

*На правах рукописи*

**Маракулина Ксения Михайловна**

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРИРОДНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ С  
АНТИОКСИДАНТАМИ НОВОГО КЛАССА – ИЗОБОРНИЛФЕНОЛАМИ**

02.00.04 – физическая химия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени кандидата  
химических наук

Москва – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки  
Институте биохимической физики им Н.М. Эмануэля Российской академии наук

**Научный руководитель**

**Шишкина Людмила Николаевна**  
доктор химических наук, профессор

**Официальные оппоненты**

**Мельников Михаил Яковлевич,**  
доктор химических наук, профессор,  
заведующий кафедрой химической  
кинетики химического факультета  
ФГБОУ ВО «Московского  
государственного университета имени  
М.В. Ломоносова»

**Рыжкина Ирина Сергеевна,**  
доктор химических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник ФГБУН  
Института органической и физической  
химии им. А. Е. Арбузова Казанского  
научного центра Российской академии  
наук

**Ведущая организация**

Федеральное государственное  
бюджетное учреждение науки Институт  
физической химии и электрохимии им.  
А.Н. Фрумкина Российской академии  
наук

Защита состоится «25» января 2017 г. В 12<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного  
совета Д 002.039.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении  
науки Институте биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии  
наук по адресу: 119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института химической физики им. Н.Н. Семенова  
Российской академии наук по адресу: 119991, Москва, Ленинский проспект, 38 и на  
сайте:

<http://new.chph.ras.ru/diss-sovet/razmeshchennye-dissertatsii>

Автореферат разослан « »

2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 002.039.01  
кандидат химических наук

Мазалецкая Л.И.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Необходимость создания научных основ стабилизации пищевых жиров в процессе их переработки и хранения стимулировала детальное изучение механизма окислительных процессов в системах разной степени сложности. Начало приоритетных исследований процессов окисления жиров и липидов было положено работами, выполненными еще в 50-х – 60-х годах прошлого столетия сотрудниками школы академика Н.М. Эмануэля в ИХФ АН СССР и профессора Б.Н. Тарусова в МГУ. В настоящее время эти исследования активно продолжаются и в нашей стране, и за рубежом, поскольку была экспериментально установлена общность механизма окислительных процессов в системах *in vitro* и *in vivo* и подтверждена гипотеза академика Н.М. Эмануэля о возможности использования нетоксичных синтетических антиоксидантов (АО) для предотвращения развития ряда патологий. Наличие широкого спектра биологической активности у АО сейчас является общепризнанным фактом.

АО условно делят на природные и синтетические. У каждой группы имеется ряд достоинств и недостатков, к последним можно отнести уменьшение ингибирующей эффективности АО природного происхождения за счет участия в различных побочных реакциях и выраженную токсичность многих синтетических препаратов, поскольку их структуры достаточно далеки от структур метаболитов организмов. В связи с этим одним из перспективных направлений является создание нового класса полусинтетических АО – изоборнилфенолов (ИБФ), синтезированных с использованием зелени хвойных и представляющих собой замещенные фенолы, содержащие в качестве алкильного заместителя изоборнильную группу.

К началу наших исследований было показано, что некоторые ИБФ являются стабилизаторами эластомерных композиций, проявляют противоинфекционную, противосвертывающую и нейропротекторную активности. Однако, данные о физико-химических характеристиках ИБФ, влиянии природы заместителей на их способность взаимодействовать с одними из основных компонентов биологических мембран – фосфолипидами (ФЛ) отсутствовали, в то время как для ряда природных и синтетических фенольных АО обнаружено явление их комплексообразования с ФЛ, существенно модифицирующее ингибирующую эффективность. Это требует комплексного изучения физико-химических характеристик ИБФ с использованием различных методов, тем более, что биологическая активность большинства соединений обусловлена как их способностью влиять на регуляцию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), так и воздействовать на структурное состояние клеточных мембран [1].

Актуальность детального изучения свойств ИБФ в различных системах обусловлена и их относительно низкой токсичностью.

**Цель работы.** Изучение механизма взаимодействия изоборнилфенолов и природных фосфолипидов в модельных химических системах и разработка адекватной модели для первичного отбора более перспективных биологически активных веществ для дальнейшего исследования в более сложных биологических системах.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить физико-химические характеристики природных фосфолипидов методами УФ- и ИК-спектроскопии, динамического светорассеяния в зависимости от полярности среды;
2. Исследовать физико-химические характеристики изоборнилфенолов методами УФ-, ИК-спектроскопии в зависимости от их структуры;
3. Исследовать комплексообразование изоборнилфенолов с природными фосфолипидами и изучить роль природы фосфолипида в механизме образования комплексов;
4. Исследовать влияние наличия, положения и природы заместителя в местах прямого сопряжения с гидроксильной группой фенолов на параметры комплексообразования с природными фосфолипидами;
5. Разработать модель для оценки поверхностно-активных свойств соединений для первичного отбора наиболее перспективных для практического использования.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Наличие явления комплексообразования между молекулами фосфолипидов и полусинтетических антиоксидантов – изоборнилфенолов, зависимость масштаба и направленности эффектов взаимодействия как от структуры изоборнилфенолов, так и от природы фосфолипидов.
2. Взаимодействие между молекулами фосфолипидов и изоборнилфенолов осуществляется через полярные группировки: свободные и связанные гидроксильные группы фосфолипидов и изоборнилфенолов, сложноэфирные, амидные и холиновые группировки фосфолипидов.
3. Образование молекулярных комплексов между молекулами изоборнилфенолов и природных фосфолипидов является одной из причин проявления изоборнилфенолами цитотоксических и/или мембранопротекторных свойств в биологических системах *in vitro* и *in vivo*.
4. Модель мицеллообразования лецитина в неполярном растворителе является адекватной для первичной оценки и отбора наиболее перспективных соединений для дальнейшего изучения в более сложных системах.

**Научная новизна.** Впервые детально исследованы физико-химические характеристики препаратов природных ФЛ и соединений ряда ИБФ методами ИК- и УФ-спектроскопии в растворителях с различным дипольным моментом. Показано, что увеличение количества и электронодонорных свойств заместителей, находящихся в местах прямого сопряжения с ОН-группой, приводит к

батохромному сдвигу полосы поглощения ОН-группы ИБФ при одновременном увеличении ее интенсивности. В ИК-спектрах всех ИБФ обнаружены полосы валентных колебаний ОН-группы в диапазоне частот, характерных для пространственно незатрудненных фенолов.

Доказано явление комплексообразования между молекулами ИБФ и природными ФЛ. Показано, что направленность и масштаб явления комплексообразования ИБФ с ФЛ зависят как от структуры исходного фенольного АО, так и от природы ФЛ. Максимальные изменения УФ-спектров смесей ИБФ и ФЛ относительно суммарного спектра при  $\lambda=275$  нм выявлены для смесей ИБФ со сфингомиелином (СМ).

Впервые показана способность ИБФ влиять на поверхностно-активные свойства природных ФЛ в неполярном растворителе – гексане. Самые сильные изменения параметров мицеллообразования в присутствии ИБФ зафиксированы для их смесей с лецитином (ЛС). Обнаружено уменьшение размеров агрегатов ЛС в 24,8-29 раз в присутствии ИБФ, в молекулах которых свободно одно *орто*-положение и в 15,4 раза в присутствии ИБФ, в молекуле которого второе *орто*-положение занято СН<sub>3</sub>-группой.

**Практическая значимость.** Адаптирован метод Остромысленского-Жоба для определения соотношения компонентов в бесцветных молекулярных комплексах ИБФ с природными ФЛ. Показано, что модель самоорганизации ЛС в гексане в исследованном диапазоне концентраций является адекватной для первичного отбора наиболее перспективных соединений для дальнейших исследований в более сложных биологических модельных системах, что представляет интерес для практической медицины. Синтез ИБФ на основе камфена, выделенного из экстрактов отходов лесопромышленного комплекса, способствует частичному решению проблемы ее утилизации.

**Вклад автора.** Личный вклад диссертанта состоял в проведении физико-химических исследований, обработке и анализе полученных данных, формулировании положений и выводов, а также в подготовке статей к опубликованию. Все изложенные данные получены автором лично или при его непосредственном участии в подготовке и проведении эксперимента.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на следующих конференциях и симпозиумах: VIII Всероссийская конференция с Международным участием «Химия и медицина» (г. Уфа, 2010); VII и VIII Международные конференции «Биоантиоксидант» (г. Москва 2010, 2015); XXVIII Всероссийская школа-симпозиум молодых ученых по кинетике («Березки», Московская область, 2010); X, XI, XII Международные молодежные конференции ИБХФ РАН-ВУЗы «Биохимическая физика» (г. Москва, 2010, 2011, 2012); Всероссийская рабочая химическая конференция «Бутлеровское наследие-2011» (г. Казань, 2011); Международная конференция «Биологически активные вещества:

фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Украина, Новый Свет, 2011); XVIII, XIX Международные конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (г. Москва, 2011, 2012); I Всероссийский симпозиум по поверхностно-активным веществам с международным участием «От коллоидных систем к нанохимии» (г. Казань, 2011); Международная конференция «Возобновляемые лесные и растительные ресурсы: химия, технология, фармакология, медицина» (г. Санкт-Петербург, 2011); VII, VIII, IX Всероссийские научные конференции «Химия и технология растительных веществ» (г. Сыктывкар, 2011; г. Калининград, 2013, г. Москва, 2015); «1<sup>st</sup> International symposium on secondary metabolites: chemical, biological and biotechnological properties» (Turkey, Denizli, 2011); Всероссийская молодежная конференция «Успехи химической физики» (г. Черноголовка, 2011); 161 Faraday discussion «Lipids and Membrane Biophysics» (London, 2012); IV Съезд биофизиков России (г. Нижний Новгород, 2012); VIII Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Москва, 2012); конференции по Программе фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки - медицине» (г. Москва, 2012, 2013); International conference «Biological Active Substances and Materials: fundamental and applied problems» (Украина, Новый Свет, 2013); IV Международная конференция по коллоидной химии и физико-химической механике (г. Москва, 2013); Всероссийская научная конференция «Химия и фармакология растительных веществ» (г. Сыктывкар, 2014); XII Всероссийская конференция с международным участием «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам» (Иваново, 2015); XI Международная научно-техническая конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2016» (г. Севастополь 2016).

