

## ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ СУДИНОЗМІЦНЮЮЧОЇ ДІЇ ФЛАВОНОЇДІВ

Іванов Л.В.<sup>1</sup>, Картель М.Т.<sup>2</sup>, Щербак О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,  
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна; e-mail: nikar@kartel.kiev.ua

<sup>2</sup>Харківська державна зооветеринарна академія, вул. Академічна 1, Харків, 62341, e-mail:  
info@hdzva.edu.ua

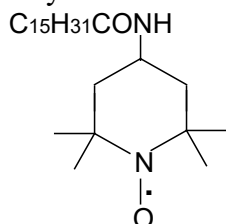
Виходячи з аналізу спектрів, встановлено, що сполуки флавоноїдної природи, зв'язуючись із мембранами клітин, не у всіх випадках змінюють плинність ліпідів мембран в залежності від типу клітин. Очевидно, клітини тканин судин є своєрідними "клітинами-мішенями" для цих речовин, тобто існує вибірковість флавоноїдів до тих чи інших тканин органів. Особливо помітне збільшення плинності ліпідів мембран спостерігалось при додаванні флавоноїдних глікозидів – гіперозиду, стаханоацезиду і ліквіритину до відрізків тканини вени, що корелювало з високою спорідненістю цих речовин до ліпосом. Додавання до судин метаболіту кверцетину - халкону також приводило до сильного збільшення плинності ліпідів клітин тканини артерій і вен, що припускає наявність біологічної активності у метаболітів флавоноїдів.

Одним з механізмів збільшення резистентності судин артерій і вен під дією речовин флавоноїдної структури є збільшення плинності ліпідів мембран клітин тканини цих судин, що приводить до зменшення крихкості судин і збільшення їх гнучкості й еластичності. Удаване протиріччя між швидким метаболізмом багатьох флавоноїдів в організмі тварин і більш тривалою фармакологічною дією можна пояснити здатністю їх метаболітів, наприклад, халкона, збільшувати плинність ліпідів мембран клітин тканини судин, змінюючи резистентність їх до зовнішніх впливів. Зменшення крихкості судин легень і збільшення їх гнучкості й еластичності може давати позитивний ефект людині в боротьбі з коронавірусом.

**Ключові слова:** плинність ліпідів мембран, резистентності судин артерій, флавоноїди, коронавірус

У даний час актуальним практичним завданням в лікарнях, де лежать хворі на коронавірус, є подача кисню хворим для нормалізації роботи легень, насичення крові (еритроцитів) киснем. Мікров'язкість мембран клітин еритроцитів є одним з важливих структурних параметрів мембран клітин. Від неї безпосередньо залежить проникність мембран і швидкість всмоктування кисню через мембрану до гемоглобіну всередині клітин еритроцитів. Тому дані про вплив лікарських препаратів для лікування хворих коронавірусом на мікров'язкість еритроцитів вкрай актуально. Якщо виявиться, що деякі лікарські препарати сильно збільшують мікров'язкість мембран еритроцитів, тобто можуть гальмувати оксигенацію гемоглобіну всередині клітин еритроцитів, то треба буде з обережністю застосовувати такі препарати для лікування хворих з двостороннім запаленням легень і стежити за рівнем сатурації таких хворих. Із спектрів ЕПР багатьох флавоноїдів випливає, що додавання їх до тканин судин приводило до помітного зменшення  $t_c$  зонду 1 (див. рис. 1), тобто до помітного збільшення плинності ліпідів мембран клітин тканини судин. Одним з механізмів збільшення резистентності судин

