов с одной стороны мембраны; 1 — *o*-фенантролин, 2 — $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$, 3 — $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2]\text{HCl}_2 \cdot \text{HCl}$; электролит — 0,01 М КСl + 0,002 М ацетатный буфер

же время *o*-фенантролин обладает заметной липофильностью ($\lg K_{\text{o/w}} = 1,83$ [37]). Это позволяет предположить определенную возможность трансмембранного переноса ионов кобальта в составе координационных соединений с *o*-фенантролином.

Нами исследовано влияние *o*-фенантролина и его координационно ненасыщенных соединений $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ и $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ на БЛМ из липидов мозга быка [23, 29]. Показано, что в присутствии простой соли CoCl_2 в концентрации 10^{-3} М электропроводность БЛМ снижается примерно на 20%. В то же время действие на БЛМ *o*-фенантролина или координационных соединений $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ и $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ приводило к росту электропроводности БЛМ, кинетика изменения которой представлена на рис. 6. Эффект *o*-фенантролина, по-видимому, является следствием его липофильности. Для установления места локализации *o*-фенантролина в структуре БЛМ был использован метод пробных гидрофобных ионов, который показал, что, в отличие от ЭТМ, молекулы *o*-фенантролина не имеют определенного места локализации по отношению к нормали к плоскости БЛМ. Это связано, вероятно, с большей липофильностью молекул *o*-фенантролина по сравнению с ЭТМ. Носителем электричества через БЛМ, по-видимому, является протонированная форма *o*-фенантролина, образующаяся в слабокислой среде (рН 4,5) окружающего мембрану электролита. При этом *o*-фенантролин выступает в роли протонофора.

Увеличение электропроводности БЛМ в присутствии $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ и $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ вызывается, по-видимому, прохождением через БЛМ липидорастворимых мембрано-транспортных форм, представляющих координационные соединения.

Для установления знака заряда проникающих частиц были изучены ВАХ БЛМ в асимметричных условиях. Из рис. 7 видно, что ВАХ имеют несимметричный вид, причем для $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ ток больше при отрицательном потенциале в том отделении ячейки, куда добавлен реагент (*цис*-отделение), а для $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ — при положительном потенциале в этом отделении ячейки. Это свидетельствует о том, что в первом случае проникающими частицами являются анионы, а во втором — катионы.

Как указывалось выше, исследованные комплексы являются координационно

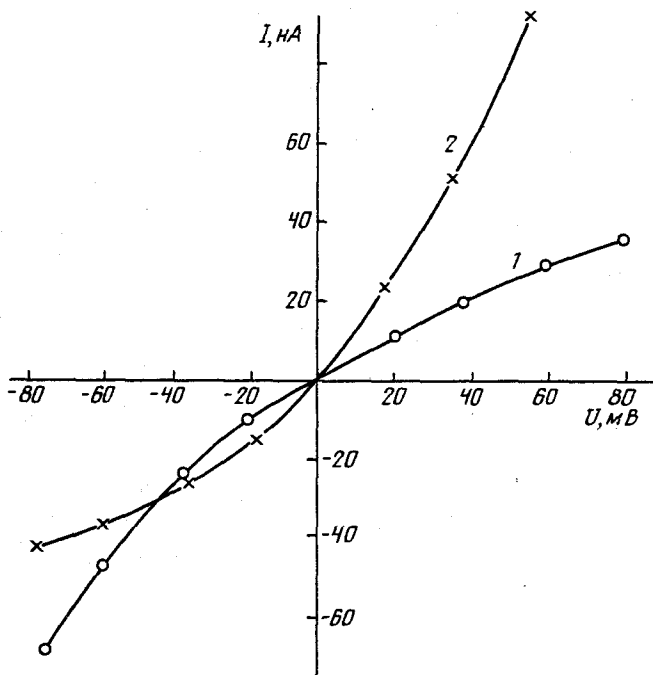


Рис. 7. Вольт-амперные характеристики БЛМ в присутствии $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ (1) и $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ (2) с одной стороны; знак потенциала показан относительно отделения ячейки, в которое добавлен агент; электролит — 0,01 М КСl + 0,002 М ацетатный буфер

ненасыщенными. Максимальное координационное число для $\text{Co}(\text{II})$ равно 6, а у данных комплексов оно равно 4, так как *o*-фенантролин является бидентатным лигандом. Поэтому возможно дополнительное присоединение к центральному иону анионов хлора, большое количество которых имеется в электролите. При этом, однако, необходимо учитывать то, что проникающая способность ионов через БЛМ сильно уменьшается с увеличением их заряда, т.е. более предпочтителен перенос однозарядного иона по сравнению с двухзарядным. Вероятно, в случае $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ проникающими заряженными частицами являются анионы $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_3]^-$, а в случае $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ — катионы $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}]^+$. В последнем случае координация одного аниона хлора приводит к уменьшению положительного заряда переносимого иона. По-видимому, такие формы комплексных ионов будут иметь повышенную устойчивость в мембранной фазе, т.е. в среде с низкой диэлектрической проницаемостью, тогда как в объеме электролита они менее устойчивы и будут диссоциировать с отщеплением анионов хлора. Таким образом, под действием градиента электрического поля может происходить индуцированный перенос анионов хлора с одной стороны мембраны на другую. Большая электропроводность БЛМ в присутствии $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ по сравнению с $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ связана, по-видимому, с различием в знаках зарядов проникающих ионов [42].

