



УДК 577.112.3.087:616.858-008.6

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПОСОМНЫХ ФОРМ L-3,4-ДИГИДРОКСИФЕНИЛАЛАНИНА (DOPA) И ДОФАМИНА

© 1996 г. Н. В. Борисова<sup>#</sup>, А. П. Каплун, О. В. Богомолов, В. Б. Григорьев\*, В. В. Юрасов\*\*, Е. В. Никушкин\*\*, Г. Н. Крыжановский\*\*, В. И. Швец

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

\*НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН;

\*\*Институт общей патологии и патологической физиологии РАМН

Поступила в редакцию 14.03.96 г.

Получены липосомные формы L-3,4-дигидроксифенилаланина (DOPA) и дофамина, которые могут быть впервые использованы в качестве антипаркинсонических средств. Определена степень включения исследуемых веществ в липосомы, их коэффициенты распределения. Изучена кинетика выхода DOPA (или дофамина) из липосом.

*Ключевые слова:* болезнь Паркинсона, DOPA, допамин, липосомы, коэффициент распределения между липидной и водной фазами липосом, <sup>31</sup>P-ЯМР, электронная микроскопия.

Для лечения болезни Паркинсона DOPA впервые был применен в 1962 г. [1, 2]. За этими исследованиями последовал ряд работ по определению лечебной дозы препарата, его эффективности и побочных эффектов.

Было показано, что введенный в организм пациента DOPA преодолевает гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), после чего происходит его декарбоксилирование с образованием дофамина. Однако вследствие периферического метаболизма, а также невысокой проницаемости ГЭБ для DOPA терапевтический эффект возможно достичь лишь за счет больших доз этого препарата, что в свою очередь сопряжено с многочисленными побочными эффектами [3, 4]. С целью предотвращения декарбоксилирования DOPA вне мозга (в желудочно-кишечном тракте и печени) было предложено одновременное введение DOPA с ингибитором периферической DOPA-декарбоксилазы, в качестве которого в последнее время используют [N<sup>1</sup>-(D,L-серил)-N<sup>2</sup>-(2,3,4-тригидроксибензил)гидразин (бенсеразид) и D,L-α-гидразино-α-метил-β-(3,4-дигидроксифенил)пропионовую кислоту (карбидопа)] [5].

Уменьшить периферическое декарбоксилирование стало возможным также за счет образования хелатов DOPA с Cu(II) и Zn(II) [6–8].

Бодором и др. [9, 10] был разработан изящный подход по преодолению ГЭБ, согласно которому направленная доставка веществ в мозг может осу-

ществляться с помощью переносчиков, обладающих окислительно-восстановительными свойствами [9, 10].

В качестве альтернативного способа в настоящей работе предлагается использование липосомных форм DOPA и дофамина, чтобы, с одной стороны, предотвратить их периферический метаболизм, а с другой – способствовать лучшему проникновению через ГЭБ. Исследования *in vivo* на мышах продемонстрировали положительный терапевтический эффект [11, 12]. Хотя известны попытки включения катехоламинов в липосомы [13, 14], значение их в качестве антипаркинсонического средства рассматривается впервые.

В настоящей работе изучали физико-химические параметры нагруженных липосом в условиях физиологического значения pH. Были определены экспериментальные значения коэффициента распределения ( $K_p$ ) DOPA и дофамина между липидной и водной фазами липосом, степень включения изучаемых соединений, а также размеры липосом. Сохранение ламеллярной структуры липосом было установлено с помощью <sup>31</sup>P-ЯМР-спектроскопии.

Нами были изучены липосомы, полученные гидратацией раствором DOPA или дофамина пленки из фосфатидилхолина и холестерина, а также предварительно сформированные липосомы, к которым добавляли DOPA или допамин. С целью сохранения в процессе съемки спектров устойчивых липосомных дисперсий использовали смесь H<sub>2</sub>O–D<sub>2</sub>O в объемном соотношении 9 : 1. В обоих способах получения липосом с включенным

Сокращения: ГЭБ – гематоэнцефалический барьер, DOPA – L-3,4-дигидроксифенилаланин, допамин – 2-(3,4-дигидроксифенил)этиламин, SDC – дезоксихолат натрия.

<sup>#</sup> Автор для переписки.