**Публикации результатов исследований.** По результатам исследований опубликовано 35 работ из них: 6 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК, 2 статьи в зарубежных журналах, 1 глава в коллективной монографии (Россия), 5 статей в сборниках трудов конференций, имеющих индекс ISBN, тезисы докладов 21-й научной конференции.

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы. Работа изложена на 132 страницах, содержит 35 рисунков и 21 таблицу. Библиографический список включает 173 наименования, из которых 64 опубликованы в зарубежных изданиях.

Работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ИБХФ РАН и поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (2012 – 2014 гг.).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во Введении** обсуждается актуальность темы диссертационной работы, степень ее разработанности, сформулированы основные цели и задачи исследования, обоснованы новизна и практическая значимость работы.

**В Литературном обзоре (Глава I)** обобщены современные представления о структурно-функциональных свойствах фосфолипидов и их физико-химических характеристиках, рассмотрены классификации антиоксидантов и приведены имеющиеся к настоящему времени сведения об антиоксидантных свойствах изоборнилфенолов в различных системах.

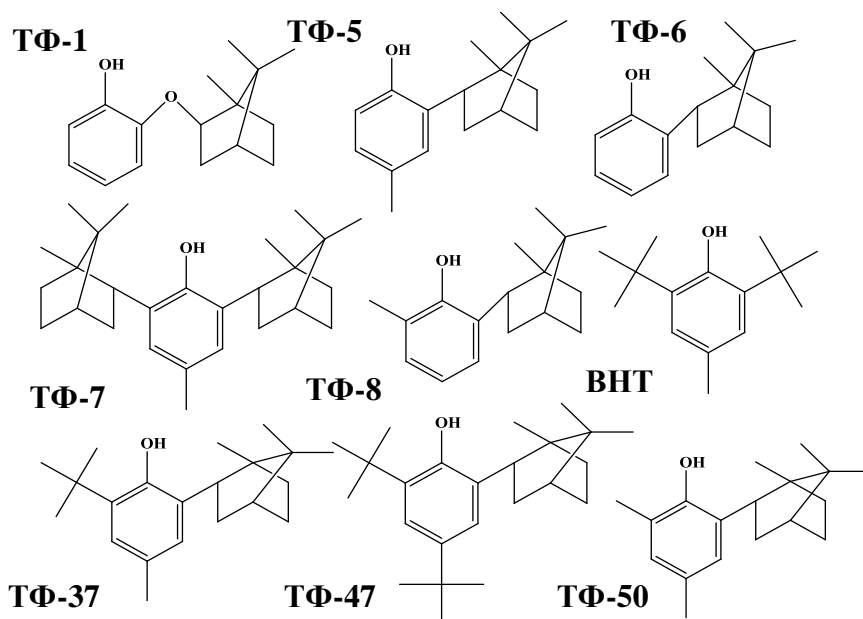
### **Материалы и методы (Глава II)**

Объектами исследования были 11 партий 10%-ого спиртового раствора соевого лецитина (ЛС) (Харьков, Украина), хлороформный раствор смеси природных липидов (Владивосток, Россия), 7 партий раствора сфингомиелина (СМ) из мозга быка в хлороформе (Владивосток, Россия), 6 партий хлороформного раствора L- $\alpha$ -кефалина (КФ) из мозга быка ("Sigma"), 2 партии L- $\alpha$ -фосфатидилхолина (ФХ) из яичного желтка в виде лиофилизованного порошка ("Sigma"), 1 партия СМ из мозга быка в виде лиофилизованного порошка ("Fluka") и 1 партия лиофилизованного порошка L- $\alpha$ -фосфатидилэтаноламина (ФЭ) из яичного желтка ("Sigma"). ИБФ, синтезированные в ФГБУН Институте химии Коми НЦ УрО РАН под руководством чл.-корр. РАН, д.х.н. А.В. Кучина и любезно предоставленные нам для исследования, использовали без очистки. Структурные формулы изученных ИБФ, представлены на рисунке 1.

Разделение ФЛ на фракции осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) по Шталю [2]. Качественный и количественный состав ФЛ определяли спектрометрически по образованию фосфорно-молибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты при  $\lambda=800$  нм (КФК-3, Россия). Спектры поглощения растворов липидов в гексане регистрировали на спектрофотометре UNICO 2800 (США) в диапазоне длин волн от 190 до 400 нм. Относительное содержание продуктов окисления липидов – диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов (КД) определяли с использованием УФ-спектрофотометрии, как отношение  $A_{232}$  и  $A_{272}$  к  $A_{203}$  для ДК и КД соответственно [3]. Количество пероксидов измеряли методом йодометрического титрования (ГОСТ 26593-85). Антипероксидную активность (АПА) определяли по разности концентрации пероксидов в окисленном метилолеате и при добавлении к нему образцов, отнесённой к 1 г образца [4].

Для определения стехиометрии молекулярных комплексов использовали метод изомольярных серий, применив его для бесцветных растворов природных ФЛ и ИБФ. Измерения проводились при  $\lambda=200\pm 10$  нм и  $\lambda=275\pm 5$  нм по  $\beta$ -полосе поглощения бензольного кольца фенолов в диапазоне концентраций АО:  $8,8\times 10^{-6}$  –  $8,8\times 10^{-5}$  моль/л для их смесей с ЛС и КФ и  $4,4\times 10^{-5}$  –  $4,4\times 10^{-4}$  моль/л для их смесей

с СМ. Стехиометрию компонентов в комплексе определяли по максимальной величине отклонения  $\Delta A$  оптической плотности спектра смеси от аналогичной величины суммарного спектра отдельных компонентов в зависимости от их мольного соотношения.



**Рисунок 1.** Структурные формулы фенольных антиоксидантов: 1 – 2-изоборнилорксифенол (**ТФ-1**); 2 – 4-метил-2-изоборнилфенол (**ТФ-5**); 3 – 2-изоборнилфенол (**ТФ-6**); 4 – 4-метил-2,6-ди-изоборнилфенол (**ТФ-7**); 5 – 2-метил-6-изоборнилфенол (**ТФ-8**); 6 – 4-метил-2,6-дипрет.бутилфенол (**ВНТ**); 7 – 4-метил-2-трет.бутил-6-изоборнилфенол (**ТФ-37**); 8 – 2,4-дипрет.бутил-6-изоборнилфенол (**ТФ-47**); 9 – 2, 4-диметил-6-изоборнилфенол (**ТФ-50**), где изоборнил – 1,7,7-триметилбицикло[2,2,1]гепт-экзо-2-ил.

Функциональные группы, участвующие в комплексообразовании, определяли методом ИК-спектроскопии. Спектры записывали на ИК-Фурье-спектрометре “Spectrum-100” с приставкой НПВО (“Perkin-Elmer”, Германия) в диапазоне частот от  $4000 \text{ см}^{-1}$  до  $600 \text{ см}^{-1}$  растворов как индивидуальных компонентов в концентрации  $0,01 \text{ моль/л}$ , так и их смесей в различных растворителях (гексан, хлороформ, этанол).

Определение размера агрегатов ФЛ в разных растворителях проводили методом динамического светорассеяния на приборе “ZetaSizer Nano ZS” (“Malvern Instruments”, UK), оснащенный He-Ne-лазером, в диапазоне концентраций от 20 до 55 мкг/мл при постоянной температуре  $25^\circ \text{ C}$  и фиксированном угле рассеяния  $173^\circ$ . Для каждой пробы измерения повторяли не менее пяти раз.

Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, используя пакет программ Excel, а также пакет компьютерных программ KINS. На рисунках и в таблицах данные представлены в виде среднеарифметических значений с указанием их средней квадратичной



ошибки ( $M \pm m$ ). В работе были использованы программные модули для многофакторного анализа экспериментальных данных [5].

**Результаты и их обсуждение** представлены в трех главах.

В главе III «Физико-химические свойства природных фосфолипидов» даны физико-химические характеристики препаратов природных ФЛ в различных модельных системах. Методом ТСХ выявлено, что различные партии коммерческих препаратов в соответствии с данными литературы отличаются по соотношению фракций ФЛ, что обобщено в таблице 1.

