



УДК 577.112.3.087:616.858-008.6

## ОКИСЛЕНИЕ В ЛИПОСОМАХ ИЗ ЯИЧНОГО ФОСФАТИДИЛХОЛИНА, НАГРУЖЕННЫХ L-3,4-ДИГИДРОКСИФЕНИЛАЛАНИНОМ (DOPA) И ДОПАМИНОМ: ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ

© 1997 г. Н. В. Борисова<sup>#</sup>, И. В. Жигальцев, О. В. Богомолов, А. П. Каплун, В. В. Юрасов\*, В. Г. Кучеряну\*, Е. В. Никушкин\*, Г. Н. Крыжановский\*, В. И. Швец

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 117571, Москва, просп. Вернадского, 86;

\* Институт общей патологии и патологической физиологии РАМН, Москва

Поступила в редакцию 07.08.96 г.

Исследовано окисление яичного фосфатидилхолина и катехолов в липосомных дисперсиях допамина и DOPA. Показано, что при хранении в темноте при 4°C допамин и DOPA, включенные в липосомы, уменьшают скорость окисления фосфатидилхолина в 4.9 и 2.6 раза соответственно. В условиях Fe(II)-аскорбатиндуцированного окисления через 40 мин уровень малонового альдегида не изменялся в липосомах с включенными допамином или DOPA, тогда как в пустых липосомах он возрастал в 3.4 раза. Катехолы, находящиеся внутри липосом, оказываются защищенными от окисления яичным фосфатидилхолином. Показано, что скорость окисления DOPA и допамина в липосомных препаратах существенно меньше, чем в мицеллярных растворах в аналогичных условиях. Это, по-видимому, можно отнести за счет барьерной функции липидного бислоя.

*Ключевые слова:* DOPA, допамин, катехолы, липосомы, яичный фосфатидилхолин, перекисное окисление липидов, синдром Паркинсона, 2-тиобарбитуровая кислота, антиоксидантные свойства.

В предыдущих работах нами было показано, что использование липосом как средства доставки DOPA к месту его действия позволяет в 10 раз снизить дозу препарата и обеспечить эффективную коррекцию двигательных нарушений у мышей с экспериментальным, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридининдуцированным паркинсоническим синдромом [1–3]. Полученные данные свидетельствуют о том, что липосомы способны защищать DOPA от периферического декарбоксилирования, которому обычно подвергается 80% вводимого в растворе DOPA [4, 5].

Было также обнаружено, что пустые липосомы из яичного фосфатидилхолина (ePC) при длительном введении мышам сами способны улучшать показатели двигательной активности у животных с индуцированным синдромом [2]. Известно, что при паркинсонизме в мозге усиливается свободно-радикальное окисление, продукты которого оказывают токсическое действие на клеточные мембраны [6], а так как ненасыщенные фосфолипиды обладают антиоксидантными свойствами [7], то не исключено, что терапевтический эффект

липосомного препарата DOPA, по крайней мере в некоторой степени, обусловлен антиоксидантными свойствами ePC. С другой стороны, и DOPA, и допамин (DA) сами легко окисляются кислородом (особенно при pH > 7). Перечисленные выше факты говорят о необходимости изучения процесса окисления компонентов липосомных препаратов DOPA и DA. Представляет интерес влияние исследуемых веществ на окисление друг друга. Изучению этого вопроса и посвящена настоящая работа.

В первой части работы мы изучали влияние DOPA и DA, заключенных в липосомы, на перекисное окисление ePC в процессе хранения липосом, а также при инициации окисления Fe(II)-аскорбатом.

Для катехолов (Cat), как и для многих других веществ, способных к окислению, описано как антиоксидантное [8], так и прооксидантное действие [9]. Ясно, что это кажущееся противоречие объясняется условиями конкретного исследования, в первую очередь природой субстрата и окислителя, а также концентрациями участвующих в окислении веществ. Для DOPA и DA картина может существенно осложняться, так как при окислении этих катехолов последовательно образуются по крайней мере два типа продуктов, способных реагировать с пероксидными радикалами –

Сокращения: DOPA – L-3,4-дигидроксифенилаланин; допамин, DA – 2-(3,4-дигидроксифенил)этиламин; SDC – дезоксихолат натрия; Cat – катехолы; ПОЛ – перекисное окисление липидов; TBA – 2-тиобарбитуровая кислота; ePC – яичный фосфатидилхолин; Chol – холестерин.