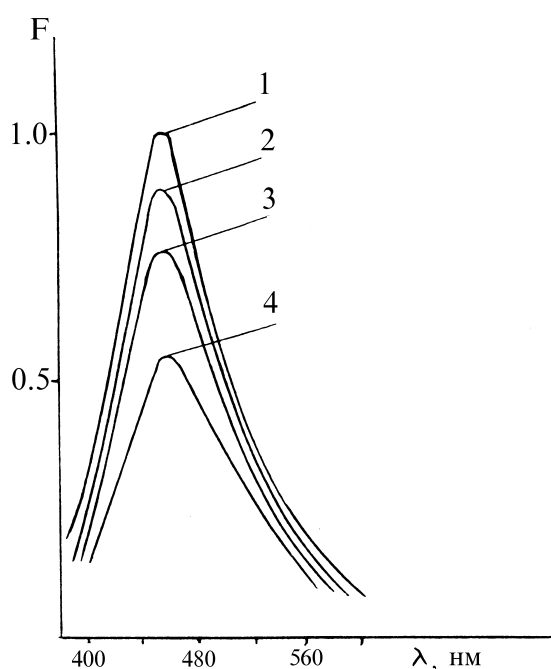
артерій і вен під дією речовин флавоноїдної структури є збільшення плинності ліпідів мембран клітин тканини цих судин, що призводить до зменшення крихкості судин і збільшення їх гнучкості й еластичності.



**Рис. 1.** Структурна формула зонду 1

Зараз флавоноїдні сполуки рослинного походження широко використовуються як препарати гепатозахисної, судинозміцнюючої, протизапальної й іншого видів дії [1]. Більшість робіт пов'язана з фармакологічним і біохімічним аспектами їх дії і майже не відбиває ролі структурних змін у мембранах, які відіграють істотну роль у механізмі дії флавоноїдів. Залишаються невивченими на мембранному рівні механізми збільшення резистентності судин артерій і вен, викликані багатьма флавоноїдами. Крім цього, практично відсутні роботи з фармакокінетики флавоноїдів з аналізом особливостей їх метаболізму й елімінації.

Для вивчення впливу флавоноїдів на мембрани клітин судин в роботі були використані наступні флавоноїди – кверцетин (1) та його глікозид гіперозид (2), мірицетин (3), стаханоацезид (4), лютеолін (5), ліквиритин (6), халкон кверцетину (7), флакумін (8) – суміш мірицетину і кверцетину у співвідношенні 6:4. Вивчення взаємодії ряду флавоноїдів з модельними мембранами і мембранами клітин тканин різних судин проводилося з метою визначення можливих клітин, або тканин - "мішеней". На рис. 2 подані спектри флуоресценції зонду 1,8-АНС у ліпосомах у присутності флавоноїдних сполук. Введення флавоноїдних сполук до суспензії ліпосом приводить до падіння інтенсивності флуоресценції зонду. Така дія можлива внаслідок двох причин. По-перше, досліджувані речовини поглинають в області 365 нм, тобто в області збудження флуоресценції зонду (див. табл. 1) [2, 3].



**Рис. 2.** Спектри флуоресценції зонду 1,8-АНС у суспензії ліпосом у присутності флавоноїдів ( $10^{-3}$  М): 1 - контроль; 2 - кверцетин; 3 - мірицетин; 3 - гіперозид; 4 - стаханоацезид

Крім цього, при зв'язуванні флавоноїдів з мембранами відбувається витиснення зонду з мембрани у воду, що супроводжується гасінням флуоресценції. Тому що досліджувані флавоноїди близькі за структурою, спорідненість їх з ліпосомами пропорційна величині відносних змін інтенсивності флуоресценції зонду при введенні до ліпосом досліджуваних речовин. За спорідненістю з ліпосомами флавоноїдні сполуки можна розташувати в ряді: стаханоацезид > гіперозид > мірицетин > кверцетин > флакумін. Аналіз спектрів флуоресценції свідчить про невелику спорідненість перерахованих вище речовин з ліпідами мембран. Очевидно, це зв'язано з великою кількістю гідроксильних груп і залишків сахаридів у цих молекулах [2,3].

**Таблиця 1.** Параметри спектрів поглинання флавоноїдів ( $10^{-5}$  М) у 1% етанолі

Лікарська речовина	Оптична густина при $\lambda=365$ нм	Оптична густина при $\lambda_{\max}$	$\lambda_{\max}$ , нм
Кверцетин	0,20	0,21	371
Гіперозид	0,14	0,18	365
Мірицетин	0,12	0,13	370
Стаханоацезид	0	0	0
Флакумін	0,18	0,19	370

Виходячи з отриманих результатів, виникає питання про можливу взаємодію флавоноїдів з білками крові (сироватковим альбуміном) чи поверхневими білками мембран різних клітин. Такі дослідження вимагають високочутливих біофізичних методів.

