

УДК 541.64:547.42

СПОСОБНОСТЬ ПЛЮРОНИКОВ УВЕЛИЧИВАТЬ ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК, ОБУСЛОВЛЕННАЯ ГИДРОФИЛЬНЫМ ПОЛИЭТИЛЕНОКСИДНЫМ БЛОКОМ

© 2020 г. О. Е. Мусатова^а, Е. С. Гарина^а, И. Д. Гроздова^{а,*}

^а Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. Химический факультет
119899 Москва, Ленинские горы, Россия

*e-mail: grozdova@genebee.msu.ru

Поступила в редакцию 22.03.2019 г.

После доработки 11.04.2019 г.

Принята к публикации 25.04.2019 г.

Исследовано влияние синтетических водорастворимых незаряженных блок-сополимеров на размножение клеток в культуре. Их гидрофильные блоки представлены линейным полиэтиленгликолем или разветвленным полиглицерином, а гидрофобные – полипропиленоксидом или полидиметилсилоксаном. Клетки MCF-7/Adg инкубированы с сополимерами в бессывороточной культуральной среде в течение одного часа, а после трех суток культивирования без сополимера было определено их количество. Количество клеток увеличивалось только под действием полимеров, содержащих блок полиэтиленгликоля, т.е. чем он длиннее, тем меньше концентрация полимера, достаточная для увеличения. Замена полиэтиленгликоля на гидрофильный блок другой структуры – разветвленный полиглицерин – полностью отменяла такой эффект, указывая на определяющую роль полиэтиленгликоля в способности блок-сополимеров поддерживать размножение клеток.

DOI: 10.31857/S2308112019050134

ВВЕДЕНИЕ

Плюроники – линейные амфифильные трех-блочные сополимеры, центральный блок которых представлен гидрофобным полипропиленоксидом, а боковые блоки – гидрофильным полиэтиленгликолем [1]. Образцы семейства плюроники различаются количеством звеньев пропиленоксида и этиленгликоля. При определенной концентрации и температуре плюроники агрегируют с образованием мицелл различной структуры, в которых блоки полипропиленоксида образуют гидрофобное ядро, а гидрофильные блоки экспонированы в водную фазу [2].

Добавление плюроники к клеткам в культуре вызывает, по крайней мере, три биологических эффекта. Наибольший интерес представляет способность умеренно гидрофильных плюроники с гидрофильно-липофильным балансом менее 19 единиц подавлять устойчивость раковых клеток к лекарствам [3]. Это функция одиночных молекул сополимера. Максимальное подавление устойчивости наблюдается при их концентрации близкой к критической концентрации мицеллообразования. Эффект обусловлен гидрофобным блоком ППО [4].

При значениях концентрации значительно выше ККМ плюроники вызывают гибель клеток.

Этим свойством не обладают одиночные молекулы всех исследованных плюроники различной структуры. Цитотоксичность проявляют только мицеллы [5].

Напротив, плюроники способны оказывать на клетки прямо противоположный эффект – поддерживать их размножение. Эффект был обнаружен с плюроники F-68 более полувека назад [6]. Он проявляется в увеличении количества клеток при добавлении плюроники в среду, где растут клетки, по сравнению с контролем без полимера. В подавляющем большинстве работ исследовано влияние гидрофильных плюроники F-127 и F-68 с массовой долей ПЭГ около 70 и 80% соответственно. Увеличение количества клеток в присутствии этих плюроники широко представлено – от одноклеточных [7] до клеток насекомых [8], мышей [9], крыс [10] и человека [11]. Клеткам млекопитающих он придавал большую устойчивость к механическим повреждениям и способность быстрее восстанавливать целостность после обработки трипсином [12]. Такой эффект может быть следствием адсорбции плюроники на поверхности клеток, где он образует искусственный защитный слой [12]. Это предположение подтверждают данные о двукратном увеличении поверхностного натяжения наружной мембраны

фибробластов и модуля ее упругости в присутствии 0.05% раствора плуроника F-68 [13, 14].

На основании результатов описанных выше исследований возникла парадигма, согласно которой способность поддерживать размножение клеток присуща только гидрофильным плуроникам с гидрофильно-липофильным балансом (ГЛБ) более 20 единиц.

Впервые она подверглась сомнению в 2005 г. А.А. Ехнер с сотрудниками [15], которые обнаружили, что этим свойством обладает и гораздо менее гидрофильный плуроник P-85, гидрофильно-липофильный баланс которого составляет 16 единиц. В его присутствии количество клеток линии DHD/K-12/TRb возросло до $172 \pm 23\%$ по сравнению с их количеством в отсутствие полимера [10]. Позже было показано, что сходный эффект вызывает еще более гидрофобный плуроник L-61 (ГЛБ = 3). Литературных данных о защитном эффекте других плуроников или полимеров с блоками иного химического состава обогатить не удалось.

Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния структуры блочных полимеров на выживаемость клеток. Были использованы амфифильные сополимеры, содержащие разное количество блоков (дву- и трехблочные); гидрофобные блоки разной химической структуры (ППО, ПДМС) и гидрофильные блоки, образованные полиэтиленгликолем или полиглицеринами. Также исследовано влияние концентрации и степени агрегированности каждого сополимера на размножение клеток линии MCF-7/Adr.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В настоящей работе использовали коммерческие препараты плуроников L-61, F-68 ("Serva", Германия), F-127, L-64, P-85, L-81, P-123, ("BASF", США) и F-87 ("CarboMer", США). Диблок-сополимер ПЭГ–ППО (Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей, Россия) любезно предоставлен профессором И.Н. Топчиевой. Блок-сополимеры ППО и глицерина синтезировали в группе профессора Н. Frey (Институт органической химии университета Йоганна Гутенберга, Германия) [16, 17]. Также применяли диблок-сополимер ПДМС и ПЭГ ("Polysciences", США) и два препарата ПАВ – "Бридж-35" ("Fluka", США) и "Тритон X-100" ("Serva"). Клетки аденокарциномы молочной железы человека, устойчивые к терапевтическим дозам лекарств (линия MCF-7/Adr), получали в Институте канцерогенеза им. Н.Н. Блохина (Россия).

Молекулярно-массовые характеристики плуроника P-123 определяли методом ГПХ в ТГФ при 35°C на жидкостном хроматографе фирмы

"Waters" с рефрактометрическим детектором, колонками, заполненными ультрастирагелем с размером пор 10^3 и 10^5 Å, и линейной колонкой. Молекулярную массу полимера рассчитывали, используя калибровку по узкодисперсным стандартам ПЭГ с $M = (0.6–23.0) \times 10^3$ ("Waters").

ККМ полимеров определяли, как описано ранее в работе [15], по увеличению интенсивности флуоресценции 1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена ("Reanal") при его попадании в гидрофобное ядро мицелл [18].

Прикрепляющиеся клетки MCF-7/Adr культивировали в среде Игла, модифицированной Дульбекко (DMEM, "PanEco", Россия), в которую добавляли 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота ("Gibco"), 4 мМ глутамина, 100 мг/л стрептомицина и 100 ед/мл пенициллина (полная среда). Клетки выращивали в инкубаторе ("NAPCO", США) при 37°C, 95% влажности в воздухе с 5% CO₂. Для поддержания устойчивости клеток к лекарствам их периодически выдерживали трое суток в полной среде с 5 мг/л противопухолевого антибиотика доксорубина. Все опыты, представленные в настоящей работе, проводили на клетках после обработки доксорубином и последующего культивирования без него в течение не менее пяти суток, на протяжении которых не менее 3 раз меняли среду.

Влияние полимеров на размножение клеток MCF-7/Adr анализировали в 96-луночных планшетах ("Costar"). Накануне опыта в лунки вносили по 4000 клеток и оставляли в CO₂-инкубаторе на ночь, чтобы клетки прикрепилась ко дну лунок. Полимеры растворяли в дистиллированной воде при 4°C и стерилизовали пропусканием через фильтр с диаметром пор 0.22 мкм ("Dugapor", США). На следующий день из лунок с прикрепившимися клетками удаляли среду, вносили по 0.1 мл растворов полимера в разной концентрации в среде без сыворотки и инкубировали клетки с полимером в течение 1 ч в CO₂-инкубаторе. Каждый образец тестировали в трех лунках. Контрольные образцы – клетки, инкубированные без полимера в бессывороточной среде. После инкубации раствор полимера заменяли полной средой с 10% сыворотки (0.2 мл на одну лунку) и помещали планшет в инкубатор на трое суток. Количество клеток, образовавшихся к третьим суткам, оценивали по образованию формазана из бромида 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенилтетразолия ("Invitrogen") [19] под действием дегидрогеназы живых клеток. Кристаллы формазана растворяли в 0.1 мл ДМСО, после чего определяли интенсивность окраски при 550 нм (D-550) в лунках [15]. Количество клеток, образовавшихся после инкубации с полимером, выражали в процентах относительно их количества в контроле, принятом за 100%.

Таблица 1. Структура блок-сополимеров и их свойства

№, п/п	Полимер	Состав	M_w	ПЭГ, мас. %	ККМ, μM	$C_{\text{макс}}$, μM
Плюроники						
1	L-61	$\text{ЭГ}_2\text{ПО}_{30}\text{ЭГ}_2$	2000	10	11 ± 1	40 ± 5
2	L-64	$\text{ЭГ}_{13}\text{ПО}_{30}\text{ЭГ}_{13}$	2900	40	126 ± 18	34 ± 7
3	F-68	$\text{ЭГ}_{76}\text{ПО}_{30}\text{ЭГ}_{76}$	8400	80	1050 ± 150	12 ± 7
4	L-81	$\text{ЭГ}_3\text{ПО}_{40}\text{ЭГ}_3$	2750	10	3.7 ± 2	6 ± 1
5	P-85	$\text{ЭГ}_{25}\text{ПО}_{39}\text{ЭГ}_{25}$	4600	50	90 ± 20	28 ± 5
6	F-87	$\text{ЭГ}_{61}\text{ПО}_{40}\text{ЭГ}_{61}$	7700	70	50 ± 15	16 ± 5
7	P-123	$\text{ЭГ}_{20}\text{ПО}_{70}\text{ЭГ}_{20}$	5750	30	1.1 ± 0.1	30 ± 5
8, 9	F-127	$\text{ЭГ}_{100}\text{ПО}_{69}\text{ЭГ}_{100}$	12600	70	630 ± 120	9 ± 3
	ПЭГ–ППО	<i>трет</i> -бутокси- $\text{ЭГ}_{24}\text{ПО}_{19}$	2190	48	21 ± 3	41 ± 3
Полиглицерины						
10	ППО–Гл-2	$\text{ПО}_{29}\text{ЭГ}_6\text{Гл}_2$	2267	14	8 ± 1	Не влияет
11	ППО–Гл-30	$\text{ПО}_{29}\text{ЭГ}_6\text{Гл}_{30}$	3600	46	48 ± 15	Не влияет
Сополимеры с ПДМС или углеводородным гидрофобным блоком						
12	ПДМС–ПЭГ	$(\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O})_7\text{–ЭГ}_{54}$	3000	82	15 ± 3	45 ± 5
13	“Бридж-35”	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{ЭГ}_{24}$	1225	86	40 ± 5	Не влияет
14	“Тритон X-100”	<i>трет</i> -нонил-Ph- ЭГ_{10}	1000	44	150 ± 50	Не влияет