<sup>#</sup> Автор для переписки.

хиноны и аминохромы (продукты внутримолекулярной атаки аминогруппой хинонового кольца) [10].

В настоящей работе для определения интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовался метод определения концентрации продуктов ПОЛ по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТВА) [7]. Окисление DOPA и DA контролировали спектрофотометрически при 390 нм – максимуме поглощения продуктов окисления этих веществ [11]. Сами DOPA и DA в этой области не поглощают.

Нами были использованы охарактеризованные ранее [12] малые одноламеллярные липосомы, состоящие из яичного фосфатидилхолина и холестерина в молярном соотношении 7 : 3, в которых концентрация катехолов в физиологическом растворе (рН 6.5) составила 0.2 мМ. Невключившееся вещество отделяли с помощью гелефильтрации.

Концентрацию продуктов реакции (ТВАРС) в липосомах с DOPA (или DA) и “пустых” липосомах измеряли ежедневно на протяжении 13 сут (рис. 1). Липосомы между измерениями хранили в темноте при 4°C. В течение первых 9 сут можно было отметить слабый рост концентрации продуктов окисления. По истечении этого срока в “пустых” липосомах значительно возросла скорость накопления ТВАРС в отличие от липосом, в которых были инкапсулированы DOPA (или DA).

Линейная регрессия экспериментальных данных позволяла вычислить скорость накопления ТВАРС (табл. 1). Начальная скорость окисления ePC в липосомах с включенным DOPA в 2.6 раза ниже скорости окисления липидов в “пустых” липосомах. В липосомах с включенным DA скорость окисления ePC снижена почти в 5 раз.

Антиоксидантную активность DOPA и DA в липосомах также исследовали в ходе Fe(II)-аскорбатзависимого ПОЛ. FeSO<sub>4</sub> и аскорбиновая кислота резко ускоряют процесс окисления липидов. Так, через 40 мин инкубации уровень ТВАРС в “пустых” липосомах превышал в 3.4 раза исходный, принятый за 100%. В то же время в липосомах с DOPA или DA в аналогичных условиях не происходило накопления ТВАРС (табл. 2).

Таким образом, в условиях аскорбатиндуцированного окисления антиоксидантный эффект катехолов в липосомах проявляется в большей степени, чем в отсутствие прооксиданта.

Во второй части данной работы рассмотрено влияние ePC на процессы окисления находящихся внутри липосом DOPA и DA.

Окисление исследовали как при хранении липосомного препарата в физиологическом растворе (рН 6.5), так и в условиях ускоренного окисления при щелочных значениях рН (8.9) и насыщении препарата воздухом.

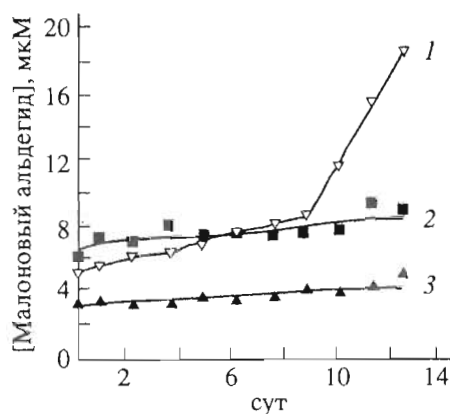


Рис. 1. Динамика накопления ТВАРС (отражена в эквивалентных изменениях содержания малонового альдегида) в “пустых” липосомах (1), в липосомах с DOPA (2) и с DA (3) при инкубации при 4°C в темноте. Концентрации: Ctl – 2 мМ, липидов – 0.16%.