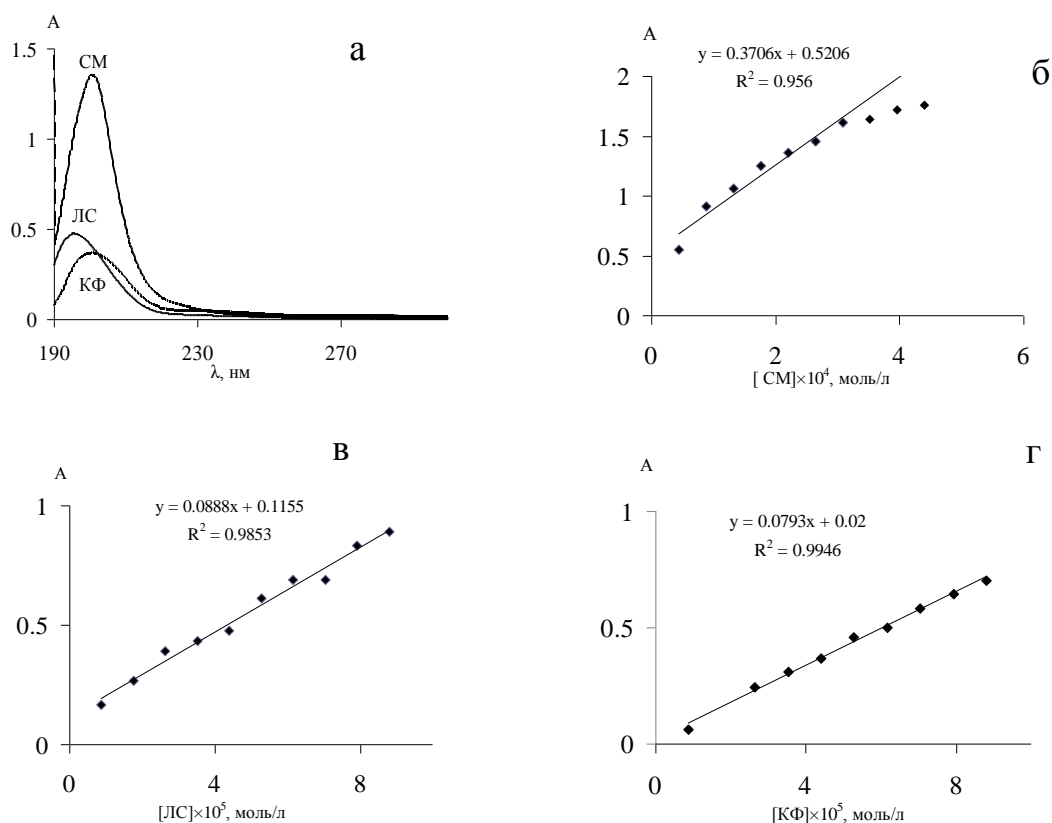
**Таблица 1.** Вариабельность доли ФЛ в составе общих липидов (% ФЛ) и относительного содержания основной фракции ФЛ в коммерческих препаратах фосфолипидов.

Показатель	Препарат					
	соевый лецитин		сфингомиелин		кефалин	
	min	max	min	max	min	max
% ФЛ	41	82	44	81	44	77
Доля основной фракции, % Р	80 (ФХ)	92,2 (ФХ)	91,1 (СМ)	97,2 (СМ)	64 (ФЭ)	70 (ФЭ)

В коммерческом препарате L- $\alpha$ -ФХ (“Sigma”) доля ФХ несколько выше (95 % и 96,5 %), чем в соевом лецитине, а доля ФЛ в составе общих липидов составляла 59% и 66%. В препарате СМ (“Fluka”) относительное содержание СМ в ФЛ составляет 93,3%, а доля ФЛ в составе общих липидов 62%. Препараты ФЭ (“Sigma”) характеризуются очень низким (21%) содержанием ФЛ в составе общих липидов, доля ФЭ в составе общих липидов 70%. Смесь природных липидов характеризовалась самым высоким содержанием лизоформ ФЛ (ЛФХ) среди других изученных препаратов (34%) и высоким содержанием других трудноокисляемых фракций ФЛ: ФХ (36%) и СМ (11,8 %).

В составе любых липидов имеются атомы О, Р и N, а также двойные связи в  $\beta$ -жирнокислотных цепях ФЛ, поэтому, несмотря на различия в соотношении фракций ФЛ и структуре основных фракций, в УФ-спектрах появление интенсивной полосы при  $\lambda_{\max}=200\pm 5$  нм закономерно, так как она обусловлена  $n \rightarrow \sigma^*$  переходом, характерным для соединений, содержащих гетероатомы с неподелённой электронной парой, и  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходами несопряженных двойных связей. Величину данного максимума рассматривают как количественную меру содержания липидов в биологическом материале [3]. Типичные УФ-спектры природных ФЛ представлены на рисунке 2-а. Изучение концентрационных зависимостей поглощения растворов данных ФЛ в гексане показало, что прямолинейная зависимость между оптической плотностью растворов и концентрацией ФЛ в области основной полосы поглощения ФЛ сохраняется в

относительно узком диапазоне концентраций: для КФ и ЛС  $(0,88 - 8,8) \times 10^{-5}$  моль/л и  $(0,44 - 3,08) \times 10^{-4}$  моль/л для СМ (рисунок 2,б-г).



**Рисунок 2.** Типичные УФ-спектры препаратов ФЛ (а), зависимость величины поглощения от концентрации ФЛ в гексане: б – СМ; в – ЛС; г - КФ

Различие диапазона концентраций, обусловлено, по-видимому, природой молекул и различиями величин коэффициентов молярной экстинкции. Был обнаружен батохромный сдвиг основной полосы поглощения с ростом концентрации ФЛ в гексане, который, возможно, обусловлен изменением полярности раствора. В зависимости от количества сопряженных двойных связей в жирнокислотных цепях ФЛ в УФ-спектрах наблюдается плечо при  $\lambda = 230 \pm 2$  нм, обусловленное  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходами сопряженных  $\pi$ -электронов, которые свидетельствуют о наличии ДК. При характеристике препаратов ФЛ также необходимо было учесть относительное количество кетодиенов (КД), наличие которых определяется полосой поглощения в диапазоне длин волн  $270 \pm 3$  нм, обусловленной  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходами  $\pi$ -электронов неподелённых электронных пар кислорода. СМ является одной из наиболее насыщенных фракций ФЛ, и в УФ-спектрах его растворов не наблюдаются полосы поглощения при длинах волн, характерных для поглощения ДК и КД, однако величины отношения поглощения в области 230 и 270 нм к поглощению максимума отличны от нуля. В целом, относительное содержание ДК и КД существенно зависит от соотношения фракций в препаратах ФЛ и, возможно, от объектов их выделения. Анализ результатов показал, что среди исследованных препаратов соевый ЛС и СМ

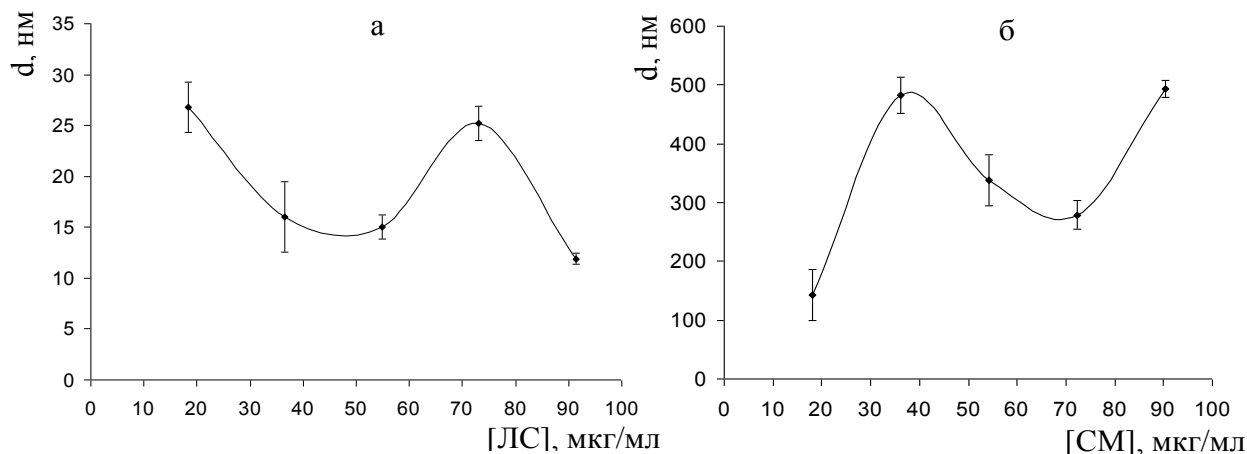
характеризуются более низким уровнем ДК и КД по сравнению с КФ, основной фракцией которого является ФЭ.

ИК-спектры ФЛ сложны в связи со сложностью строения их молекул и имеют полосы колебаний следующих связей:  $C_{sp^3}$ -H: валентные  $2998\text{ см}^{-1}$ , деформационные при  $1470\text{ см}^{-1}$  и  $1380\text{ см}^{-1}$ ; валентные колебания метиленовых групп ( $-CH_2-$ ) при  $2920\text{ см}^{-1}$ ;  $C_{sp^3}$ - $C_{sp^3}$ : валентные при  $1123\text{ см}^{-1}$ , деформационные  $1375\text{ см}^{-1}$ ; C=O (сложноэфирная): валентные при  $1742\text{ см}^{-1}$ , деформационные  $1198\text{ см}^{-1}$  (кроме растворов СМ); N-C: валентные при  $967\text{ см}^{-1}$ ; C-P: валентные при  $810\text{ см}^{-1}$ .