допамином анизотропия химического сдвига сигналов ядер  $^{31}\text{P}$  составила 50 м. д., что соответствовало по значению анизотропии химического сдвига для липосом с включенным DOPA. Это, в свою очередь, совпадает со значениями, характерными для водных дисперсий фосфатидилхолина с бислойной фазой [15].

Форма сигнала  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектров (асимметричность с плечом со стороны слабого поля) также свидетельствовала [15] о ламеллярной липидной фазе с анизотропным движением молекул фосфолипида в пределах мембраны вне зависимости от способа получения.

Таким образом, введение тем или иным способом DOPA (или допамина) в липосомы не вызывает структурных изменений их строения.

Наряду с такими важными параметрами, как размер липосом с включенным DOPA (или допамином) и степень включения, коэффициент распределения между липидной и водной фазами липосом является необходимой характеристикой для препаратов, предназначенных для введения в мозг. Очевидно, что для веществ с низкой величиной  $K_p$  (полярные) и с очень большой (гидрофобные) проникновение через ГЭБ затруднено, в случае гидрофильных молекул – вследствие практически полной нерастворимости в липидном бислое клеток эпителия капилляров мозга. Для гидрофобных же веществ необходимо решить другую проблему, а именно доставку их к ГЭБ. Это становится возможным при использовании гидрофильного переносчика или, например, липосом, выступающих в качестве универсального средства для переноса как гидрофильных, так и гидрофобных соединений в орган-мишень [16].

Для определения величины  $K_p$  использовали методы равновесного диализа и ультрацентрифугирования [17, 18]. Равновесный диализ не очень трудоемок, но не позволяет определить значения  $K_p$ , близкие к 1. Из формулы

$$K_p = C_m / C_w = \frac{(C_t - C_w)V_w}{C_w V_m}$$

( $C_t$ ,  $C_m$ ,  $C_w$  – концентрации распределяемого вещества во всем объеме, в мембране после наступления равновесия и во всем объеме водной фазы после наступления равновесия (M);  $V_m$ ,  $V_w$  – объем мембран и водной фазы липосом (л)) видно, что для получения достоверных результатов необходимо, чтобы  $C_t$  и  $C_w$  различались больше, чем ошибка измерений концентрации, т.е.  $C_t - C_w > \Delta C$ .

Таким образом, если относительная ошибка,  $\delta C$ , равная  $(C_t - C_w) / C_w$ , составляет 0.05 (обычная величина при спектрофотометрических измерениях), то порог достоверных результатов определяется соотношением  $K_p < 0.1(V_w / V_m)$ . В экспериментах по равновесному диализу минимальное

значение  $V_w / V_m$ , которого можно достичь, близко к 7. Это определяется в первую очередь нижним ограничением объема внешнего буфера (в него нужно полностью погрузить диализный мешок объемом 2–4 мл), а также верхним пределом концентрации дисперсии моноламеллярных липосом. Поэтому эксперименты проводили, минимизируя водный объем при максимально возможной концентрации липидов.

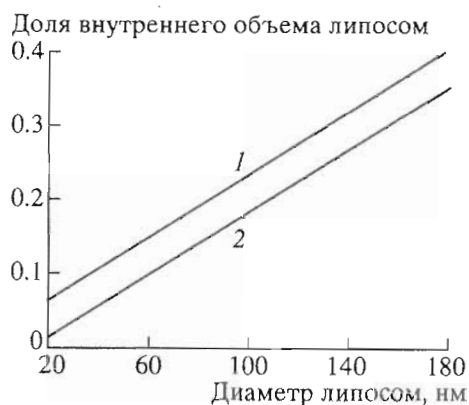
Значение  $K_p$  вычисляли, исходя из равновесной концентрации изучаемых веществ, на основе измерений оптического поглощения (280 нм) во внешнем растворе после наступления равновесия (4 ч). Их равновесная концентрация оказалась равной концентрации, вычисленной для случая  $K_p = 0.7$ , что находится в пределах точности эксперимента.

В отличие от метода равновесного диализа метод ультрацентрифугирования позволяет снизить верхнюю границу доверительного интервала значений  $K_p$  для DOPA и допамина за счет создания больших концентраций липидов. Однако использование ультрацентрифугирования для отделения липосом от раствора не привело к успеху. Даже после 1 ч центрифугирования дисперсии мультиламеллярных липосом при 200000g оптическое поглощение супернатанта при 280 нм было больше, чем в контрольном растворе (не содержащем липосом). Это свидетельствовало о том, что в дисперсии присутствовали мелкие частицы, рассеивающие свет. Вероятно, мелкие частицы всегда остаются в супернатанте при ультрацентрифугировании. Для веществ с большим коэффициентом молярного поглощения или липофильных, а также при использовании аналитической полосы, сдвинутой в красную область, относительный вклад рассеяния в оптическое поглощение незначителен.