Через заданные промежутки времени из инкубационной среды отбирали аликвоты, липосомы в которых затем разрушали 5.6% раствором SDC. В полученном мицеллярном растворе измеряли оптическое поглощение при 390 нм против мицеллярного раствора ePC и Chol той же концентрации. Те же измерения проводили в растворах DOPA и DA, хранившихся в аналогичных условиях. Концентрации веществ в растворах выбирали

Таблица 1. Константы скорости накопления ТВАРС ( $k$ ) в липосомах состава ePC–Chol (7 : 3, моль/моль)\*

Липосомы	$k \times 10^3$ , мкМ/ч	Коэффициент корреляции
“Пустые” (первые 9 сут)	$16.2 \pm 0.8$	0.993
То же через 3 сут	$112 \pm 6$	0.997
+DOPA	$6.25 \pm 1.7$	0.777
+DA	$3.29 \pm 0.3$	0.951

\* Условия: 4°C, физиологический раствор (рН 6.5), концентрация липидов 1.59 г/л, Ctl – 2.0 мМ; данные 7 экспериментов.

Таблица 2. Накопление ТВАРС при инкубации липосом (“пустых” и нагруженных DOPA или DA) в присутствии индукторов окисления (Fe(II) + аскорбат)\*

Липосомы	Накопление ТВАРС, %	
	до инкубации	инкубация с Fe <sup>2+</sup> -аскорбатом
“Пустые”	$100 \pm 2$	$343 \pm 6$
+DOPA	$100 \pm 4$	$107 \pm 2$
+DA	$100 \pm 3$	$105 \pm 3$

\* Время инкубации 40 мин; концентрация липидов 1.59 г/л, Ctl – 2.0 мМ; данные 7 экспериментов.

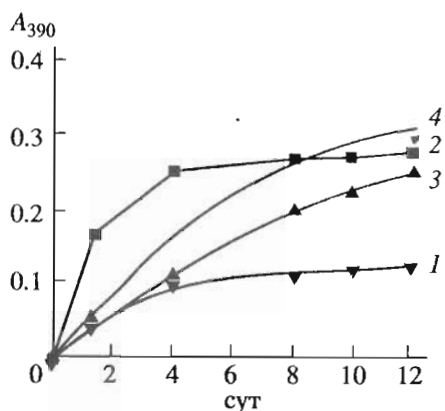


Рис. 2. Динамика окисления DOPA (1, 2) и DA (3, 4) в 0.9% растворе NaCl (pH 6.5) (2, 4) и инкапсулированных в липосомы из смеси ePC + Chol, 7 : 3 (моль/моль) (1, 3). Концентрации: Ctl – 0.12 мМ, липидов – 0.1%.

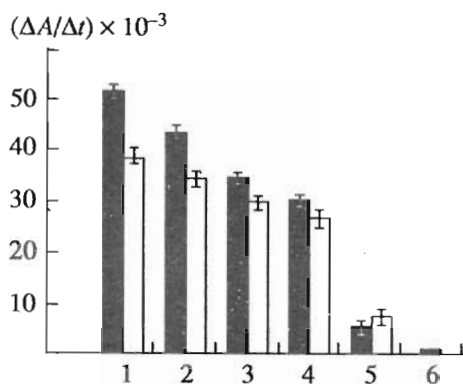


Рис. 3. Скорость окисления катехолов (DOPA – черные столбцы, DA – белые) в 0.1 М глициновом буфере (pH 8.9) при барботировании воздухом (5 мл/мин) в растворах (1); в мицеллярных растворах: 2 – Ctl + SDC; 3 – Ctl + SDC + 0.1% (ePC + Chol, 7 : 3); 4 – Ctl + SDC + 0.2% (ePC + Chol, 7 : 3); 5 – Ctl + SDC + 0.8% (ePC + Chol, 7 : 3); 6 – 0.8% липосомной дисперсии DOPA. Концентрация Ctl – 2.5 мМ.

такими, чтобы они были равными концентрациям в липосомных образцах. Как видно из рис. 2, окисление DOPA, и DA в липосомах происходило заметно медленнее, чем в соответствующих растворах, причем антиоксидантный эффект ePC более выражен при окислении DOPA, чем DA.

Приведенные выше результаты показывают, что ePC и DOPA (или DA) в липосомных препаратах ингибируют окисление друг друга, что возможно, например, в том случае, если они конкурируют за окислитель и окисление каждого из них происходит относительно независимо. Это весьма вероятно, так как изучаемые вещества находятся в разных фазах, что было показано нами в предыдущей работе [12].