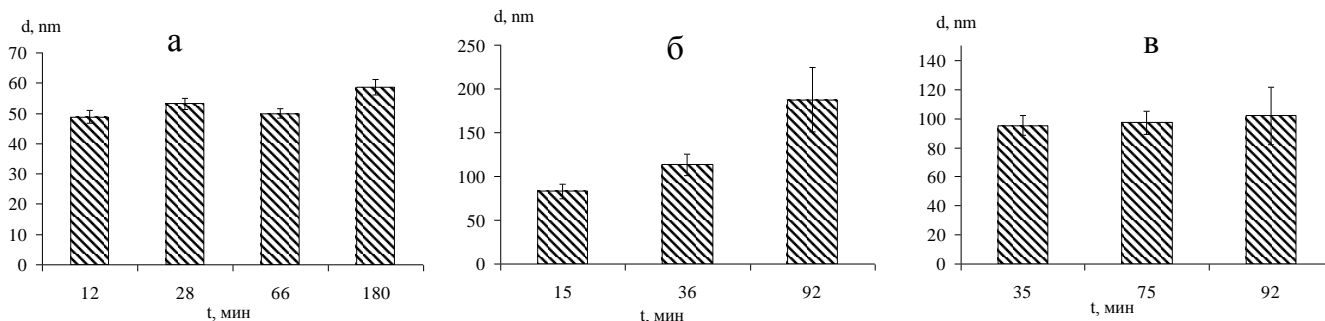
В ИК-спектрах СМ в гексане помимо этих полос были обнаружены валентные колебания N-H связи амидной группы в области  $3400\text{ см}^{-1} - 3300\text{ см}^{-1}$ , связанной водородными связями. Полоса валентных колебаний C=O связи при амидной группе смещается в более длинноволновую область и обнаруживается при  $1640\text{ см}^{-1}$ , что соответствует данным литературы. При этом в ИК-спектрах КФ в хлороформе были обнаружены валентные ( $3411\text{ см}^{-1}$ ) и деформационные ( $1640\text{ см}^{-1}$ ) колебания N-H связи, не связанной H-связями аминогруппы. В смесях ФЛ с АО максимальные отклонения были выявлены для валентных колебаний C=O связи сложноэфирной и амидной групп, N-H связи амидной группы свободной и связанной внутри- и межмолекулярными водородными связями и колебаний N-C связи холиновой группы. При условии, что между молекулами в растворе нет взаимодействия, зависимость интенсивности колебаний в ИК-диапазоне от концентрации должна иметь линейный характер. Однако установлено, что рост интенсивности полос поглощения вышеупомянутых групп при повышении концентрации ФЛ носит нелинейный характер, что свидетельствует об их участии в процессе ассоциации молекул ФЛ, а наибольшая вовлеченность в процесс ассоциации была обнаружена для N-C связи холиновой головки.

Было установлено, что ИК-спектры растворов ЛС и СМ в гексане при всех исследованных концентрациях изменяются во времени. О наиболее существенном вкладе сложноэфирной C=O группы в процесс агрегации молекул ФЛ свидетельствует и наиболее выраженные изменения ее характеристик с ростом времени экспозиции раствора ЛС в гексане. Также на ИК-спектры влияет и полярность растворителя. При увеличении полярности, но сохранении апротонности растворителя (переход от гексана к хлороформу) интенсивность колебаний сложноэфирной C=O группы уменьшается в 3,8 раза, а интенсивность валентных колебаний N-C связи увеличивается в два раза. Наибольший рост интенсивности, практически в 50 раз, обнаружен для полосы валентных колебаний C-O связи ЛС при переходе от апротонных растворителей к этанолу, что свидетельствует об участии этой группы в образовании межмолекулярных H-связей с молекулами этанола.

Поскольку фосфолипиды являются поверхностно-активными веществами, они способны к самоорганизации и в полярных, и в неполярных средах. Детальное исследование процесса самоорганизации ФЛ в различных растворителях (н-гексан, 4%-й водный раствор этанола) показало, что процесс является сложным и существенно зависит от концентрации и природы ФЛ, соотношения минорных фракций в составе препарата, времени экспозиции раствора и полярности среды. Эти выводы следуют из данных, представленных на рисунках 3-6.

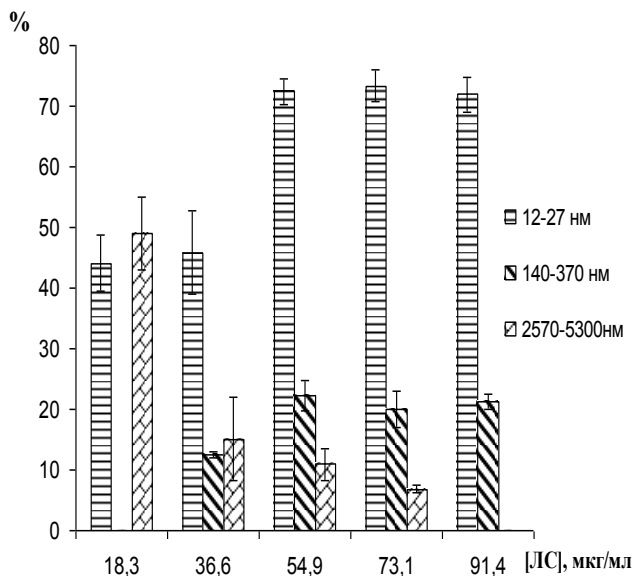


**Рисунок 3.** Зависимость размера агрегатов от концентрации фосфолипидов в гексане: а – ЛС (партия № 3), б – СМ (партия № 2)

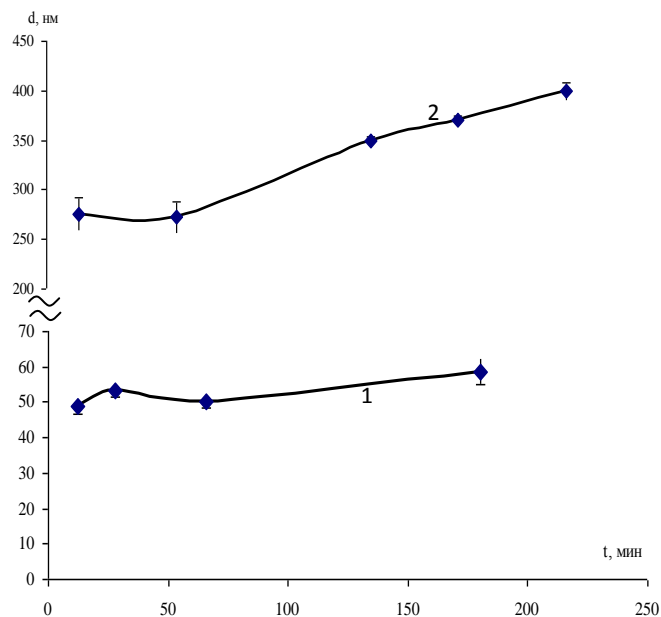


**Рисунок 4.** Влияние времени экспозиции растворов на размер основной фракции агрегатов фосфолипидов: а – сфингомиелина, [СМ]=35 мкг/мл (партия № 3), б – лецитина, [ЛС]=20 мкг/мл (партия № 4), в – кефалина, [КФ]=20 мкг/мл (партия № 1).

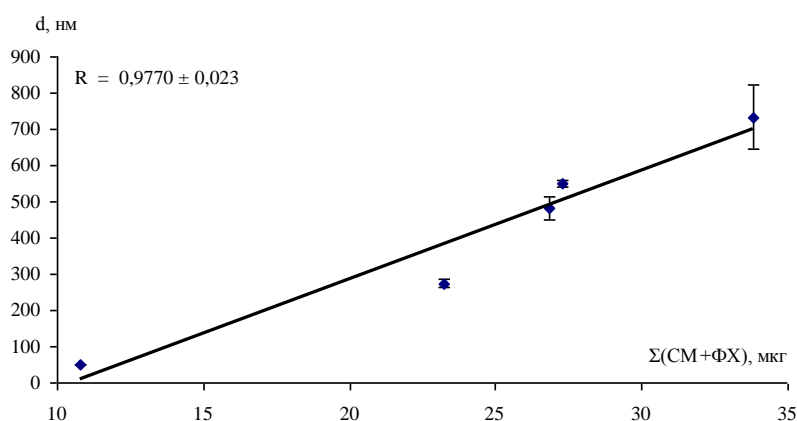
Корреляционный анализ данных мицеллообразования ФЛ в гексане показал, что для растворов ЛС важную роль играет отношение ЛФХ/ФХ: наблюдается уменьшение диаметра основной фракции мицелл с ростом отношения; для растворов СМ наблюдается линейный рост размера агрегатов при увеличении суммарного содержания СМ и ФХ (рисунок 7); для растворов L-α-КФ рост доли ФЭ+ЛФХ уменьшает размер агрегатов основной фракции.



**Рисунок 5.** Влияние концентрации ЛС (партия № 3) на процентное соотношение агрегатов различного размера



**Рисунок 6.** Зависимость среднего диаметра мицелл сфингомиелина в гексане от времени экспозиции раствора: 1 – [СМ] = 20 мкг/мл; 2 - [СМ] = 35 мкг/мл



**Рисунок 7.** Взаимосвязь между размером мицелл сфингомиелина в н-гексане и суммарным содержанием сфингомиелина и фосфатидилхолина в растворе; [СМ]=35-36 мкг/мл

**Глава IV «Физико-химические характеристики фенольных антиоксидантов»** посвящена изучению спектральных характеристик нового класса АО – ИБФ.