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

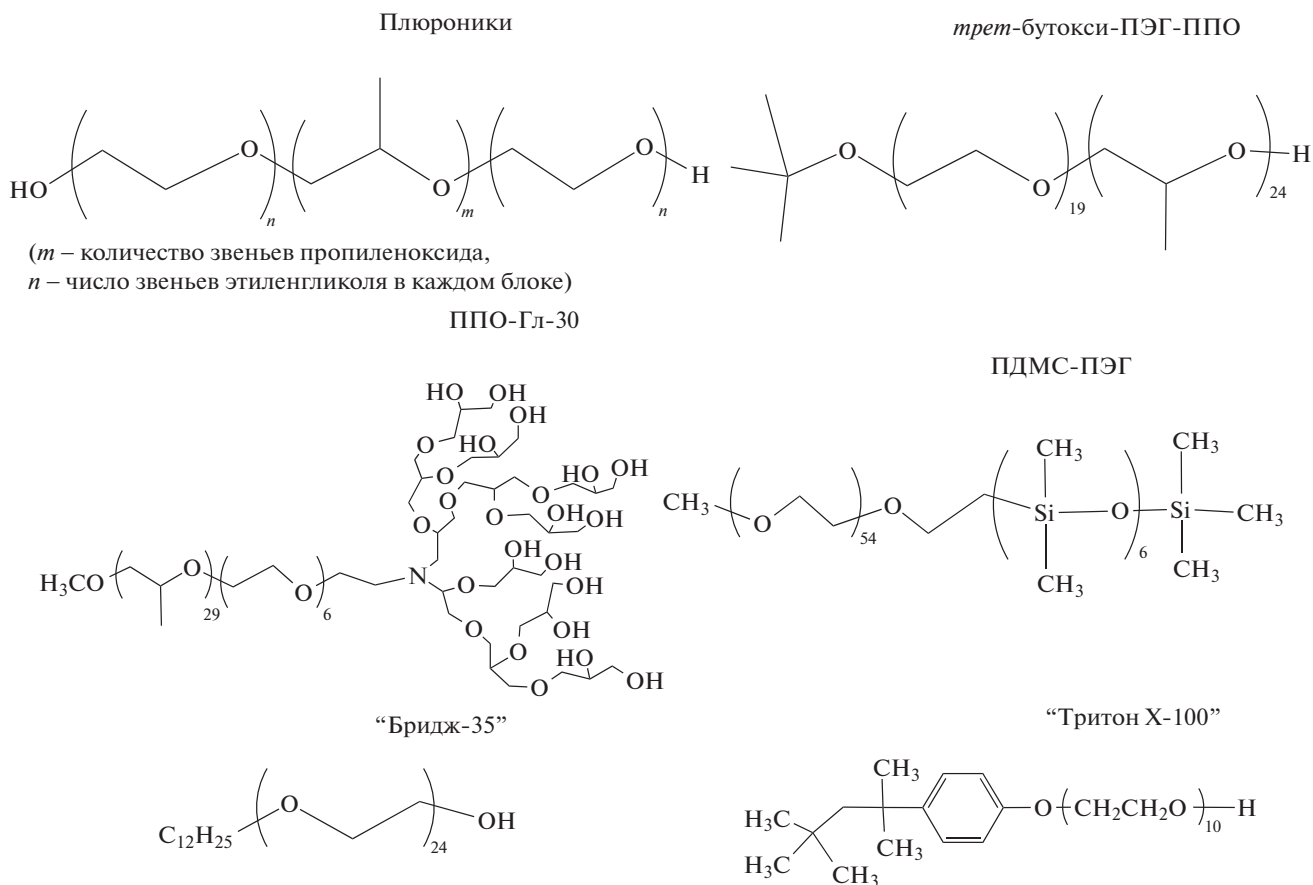
Структура исследованных сополимеров

Для выявления связи между структурой полимеров и их влиянием на клетки были исследованы 14 незаряженных блок-сополимеров различной структуры (табл. 1). Основную группу составляли плюроники – трехблочные сополимеры, гидрофобный блок которых был образован 30, 40 или 60 звеньями пропиленоксида (ПО), а гидрофильные блоки – этиленгликолем (ЭГ), количество звеньев последнего варьировалось от 2 до 100. Массовая доля ПЭГ в разных плюрониках находилась в интервале от 10 до 80%. Для оценки значимости количества блоков в амфифильной макромолекуле сравнили эффекты трехблочных ПЭГ–ППО–ПЭГ сополимеров (плюроники) и двублочного ПЭГ–ППО (табл. 1, № 9).