Таким образом, мы показали, что величина  $K_p$  для DOPA и допамина меньше 1.

Дополнительное подтверждение этому можно получить из анализа данных о степени включения изучаемых веществ в липосомы.

Эффективность включения в моноламеллярные липосомы веществ, значение  $K_p$  которых меньше 1, зависит только от доли воды, заключенной внутри везикул. Можно показать, что для монодисперсных липосом доля внутреннего объема изменяется прямо пропорционально их диаметру в соответствии с формулой, выведенной из следующих соображений. При известном размере липосом можно вычислить внутренний объем, а также суммарную площадь внешней и внутренней поверхности. Из последнего параметра вычисляют количество молекул липидов в каждой липосоме. Это число позволяет, в свою очередь, определить количество липосом в единице объема при заданной концентрации липидов. Умножив



Доля внутреннего объема моноламеллярных липосом (% от общего объема водной фазы) в зависимости от их диаметра при концентрации липидов 50 мг/мл при условии  $K_p = 1$  (1) и  $K_p \ll 1$  (2).

последнее на объем одной липосомы, получаем общий внутренний объем липосом. Таким образом, доля внутреннего объема моноламеллярных липосом составляет

$$\frac{V_{in}}{V_t} = \frac{(R-d)^3 CS N_A}{3(R^2 + (R-d)^2)}$$

где  $V_{in}$  — внутренний водный объем липосом,  $V_t$  — общий объем воды,  $R$  — радиус липосом,  $d$  — толщина бислоя,  $C$  — концентрация липидов (М),  $S$  — средняя площадь молекулы липида в бислое,  $N_A$  — число Авогадро.

Найденная нами степень включения соответствует диаметру липосом 40–60 нм (при условии  $K_p \ll 1$ ). Это видно из рисунка и хорошо согласуется с данными, полученными с помощью электронной микроскопии (негативное контрастирование). Диаметр частиц, наблюдаемых на микрофотографиях, составляет 60–100 нм. Существуют две модели для расчета истинного размера липосом по данным электронных микрофотографий образцов липосом, полученных высушиванием. Согласно первой [19], при высушивании липосом образуются плоские двуслойные диски. В этом случае видимые размеры частиц следует умножать на коэффициент 0.75. Согласно второй модели, образуются полусферы, и поправочный коэффициент составляет 0.866 [20].

Таким образом, уточненный размер полученных липосом в соответствии с первой моделью находится в диапазоне 45–75 нм, а если принять вторую модель — в диапазоне 51–87 нм.

В настоящей работе липосомы были приготовлены методом, позволяющим формировать малые одноламеллярные везикулы размером около 100 нм [21], что меньше диаметра основных пор капилляров вне мозга [22]. Таким образом, уменьшается доступ вещества к другим тканям орга-

низма и, следовательно, повышается его концентрация в капиллярах мозга. Также известно, что ретикуло-эндотелиальная система поглощает липосомы этого размера в меньшей степени [23].

Гидратацией пленки, состоящей из фосфатидилхолина и холестерина, в физиологическом растворе, содержащем 12.7 мМ DOPA (концентрация была выбрана близкой к концентрации насыщенного раствора [24]) или 12.7 мМ допамин, с последующим озвучиванием была получена 5% липосомная дисперсия. Данная концентрация позволяет вводить терапевтическую дозу DOPA с количеством липидов (500 мг/кг), которое не является токсическим и не представляет опасности для развития патологической гиперлипидемии [25]. Мольное соотношение фосфатидилхолин–холестерин, составляющее 7 : 3, при получении малых моноламеллярных липосом наиболее распространено для экспериментальных целей *in vitro*.

Оптимизация процесса озвучивания осуществлялась по таким факторам, как время диспергирования, размер липосом и степень включения исследуемых биогенных веществ, с учетом процессов окисления, происходящих в липосомальном бислое, и окисления самого включаемого вещества. Оптимизация по времени сводилась не только к подбору времени озвучивания, но и к выбору режима диспергирования.