Методом УФ-спектроскопии фенольные АО были исследованы в диапазоне концентраций от  $8,8 \times 10^{-6}$  до  $4,4 \times 10^{-4}$  моль/л. Все исследованные фенолы в УФ-спектрах имеют три полосы поглощения: в области  $200 \pm 5$  нм полоса поглощения, связанная с  $n \rightarrow \sigma^*$  переходами неподеленной электронной пары кислорода ОН-группы; при  $215 \pm 5$  нм и  $275 \pm 5$  нм, наблюдаются полосы поглощения,

обусловленные  $\pi \rightarrow \pi^*$  переходами  $\pi$ -электронной системы бензольного кольца. Для всех фенолов наблюдается батохромный сдвиг полосы поглощения при  $\lambda=200\pm 5$  нм и отклонение от закона Бугера-Ламберта-Бера. Положение полос, связанных с переходами  $\pi$ -электронной системы бензольного кольца, не изменяются при увеличении концентрации АО. Закон Бугера-Ламберта-Бера во всем диапазоне концентраций сохраняется только для полосы при  $\lambda=275\pm 5$  нм, которую использовали для расчета стехиометрии образующихся комплексов АО с ФЛ.

В структурах изученных фенолов присутствуют только четыре типа электронодонорных групп (метильная, изоборнильная, изоборнилоксильная и *трет.*бутильная), способных вступать в сопряжение с ароматической системой. Различное сочетание данных групп незначительно влияет на положение максимумов полос при  $275\pm 5$  нм (таблица 2).

**Таблица 2.** Коэффициенты молярной экстинкции для полосы поглощения антиоксидантов при  $275\pm 5$  нм.

Антиоксидант	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	$\epsilon$ , л $\times$ моль $^{-1}\times$ см $^{-1}$
ВНТ	277	2640 $\pm$ 25
ТФ-1	277	3420 $\pm$ 30
ТФ-5	282	2900 $\pm$ 35
ТФ-6	274	2290 $\pm$ 40
ТФ-7	280	4460 $\pm$ 65
ТФ-8	279	2230 $\pm$ 40

Величины молярных коэффициентов поглощения ( $\epsilon$ ) изученных соединений при длине волны  $275\pm 5$  нм приведены в таблице 2. По увеличению  $\epsilon$  фенолы могут быть расположены в следующей последовательности: ТФ-8 $\leq$ ТФ-6<ВНТ<ТФ-5<ТФ-1<ТФ-7. Следует отметить, что для ТФ-5 и ТФ-8, молекулы которых содержат одинаковые заместители, но в разном расположении относительно ОН-группы, значения  $\epsilon$  различаются: увеличение происходит при перемещении  $\text{CH}_3$ -заместителя из *орто*- в *пара*- положение. К достоверному увеличению  $\epsilon$  приводит замена изоборнильного (ТФ-6) на изоборнилоксильный (ТФ-1) заместитель. Наиболее высоким значением  $\epsilon$  характеризуется ТФ-7, в структуре которого все положения, сопряженные с гидроксильной группой, заняты электронодонорными заместителями. Сравнение  $\epsilon$  и структур ионола (ВНТ) и ТФ-7 показало, что изоборнильные группировки обладают большим эффектом и в силу большего количества атомов в группе и меньших экранирующих свойств [6].

В ИК-спектрах исследованных фенолов (таблица 3) обнаружены следующие полосы колебаний: валентные колебания О-Н связи, колебания двойных связей, валентные колебания  $\text{C}_{\text{ар}}\text{-H}$  связи, валентные колебания  $\text{C}_{\text{SP}^3}\text{-H}$ , валентные и

деформационные колебания  $C_{SP^3}-C_{SP^3}$ , валентные колебания метиленовых групп ( $-CH_2-$ ), валентные колебания  $C_{ap}-O$  связи.

**Таблица 3.** Частоты некоторых валентных колебаний для фенольных АО в гексане при  $[АО]=10^{-2}$  моль/л.

АО	$\nu_{O-H}, \text{см}^{-1}$	$\nu_{C-H}, \text{см}^{-1}$	$\nu_{C-O}, \text{см}^{-1}$
ТФ-1	3561,2	2961,4; 2952,0 сл; 2931,4 сл	1259,9; 1223,5; 1194,4
ТФ-5	3620,5	2961,4; 2952,0 сл; 2931,4 сл	1255,3; 1223,2; 1183,9; 1168,3
ТФ-6	3618,8	2960,7; 2945,5; 2887,1; 2868,2	1266,7; 1247,1; 1166,2; 1154,1; 1125,6; 1193,0
ТФ-7	3613,5	2964,4; 2952,0; 2930,0	1288,3; 1271,0; 1202,4; 1185,6; 1173,4; 1146,9; 1127,3
ТФ-8	3620,5	2961,4; 2948,3; 2931,5; 2887,1	1278,0; 1261,1; 1168,2; 1200,8; 1188,2; 1108,8; 1231,2; 1215,2; 1158,3; 1120,1
ВНТ	3655,4	2960,2; 2945,5; 2925,0; 2887,1; 2868,2	1231,2; 1215,2; 1158,3; 1120,1
ТФ-37	3613,5	2960,7; 2945,5; 2925,0; 2887,1; 2868,2	1271,3; 1256,0; 1229,2; 1220,4; 1202,1; 1183,1; 1127,9; 1171,8
ТФ-47	3611,8	2960,7; 2945,5; 2925,0; 2887,1; 2868,2	1272,4; 1236,2; 1211,0; 1201,9; 1187,9; 1150,4; 1124,7
ТФ-50	3622,2	2960,2; 2945,5; 2925,0; 2887,1; 2868,2	1271,9; 1256,8; 1240,8; 1201,9; 1188,5; 1172,7; 1149,6; 1108,9

По уменьшению значения частоты валентных колебаний О-Н связи, характерной для пространственно незатрудненных фенолов, исследованные фенолы образуют следующую последовательность:

$$\text{ТФ-50} > \text{ТФ-8} = \text{ТФ-5} > \text{ТФ-6} > \text{ТФ-37} = \text{ТФ-7} > \text{ТФ-47} > \text{ТФ-1}.$$

Положение полос, связанных с валентными колебаниями  $C_{ap}-H$  связей, практически для всех ИБФ находятся при  $\nu=2963 \pm 3 \text{ см}^{-1}$ , а по увеличению  $\nu_{C_{ap}-O}$  связи АО могут быть располагаются в ряд:

$$\text{ВНТ} < \text{ТФ-5} < \text{ТФ-1} < \text{ТФ-6} < \text{ТФ-37} \leq \text{ТФ-50} \leq \text{ТФ-47} < \text{ТФ-8} < \text{ТФ-7}.$$

Таким образом, на характеристики полос в ИК-спектре влияют количество и электронодонорная способность заместителей, стоящих в положениях прямого сопряжения с ОН-группой, степень экранированности ОН-группы и ее участие в образовании внутримолекулярной Н-связи с *орто*-заместителями. Образование внутримолекулярной Н-связи установлено для ТФ-1 [7], которое приводит к сдвигу валентных колебаний О-Н связи в область более низких частот.

Исследование влияния полярности растворителя и концентрации ВНТ и ИБФ на их ИК-характеристики показало, что наиболее значительные изменения

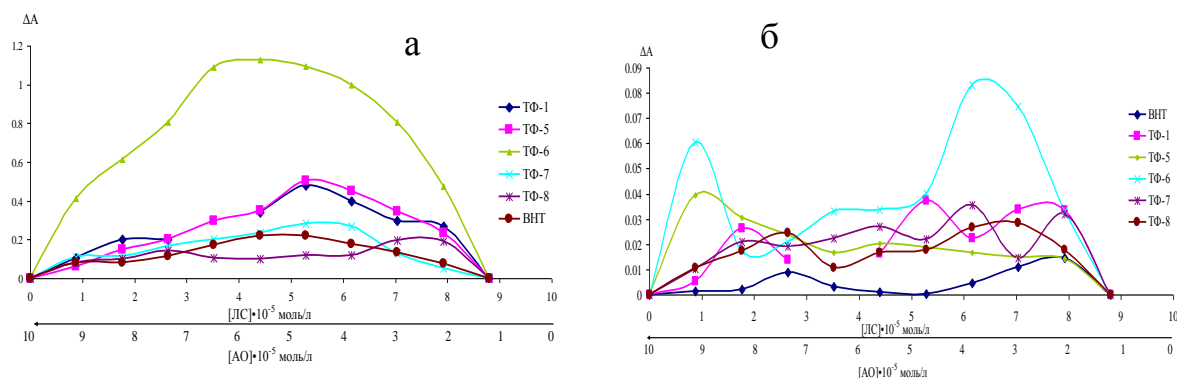
претерпевает полоса валентных колебаний О-Н связи. В этаноле происходит смещение полосы валентных колебаний ОН-группы в сторону меньших значений частот, что характерно для ОН-группы, связанной межмолекулярными Н-связями.