У даній роботі вивчали спектри ЕПР спінового зонду 1 в еритроцитах у присутності різних флавоноїдів.

Введення флавоноїдів до суспензії еритроцитів у концентрації  $10^{-4}$  М не приводило до помітних змін у спектрах ЕПР спінового зонду 1, тобто досліджувані флавоноїди не впливали на плинність ліпідів мембран еритроцитів і якщо зв'язувалися з еритроцитами, то зв'язування відбувалося з поверхневими білками мембрани еритроцитів.

Відомо, що речовини флавоноїдної природи, починаючи з рутину, мають ангіопротекторні властивості, що припускає їх підвищену спорідненість із тканинами різних судин. Щодо цього, то тканини різних судин можна розглядати, як тканини "мішеней", що дозволяє пояснити двофазний характер фармакокінетики лікарських речовин флавоноїдної структури - фазу швидкого розподілу по тканинах і фазу більш повільної елімінації з організму [4].

Однак у літературі є небагато відомостей про механізми взаємодії флавоноїдів із білками або мембранами клітин і зовсім немає відомостей про механізми взаємодії і впливу флавоноїдів на мембрани клітин тканин різних судин внаслідок відсутності адекватних методів дослідження мембран клітин у складі тканин.

Тому нами для вивчення спорідненості ряду флавоноїдів різної структури - агліконів і глікозидів з мембранами клітин тканин артерій і вен щурів був використаний метод спінових зондів.

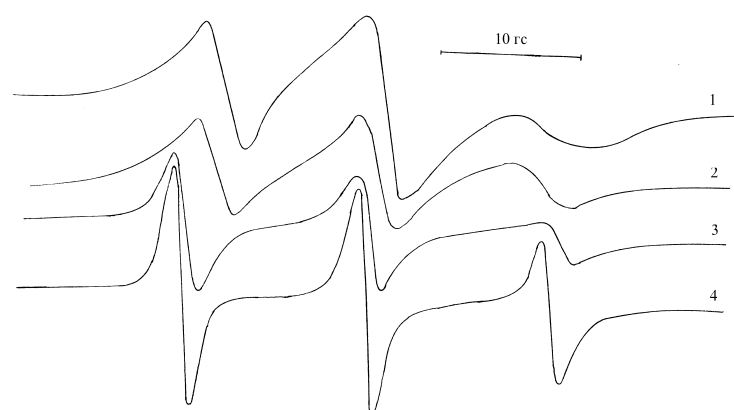
На рис. 3 подані спектри ЕПР спінового зонду 1 у тканині артерії, вени й аорти щура, а в табл. 2 - вплив флавоноїдів на параметри обертової дифузії зонду 1 у мембранах клітин тканини судин.

Із спектрів ЕПР рис. 3 і табл. 2 випливає, що для багатьох флавоноїдів додавання їх до тканин судин приводило до помітного зменшення  $t_c$  зонду 1, тобто до помітного збільшення плинності ліпідів мембран клітин тканини судин. Особливо помітне збільшення плинності ліпідів судин спостерігалось при додаванні флавоноїду гіперозиду до тканини вени щура, що корелює з високою мембранотропністю гіперозиду в ряді досліджуваних флавоноїдів.

Як видно з табл. 2, введення халкону до фізіологічного розчину з досліджуваною судиною також приводить до сильного збільшення плинності ліпідів клітин тканини деяких судин, що пояснює біологічну активність метаболітів флавоноїдів.

**Таблиця 2.** вплив флавоноїдів на параметри обертової дифузії зонду 1 у мембранах клітин тканини судин.

N лікарської речовини	Тканина судина	$\tau_c^+ 10^9, c$	$\tau_c^- 10^9, c$	$\varepsilon$
лютеолін	аорти	2.35	1.0	0.15
ліквіритин	артерії	0.8	1.05	0.04
халкон	артерії	0.8	1.1	0.04
халкон	аорти	1.8	0.75	0.08
кверцетин	аорти	2.2	0.9	0.12
гіперозид	вени	0.53	0.17	0.13
гіперозид	аорти	2.15	1.2	0.09
мірицетин	артерії	3.6	1.25	0.08
Контроль	артерії	3.75	1.5	0.13
Контроль	вени	0.53	0.53	0.13
Контроль	аорти	2.0	0.76	0.14