На хлорную селективность БЛМ в присутствии данных комплексов указывают данные по измерению РЭП при создании трансмембранного градиента концентрации электролита. Так, например, в присутствии $2 \cdot 10^{-4}$ М $[\text{Co}(\text{фен})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$ при отношении концентраций электролита КСl с обеих сторон мембраны, равном 10, развивается анионный потенциал 53 мВ, что соответствует числу переноса для анионов Cl^- , равному 0,91.

С помощью координационно насыщенного комплекса $[\text{Co}(\text{фен})_2\text{Cl}_2] \cdot 3,5(\text{H}_2\text{O})$ и

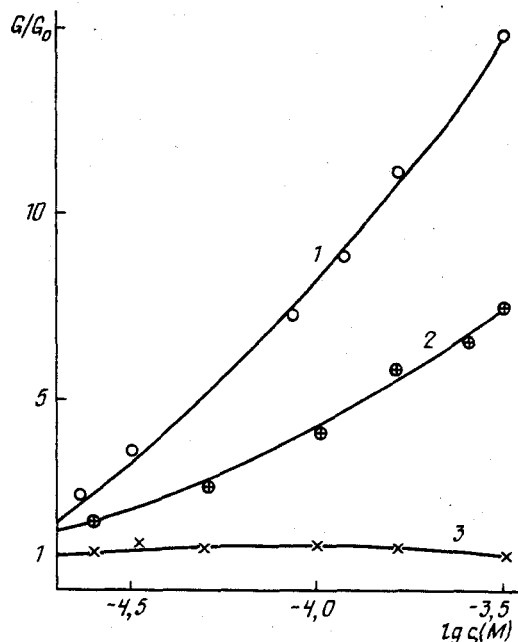


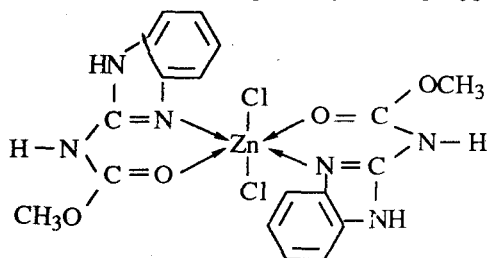
Рис. 8. Влияние комплексов Co(II) с *o*-фенантролином и его диметилированным производным на относительную электропроводность БЛМ из липидов мозга; 1 — $[\text{Co}(\text{димфен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$, 2 — $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$, 3 — $[\text{Co}(\text{фен})_2\text{Cl}_2] \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$; электролит — 0,01 М KCl + 0,002 М ацетатный буфер

координационно ненасыщенного — $[\text{Co}(\text{димфен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$, где димфен — 2,9-диметилфенантролин, было изучено влияние координационной насыщенности иона Co^{2+} и липофильности лигандов на мембранную активность комплексных соединений (рис. 8). Липофильность 2,9-диметилфенантролина выше для 2,9-диметилфенантролина $\lg K_{\text{ов}} = 2,49$ [37]), чем у *o*-фенантролина. Обращает на себя внимание тот факт, что в присутствии координационно насыщенного комплекса $[\text{Co}(\text{фен})_2\text{Cl}_2] \cdot 3,5(\text{H}_2\text{O})$ электропроводность БЛМ не увеличивается. Также видно, что эффективность более липофильного комплекса Co(II) с диметилпроизводным *o*-фенантролина выше, чем у $[\text{Co}(\text{фен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$. В присутствии $[\text{Co}(\text{димфен})\text{Cl}_2] \cdot \text{HCl}$ с одной стороны мембраны ВАХ БЛМ имеют несимметричный вид (мембранный ток при отрицательном потенциале в *цис*-отделении ячейки больше, чем при положительном).

Изучение ионной селективности БЛМ в присутствии данных комплексов методом измерения диффузионного потенциала при создании трансмембранного градиента анионов хлора показало хлорную селективность БЛМ в случае координационно ненасыщенных комплексов (числа переноса Cl^- составляли 0,91–0,93) и отсутствие ионной селективности в случае координационно насыщенного комплекса. Полученные данные позволяют сделать два вывода: во-первых, координационно насыщенные комплексы не обладают способностью переносить анионы хлора через БЛМ и, во-вторых, повышение липофильности координационно ненасыщенных комплексов улучшает их мембранотранспортные свойства в отношении анионов хлора.