В Главе V «Физико-химические характеристики комплексов фенольных антиоксидантов с природными фосфолипидами» исследованы параметры комплексообразования природных ФЛ и ИБФ методами УФ- и ИК-спектроскопии и динамического рассеяния света.

Расчет параметров комплексообразования был проведен при двух областях длин волн: основной полосы ( $200 \pm 10$  нм) и  $\beta$ -полосы бензольного кольца ( $275 \pm 5$  нм), положение максимума которой для ИБФ не зависит от их концентрации, а интенсивность этой полосы существенно превышает величину поглощения растворов ФЛ при  $\lambda = 275$  нм.

Наибольшим отклонением оптической плотности спектра смеси от аналогичной величины суммарного спектра ( $\Delta A$ ) при 205 нм характеризуется смесь ЛС с ТФ-6, менее значительные изменения в УФ-спектрах выявлены для смесей ЛС с ТФ-5 и ТФ-1, а наиболее слабые для смесей ЛС с ТФ-7, ВНТ и ТФ-8 (рисунок 8-а), что свидетельствует о влиянии структуры ИБФ на их комплексообразование с ЛС. Максимальное отклонение  $\Delta A$  при 275 нм также наблюдается для смеси ЛС с ТФ-6, т.е фенола, не имеющего дополнительных электронодонорных групп в местах прямого сопряжения с ОН-группой, (рисунок 8-б).

Величины изменений интенсивностей ( $\Delta I$ ) колебаний функциональных групп в ИК-спектрах смесей ЛС с ИБФ в растворителях с различным дипольным моментом (гексан,  $\mu = 0,08$ ; хлороформ,  $\mu = 1,15$ ; этанол,  $\mu = 1,69$ ) обобщены в таблицах 4-6.



**Рисунок 8.** Отклонение оптической плотности раствора смесей лецитина с АО при  $\lambda = 200 \pm 5$  (а) и  $\lambda = 275 \pm 5$  (б) нм при увеличении концентрации ЛС от  $8,8 \times 10^{-6}$  до  $8,8 \times 10^{-5}$  моль/л и соответствующем уменьшении концентрации АО.



**Таблица 4.** Изменение ИК-характеристик при комплексообразовании лецитина с антиоксидантами в гексане

Фенольный антиоксидант	$\Delta I$ при $\nu=3652-3562 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=3395 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=1739 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=970 \text{ см}^{-1}$
ТФ-1	0,0003	0,0004	0,0013	0,0005
ТФ-5	0,0005	0,0024	0,0093	0,0075
ТФ-6	0,0003	0,0009	0,0024	0,0005
ТФ-7	0,0012	0,0008	0,0004	0,0002
ТФ-8	0,0003	0,0010	0,0018	0,0011
ВНТ	0,0005	0	0	0

**Таблица 5.** Изменение ИК-характеристик при комплексообразовании лецитина с антиоксидантами в хлороформе

Фенольный антиоксидант	$\Delta I$ при $\nu=3652-3562 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=3395 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=1739 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=970 \text{ см}^{-1}$
ТФ-1	0,0005	0,0003	0,0003	0,0003
ТФ-5	0,0013	0,0025	0,016	0,010
ТФ-6	0,0011	0,0005	0,005	0,005
ТФ-7	0,0005	0,0015	0,008	0,0002
ТФ-8	0,0013	0,0020	0,010	0,0011
ВНТ	0,0010	0,0015	0,004	0

**Таблица 6.** Изменение ИК-характеристик при комплексообразовании лецитина с антиоксидантами в этаноле.

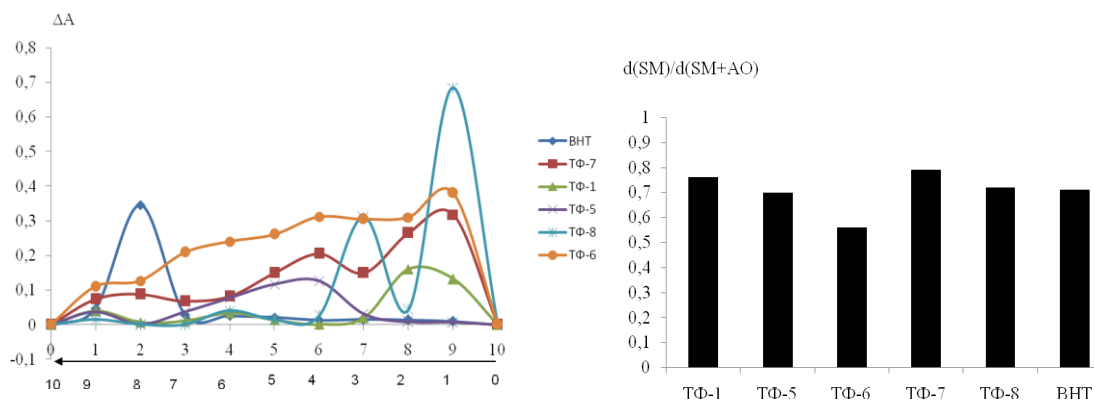
Фенольные антиоксиданты	$\Delta I$ при $\nu=3652-3562 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=3395 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=1739 \text{ см}^{-1}$	$\Delta I$ при $\nu=970 \text{ см}^{-1}$
ТФ-1	0,01	0,01	0,01	0,0025
ТФ-5	0,1	0,08	0,09	0,032
ТФ-6	0,07	0,03	0,07	0,026
ТФ-7	0,015	0,01	0,015	0,0025
ТФ-8	0,03	0,035	0,925	0,01
ВНТ	0,09	0,07	0,975	0,0275

Как видно, увеличение протонодонорных свойств растворителя приводит к увеличению отклонения интенсивности колебания всех исследованных групп, возможно, обусловлено более эффективным взаимодействием этанола и с ИБФ, и с лецитином.

Наиболее значительные изменения в спектрах ФХ (Sigma) с ИБФ в этаноле также выявлены в области колебаний ОН-группы фенолов, как и для их смесей с ЛС. Однако при этом наблюдалось уменьшение масштаба эффектов

комплексообразования, возможно, обусловленное меньшим содержанием минорных фракций ФЛ в L- $\alpha$ -ФХ по сравнению с ЛС.

Для смесей СМ с ИБФ также не наблюдается образование новых полос поглощения в спектрах, однако величины  $\Delta A$  значительно больше, чем в случае ЛС, а максимумы  $\Delta A$  наблюдаются при другом мольном соотношении компонентов: 9:1 (рисунок 9-а). Кроме того, для смесей СМ с ТФ-1, ТФ-7 и ТФ-8 наблюдается несколько экстремумов, что свидетельствует о наличии комплексов переменного состава. Наименее выраженные изменения интенсивности в ИК-спектрах смесей растворов СМ с АО в хлороформе по сравнению с индивидуальными компонентами наблюдаются именно в области валентных колебаний ОН-группы АО. Для смесей СМ с ТФ-6, ТФ-7 и ТФ-8 эти изменения не так значительны, как для смесей СМ с другими АО, что предполагает участие ОН-групп АО в ослаблении межмолекулярной Н-связи в молекулах СМ.



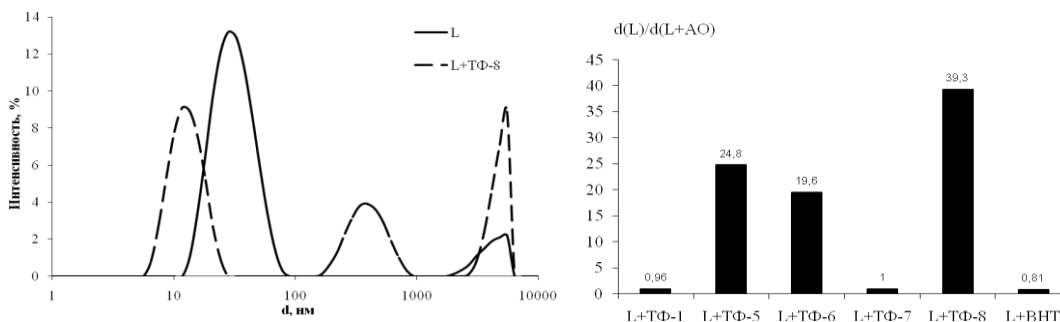
**Рисунок 9.** Изменение отклонения оптической плотности спектра смесей СМ с АО при 275 нм при увеличении концентрации СМ от  $4,4 \times 10^{-5}$  до  $4,4 \times 10^{-4}$  моль/л и соответствующем уменьшении концентрации АО (а); изменение размеров агрегатов СМ в гексане при добавлении эквимольного количества АО (б).

По сравнению со спектрами смесей ЛС и СМ с АО, смеси ФЭ с АО характеризуются наименьшим отклонением спектра смеси от суммарного спектра отдельных компонентов. Наиболее выраженные отклонения в ИК-спектрах были обнаружены для полос поглощения ОН-групп АО, сложноэфирной карбонильной группы ФЭ и ассиметричных колебаний Р-О связи фосфорной головки ФЭ. Наличие электронодонорного заместителя в *орто*- и *пара*-положении относительно ОН-группы в структуре фенола вызывает увеличение масштаба воздействия АО на ИК-характеристики полос колебаний группировок ФЭ.

Следовательно, по вовлеченности в процесс комплексообразования, независимо от структуры ИБФ, препараты ФЛ располагаются в последовательности: СМ>ЛС>КФ, а в комплексообразовании участвуют ОН-группы ИБФ, сложноэфирная (ЛС и КФ), амидная (СМ) и холиновые группы ФЛ.