Вторая группа (табл. 1, № 10 и 11) представлена диблок-сополимерами, гидрофильный блок которых разветвлен и образован остатками глицерина (обозначение Гл) [16, 17]. В сополимерах ППО–Гл-2 и ППО–Гл-30 содержание звеньев

глицерина в среднем 2 и 30 соответственно. Гидрофобный блок ППО–Гл-2 и ППО–Гл-30 – статистический сополимер $\text{ПО}_{29}\text{ЭГ}_6$ сходный по составу с гидрофобным блоком плюроники № 1–3 (табл. 1), тогда как гидрофильный блок полиглицеринов существенно отличается от блоков ПЭГ плюроники по химической и пространственной структуре.

В третью группу входили амфифильные соединения, гидрофобный блок которых был представлен ПДМС или углеводородным радикалом “Бридж-35” и “Тритон X-100” (табл. 1, № 12–14). Эти блоки довольно короткие, но гораздо более гидрофобные, чем блоки ППО плюроники и полиглицеринов. Так, коэффициент распределения “Тритона X-100” в системе гексан–вода равен 3000 [20, 21], тогда как определенный в тех же условиях коэффициент распределения плюроника L-61 и двублочного сополимера ПЭГ–ППО соответствовал 45 ± 9 и 78 ± 17 [22] соответственно:



Такой набор сополимеров различной структуры давал возможность оценить влияние химического строения, длины и топологии гидрофобного и гидрофильного блоков на способность амфифильных сополимеров поддерживать размножение клеток.

Коммерческие препараты сополимеров были исследованы методом ГПХ. По данным производителя индекс полидисперсности этих полимеров составлял 1.2–1.4. Проведенный анализ молекулярно-массового распределения выявил наличие низкомолекулярной примеси в препарате плюроника P-123 (рис. 1а). Деконволюция хроматограммы в предположении гауссова распределения каждой из мод выявила два пика, площади которых составляли 84.2 и 15.8%. Причем средняя молекулярная масса M_w преобладающей моды оказалось равной 5.04×10^3 , что ниже значения 5.75×10^3 , заявленного производителем [23].

Низкомолекулярные примеси были ранее обнаружены и в плюронике F-127 [5]. Таким образом, оба плюроника с гидрофобным блоком из 60 звеньев пропиленоксида не унимодальны в отличие от плюроники с 40 или 30 звеньями ПО, например плюроника L-61 (рис. 1б).

Определенное ранее [5] значение ККМ плюроника P-123 было подозрительно заниженным

($0.4 \pm 0.02 \mu\text{M}$) по сравнению с литературными данными. Поэтому после проведения ГПХ и обнаружения низкомолекулярной примеси в препарате P-123 была повторно определена его ККМ с использованием более подробных разведений полимера. При этом условии обнаружилось небольшое “плечо”, предшествующее резкому увеличению флуоресценции, которое отражает образование мицелл полноразмерным P-123 (рис. 2а). Найденная таким образом его ККМ равна $1.1 \pm 0.1 \mu\text{M}$, что согласуется с данными работ [24, 25].

Проверка остальных полимеров показала, что значения их ККМ не изменились при хранении препаратов в замороженном состоянии или в стерильном растворе при 4–8°C и остались такими же, как были ранее [5].

Исключением оказался ПДМС–ПЭГ. Его хранение при 4°C в течение четырех суток в виде 10% водного раствора привело к увеличению ККМ с 15 ± 3 до $65 \mu\text{M}$ (рис. 2б). Нестабильность ПДМС–ПЭГ в водных растворах может быть обусловлена кислотным гидролизом связи между блоком силоксана и ПЭГ. Вероятно, по этой причине авторы предыдущих работ получали сильно завышенное значение ККМ этого диблок сополимера ($167 \mu\text{M}$) [26].

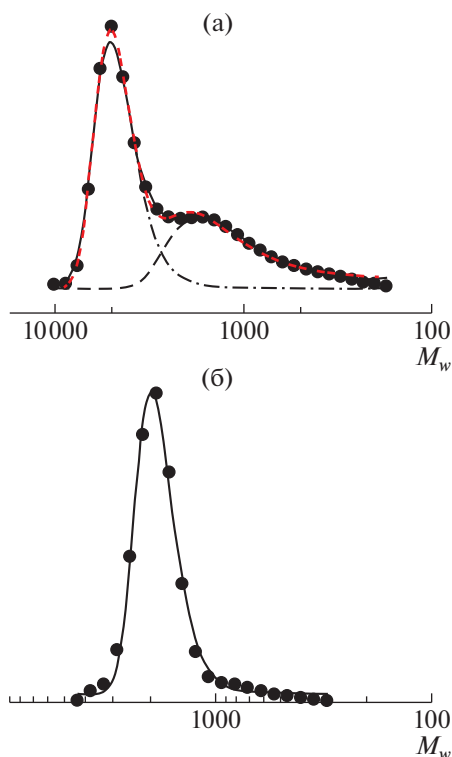


Рис. 1. ГПХ плуроников P-123 (а) и L-61 (б).