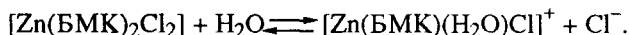
IV. МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ НА ИОННУЮ ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН КООРДИНАЦИОННО НАСЫЩЕННЫХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ

Координационно насыщенный комплекс $ZnCl_2$ с N-метил-(2-бензимидазолил)карбаматом (БМК) обладает фунгицидной активностью [45]. Его строение и свойства описаны в работе [46]. Комплекс $[Zn(БМК)_2Cl_2]$, где БМК является бидентатным лигандом, имеет октаэдрическую конфигурацию:



Для установления знака заряда мембраноактивных частиц была изучена генерация трансмембранной РЭП при введении $[Zn(БМК)_2Cl_2]$ и $ZnCl_2$ с одной стороны БЛМ (рис. 9). При введении обоих агентов РЭП имела знак «минус» в *цис*-отделении. Вид кривой в случае введения $ZnCl_2$ указывал на облегченную адсорбцию катионов на отрицательно заряженной поверхности БЛМ из липидов мозга быка. Отсутствие максимума при введении $[Zn(БМК)_2Cl_2]$ указывало на замедленность стадии адсорбции ионов, образующихся при диссоциации этого комплекса, по сравнению со стадией их транспорта. Знак генерируемой разности потенциалов указывает, что проникающими ионами являются катионы.

Дополнительным свидетельством того, что проникающими частицами в случае действия $[Zn(БМК)_2Cl_2]$ являются катионы, служили ВАХ БЛМ, снятые при одностороннем введении агента. Они имели выпрямляющий вид — ток при положительной поляризации в *цис*-отделении больше, чем при отрицательной. Катионный транспортный комплекс образуется, по-видимому, в результате реакции гидролиза, протекающего с отщеплением иона хлора:



Перенос катионов обеспечивается липофильностью молекул БМК ($\lg K_{o/w} = 0,35$ [37]), а также низким электрическим зарядом комплекса (1^+) и происходит, вероятно, по механизму прямого прохождения через БЛМ гидрофобных ионов. Свидетельством такого механизма трансмембранного переноса катионов $[Zn(БМК)_2(H_2O)Cl]^+$ является

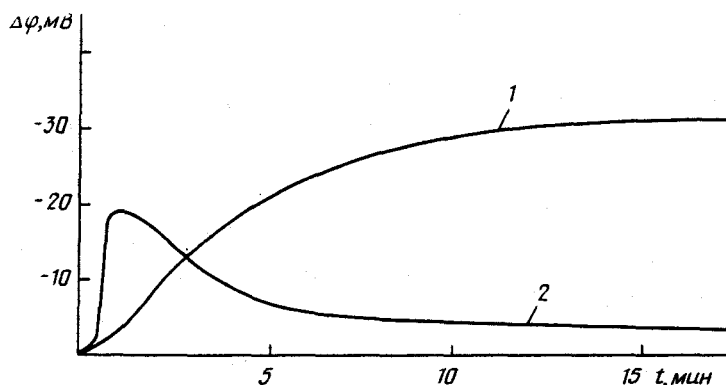


Рис. 9. Генерация трансмембранной РЭП при одностороннем введении $2,7 \cdot 10^{-6}$ М $[Zn(БМК)_2Cl_2]$ (1) и $2,5 \cdot 10^{-4}$ М $ZnCl_2$ (2)

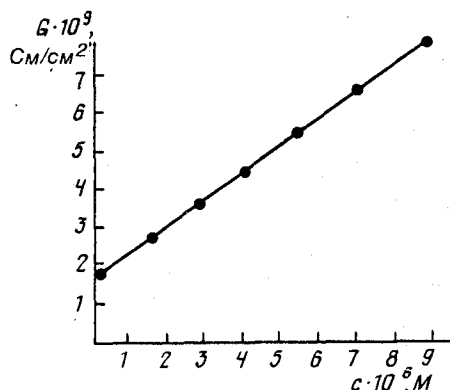
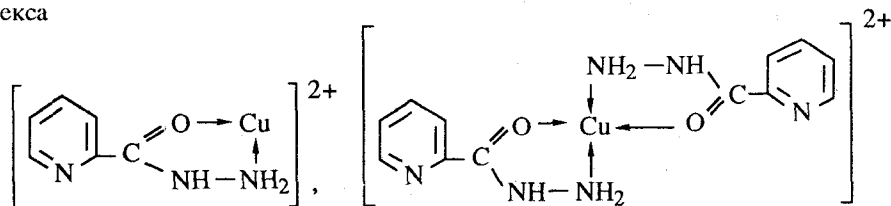


Рис. 10. Влияние концентрации $[Zn(БМК)_2Cl_2]$ на электропроводность БЛМ из липидов мозга быка; электролит — 0,01 М КСl + 0,002 М ацетатный буфер

линейная зависимость проводимости БЛМ от концентрации этих катионов (рис. 10). Такая линейная зависимость характерна для прямого прохождения гидрофобных ионов через БЛМ [41].