Чтобы определить эффективный режим процесса озвучивания, влияние его параметров на степень включения вещества, диспергирование проводили в двух режимах. Цикл озвучивания составлял 1 с. Работа в первом режиме состояла из 0.3 с диспергирования и 0.7 с релаксации, а во втором соотношении времени диспергирования и релаксации было 0.5/0.5.

В первом режиме за счет большего времени релаксации теплообмен с охлаждающим агентом (льдом) происходит полнее. Тем самым уменьшалась скорость окисления как липидов в липосомальном бислое, так и самого вещества, легко окисляемого кислородом воздуха.

Второй режим позволял снизить во время процесса озвучивания контакт липосом с воздухом при том же цикле. Например, 5 мин озвучивания в режиме работы 0.5/0.5 означало, что полное время диспергирования составляет 10 мин, а в режиме 0.3/0.7 — 17, что на 7 мин больше, чем при работе в первом режиме (таблица).

Озвучивание препарата производили в течение 2.5, 5, 10, 15 и 20 мин.

Как видно из таблицы, минимальному времени озвучивания в двух режимах соответствует максимальный процент включения. Однако этого времени недостаточно для получения однородной дисперсии моноламеллярных везикул [19]. Оптимальным оказалось пятиминутное озвучивание. При

Влияние режима и времени озвучивания на степень включения\* DOPA и допамина в липосомы

Режим**	Вещество	Время озвучивания, мин				
		2.5	5	10	15	20
0.5/0.5	DOPA	10.0	6.9	6.4	4.5	—
0.3/0.7		9.2	3.7	2.5	—	—
0.5/0.5	Допамин	9.4	6.3	—	—	—
0.3/0.7		8.9	4.8	—	—	—

\* Степень включения – отношение количества включенного вещества к его исходному количеству (выражена в процентах).

\*\* Числитель и знаменатель означают время озвучивания и релаксации (секунды/цикл) соответственно. Остальные условия даны в “Экспериментальной части”.

этом величина процента включения для липосом с DOPA составила 6.9, а с допамином – 6.3.

Полученные малые одноламеллярные везикулы отделяли с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-100 от не включившегося в липосомы вещества.

Простой способ количественного анализа включенных в липосомы веществ состоит в определении степени включения (P, %) по формуле

$$P = \frac{AV}{AV + A'V'} \times 100,$$

где A – оптическое поглощение DOPA или допамина (при 280 нм) после разрушения липосом 5.4% раствором SDC; V – объем липосомной фракции с включенным веществом (мл); A' – оптическое поглощение DOPA или допамина, не включенных в липосомы, после добавления 0.2 мл 5.4% раствора SDC (на 1 мл образца). В качестве раствора сравнения использовали физиологический раствор с тем же количеством SDC, что и в образце; V' – объем фракции не включившегося в липосомы DOPA или допамина (мл).

Существенный вклад от светорассеяния мицеллами, образуемыми при обработке SDC, в области спектра поглощения включенного DOPA или допамина (280 нм), мешал адекватно оценить значение абсорбции самого вещества, поэтому в качестве раствора сравнения использовали липосомы без вещества, полученные в идентичных условиях и разрушенные тем же количеством SDC, что и в образце.

Концентрацию липидов вычисляли, зная общее количество липидов, наносимое на колонку, и разбавление в этой фракции после колонки.

Для определения стабильности липосом с включенными DOPA или допамином из свежеприготовленного препарата после отделения липосом от не включившегося вещества через 1, 1.5 и 5 ч отбирали аликвоты и снова разделяли на колонке с сефадексом G-100. В случае липосом с DOPA мы наблюдали только один пик, соответствующий липосомам с веществом. При элюции ли-

посом с допамином через 1.5 ч появлялся второй пик, характерный для фракции с невключенным веществом. Уже через 2 ч, например, степень включения снижалась почти в 1.5 раза.

В ходе изучения кинетики выхода DOPA и допамина из липосом удалось на основании спектрофотометрических данных выяснить, что липосомы с DOPA проявляют стабильность в течение как минимум 5 ч, а липосомы с допамином устойчивы в течение 1–1.5 ч (при 22°C и pH 6.8).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы реактивы фирмы Sigma без дополнительной очистки, яичный фосфатидилхолин (“Биолек”, Харьков).

Спектры <sup>31</sup>P-ЯМР записывали на спектрометре Bruker MSL-200 (ФРГ) (частота 81.01 МГц), УФ-спектры – на спектрофотометре Shimadzu UV-160 (Япония). Липосомные дисперсии получали механическим путем. 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 ультрацентрифуге VAC (ГДР) при 200000g и на Labofuge A (Heraeus) при 2000g. Электронографии получали на приборе Joel 100S (Япония) при инструментальном увеличении 20000.