Для изучения влияния концентрации ePC на окисление DOPA (или DA) были поставлены сле-

дующие эксперименты. В мицеллярный раствор ePC и SDC в буфере (pH 8.9) вносили исследуемые вещества до получения в конечном растворе концентрации 2.5 мМ. При этом вариационный ряд концентраций липидов составил 0, 0.1, 0.2 и 0.8%. После измерения оптического поглощения (390 нм) в нулевой момент времени через мицеллярный раствор пропускали воздух и через определенные промежутки времени измеряли оптическое поглощение. Также исследовалось окисление катехолов, загруженных в липосомы, в аналогичных условиях (концентрация ePC – 0.8%).

Скорость окисления катехолов оценивали по изменению оптического поглощения при 390 нм. Из рис. 3 видно, что с ростом концентрации ePC скорость окисления уменьшается. В липосомной дисперсии скорость намного ниже (в 25 раз), чем в мицеллярном растворе при тех же концентрациях катехолов и ePC (столбцы 5 и 6). Это говорит о том, что при рассмотрении окисления катехолов в присутствии ePC для липосомных препаратов следует принять во внимание существование еще одного фактора – топологического: липидный бислой липосом способен изолировать находящийся внутри него DOPA (или DA) от основной массы растворенного в воде кислорода. Для оценки вклада этого фактора были поставлены два параллельных эксперимента: 1) с липосомной дисперсией (концентрация липидов 2.5%), 2) с пробой, содержащей мицеллярный раствор DOPA (или DA), а также фосфатидилхолин и холестерин.

Чтобы сократить время эксперимента (для уменьшения влияния возможного выхода веществ из липосом), окисление во всех экспериментах проводили в щелочном буфере (pH 8.9). Образцы для исследования готовили в условиях, предотвращающих окисление до начала измерений: предварительно дегазировали буферный раствор и формировали липосомы в атмосфере азота. Мультиламеллярные липосомы получали механическим встряхиванием. Невключенное вещество удаляли многократным центрифугированием до тех пор, пока оптическое поглощение в супернатанте при 280 нм не снижалось до 1% от исходного. За нулевой момент отсчета времени принимали начало непрерывного барботирования воздуха через образец. Периодически отбираемые аликвоты, содержащие липосомы с включенным веществом, разрушали 5.6% раствором SDC, взятым в соотношении 1 : 2 (по объему). Оптическое поглощение измеряли при 390 нм.

Через 30 мин инкубации липосомной дисперсии был поставлен параллельный эксперимент с пробой, полученной после разрушения аликвоты с липосомами 5.6% раствором SDC. Пробу выдерживали 1.5 ч при непрерывном барботировании воздуха, проводя периодические измерения оптического поглощения при 390 нм. Данные параллельных

экспериментов показали (рис. 4), что после разрушения липосом скорость образования продуктов окисления DOPA (или допамина) резко возрастает: в 26 раз для DOPA и в 12 раз для DA (расчет скорости окисления см. в "Экспер. части").

Таким образом, как DA, так и DOPA в исследуемой системе проявляют свойства антиоксидантов по отношению к фосфатидилхолину. В присутствии сильных прооксидантов (Fe(II) + аскорбат) антиокислительный эффект исследуемых веществ проявляется в большей степени (см. табл. 2). При наличии двух веществ, способных к окислению (в нашем случае ePC и Ctl), одно из которых (катехол) является антиоксидантом по отношению ко второму (ePC), возможны два варианта: 1) катехолы окисляются быстрее, чем в отсутствие ePC, т.е. ePC проявляет свойства прооксиданта по отношению к Ctl; 2) катехолы окисляются медленнее, чем в отсутствие ePC. В условиях проведения настоящих экспериментов как в мицеллярных растворах, так и в липосомных дисперсиях реализуется второй вариант. Уменьшение скорости окисления катехолов в липосомах в большей степени определяется изоляцией молекул внутри липосом от основного пула растворенного в воде кислорода. Возможно, концентрация кислорода внутри липосом ниже вследствие меньшей скорости диффузии в бислое, чем в воде, и/или (что более вероятно) вследствие взаимодействия кислорода с ePC при прохождении через бислой.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы реактивы фирмы Sigma без дополнительной очистки, ePC ("Биолек", Харьков). УФ-спектры записывали на спектрофотометре Shimadzu UV-160 (Япония). Липосомы озвучивали с помощью диспергатора Sonifier 250 (Branson, Австрия) с мощностью прибора 20% от максимальной и частотой 44 кГц. Гель-фильтрацию проводили на колонке с сефадексом G-100 с использованием УФ-детектора UV-1 (Pharmacia-LKB, Австрия) с длиной волны 280 нм. Центрифугирование осуществляли на Labofuge A (Heraeus) при 2000g. Термостатирование проводили на приборе ТЭП-1 (Россия). Дегазировали при ~1 кПа в течение 10 мин (20°C).