Увеличение количества клеток после их инкубации с блок-сополимерами, содержащими ПЭГ

Клетки MCF-7/Adg инкубировали в течение одного часа с сополимером и после его удаления культивировали трое суток в полной среде в CO_2 -инкубаторе. Конечное количество клеток в контроле принимали за 100%, и относительно этой величины оценивали прирост клеток в опытных пробах. Сополимеры тестировали в диапазоне концентрации от 10^{-7} до 10^{-3} – 10^{-2} моль/л (рис. 3).

Таким образом, были проанализированы все соединения, указанные в табл. 1.

Их влияние на размножение клеток выражали в виде зависимости конечного количества клеток от концентрации тестируемого вещества. Результат такого эксперимента представлен на примере плуроника P-123 (рис. 3а). Одночасовая инкубация клеток с P-123 в концентрации менее $8 \mu\text{M}$ не влияла на конечное количество клеток — оно оставалось на уровне контроля (100%). В диапазоне концентрации P-123 от 30 до 600 – $700 \mu\text{M}$ количество клеток повышено в 1.5 раза, образуя плато. При концентрации P-123 выше $700 \mu\text{M}$ количество клеток снижалось вследствие цитотоксичности полимера.

Аналогичные результаты были получены со всеми плурониками и диблок-сополимерами ПДМС–ПЭГ (рис. 3г) и ПЭГ–ППО. Во всех случаях в определенном диапазоне концентрации, характерном для данного сополимера, наблюдался рост числа клеток. Эта область концентрации всегда предшествовала цитотоксичности.

В отличие от них, сополимеры группы полиглицеринов, гидрофильный блок которых представлен звеньями глицерина, ППО–Гл-2 и ППО–Гл-30, не вызывали увеличения количества клеток (рис. 3д). Введение большего количества звеньев глицерина (вплоть до 76) не изменило этот результат [15].

Таким образом, замена линейного гибкого ПЭГ на разветвленный плотно упакованный блок полиглицеринов привела к потере способности полимеров увеличивать выживаемость клеток. Этот результат доказывает участие именно блока ПЭГ в поддержке размножения клеток.

При взгляде на графики, приведенные на рис. 3, внимание привлекает, прежде всего, высота прироста. Однако эта величина непостоянна. Например, плуроник L-61 стимулировал рост количе-

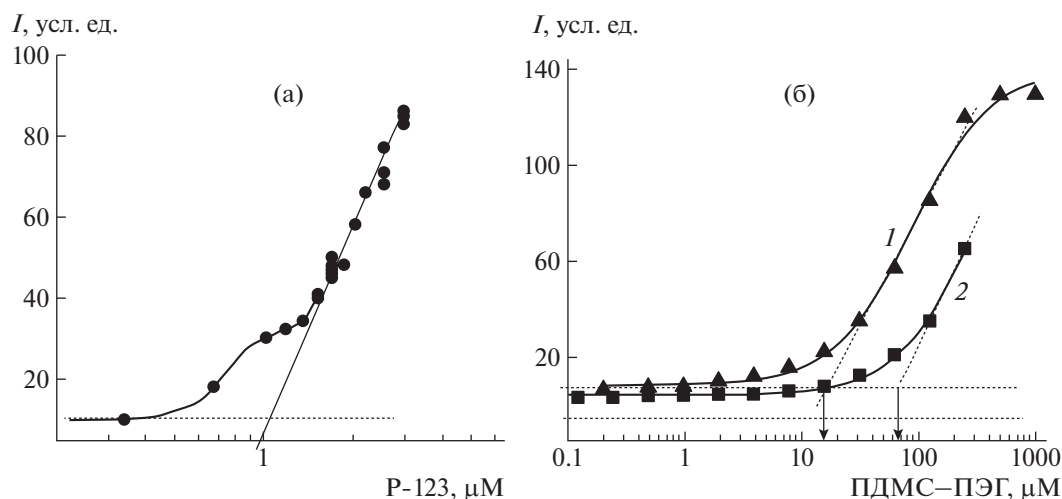


Рис. 2. ККМ плуроника P-123 (а) и диблок-сополимера 10% ПДМС–ПЭГ (б), который растворяли в воде в течение ночи при 4°C и определяли ККМ на следующий день (1) и через 4 суток инкубации при той же температуре (2).