**а) 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 допамина в физиологическом растворе (12.7 мМ) до конечной суммарной концентрации фосфатидилхолина и холестерина 5%. Раствор насыщали азотом и затем механически встряхивали колбу в течение 20–30 мин.

**б) Получение моноламеллярных липосом.** Полученные способом “а” мультиламеллярные липосомы подвергали ультразвуковой обработке в

течение 2,5, 5, 10, 15 и 20 мин в режиме 0.5/0.5 или 0.3/0.7 с при охлаждении льдом.

в) **Гель-фильтрация липосом.** Суспензию озвученных липосом (0.2 мл) наносили на колонку с 25 мл сефадекса G-100 и элюировали физиологическим раствором. Для расчета степени включения использовали липосомную фракцию с веществом и фракцию невключенного DOPA или допамина.

г) Аналогично способам "а" и "б" получали ненагруженные липосомы, которые затем использовали для получения раствора сравнения.

д) **Определение степени включения DOPA и допамина в липосомы.** К аликвоте липосомальной фракции добавляли 1/5 объема 5.4% раствора SDC и измеряли оптическое поглощение при 280 нм. В качестве раствора сравнения использовали пустые липосомы, разбавленные до эквивалентной концентрации и разрушенные тем же количеством 5.4% раствора SDC.

К аликвоте фракции с невключенным DOPA или допамином добавляли 1/5 объема 5.4% раствора SDC и измеряли поглощение при 280 нм. В кювету сравнения помещали физиологический раствор, в который была добавлена 1/5 объема 5.4% раствора SDC.

е) **Определение коэффициента распределения методом равновесного диализа в системе липосомы-вода.** 2 мл липосомальной дисперсии заливали в диализный мешок и помещали в 20 мл физиологического раствора, к которому добавляли 2 мл 12.7 мМ раствора DOPA или допамина. В параллельной серии экспериментов 2 мл раствора DOPA или допамина вносили в диализный мешок, содержащий липосомы. Диализ проводили при 20°C в атмосфере азота при перемешивании до тех пор, пока концентрация вещества во внешнем буфере не переставала изменяться (4 ч). Концентрацию вещества во внешнем буфере определяли спектрофотометрически при 280 нм, а концентрацию в липидной фазе вычисляли исходя из начальных условий и определенной концентрации во внешнем буфере.

ж) **Определение коэффициента распределения методом ультрацентрифугирования в системе липосомы-вода.** Образцы готовили по методу "а" с концентрацией DOPA или допамина  $10^{-4}$  М. Центрифугирование проводили при 200 000g в течение 1 ч при 20°C. Концентрацию DOPA в супернатанте измеряли спектрофотометрически при 280 нм.

### <sup>31</sup>P-ЯМР-исследования

**Приготовление липосом (5% суспензия). 1-й способ.** К пленке из 75 мг смеси фосфатидилхолина и холестерина 7:3 (моль/моль) добавляли воду (1.5 мл), встряхивали 30 мин механическим спосо-

бом. Центрифугировали при 2000g. Удаляли надосадочную жидкость (фракция с мелкими частицами), а к нижней добавляли 1.7 мл смеси H<sub>2</sub>O и D<sub>2</sub>O, 9 : 1 (объем/объем)[26]. Встряхивали 30 мин. Добавляли растертый в порошок DOPA или допамин до конечной концентрации 12.7 мМ и встряхивали вручную 10 мин.

**2-й способ.** Готовили липосомы как указано выше. К полученным липосомам добавляли 1.7 мл 12.7 мМ раствора DOPA или допамина в смеси H<sub>2</sub>O и D<sub>2</sub>O, 9 : 1 (объем/объем). Встряхивали 10 мин механическим путем, центрифугировали при 2000g. Удаляли фракцию с мелкими частицами, а нижнюю с крупными встряхивали вручную 10 мин.