Природа ФЛ играет важную роль и при анализе способности фенольных АО влиять на самоорганизацию ФЛ в различных растворителях. Так, в случае эквимольных смесей ЛС с ТФ-1, ТФ-7 и ВНТ не наблюдается достоверных

изменений размера мицелл, тогда как в случае смесей ЛС с ТФ-5, ТФ-6 и ТФ-8 наблюдается значительное снижение размера агрегатов (в 20-40 раз), что свидетельствует о выраженных мембранотропных свойствах последних (рисунок 10). По уменьшению влияния на процесс мицеллообразования ЛС в гексане все исследованные фенольные АО образуют следующую последовательность: ТФ-8 > ТФ-5 > ТФ-6 >> ВНТ > ТФ-1 > ТФ-7.



**Рисунок 10.** Изменение распределения по размерам мицелл лецитина в присутствии и отсутствии эквимольного количества ТФ-8 (а); изменение размеров агрегатов ЛС в гексане в присутствии эквимольных количеств исследованных АО (б).

В то же время по уменьшению среднего диаметра основной фракции агрегатов L- $\alpha$ -ФХ в присутствии ИБФ их последовательность выглядит иначе: ТФ-7 > ТФ37  $\geq$  ВНТ  $\geq$  ТФ-47  $\geq$  ФХ = ТФ50 > ТФ-5. В случае же смесей СМ с исследованными АО наблюдается только увеличение размеров агрегатов на 10 – 40 % (рисунок 9, б).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет сделать следующие обобщения. Детальное исследование препаратов природных ФЛ методами УФ- и ИК-спектроскопии, динамического рассеяния света показало, что несмотря на сложность молекул, их физико-химические характеристики обладают как общностью показателей (наличие трех полос поглощения в УФ-спектрах в области  $\lambda$  195-210 нм, 230-234 нм и 260-280 нм; батохромный сдвиг в области 195-210 нм с ростом концентрации ФЛ в растворе, обусловленный наличием в их молекулах гетероатомов О, Р и N; близость частот валентных колебаний связей в ИК-спектрах; способность к самоагрегации в растворах), так и существенно зависят от природы основной фракции ФЛ, полярности среды, времени экспозиции растворов и наличия минорных фракций в препаратах. Исследование спектральных характеристик нового класса АО – ИБФ, показало, что увеличение количества электронодонорных заместителей смещает максимум основной полосы поглощения в УФ-спектрах в длинноволновую область, а на ее интенсивность большее влияние оказывает экранированность ОН-группы. Поскольку частота колебаний связей прямо пропорциональна энергии связи между атомами, то

увеличение электронодонорной способности заместителей увеличивает энергию связи О-Н и уменьшает энергию связи С-О.

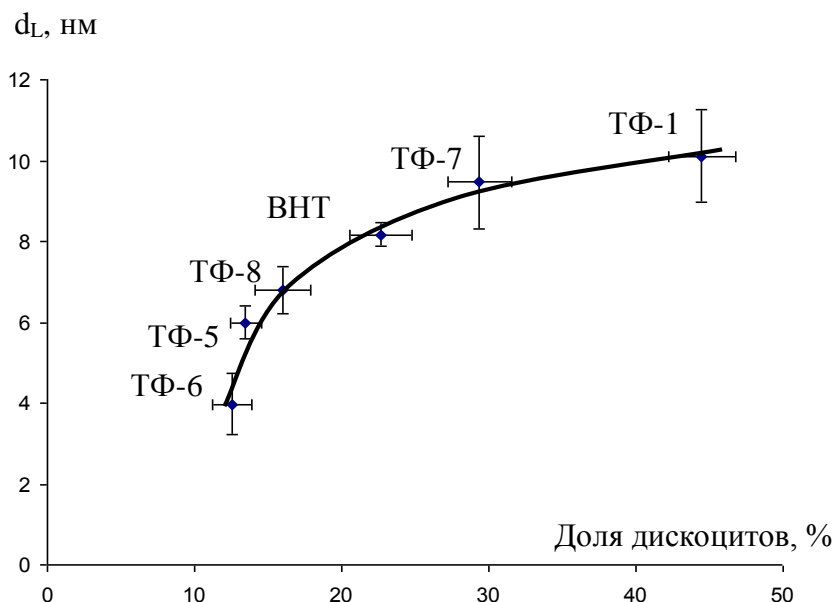
Изученные ИБФ и ЛС обладают антипероксидной активностью. В сравнении с отдельными компонентами АПА смесей ЛС с ИБФ не является аддитивной величиной. Так, для смесей ЛС с ТФ-1 и ТФ-7 наблюдается снижение АПА по сравнению с индивидуальными компонентами, в то время как в случае ТФ-5 величина АПА имеет тенденцию снижения в следующей последовательности: ЛС=ЛС+ТФ-5 $\geq$ ТФ-5. Таким образом, из полученных результатов следует, что действие смесей в реакции с гидропероксидами является неаддитивным. Это обусловлено, по-видимому, двумя причинами: образованием межмолекулярных водородных связей при взаимодействии реагентов с молекулами окисленного метилолеата и комплексообразованием АО с ФЛ.

Наличие молекулярных комплексов переменного состава в смесях ИБФ и идиола с природными ФЛ подтверждено методом изомолярных серий на основании величины отклонения оптической плотности спектра смеси от аналогичной величины суммарного спектра ( $\Delta A$ ) в зависимости от мольного соотношения компонентов. Выявлено, что знак и масштаб выраженности эффектов фенольных АО в смесях с препаратами природных липидов, зависит не только от структуры АО, но и природы основной фракции ФЛ. По величине максимального  $\Delta A$  и мольной доли ФЛ, при которой зафиксировано максимальное отклонение, независимо от структуры ИБФ, природные ФЛ располагаются в последовательности: СМ>ЛС>КФ, т.е. наиболее выражены эффекты комплексообразования ИБФ и СМ. На процесс комплексообразования оказывает влияние экранированность ОН-группы АО и электронодонорная природа заместителей в бензольном кольце в положении прямого сопряжения с ОН-группой. Конкуренция донорной способности и экранирующих эффектов алкильных заместителей в молекулах АО влияет на их способность модифицировать агрегацию ФЛ.

Сам процесс самоорганизации природных ФЛ в гексане, чрезвычайно сложен и зависит от многих факторов: время экспозиции растворов, наличие в препаратах минорных фракций, концентрации ФЛ. Эквимолярные добавки ИБФ влияют на мицеллообразование ФЛ. Наиболее существенные изменения параметров мицеллообразования в присутствии ИБФ зафиксированы для их смесей с ЛС. Была обнаружена взаимосвязь между средним размером мицелл основной фракции лецитина в смесях с изученными фенольными АО в н-гексане и долей дискоцитов в суспензии эритроцитов крови мышей при их инкубации с этими же АО в течении четырех часов [8] (рисунок 11). Это позволяет предположить, что способность различных соединений влиять на агрегацию лецитина в неполярном растворителе может быть использована в качестве модельной системы как

наиболее адекватной для первичной оценки их способности изменять структурное состояние клеточных мембран.

Таким образом, совокупность представленных данных позволяет заключить, что биологическая активность ИБФ главным образом обусловлена их взаимодействием с ФЛ внешнего слоя биологических мембран, а комплексообразование ИБФ преимущественно со СМ является основой их влияния на структуру биологических мембран.



**Рисунок 11.** Взаимосвязь между размером мелких мицелл ( $d \leq 10$  нм) в смесях лецитина ( $[L] = 55$  мкг/мл гексана;  $d_L = 15,3 \pm 0,5$  нм) с изученными антиоксидантами и долей дискоцитов в суспензии эритроцитов крови белых беспородных мышей (самцы) при их инкубации с фенольными антиоксидантами ( $[АО] = 100$  мкМ) в течение 4-х часов.

## ВЫВОДЫ

1. Изучены физико-химические характеристики семи препаратов природных фосфолипидов. Показано, что на их физико-химические параметры (УФ-, ИК-спектры, мицеллообразование) существенное влияние оказывают природа основной фракции, полярность среды, время экспозиции растворов и наличие минорных фракций.
2. Методами УФ- и ИК-спектроскопии изучены спектральные характеристики 8 изоборнилфенолов. Показано, что валентные колебания ОН-группы находятся в области, характерной для пространственно незатрудненных фенолов. Для гибридных соединений, содержащих и изоборнильный, и *трет.*бутильный заместители в *орто*-положениях помимо основной полосы колебаний в области  $3613 \text{ см}^{-1}$  обнаружена дополнительная гораздо менее интенсивная полоса при  $3655\text{-}3656 \text{ см}^{-1}$ , что свидетельствует о частичном экранировании ОН-группы в данных соединениях.