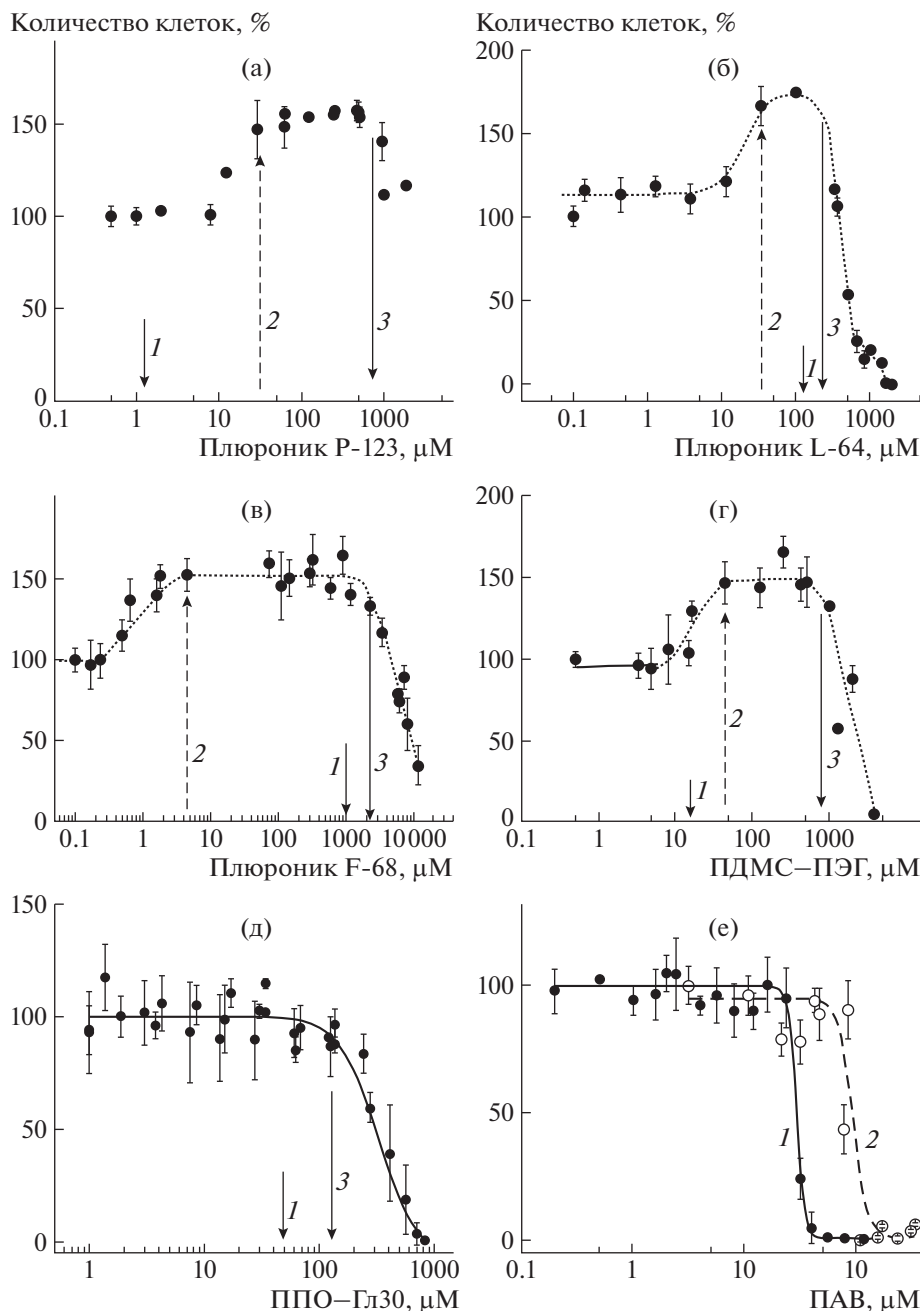


Рис. 3. Зависимости конечного количества клеток MCF-7/Adg от концентрации полимеров в течение 1 ч инкубации: влияние плуроников P-123 (а), L-64 (б), F-68 (в) и ПДМС–ПЭГ (г) и его отсутствие у полиглицерина ППО–Гл-30 (д), “Бриджа-35” (1) и “Тритона X-100” (2) (е). Стрелки на рисунках указывают ККМ (1), концентрацию, достаточную для повышения количества клеток (2) и начало цитотоксической области (3).

ства клеток в разных опытах до 135, 160 и 220%, очевидно, вследствие непостоянства тест-системы. Поэтому данный показатель непригоден для оценки эффективности полимера.

Однако при внимательном анализе приведенных выше опытов с плуроником L-61 было обнаружено, что разный прирост количества клеток достигался во всех опытах при одинаковой концентрации полимера $40 \pm 5 \mu\text{M}$. Постоянство это-

го концентрационного параметра для данного полимера и его независимость от состояния тест-системы подтвердились при анализе остальных сополимеров. Поэтому в настоящей работе предложено использовать концентрацию $S_{\text{макс}}$, достаточную для достижения максимального прироста клеток в качестве характеристики блочных полимеров и применять ее для сравнения их эффективности в поддержании размножения клеток.

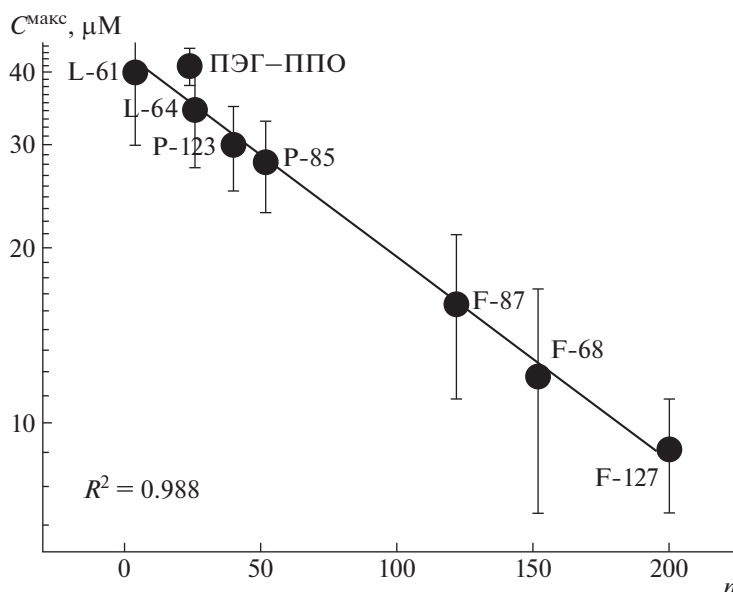


Рис. 4. Корреляция между значениями концентрации сополимеров и количеством звеньев этиленгликоля в их молекулах.