К координационно насыщенным соединениям относится комплекс хлорида галлия(III) с гидразидом изоникотиновой кислоты (ГИНК), имеющий формулу $[Ga(ГИНК)_3]Cl_3 \cdot H_2O$. Гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид) ингибирует рост туберкулезных бактерий. Известно, что основным побочным эффектом изониазидотерапии является повреждение печени. В то же время применение изониазида в комплексе с ионами меди позволяет значительно снизить негативное побочное действие препарата. Соединение меди(II) с ГИНК является активным противоопухолевым агентом. Биологическое действие оказывают протонированные формы комплекса



По мнению авторов [7], роль металла сводится к созданию липорастворимого соединения, повышающего транспорт физиологически активного лиганда через биологическую мембрану.

Использование изониазида в комплексе с трехзарядным катионом галлия, вероятно, может привести к новым эффектам в терапии этого препарата.

Нами изучена мембранная активность комплекса $GaCl_3$ с изониазидом в отношении БЛМ из липидов мозга быка [28]. Типичная кривая генерации РЭП при введении комплекса с одной стороны БЛМ представлена на рис. 11. Знак «минус» РЭП в цис-отделении ячейки свидетельствует об адсорбции на поверхности БЛМ положительно заряженных частиц комплекса. Видно, что остаточный (диффузионный) потенциал уменьшается практически до нуля, что говорит об отсутствии трансмембранного переноса какой-либо ионной формы агента. Наличие максимума на кривой свидетельствует о значительной адсорбционной способности комплекса, которая связана с присутствием в его составе комплексного катиона с зарядом $3+$.

Наличие липофильного органического лиганда для изониазида ($\lg K_{ov} = -0,5$ [37]) приводит к повышенной адсорбционной способности комплекса по сравнению с простой солью галлия $Ga(NO_3)_3$ (рис. 12). С учетом равенства зарядов адсорбирующихся частиц ($3+$) большая величина $\Delta\phi$ соответствует более значительному количеству связанных с поверхностью БЛМ катионов.

Исследования ионной селективности БЛМ в присутствии комплекса $GaCl_3$ с

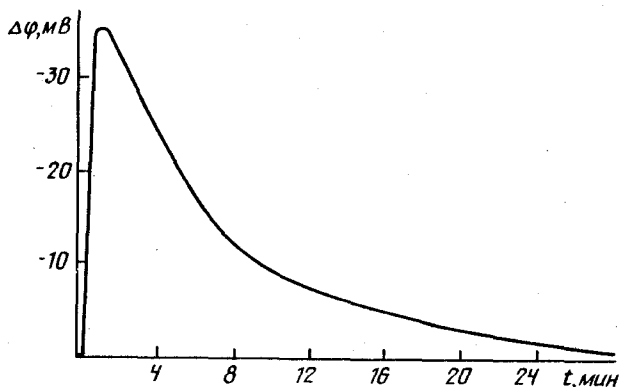


Рис. 11. Генерация трансмембранной разности потенциалов при одностороннем введении $1,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л $[\text{Ga}(\text{ГИНК})_3]\text{Cl}_3$; за нуль принято время введения агента; электролит — 0,01 М KCl + 0,002 М ацетатный буфер

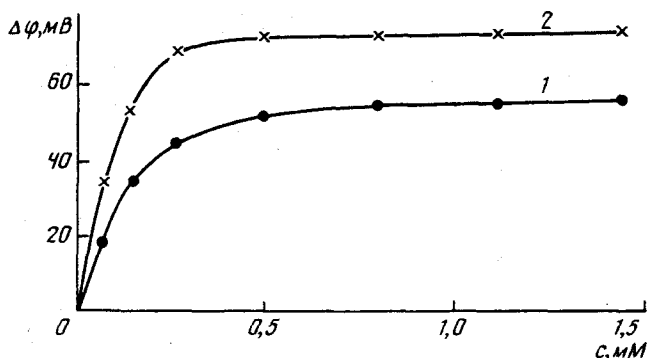


Рис. 12. Зависимость разности граничных потенциалов БЛМ из липидов мозга от концентрации $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ (1) и $[\text{Ga}(\text{ГИНК})_3]\text{Cl}_3$ (2); электролит — 0,01 М KCl + 0,002 М ацетатный буфер