3. Доказано наличие молекулярных комплексов переменного состава природных фосфолипидов и изоборнилфенолов. Изучено влияние структуры изоборнилфенолов и природы основной фракции фосфолипидов на процесс комплексообразования, зависящий от полярности среды. Наименее выраженная способность к комплексообразованию выявлена у изоборнилфенола с более экранированной ОН-группой. По вовлеченности в процесс комплексообразования независимо от структуры АО препараты фосфолипидов располагаются в последовательности: сфингомиелин > лецитин > кефалин. В комплексообразовании независимо от природы растворителя участвуют ОН-группы ИБФ, сложноэфирная (лецитин), амидная (сфингомиелин) и холиновая группы ФЛ.
4. Методом динамического светорассеяния показано, что исследованные изоборнилфенолы способны влиять на параметры самоорганизации природных фосфолипидов в различных растворителях. Самые сильные изменения параметров мицеллообразования в присутствии изоборнилфенолов зафиксированы для их смесей с лецитином в *n*-гексане. Обнаружено уменьшение размеров агрегатов лецитина в присутствии изоборнилфенолов, в молекулах которых свободно одно *орто*-положение, что свидетельствует о возможных цитотоксических свойствах данных соединений. Только в присутствии ТФ-7 размеры мицелл в растворе смеси достоверно не отличаются от размеров мицелл индивидуального лецитина. Предложена модель для первичной оценки поверхностно-активных свойств новых соединений по их влиянию на параметры агрегации лецитина в неполярном растворителе.
5. Совокупность представленных данных и анализ литературы свидетельствуют о том, что изоборнилфенолы могут участвовать в регуляции перекисного окисления липидов на разных стадиях; что обусловлено их взаимодействием с фосфолипидами внешнего слоя биологических мембран, а комплексообразование изоборнилфенолов преимущественно со сфингомиелином является основой их влияния на структуру биологических мембран.

**Список работ, опубликованных по материалам диссертации в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК:**

1. **Маракулина, К.М.** Влияние состава фосфолипидов на их агрегацию в неполярном растворителе / К.М. Маракулина, И.Г. Плащина, М.В. Козлов, Л.Н. Шишкина // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 25. – N 7. – С. 96-100.
2. **Маракулина, К.М.** Использование методов УФ- и ИК-спектроскопии для исследования комплексообразования молекул сфингомиелина с фенольными антиоксидантами / **К.М. Маракулина**, Р.В. Крамор, Ю.К. Луканина, М.В. Козлов, Л.Н. Шишкина // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2012. Т. 53. – № 4. – С. 261-268.
3. Шишкина, Л.Н. Поверхностно-активные свойства изоборнилфенолов в системах различной степени сложности / Л.Н. Шишкина, М.В. Козлов, **К.М. Маракулина**,

И.Г. Плащина, С.Н. Плюснина, О.Г. Шевченко, И.В. Федорова, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин // Биофизика. – 2012. – Т. 57. - № 6. – С. 1008.

4. Козлов, М.В. Значимость исходного состояния печени мышей для формирования последствий совместного действия факторов разной природы / М.В. Козлов, **К.М. Маракулина**, Л.Н. Шишкина // Радиационная Биология. Радиоэкология – 2012. – Т. 52. – № 1. – С. 44-49.

5. Шишкина, Л.Н. Кинетические характеристики и физико-химические свойства изоборнилфенолов с разными алкильными заместителями в *o*-положении / Л.Н. Шишкина, Л.И. Мазалецкая, **К.М. Маракулина**, Ю.К. Луканина, И.Г. Плащина, Н.И. Шелудченко, Е.В. Буравлев, И.В. Федорова, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин // Изв. Академии наук. Сер. химическая. – 2014. – № 9. – С. 2007-2012.

6. **Маракулина, К.М.** Влияние природы фосфолипидов на масштаб их взаимодействия с антиоксидантами нового класса – изоборнилфенолами / К.М. Маракулина, Р.В. Крамор, Ю.К. Луканина, И.Г. Плащина, А.В. Поляков, И.В. Федорова, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин, Л.Н. Шишкина // ЖФХ. – 2016. – Т. 90. - № 2. С. 182-189.

**Статьи в сборниках трудов конференций, зарубежных журналах и коллективных монографиях, имеющих индекс ISBN:**

1. **Marakulina, K.M.** Assessment of the Membrane Active and Membrane Protective Properties of Isobornylphenols in the Chemical and Biological Model System / **К.М. Marakulina**, I.G. Plaschina, O.G. Shevchenko, S.N. Plyusnina, I.V. Fedorova, M.V. Kozlov, I.Yu. Chukicheva, A.V. Kutchin, L.N. Shishkina // Journal of Information, Intelligence and Knowledge – 2012. – V. 6. – No 3. – P. 225-232.

2. **Маракулина, К.М.** Влияние фосфолипидов на физико-химические показатели фенольных антиоксидантов / К.М. Маракулина, Р.В. Крамор, Л.Н. Шишкина // Труды X молодежной конференции ИБХФ РАН – ВУЗЫ «Биохимическая физика». М.:РАН. – 2010. – С. 153-156.

3. **Маракулина, К.М.** Роль структуры изоборнилфенолов и полярности растворителя в комплексообразовании с лецитином / К.М. Маракулина, Ю.К. Луканина, Р.В. Крамор, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин, Л.Н. Шишкина // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума. Москва, 2-5 октября 2012 г. отв. ред. Н.В. Загоскина. – М.: ИФР РАН, РУДН, 2012. С. 116-121.

4. Шишкина, Л.Н. Биологические модельные системы для изучения механизма формирования отдаленных последствий воздействия неблагоприятных экологических факторов на организм» / Л.Н. Шишкина, М.А. Климович, М.В. Козлов, Ю.К. Луканина, **К.М. Маракулина**, В.А. Меньшов, Н.В. Хрустова, О.Г. Шевченко // коллективная монография «Здоровье населения России: влияние окружающей среды в условиях изменяющегося климата» / Под общ редакцией акад. А.И. Григорьева, Российская академия наук. М. Наука, 2014. С. 217-240 (глава 2.1.2.).

5. **Маракулина, К.М.** Влияние природы фосфолипидов на параметры их комплексообразования с 4-метил-2,6-диизоборнилфенолом» / **К.М. Маракулина**, Р.В. Крамор, Ю.К. Луканина, И.Г. Плащина, Л.Н. Шишкина, И.В. Федорова, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин // Химия и фармакология растительных веществ. Всерос. научн. конф. Сыктывкар, 2014 г. С. 130-132.

6. **Marakulina, K.M.** Complexation of lecithin with phenolic antioxidants / K.M. Marakulina, R.V. Kramor, Yu.K. Lukanina, L.N. Shishkina, A.V. Kutchin, I.Yu. Chukicheva // *Advances in sustainable petroleum engineering science*. – 2013. – V. 4. – Iss. 4. – pp. 223-234.

7. **Маракулина, К.М.** Спектральные характеристики полусинтетических антиоксидантов нового класса – изоборнилфенолов / **К.М. Маракулина**, Р.В. Крамор, Ю.К. Луканина, И.В. Федорова, И.Ю. Чукичева, А.В. Кучин, Л.Н. Шишкина // *Биоантиоксидант = Bioantioxidant : труды IX Международной конференции*. Москва, 29 сентября – 2 октября 2015 г. – Москва : РУДН, 2015. – С. 58-65.

8. Шишкина, Л.Н. Мицеллообразование сфингомиелина в различных условиях / Л.Н. Шишкина, К.М. Маракулина, И.Г. Плащина // *Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2016: материалы XI международной научно-технической конференции*, г. Севастополь, 25-29 апреля 2016 г.: в 2 т. – Т.2. – Севастополь: Севастопольский государственный университет, 2016 – С. 151-154.

### ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова, Е. Б. Биоантиоксиданты: вчера, сегодня, завтра [Текст] / Е.Б. Бурлакова // *Биологическая кинетика. Сб. обзорных статей*. – Т. 2. – М.: Химия, – 2005. – с. 10-45.

2. *Биологические мембраны. Методы* / Под ред. Дж. Б. Финдлея, У. Г. Эванза. – М.: Мир, 1990. 424 с.

3. Шведова, А. А. Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo* [Текст] / А. А. Шведова, Н. Б. Полянский М.: Наука., 1992. – С. 74-76.

4. Меньшов, В. А. Липиды биосорбентов: состав, структура, свойства и стабильность при хранении [Текст] / В. А. Меньшов, Л. Н. Шишкина, З. Н. Кишковский // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 1993. – Т. 29. – № 4. – С. 900-910.

5. Козлов, М. В. Влияние характеристик липидов на функционирование физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.02-биофизика / Козлов Михаил Васильевич. – Москва, 2008. – 130 с.

6. Шишкина, Л. Н. Кинетические особенности фенолов с изоборнильным заместителем / Л. Н. Шишкина, С. В. Луцкеина, М. В. Козлов, Л. И. Мазалецкая, Н. И. Шелудченко // *Биоантиоксидант = Bioantioxidant : труды IX Международной конференции*. Москва, 29 сентября – 2 октября 2015 г. – Москва: РУДН. – 2015. – 345 с.

7. Мазалецкая, Л. И. Кинетические характеристики реакции изоборнилфенолов с пероксирадикалами [Текст] / Л. И. Мазалецкая, Н. И. Шелудченко, Л. Н. Шишкина, А.В. Кучин, И.Ю. Чукичева // *Нефтехимия*. – 2011. – Т. 28. – № 1. С. 78-80.

8. Шишкина, Л. Н. Поверхностно-активные свойства изоборнилфенолов в системах различной степени сложности [Текст] / Л. Н. Шишкина, М. В. Козлов, К. М. Маракулина, И. Г. Плащина, С. Н. Плюсина, О. Г. Шевченко, И. В. Федорова, И. Ю. Чукичева, А. В. Кучин // *Биофизика*. – 2012. – Т. 57. – № 6. – С. 1008.