Влияние длины блоков полиэтиленгликоля

Для всех исследуемых сополимеров были определены значения $C_{\text{макс}}$ (табл. 1; рис. 3, штриховая стрелка). Разброс $C_{\text{макс}}$ каждого сополимера в разных опытах не превышал 30%. Только у наиболее гидрофильного плюроники F-68 эта величина в разных опытах определялась в довольно широком диапазоне от 5 до 20 мМ.

Сопоставление значений $C_{\text{макс}}$ и ККМ плюро-ников выявило некоторую закономерность. Так, плюроники L-61 [15], L-81 и P-123 (рис. 3а) с 10–30 мас. % ПЭГ всегда увеличивали количество клеток при концентрации выше ККМ. По-видимому, при наличии коротких блоков ПЭГ необходимо их концентрирование на поверхности мицелл для воздействия на клетки.

У более гидрофильных плюро-ников L-64 (рис. 3б) и P-85 (табл. 1, № 5) с массовой долей ПЭГ 40–50% значения $C_{\text{макс}}$ меньше ККМ, но только в 3–4 раза. Это значит, что такие плюроники способны в дезагрегированной форме поддерживать клетки, но только при достаточно высокой концентрации единичных макромолекул.

В отличие от них, плюроники F-127 и F-68 с массовой долей ПЭГ около 70–80% увеличивали количество клеток при очень низкой концентрации единичных макромолекул в растворе (рис. 3в). Значения их $C_{\text{макс}}$ на два порядка меньше ККМ (табл. 1). Высокая эффективность макромолекул плюро-ников F-68 и F-127 коррелирует с большим количеством звеньев этиленгликоля (76 и 100 соответственно) в каждом гидрофильном блоке.

Описанная закономерность указывала на необходимость большого количества близко расположенных звеньев этиленгликоля для поддержания размножения клеток. Построение зависимо-

сти значений $C_{\text{макс}}$ от длины ПЭГ блока показало, что чем он длиннее, тем меньше концентрация макромолекулы, достаточная для проявления эффекта (рис. 4). Полученная корреляция подтверждает ведущую роль ПЭГ в поддержании размножения клеток.

Влияние количества гидрофильных блоков в сополимерах

Массовая доля ПЭГ в двублочных сополимерах ПЭГ–ППО и ПДМС–ПЭГ составляет 48 и 82% соответственно (табл. 1). Плюроники при таком содержании ПЭГ эффективны в виде единичных макромолекул (рис. 3б, 3в). Поэтому можно было бы ожидать увеличения количества клеток в присутствии ПЭГ–ППО и ПДМС–ПЭГ при их концентрации меньше ККМ. Однако оба диблок-сополимера вызывали такой эффект только в виде мицелл (табл. 1; рис. 3г) как гидрофобные плюроники с 10–30 мас. % ПЭГ. Таким образом, двублочные сополимеры менее эффективны в поддержании размножения клеток, чем трехблочные плюроники.

Значение химической структуры гидрофобного блока

Необходимость для сополимера ПДМС–ПЭГ образовывать мицеллы для поддержания размножения клеток, возможно, вызвана не только отсутствием второго гидрофильного блока, как обсуждалось выше, но и повышенной гидрофобностью блока ПДМС. Он невелик, состоит только из семи звеньев диметилсилоксана, но каждый из них более гидрофобен, чем пропиленоксид, благодаря наличию двух метильных групп. Образование мицелл позволяет экранировать блоки ПДМС

и экспонировать гидрофильные блоки ПЭГ на поверхность мицелл, что дает им возможность взаимодействовать с клетками. Таким образом, необходимость образования мицелл для поддержания размножения клеток может быть обусловлена повышенной гидрофобностью ПДМС.

Роль гидрофобного блока особенно ярко проявилась при анализе ПАВ – “Бриджа-35” и “Тритона X-100”. Они не увеличивали количества клеток во всем диапазоне нетоксичной концентрации (рис. 3е). В этом отношении они представляют исключение среди всех исследованных соединений, содержащих ПЭГ. Особенностью структуры “Бриджа-35” и “Тритона X-100” является наличие углеводородных радикалов, выполняющих роль гидрофобного блока. Трет-нонилфенил в молекуле “Тритона X-100” и особенно лаурил “Бриджа-35” близки по структуре остаткам жирных кислот липидного бислоя клеточной мембраны. В результате, единичные молекулы “Бриджа-35” и “Тритона X-100” внедрялись в липидный бислой и вызывали гибель клеток при концентрациях гораздо ниже ККМ, а именно, при 25 и 60 μM соответственно (рис. 3е). Значит, высокое средство гидрофобного блока к липидному бислою клеточной мембраны препятствует возможности сополимеров поддерживать размножение клеток.