изониазидом показали отсутствие у него способности присоединять и переносить анионы хлора через БЛМ. В то же время в результате сопоставления концентрационных зависимостей относительных электропроводности и емкости БЛМ, сформированных из *n*-октановых и *n*-тетрадекановых растворов липидов, показано, что при увеличении концентрации агента свойства БЛМ изменяются вследствие структурных перестроек в БЛМ (рис. 13). Необходимо отметить качественное отличие концентрационных зависимостей емкости мембран, сформированных из *n*-октановых и *n*-тетрадекановых растворов липидов, которое обусловлено различным содержанием углеводородного растворителя в составе БЛМ [22].

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных систематических исследований можно высказать следующие соображения относительно механизмов ионного транспорта через биологические мембраны с участием координационных соединений металлов.

Несомненным является то положение, что комплексная частица является более выгодной в качестве транспортной формы для переноса через клеточную мембрану как ионов тяжелых металлов, так и липофильных лигандов.

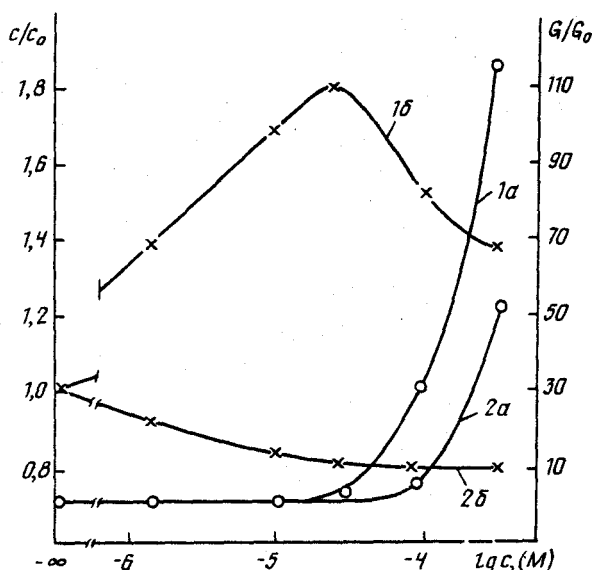


Рис. 13. Зависимость изменения относительной электропроводности (а) и относительной емкости (б) БЛМ в *n*-октане (1) и *n*-тетрадекане (2) от концентрации $[Ca(ГИНК)_3]Cl_3$, c_0 и G_0 — емкость и электропроводность немодифицированных мембран

Однако механизм действия их зависит от ряда факторов: координационной ненасыщенности, заряда и устойчивости комплекса, липофильности лигандов и др. При этом существенно отличается сам механизм взаимодействия комплексов с биологической мембраной, сопровождающийся часто изменением ее структуры.

Учет этих явлений — предпосылка для направленного синтеза физиологически активных веществ, обладающих самым широким спектром терапевтического действия.

Как показывают экспериментальные данные по действию различных комплексных соединений на бислойные липидные мембраны наиболее существенным фактором взаимодействия является координационная насыщенность комплексов и липофильность лигандов.

Известно, что действие гидрофильных солей тяжелых металлов связано с адсорбцией на поверхности биомембраны. В последнее время появляется все большее количество данных о том, что в процессе этого связывания сильно проявляются специфические химические свойства катионов металлов, а также строение и свойства адсорбционных центров. При этом следует подчеркнуть, что в случае БЛМ это взаимодействие не приводит к росту проводимости бислойных липидных мембран.

Однако увеличение липофильности реагента должно приводить к увеличению мембранной активности солей тяжелых металлов. Так, при координации ϵ -капролактама, обладающего липофильностью, комплекс $[Cu(КЛ)Cl_2(H_2O)]^0$ показывает заметное увеличение проводимости БЛМ.

Применение в качестве лиганда липофильного 8-оксихинолина ($\lg K_{o/b} = 1,13$) и образование соединения $[Cu(Ox)_2]^0$ повышает электропроводность БЛМ примерно на порядок. Еще больше возрастает мембранная активность комплекса меди(II) с трихлорфенолом (ТХФ) $[Cu(ТХФ)_2]^0$, где липофильность для каждой молекулы ТХФ составляет $\lg K_{o/b} = 3,7$.

Все указанные комплексы являются координационно ненасыщенными, но даже координационно насыщенное соединение $[Zn(БМК)_2Cl_2]^0$, в котором молекула БМК обладает определенной липофильностью $\lg K_{o/b} = 0,35$, представляет энергетически выгодную транспортную форму через биологическую мембрану.