**Рис 3.** Спектри ЕПР спін міченого аміду пальмітинової кислоти в тканині артерії і вени щурів: 1 - у тканині артерії, 2 - у тканині артерії у присутності ліквіритину чи халкону, 3 - у тканині стегнової вени, 4 - у тканині вени у присутності гіперозиду

Анізотропія спектрів ЕПР визначається з спектрів згідно з наступною формулою:

$$\varepsilon = [(h_0 / h_{+1})^{1/2} - 1] / [(h_0 / h_{-1})^{1/2} - 1].$$

Попереднє додавання до фізіологічного розчину з досліджуваним відрізком судини парамагнітних солей  $NiCl_2$  або фериціаніду калію не впливало на спектри ЕПР зонду 1, що вказувало на локалізацію спінового зонду всередині ліпідного бішару мембран клітин тканин досліджуваних судин [5, 6]. Аналіз параметрів обертової дифузії зонду 1 у тканинах судин показав, що рухливість зонду 1 у мембранах клітин тканин судин неоднакова і за величиною плинності ліпідів мембран клітин тканин судини можна розташувати в ряді: вени > артерії > аорта [2, 3].

Аналіз структури досліджуваних флавоноїдів, спорідненості їх з ліпосомами і впливу на плинність ліпідів мембран клітин тканин судин виявляє збільшення

спорідненості з ліпосомами і збільшення змін плинності ліпідів при переході від агліконів до глікозидів.

Відомо, що фенольні та поліфенольні сполуки в організмі можуть швидко окислятися до семіхінонів, хінонів і халконів з розривом кільця, що також обумовлюють їх біологічну активність [1]. У зв'язку з цим викликає інтерес вивчення можливої дії на конформаційну рухливість ліпідів мембран клітин судин одного з метаболітів флавоноїдів - халкону.

Аналіз спектрів (рис. 3) показав, що додавання флавоноїду гіперозиду до відрізка вени приводить до різкого звуження ліній спектру зонду, що вказує на різке збільшення плинності ліпідів клітин тканини вен (різкому зменшенню часу кореляції зонду).

Підсумовуючи результати, отримані при вивченні зв'язування флавоноїдів з мембранами ліпосом, еритроцитів і мембранами клітин тканин судин, ми можемо зробити висновок, що сполуки флавоноїдної природи, зв'язуючись із мембранами клітин, не у всіх випадках змінюють плинність ліпідів мембран тих чи інших клітин. Очевидно, клітини тканин судин є своєрідними "клітинами-мішенями" для цих речовин, тобто існує вибірковість флавоноїдів до тих чи інших тканин органів. Особливо помітне збільшення плинності ліпідів мембран спостерігалось при додаванні флавоноїдних глікозидів – гіперозиду, стаханоацезиду і ліквіритину до відрізків тканини вени, що корелювало з високою спорідненістю цих речовин до ліпосом. Додавання до судин метаболіту кверцетину - халкону також приводило до сильного збільшення плинності ліпідів клітин тканини артерій і вен, що припускає наявність біологічної активності у метаболітів флавоноїдів.

Одним з механізмів збільшення резистентності судин артерій і вен під дією речовин флавоноїдної структури є збільшення плинності ліпідів мембран клітин тканини цих судин, що приводить до зменшення крихкості судин і збільшення їх гнучкості й еластичності. Зменшення проникності судин пов'язане з процесом упорядкування ліпідів у мембранах тканин під дією цих сполук, що відповідає літературним даним про механізм зменшення проникності мембран [6]. Удаване протиріччя між швидким метаболізмом багатьох флавоноїдів в організмі тварин і більш тривалою фармакологічною дією можна пояснити здатністю їх метаболітів, наприклад, халкона, збільшувати плинність ліпідів мембран клітин тканини судин, змінюючи резистентність їх до зовнішніх впливів [2, 3]. Зменшення крихкості судин легень і збільшення їх гнучкості й еластичності може давати позитивний ефект людині в боротьбі з коронавірусом.