Таким образом, с увеличением гидрофобности блоков в ряду “ППО–ПДМС – углеводородный радикал” снижается эффективность сополимера. При наличии блока ППО гидрофильные плюроники могут выполнять эту функцию в виде единичных молекул, сополимер с блоком ПДМС – только в виде мицелл, тогда как “Бридж-35” и “Тритон X-100” с гидрофобными блоками, образованными углеводородами, полностью лишены способности поддерживать размножение клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все исследованные дву- и трехблочные сополимеры, содержащие ПЭГ в качестве гидрофильного блока, способны в определенном диапазоне концентрации увеличивать количество клеток. Впервые показано, что защитное действие плюроники на клетки проявляется не только в случае наиболее гидрофильных представителей этого семейства, но является общим свойством блок-сополимеров, содержащих ПЭГ. Его замена на гидрофильный блок, состоящий из звеньев глицерина, полностью лишает сополимер указанно-го выше свойства.

Предложен параметр, позволяющий сравнивать эффективность сополимеров в поддержании жизнеспособности клеток. Он основан на определении концентрации, достаточной для достижения максимального увеличения количества клеток. Чем больше звеньев в блоке ПЭГ, тем ниже эта концентрация. Полученные в настоящей

работе результаты могут быть полезны при планировании структуры синтезируемых амфифильных сополимеров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alexandridis P., Hatton T.A. // Coll. Surf. A. 1995. V. 96. P. 1.
2. Almgren M., Brown W., Hvidt S. // Coll. Polym. Sci. 1995. V. 273. P. 2.
3. Alakhova D.Y., Kabanov A.V. // Mol. Pharm. 2014. V. 11. № 8. P. 2566. doi: <https://doi.org/10.1021/mp500298q>
4. Zhirmov A., Nam E., Badun G., Romanyuk A., Ezhov A., Melik-Nubarov N., Grozdova I. // Pharm. Res. 2018. V. 35 P. 205. <https://doi.org/10.1007/s11095-018-2484-4>
5. Budkina O.A., Demina T.V., Dorodnykh T.Yu., Melik-Nubarov N.S., Grozdova I.D. // Polymer Science A. 2012. V. 54. № 9. P. 707.
6. Swim H.E., Parker R.F. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1960. V. 103. P. 252.
7. Hellung-Larsen P., Assaad F., Pankratova S., Saietz B.L., Skovgaard L.T. // J. Biotechnol. 2000. V. 76. № 2–3. P. 185.
8. Murhammer D.W., Goochee C.F. // Biotechnol. Prog. 1990. V. 6. № 5. P. 391.
9. Togo T., Alderton J.M., GQ Bi., Steinhardt R.A. // J. Cell Sci. 1999. V. 112. P. 719.
10. Exner A.A., Krupka T.M., Scherrer K., Teets J.M.J. // J. Control. Release. 2005. V. 106. P. 188.
11. Mizrahi A. // J. Clin. Microbiol. 1975. V. 2. P. 11.
12. Tharmalingam T., Ghebeh H., Wuerz T., Butler M. // Mol. Biotechnol. 2008. V. 39. P. 167
13. Zhang Z., al Rubeai M., Thomas C.R. // Enzyme Microb. Technol. 1992. V. 14. P. 980.
14. Kerleta V., Andrlík I., Braunmüller S., Franke T., Wirth M., Gabor F. // Altex. 2010. V. 27. № 3/10. P. 191.
15. Demina T.V., Budkina O.A., Badun G.A., Melik-Nubarov N.S., Frey H., Müller S.S., Nieberle J., Grozdova I.D. // Biomacromolecules. 2014. V. 15. P. 2672. <https://doi.org/10.1021/bm500521j>
16. Wurm F., Frey H. // Prog. Polym. Sci. 2011. V. 36. P. 1.
17. Istratov V., Kautz H., Kim Y.-K., Schubert R., Frey H. // Tetrahedron. 2003. V. 59. P. 4017.
18. Chattopadhyay A., London E. // Anal. Biochem. 1984. V. 139. P. 408.
19. Mosmann T. // J. Immunol. Meth. 1983. V. 65. P. 55.
20. Heerklotz H., Seelig J. // Biophys. J. 2000. V. 78. P. 2435.
21. Heerklotz H., Seelig J. // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1508. P. 69.
22. Zhirmov A.E., Pavlov D.N., Demina T.V., Badun G.A., Grozdova I.D., Melik-Nubarov N.S. // Polymer Science A. 2006. V. 48. № 11. P. 1202.
23. Kozlov M., Melik-Nubarov N., Batrakova E., Kabanov A. // Macromolecules. 2000. V. 33. № 9. P. 3305.
24. Alexandridis P., Holzwarth J.F., Hatton T.A. // Macromolecules. 1994. V. 27. P. 2414.
25. Wanka G., Hoffmann H., Ulbright W. // Coll. Polym. Sci. 1990. V. 268. P. 101.
26. Pavlov D.N., Dorodnykh T.Yu., Zaborova O.V., Melik-Nubarov N.S. // Polymer Science A. 2009. V. 51. № 3. P. 295.