В то же время комплексные соединения, в состав которых не входят липофильные молекулы, не проявляют мембранную активность. Так, в присутствии $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$ вплоть до концентрации 2 мМ практически не происходит изменения электропроводности и емкости БЛМ. Показатель липофильности для молекул аммиака мал и составляет $\lg K_{\text{о/в}} = -1,5$. Низкая мембранная активность $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{SO}_4$ по сравнению даже с CuSO_4 связана с устойчивостью комплексного иона, константа которого равна 10^{-12} .

Действие лигандов — молекул этилентииомочевнины, БМК, 8-оксихинолина, ϵ -капролактама, *о*-фенантролина и др. не изменяет проницаемость бислойных липидных мембран для ионов K^+ и Cl^- , что связано с их неионной природой и, вероятно, отсутствием у них выраженной поверхностной активности. В то же время полярные молекулы обладают способностью встраиваться в структуру БЛМ. При этом диполи таких молекул ориентируются определенным образом по отношению к диполям липидных молекул. Встраиваясь подобным образом в БЛМ, полярные молекулы изменяют дипольный скачок потенциала на границе БЛМ/водный раствор, что может сказаться на изменении проницаемости мембран для катионов металлов.

Существенным различием в механизмах действия координационно ненасыщенных и координационно насыщенных комплексных соединений является то, что, как было впервые обнаружено нами, координационно ненасыщенные комплексы становятся переносчиками анионов хлора и, вероятно, по диффузионному механизму других анионных субстратов.

Вещество, синтезируемое в качестве переносчиков анионов хлора через мембраны, должно обладать рядом свойств, позволяющих, во-первых, присоединять анионы хлора к иону-комплексобразователю за счет координационной связи и, во-вторых, переносить анионы хлора через внутреннюю гидрофобную зону БЛМ в составе липофильного транспортного комплекса. Это предъявляет определенные требования к центральным ионам и лигандам, которые определяются на основании расчетов энергии транспорта частиц через БЛМ. Подробно теоретические основы направленного синтеза биологически активных веществ, индуцирующих транспорт анионов хлора через БЛМ, изложены в работах [24, 30]. Приведем лишь главные из них.

Основным свойством молекул лигандов в указанном процессе является придание липофильности образующимся транспортным комплексам, что позволяет им проникать через внутреннюю гидрофобную зону БЛМ. В то же время как показано в [48], мембранная проницаемость для крайне гидрофильных и крайне гидрофобных молекул очень мала. Оптимальное значение коэффициента распределения $\lg K$ в системе органический растворитель/вода, который принимается в качестве меры гидрофобности молекул, лежит в пределах $-1 \leq \lg K \leq 1,5$.

Комплексная частица координационно ненасыщенного комплекса, с которой происходит соединение анионного субстрата, должна обладать положительным электрическим зарядом, а в отсутствие его — дипольным моментом. Из электростатических соображений наиболее предпочтителен заряд $1+$. В отсутствие электростатического притяжения анионов хлора к координационно ненасыщенному комплексу можно полагать с учетом неравноценности координации, что присоединение анионов хлора не происходит. Об этом свидетельствуют данные работы [9], где показано, что присоединение анионов хлора наблюдается для полярной *цис*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ и не наблюдается для неполярной *транс*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, если считать оба соединения координационно ненасыщенными.

Можно предположить, что описанный механизм занимает определенное место в системах транспорта биологических мембран. При этом создается комплексная транспортная форма состава: координирующий ион — липофильный лиганд — гидрофильный субстрат. Роль лигандов могут играть аминокислоты, полипептиды, пуриновые и пиримидиновые основания, которые являются составными частями белковых молекул [7]. Данные лиганды в силу своей липофильности и полярности могут встраиваться в липидный бислой и, кроме того, обладают способностью взаимодействовать с

катионами переходных металлов. При этом образуется координационно ненасыщенное по лиганду соединение, которое может присоединять и переносить анионы хлора. В реальной биологической системе на месте ионов хлора могут оказаться и другие гидрофильные субстраты (анионы дигидрофосфата, гидрокарбоната, карбоновых кислот и т.д.).

Примером таких систем в живых организмах могут, вероятно, служить гидролитические ферменты, в частности карбоангидраза и карбопептидаза, являющиеся координационно ненасыщенными соединениями цинка с гистидином или с гистидином и глутаминовой кислотой. Доказательство прямого связывания аниона хлора с цинком в карбоангидразе получено из уширения линий в спектрах ЯМР³⁵Cl [49]. Сходные результаты получены для других анионных субстратов и в случае карбопептидазы.

Другим механизмом при взаимодействии координационных соединений с клеточными мембранами является механизм, связанный с изменением структуры мембран.

Изменение структуры мембран, в частности БЛМ, связано с зарядом действующей комплексной частицы. Следует отметить, что анионные комплексы не взаимодействуют с БЛМ ввиду наличия отрицательного заряда на ее поверхности. При наличии сильнолипофильных лигандов они могут только встраиваться в липидный бислой.