## Література

1. Барабой В.А. // Растительные фенолы и здоровье человека. - М.: Наука, 1984. - 160 с.
2. Сродство к биомембранам и некоторые особенности фармакокинетики соединений флавоноидной природы / Иванов Л.В., Хаджай Я.И., Кошелева Л.П. и др. // Хим.-фарм. ж. - 1992. - N 2. - С. 20-23.
3. Сродство к биомембранам и некоторые особенности фармакокинетики флавоноидов растительного происхождения / Иванов Л.В., Хаджай Я.И., Кошелева Л.П. и др. // V Всесоюз. симпоз. по фенольным соединениям: Тез. докл. - Таллин, 1987. - С. 48-49.
4. Воскобойникова И.В., Фармакокинетическое исследование биологически активных ксантофеновых и флавоноидных соединений: Автореф. дисс. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. – М., 1993. – 27 с.
5. Лихтенштейн Г.И. Метод спиновых меток в молекулярной биологии. - М.: Наука, 1974. - С. 12-24.
6. Кольтовер В.К. // Спиновые метки и зонды в исследованиях модельных и биологических мембран. - Итоги науки и техники. - ВИНТИ. - Биофизика. - 1979. - Т. II. - С. 10-100.

## References

1. Baraboy V.A. *Plant phenols and human health*. (Moscow: Nayka, 1984). [In Russian].
2. Ivanov L.V., Khadzhai Ya.I., Kosheleva L.P. et al. Affinity for biomembranes and some features of pharmacokinetics of compounds of flavonoid nature. *Him. Farm. Zhurnal*. 1992. (2): 20. [In Russian].
3. Ivanov L.V., Khadzhai Ya.I., Kosheleva L.P. et al. Affinity for biomembranes and some features of pharmacokinetics of flavonoids of plant origin. In: All-Union. symposium. on phenolic compounds: Abstracts (Tallinn, 1987). - P. 48. [In Russian].
4. Voskoboynikova I.V. Pharmacokinetic study of biologically active xanthophone and flavonoid compounds. Ph. D. thesis abstracts. (Farm. Science). (Moscow, 1993). [In Russian].
5. Liechtenstein G.I. *The method of spin labels in molecular biology*. (Moscow: Nayka, 1974). [In Russian].
6. Koltover V.K. *Spin tags and probes in studies of model and biological membranes*. In Results of Science and Technology. (VINITI, 1979). Biophysics V.2. - 1979. P. 10.

## STUDY OF MECHANISMS ON VASON-STRENGTHENING ACTION OF FLAVONOIDS

Ivanov L.V., Kartel M.T., Shcherbak O.V.

<sup>1</sup>*Chuiko Institute of Surface Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, General Naumov street, 17, Kyiv, 03164, Ukraine, e-mail: [nikar@kartel.kiev.ua](mailto:nikar@kartel.kiev.ua)*

<sup>2</sup>*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Akademichna st. 1, Kharkiv, 62341, e-mail: [info@hdzva.edu.ua](mailto:info@hdzva.edu.ua)*

Based on the analysis of the spectra, it has been found that compounds of flavonoid nature, binding to cell membranes, change not in all cases the fluidity of membrane lipids depending on the cell type. Obviously, vascular tissue cells are a kind of "target cells" for these substances, i.e. there is a selectivity of flavonoids to certain tissues of organs. A particularly noticeable increase in the lipid fluidity of membranes was observed due to the addition of flavonoid glycosides - hyperoside, stachanoacese and liquiritin to segments of venous tissue, which correlated with the high affinity of these substances to liposomes. The addition to the vessels of the metabolite quercetin - chalcone also led to a sharp increase in the lipid fluidity of cells of arterial and venous tissue, what suggests the presence of biological activity in flavonoid metabolites.

One of the mechanisms of increasing the resistance of arterial and venous vessels under the action of flavonoid substances is an increase in the lipid fluidity of cell membranes of these vessels, which reduces the fragility of blood vessels and increases their flexibility and elasticity. The apparent contradiction between the rapid metabolism of many flavonoids in animals and the prolonged pharmacological action can be explained by the capability of their metabolites, such as chalcone, to increase the lipid fluidity of vascular cell membranes, changing their resistance to external influences. Reducing the fragility of the pulmonary vessels and increasing their flexibility and elasticity can have a positive effect on a human body in the fight against coronavirus.

**Keywords:** membrane lipid fluidity, vascular resistance of arteries, flavonoids, coronavirus