**Получение мультиламеллярных липосом.** Раствор фосфатидилхолина и холестерина в соотношении 7 : 3 (моль/моль) в хлороформе упаривали в круглодонной колбе до постоянного веса, добавляли в колбу DOPA или допамин в 0.9% растворе NaCl (12.7 мМ) до конечной суммарной концентрации липидов 5%. Раствор насыщали азотом и затем встряхивали колбу в течение 20–30 мин.

**Получение моноламеллярных липосом.** Полученные мультиламеллярные липосомы подвергали ультразвуковой обработке в течение 5 мин в

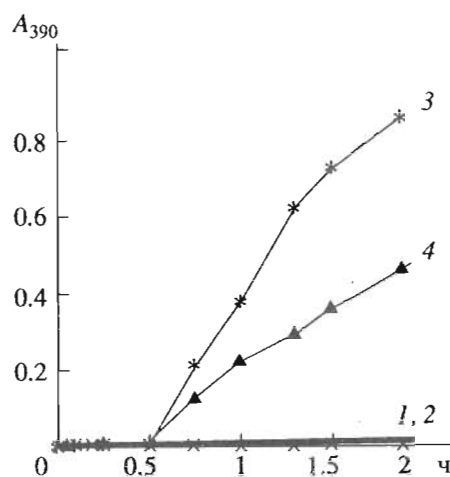


Рис. 4. Окисление липосомных образцов (1, 2) (скорость увеличения оптического поглощения при 390 нм) и мицеллярных растворов, полученных из отобранных проб по истечении 30 мин инкубации после разрушения липосом (3, 4). Аликваты липосом разрушали 5.6% раствором SDC (в объемном соотношении 1 : 2) и измеряли оптическое поглощение при 390 нм. Через все образцы барботировали воздух (5 мл/мин). 1, 3 — образцы с DOPA, 2, 4 — с DA. Концентрации: Ctl — 2.5 мМ, липидов — 0.8%.

режиме озвучивания при охлаждении льдом; отношение времени диспергирования к времени релаксации 30 с/30 с.

**Гель-фильтрация липосом.** Суспензию озвученных липосом (0.2 мл) наносили на колонку с 25 мл сефадекса G-100 и элюировали физиологическим раствором со скоростью 2 мл/мин. Собирали первую фракцию, поглощающую при 280 нм.

**Динамика окисления ePC в липосомных препаратах с DOPA и DA при хранении.** Липосомы между измерениями хранили при 4°C. Перед отбором проб дисперсии встряхивали. К 200 мкл суспензии липосом добавляли EDTA до конечной концентрации 1 мМ, затем 1.3 мл 25% раствора трихлоруксусной кислоты и 1.5 мл 0.5% раствора ТВА. После инкубирования проб в течение 10 мин на кипящей водяной бане определяли оптическое поглощение растворов при 532 и 580 нм. Для учета неспецифического поглощения использовали величину оптического поглощения в области длинноволновой границы поглощения комплекса ТВА с малоновым альдегидом, для чего определяли показатель  $\Delta A = A_{532} - A_{580}$ .

Для определения концентрации TBARS использовали степенную регрессию, рассчитанную по программе "Statgraphic" на основании данных, полученных при построении калибровочной кривой по стандартным образцам раствора 1,1,3,3-тетраметоксипропана:

$$[\text{TBARS}] = a\Delta A^b,$$

где  $a = 0.000129$ ,  $b = 1.00868$ . Уровни значимости ( $P$ ) для  $a$  и  $b < 0.0001$ . Коэффициент корреляции значений оптического поглощения TBARS равен 0.999.