Координационные соединения с зарядом 2+ и выше адсорбируются на поверхности БЛМ, причем тем сильнее, чем выше заряд адсорбируемой частицы при одинаковой липофильности лигандов, входящих во внутреннюю сферу комплекса.

Как показано нами в [22, 28] на примере взаимодействия с БЛМ комплекса галлия с ГИНК $[\text{Ga}(\text{ГИНК})_3]^{3+}$, свойства бислоев изменяются вследствие уплотнения их структуры за счет уменьшения сил электростатического отталкивания полярных головок липидных молекул при адсорбции на поверхности БЛМ комплексных катионов. Заключительный этап повышения электропроводности БЛМ при увеличении концентрации комплекса связан с фазовым переходом БЛМ из жидкокристаллического состояния в гелевое. На повышение проницаемости бислоев при подобных фазовых переходах указано в работе [50]. В результате этого увеличивается толщина БЛМ, не содержащих растворитель, что объясняется переходом молекул липидов из *gosh*- в полностью *транс*-конформацию. Увеличение проводимости БЛМ под действием катионного комплекса при фазовых переходах может быть вызвано локальным формированием мицеллярной и гексагональной фаз, обладающих высокой проницаемостью, а также появлением липидных доменов, на границах которых возможна диффузия ионов. Для БЛМ, полученных из индивидуальных липидов, изменение проводимости во время фазового перехода носит дискретный характер. В нашем случае эта величина возрастает медленно и плавно, что характеризует особенности фазовых переходов в БЛМ, сформированных из смеси липидов. При этом проводимость существенно увеличивается только в области высоких концентраций комплекса.

Полученные данные по механизмам действия комплексных соединений являются существенными при разработке направленного синтеза биологически активных веществ и должны учитываться при обсуждении физиологических свойств подобных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.J., Wescott W.C. // J. Phys. Chem. 1963. V. 67. № 2. P. 534.
2. MacDonald R.C. // Biochem. Biophys. Acta. 1976. V. 448. № 2. P. 193.
3. Омельченко А.М. Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. М.: Изд-во ВИНТИ. 1991. Т. 41. 105 с.
4. Яцмирский К.Б. Введение в биоорганическую химию. Киев: Наук. думка, 1976. 143 с.
5. Альберт А. Стратегия химиотерапии. М.: Мир. 1967. 87 с.
6. Jackson G.E., May P.M., Williams D.R. // J. Inorg. and Nucl. Chem. 1978. V. 40. № 6. P. 1189.
7. Крисс Е.Е., Волченкова И.И., Григорьева А.С. и др. Координационные соединения металлов в медицине. Киев: Наук. думка. 1986. 216 с.
8. Трабова Е., Kuzela S. // Neoplasma. 1985. V. 32. № 6. P. 679.
9. Стеценко А.И., Сельдерханова Л.Б. // Докл. АН СССР. 1981. Т. 259. № 6. С. 1378.
10. Захарова И.А. // Биофизика. 1977. Т. 22. № 3. С. 418.
11. Овчинников Ю.А., Иванов В.Т., Шкроб А.М. Мембрано-активные комплексы. М.: Наука, 1974. 150 с.