**Электронная микроскопия.** Дисперсию липосом наносили на форвар-углеродные подложки, контрастировали 2% уранилацетатом и высушивали на воздухе. Размеры частиц определяли в 10 полях наблюдения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Birkmayer W., Hornykiewicz O. // Wien. Klin. Wschr. 1961. V. 73. P. 787.
2. Barbeau A., Sourkes T.L., Murphy G.F. Monoamines et Systeme Nerveux Central. Paris: Masson, 1962. P. 349.
3. Klawans H.L., Garvin J.S. // Dis. Nerv. Syst. 1969. V. 30. P. 737-746.
4. Barbeau A. // TIPS. 1981. V. 2. P. 297.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т. 1. М.: Медицина, 1988. С. 163.
6. Rajan K.S., Rajan Malini S., Mainer S., Jarke F.H., Davis J.M. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1979. V. 41. P. 1513-1519.
7. Rajan K.S., Mainer S., Davis J.M. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1978. V. 40. P. 2089-2099.
8. Rajan K.S., Crowley W.R., Crowburn R.W., Jacobowitz D.M. // Biochem. Arch. 1987. V. 3. P. 127-136.
9. Bodor N.S. // EP 0 335 545 B1. 1989.
10. Bodor N.S. // EP 4 824 850. 1989.
11. Yurasov V.V., Kudrin V.S., Kucheryanu V.G., Kryzhanovsky G.N., Nikushkin E.V., Borisova N.V., Kaplun A.P. // Pharm. Res. 1995. V. 31. Suppl. Abstracts Presented at the First European Congress of Pharmacology. Milan, Italy. P. 109.
12. Kucheryanu V.G., Yurasov V.V., Nikushkin E.V., Sandalov Yu.G., Bordukov M.M., Kaplun A.P., Shvets V.I., Kryzhanovsky G.N. // Abstracts of Fourth Liposome Research Days Conference (Freiburg, Germany). 1995. P. 9.
13. Palmeira C.M., Oliveira C.R. // Arch. Biochem. Biophys. 1992. V. 295. P.161-171.
14. Knight V. // EP 0 267 050. 1987.
15. Cullis P.R., de Kruijff B. // Biochim. Biophys. Acta. 1978. V. 507. P. 207.
16. Грегориадис Г. // Липосомы в биологических системах / Ред. Г. Грегориадис, А.С. Аллисон. М.: Медицина. 1983. С. 36.

17. Fraser D.M., van Corcom L.C.M., Watts A. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1991. V. 1069. P. 53–60.
18. Barenholz Y. // *Biophys. J.* 1991. V. 59. P. 110–124.
19. Olson F., Hunt C.A., Szoka F.C., Vail W.J., Papahadjopoulos D. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1979. V. 557. P. 9–23.
20. Drechsler M., Banchmann D., Brandl M. // *Abstracts of Fourth Liposome Research Days Conference (Freiburg, Germany)*. 1995. P. 80.
21. Марголис Л.Б., Бергельсон Л.Д. *Липосомы и их взаимодействие с клетками*. М.: Наука, 1986. С. 45.
22. Козлов В.И., Мельман Е.П., Нейко Е.М., Шутка Б.В. *Гистология капилляров*. СПб.: Наука, 1994. С. 58.
23. Wisse E., Gregoriadis G. // *Res. J. Reticuloendothelial Soc.* 1975. V. 18. P. 10–12.
24. Досон Р., Элиотт Д., Элиотт У., Джонс К. *Справочник биохимика*. М.: Мир, 1991. С. 23.
25. Gregoriadis G. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1978. V. 308. P. 343–370.
26. Чупин В.В., Аникин М.В., Серебренникова Г.А., Марголин Я.М., Крейнс В.М., Устьянцева И.М., Булгаков В.Г., Шамнев А.Н. // *Биол. мембраны*. 1992. Т. 9. С. 349–357.

## Received Physicochemical Features of L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA) and Dopamine Encapsulated in Liposomes

N. V. Borisova\*, A. P. Kaplun\*, O. V. Bogomolov\*, V. B. Grigor'ev\*\*,  
V. V. Yurasov\*\*\*, E. V. Nikushkin\*\*\*, G. N. Kryzhanovskii\*\*\*, and V. I. Shvets\*

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

\*\*Ivanovskii Research Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences,  
ul. Gamalei 16, Moscow, 123098 Russia

\*\*\*Institute of General Pathology and Pathologic Physiology,  
Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

**Abstract**—L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA) and dopamine encapsulated in liposomes have been obtained. These preparations can be used as drugs for Parkinson's disease. The level of encapsulation of the compounds under study in liposomes and their partition coefficients have been determined. The kinetics of DOPA (or dopamine) exit from the liposomes have been studied.