**ПОЛ** в дисперсиях “пустых” липосом и липосом, содержащих катехол, индуцировали путем введения в среду инкубации смеси  $\text{FeSO}_4$  + аскорбиновая кислота [13]. 1 мл липосомной дисперсии инкубировали при постоянном перемешивании в течение 42 мин ( $37^\circ\text{C}$ ), из которых 2 мин составляла преинкубация. Затем выдерживали 40 мин в присутствии  $10^{-5}$  М Fe(II) и  $2 \times 10^{-4}$  М аскорбиновой кислоты. ПОЛ в пробах останавливали добавлением EDTA (конечная концентрация 1 мМ). Конечные концентрации компонентов в инкубируемых пробах составили: для липидов – 0.16%, для катехолов – 0.2 мМ. Концентрацию TBARS измеряли так, как описано в предыдущем разделе.

**Окисление катехолов в липосомах при хранении.** Приготовленные в физиологическом растворе липосомы с DOPA или DA хранили в темноте при  $4^\circ\text{C}$ . Периодически отбирали аликвоты по 1 мл, разрушали в них липосомы добавлением 0.2 мл 5.6% SDC и измеряли оптическое поглощение при 390 нм. В качестве раствора сравнения использовали пустые липосомы, разбавленные до эквивалентной концентрации и разрушенные тем же количеством 5.6% раствора SDS. Одновременно измеряли оптическое поглощение в хранящихся в тех же условиях растворах катехолов с концентрацией, равной концентрации их в липосомных дисперсиях.

**Окисление катехолов в щелочной среде. а) В мицеллярном растворе.** Раствор фосфатидилхолина и холестерина в соотношении 7 : 3 (моль/моль) в хлороформе упаривали в круглодонной колбе до постоянного веса. Их исходные весовые значения выбирали так, чтобы концентрации в конечном мицеллярном растворе составили 0, 0.1, 0.2 и 0.8%. К липидной пленке в атмосфере азота добавляли 2 мл 5.6% раствора SDC и 3.75 мл дегазированного буферного раствора. Затем вносили 1.5 мл раствора катехола до конечной концентрации 2.5 мМ в дегазированном 0.1 М глициновом буфере (pH 8.9). Через полученный мицеллярный раствор непрерывно барботировали воздух (5 мл/мин,  $25^\circ\text{C}$ ). Оптическое поглощение при 390 нм определяли через 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 и 120 мин. В качестве раствора сравнения использовали смесь буферного и 5.6% раствора SDC в соотношении 1 : 0.38 (объем/объем). Поскольку во всех случаях наблюдался линейный характер зависимости  $A_{390}$ –время, то скорость окисления рассчитывали как приращение оптического поглощения за 10 мин, отнесенное к концентрации OH<sup>-</sup>-ионов.

**б) В липосомах.** К пленке из фосфатидилхолина и холестерина, взятых в соотношении 7 : 3 (моль/моль), добавляли 1.5 мл 0.127 М DA (или

12.7 мМ DOPA), растворенного в дегазированном 0.1 М глициновом буфере (pH 8.9). Получали 5% (или 0.8%) липидную дисперсию. Раствор насыщали азотом и затем колбу встряхивали в течение 10–15 мин.

Не включенное в липосомы вещество отделяли центрифугированием в течение 5 мин при 2000g. Затем вносили равное отобранному объему супернатанта количество глицинового буфера. После восьмого центрифугирования (оптическое поглощение при 280 нм уменьшилось по сравнению с начальным раствором более чем в 100 раз) к осадку добавляли глициновый буфер до объема 3 мл. За начальный момент отсчета принимали время начала барботирования воздуха (5 мл/мин). Через 5, 10, 15, 30, 45, 60 и 120 мин отбирали аликвоту липосомного раствора, которую затем обрабатывали 5.6% раствором SDC, взятым в двукратном объеме. В качестве раствора сравнения использовали смесь буферного и 5.6% раствора SDC в объемном соотношении 1 : 2.