12. Бабаков А.В., Демин В.В., Соколов С.Д. и др. // Биофизика. 1968. Т. 13. № 6. С. 1122.
13. Либерман Е.А., Тополь В.П. // Биофизика. 1968. Т. 13. № 6. С. 1025.
14. Simpson R.I., Moore R., Peters T.G. // Biochem. Biophys. Acta. 1988. V. 941. № 1. P. 39.
15. Delciers M., Gelbeka M., Malaisse W.G. // Acta Int. Pharmacodyn. 1983. V. 262. № 2. P. 313.
16. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А., Кукаленко С.С. и др. // Сельскохозяйственная биология. 1984. № 5. С. 75.
17. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А. // Биофизика. 1985. Т. 30. № 1. С. 168.
18. Кукаленко С.С., Бовыкин Б.А., Шестакова С.И., Омельченко А.М. // Успехи химии. 1985. Т. 65. № 7. С. 1152.
19. Бовыкин Б.А., Омельченко А.М., Лепехина Н.М. // Вопросы химии и хим. технологии. Харьков: Вища шк., 1985. Вып. шк., 1985. Вып. 79. С. 32.
20. Бовыкин Б.А., Поликарпов А.В., Омельченко А.М. и др. // Сельскохозяйственная биология. 1987. № 8. С. 54.
21. Бовыкин Б.А., Шаронина Р.М., Запаша И.А. и др. // Вопросы химии и хим. технологии. Харьков: Вища шк., 1985. Вып. 79. С. 26.
22. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А. // Биофизика. 1987. Т. 33. № 3. С. 456.
23. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А., Сытник Т.В. и др. // Докл. АН СССР. 1988. Т. 301. № 5. С. 1238.
24. Бовыкин Б.А., Омельченко А.М., Сытник Т.В. Теоретические основы направленного синтеза биологически активных координационных соединений, индуцирующих транспорт анионов хлора через бислойные липидные мембраны. Днепрпетровск. 1988. 60 с. Деп. в УкрНИИТИ 19.09.88, № 2408-Ук88.
25. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А. // Биологические мембраны. 1989. Т. 6. № 4. С. 404.
26. Бовыкин Б.А., Омельченко А.М., Запаша И.А. // Координационная химия. 1990. Т. 16. № 5. С. 587.
27. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А., Григорьев П.А. // Докл. АН СССР. 1989. Т. 309. № 1. С. 236.
28. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А., Сытник Т.В. и др. // Молекулярная генетика и биофизика. Республ. междувед. науч. сб. Киев: Вища шк. 1990. Вып. 15. С. 13.
29. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А., Новодарова Г.Н. А.с. 1637811 СССР // Б.И. 1991. № 12.
30. Бовыкин Б.А., Омельченко А.М., Сытник Т.В. // Теорет. и эксперим. химия. 1991. Т. 27. № 3. С. 382.
31. Ксепижек О.С., Омельченко А.М. // Молекулярная генетика и биофизика. Республ. междувед. научн. сб. Киев: Вища шк. 1979. Вып. 4. С. 37.
32. Соколов В.С., Кузьмин В.Г. // Биофизика. 1980. Т. 25. № 1. С. 168.
33. Шестакова С.И., Кукаленко С.С., Андреева Е.И. и др. А.с. 782350 СССР // Б.И. 1983. № 26.
34. Кукаленко С.С., Стручков Ю.Т., Шестакова С.И. и др. // Координационная химия. Т. 9. № 3. С. 312.
35. Seufert W.D. // Biophys. 1972. V. 10. № 4. P. 281.
36. Бабаков А.В., Мяжков И.В., Сотников И.С. и др. // Биофизика. 1972. Т. 17. № 2. С. 347.
37. Hansch C., Leo A. // Substituent constant for correlation analysis in chemistry and biology. N.Y.: John Wiley, 1979. P. 339.
38. Engst R., Schnaack W.Z. // Lebensmittel. Untersuch. und Forsch. 1970. Jg. 143. B. 3. S. 99.
39. Справочник по пестицидам / Мельников Н.П., Новожилов К.В., Белан С.Р. и др. М.: Химия, 1985. 352 с.
40. Лобов В.И., Ефимов Г.А. Пестициды. Киев: Гос. изд-во техн. лит. УССР. 1963. 276 с.
41. Омельченко А.М., Бовыкин Б.А. // Молекулярная генетика и биофизика. Республ. междувед. научн. сб. Киев: Вища шк. 1983. Вып. 8. С. 62.
42. Haydon D.A., Hladky S.B. // Quart. Rev. Biophys. 1972. V. 5. № 2. P. 187.
43. Anic B.M., Van der Goot H., Nauta W.K. et al. // Europ. J. Med. Chem. 1977. V. 12. № 6. P. 573.
44. Новодарова Г.Н., Колосова Е.М., Киселева Л.Л. и др. // Проблемы современной биоорганической химии. Новосибирск: Наука, 1986. С. 67.
45. Кукаленко С.С., Володкович С.Д. Системные фунгициды и протравители семян. М.: НИИТЭХИМ. 1981. 51 с.
46. Зайцев Б.Е., Палишкин В.М., Иванова Т.М. и др. // Координационная химия. 1985. Т. 11. Вып. 11. С. 1490.
47. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного бислоя. М., 1981. 293 с.
48. Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. М.: Мир, 1980. 250 с.
49. Хьюз М. Координационная химия биологических процессов. М.: Мир, 1983. 408 с.
50. Träuble H., Eibl H. // Proc. Nat. Acad. Sci USA. 1974. V. 71. № 2. P. 214.

Днепропетровский химико-технологический институт

Дата поступления
28.01.1992 г.

EFFECT OF COORDINATIVE METAL COMPOUNDS ON THE ION CONDUCTIVITY OF BILAYER LIPID MEMBRANES

Bovyukin B.A., Omel'chenko A.M., Syutnik T.V.

Research results of coordinative metal action on the biological and bilayer lipid membranes have been summarized. The latest authors' data determinating the mechanism of metal complexes action have been given. The mentioned mechanisms are essential in the development of the guide synthesis of physiologically active substances applicable in agriculture and medicine.

The bibliography includes 50 references.