В отобранной на 30-й мин аликвоте разрушали липосомы 5.6% раствором SDC (в объемном соотношении 1 : 2). Через полученный мицеллярный раствор барботировали воздух в течение 120 мин. Периодически проводили измерение оптического поглощения при 390 нм. На рис. 4 даны значения оптического поглощения, приведенные к концентрации катехола, равной 2.5 мМ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kucheryanu V.G., Yurasov V.V., Nikushkin E.V., Sandalov Yu.G., Bordukov M.M., Kaplun A.P., Shvets V.I., Kryzhanovsky G.N. // Abstr. IV Fourth Liposome Research Days Conference Freiburg (Germany), 1995. P. 9.
2. Юрасов В.В., Кучеряну В.Г., Никушкин Е.В., Жигальцев И.В., Каплун А.П., Крыжановский Г.Н. // Тез. докл. III Российского национального конгресса “Человек и лекарство”. М., 1996. С. 245.
3. Yurasov V.V., Kucheryanu V.G., Kryzhanovsky G.N., Nikushkin E.V., Kaplun A.P., Shvets V.I. // Abstr. IV IBRO World Congress of Neuroscience Kyoto (Japan), 1995. P. 530.
4. Стефанов А.В., Пожаров В.П., Миняйленко Д.Д., Брыгинский С.А., Середенко М.М., Лишко В.К. // Вест. АМН СССР. 1990. С. 47–51.
5. Wooten D.F. // Therapy of Parkinson's Disease / Ed. W.C. Koller. N.Y., Basel: Marcel Dekker Inc., 1990. P. 161–168.
6. Кучеряну В.Г., Никушкин Е.В., Атаджанов М.А., Загоревский В.А., Шаркова Л.М. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1989. Т. 107. С. 39–41.
7. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. С. 136–140.
8. Liu G.T., Tamar V. // Biochem. Pharmacol. 1992. V. 43. P. 147–152.
9. Heikkila R.E., Gochem G. // Experientia. 1972. V. 28. P. 1197.

10. Tse D.C.S., McCreery R.L., Adams R.M. // J. Med. Chem. 1976. V. 18. P. 37-40.
11. Pelizzetti E., Mentasti E., Pramauro E. // J. Chem. Soc., Perkin Trans, 2. 1976. V. 14, P. 1651-1652.
12. Борисова Н.В., Каплун А.П., Богомолов О.В., Григорьев В.Б., Юрасов В.В., Никушкин Е.В., Крыжановский Г.Н., Швец В.И. // Биоорганич. химия. 1996. Т. 22. С. 851-856.
13. Никушкин Е.В., Крыжановский Г.Н., Михалева Л.И., Бордюков М.М., Каплун А.П. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1989. Т. 107. С. 174-177.

## Oxidation Processes in Egg Phosphatidylcholine Liposomes Entrapped with *L*-3,4-Dihydroxyphenylalanine or Dopamine: Reciprocal Influence of the Components

N. V. Borisova\*, I. V. Zhigal'tsev\*, O. V. Bogomolov\*, A. P. Kaplun\*,  
V. V. Yurasov\*\*, V. G. Kucheryanu\*\*, E. V. Nikushkin\*\*,  
G. N. Kryzhanovsky\*\*, and V. I. Shvets\*

\* Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

\*\* Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

Abstract—Oxidation of egg phosphatidylcholine and catechols (*L*-3,4-dihydroxyphenylalanine or dopamine) in liposome dispersions was studied. These catechols, encapsulated in liposomes, were shown to decrease the rate of phosphatidylcholine oxidation by factors of 4.9 and 2.6, respectively, at storage in darkness at 4°C. After 40 min of Fe(II)-ascorbate-induced oxidation, the level of malonaldehyde in such liposomes remained constant, while in the empty liposomes, it increased 3.4-fold. Egg phosphatidylcholine protected catechols encapsulated into liposomes from oxidation, and the rate of this oxidation was shown to be substantially lower than that in micellar solutions under the same conditions. Evidently, this can be due to the barrier function of a lipid bilayer.

*Key words:* DOPA, dopamine, catechols, liposomes, egg phosphatidylcholine, lipid peroxidation, Parkinsonian syndrome, 2-thiobarbituric acid, antioxidants.