

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОВЫШЕНИЯ БИОСОВМЕСТИМОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ С БИОЛОГИЧЕСКИМИ СТРУКТУРАМИ С ПОМОЩЬЮ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЕЙ МЕТОДОМ СПИНОВЫХ ЗОНДОВ

Л.В. Иванов¹, Н.Т. Картель¹, Е.В. Щербак², В.Г. Кравченко³

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины, ул. Генерала Наумова 17, Киев, 03164, Украина, e-mail: nikar@kartel.kiev.ua;

²Харьковская зооветеринарная академия, ул. Академическая 1, пгт. Малая Даниловка, Дергачевский район, Харьковская обл., 62341, Украина, e-mail: info@hdzva.edu.ua;

³Украинская медицинская стоматологическая академия, ул. Шевченка 23, Полтава, 36011. Украина

Гидрофобные спин-меченые карболин и ряд спин меченых-стероидов хорошо растворяются как в чистых полиэтиленгликолях (ПЭГ), так и в его водных растворах, демонстрируя наличие в спектре ЭПР триплетной линии. Показано, что введение 20 % водных растворов ПЭГ молекулярной массой от ПЭГ-200 до ПЭГ-40000 в раствор сывороточного альбумина быка (САБ) эффективно вытесняют гидрофобные спин-меченый прогестерон или карболин из гидрофобной полости САБ в воду, конкурентно взаимодействуя с гидрофобной полостью САБ. ПЭГ демонстрируют полную биосовместимость даже с гидрофобными биологическими структурами и как вещества, повышающие биосовместимость, – универсальны. На кривой зависимости микровязкости ПЭГ от молекулярной массы присутствует точка перегиба в районе молекулярной массы 300-400 Дальтон, что свидетельствует о компактизации структуры ПЭГ и соответствует литературным данным о частичной спирализации молекул полиэтиленгликоля, начиная с ПЭГ-400 и выше, в которой основную роль играют водородные связи молекулы ПЭГ. Метиленовые гидрофобные остатки ПЭГ оказываются внутри спирали полиэтиленгликоля, а полярные группы, обеспечивающие молекулам ПЭГ осмотически активные свойства и вызывающие дегидратацию мембран клеток, оказываются снаружи спирали ПЭГ. Поэтому с ростом молекулярной массы ПЭГ способность дегидратировать клетки возрастает. По-видимому, механизмом повышения биосовместимости с помощью ПЭГ является способность молекул ПЭГ за счет компактизации (спирализации) или расширения принимать оптимальную конформацию, используя свои гидрофобные или полярные группы для оптимального связывания с одной стороны с наночастицами, а с другой – с биообъектом. Введение в клетки конъюгатов наночастиц с ПЭГ, противоположно влияющих на микровязкость мембран и компенсирующих негативное действие наночастиц на мембраны, является вторым механизмом повышения биосовместимости наночастиц. Показана возможность взаимодействия ПЭГ с нанохорнами с ориентацией звеньев ПЭГ вдоль конусных игл (нанотрубок) нанохорнов и повышением биосовместимости нанохорнов.

Ключевые слова: биосовместимость, полиэтиленгликоли, гидрофобные спиновые зонды, растворимость, метиленовые группы, биологические структуры, наночастицы, нанохорны, сывороточный альбумин быка

В настоящее время полиэтиленгликоли различной молекулярной массы (ПЭГ) широко применяют в качестве веществ, повышающих растворимость и совместимость гидрофобных наночастиц углеродных нанотрубок, нанохорнов, графена, гидрофобных лекарственных веществ (ЛВ) с различными биологическими структурами организма. ПЭГ образуют как ковалентные, так и нековалентные конъюгаты с наночастицами или ЛВ [1-7]. Известно, что многие эффективные, часто ароматические препараты, являются нерастворимыми в воде, что затрудняет их использование для лечения заболеваний. В работе [3] функционализировали нанографический оксид (NGO) – новый графитовый материал с разветвленным ПЭГ для получения биосовместимого конъюгата NGO-PEG в различных биологических растворах. Конъюгат NGO-PEG использовали для присоединения гидрофобных ароматических молекул, включая камптотecin (CPT) и SN38, нековалентно через π - π -укладку. Полученный в результате NGO-PEG-SN38 комплекс проявлял превосходную растворимость в воде, сохраняя при этом высокую способность к уничтожению раковых клеток, аналогичную активности свободных молекул SN38 в органических растворителях. Эти результаты показали, что графен является новым классом материалов, перспективным для биологических применений, включая будущую обработку раковых клеток *in vivo* различными ароматическими препаратами с низкой растворимостью [3]. Остается еще ряд невыясненных вопросов, как графен, его производные (G, GO, RGO) и другие наночастицы взаимодействуют с белками и мембранами клеток крови. Этот вопрос очень актуален, поскольку системы доставки ЛВ на основе G или GO вводят в организм внутривенно. Существенным осложнением при работе с нанохорнами и другими наноструктурами, является их высокая склонность к ассоциации. Для клинического использования SWCNHs необходимо иметь в водных средах частицы с удовлетворительной степенью дисперсности, так как в противном случае нежелательная агрегация в капиллярах может привести к их закупорке и, как следствие, серьезному повреждению органов. Обычно для диспергирования наночастиц их модифицируют с помощью PEG. Такая модификация поверхности (PEG ornamentation) не только предотвращает их слипание, но также предотвращает связывание с белками плазмы, что замедляет выведение наночастиц из крови [6]. Было показано, что подобный подход можно использовать и для нанохорнов: конъюгаты PEG-доксорубинина придают oxSWNHs требуемую дисперсность [7].

Целью работы явилось изучение некоторых механизмов увеличения биосовместимости различных веществ полиэтиленгликолями методом спиновых зондов. Это позволит расширить наши знания о возможном влиянии ПЭГ на различные биообъекты и прогнозировать применение различных ПЭГ для решения разнообразных задач биофармации и биотехнологии.

Материалы и методы.

Использовали метод спиновых зондов, который давно успешно применяется в биофизике, биофармации и медико-биологических исследованиях. В методе спиновых зондов по спектрам электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) стабильных нитроксильных радикалов (спиновых зондов), вводимых в биообъект, судят о микровязкости и полярности микроокружения зонда, конформационных изменениях в белках и мембранах клеток, текучести липидов мембран и целостности мембран клеток, митохондриальной активности различных тканей, сродстве веществ и ЛВ к мембранам и белкам [8, 9]. Использовали спин меченый гидрофобный карболин **1** и спиновые зонды **2** и **3** (см. рис. 1) на основе пальмитиновой кислоты, синтезированные согласно [10, 11], которые встраиваются в мембрану самопроизвольно [8, 9]. Для расчета времени корреляции (τ_c) зондов в мембране и на белках рассматривали такие характеристики ЭПР: ширина центральной компоненты (ΔH_o), интенсивности компонентов спектра ЭПР (h_0, h_{+1}, h_{-1}) с

магнитным квантовым числом ядра ^{14}N ($M = 0, +1, -1$), изотропная константа расщепления ($A_{\text{изо}}$). Базовым уравнением для оценки вязкости любых сред является уравнение Стокса-Эйнштейна:

$$\tau = 4\pi a^3 \cdot \eta / 3k_B T, \quad (1)$$

где: η – вязкость среды, a – эффективный радиус спинового зонда, определяемый по спектрам ЭПР [8], k_B – Константа Больцмана.

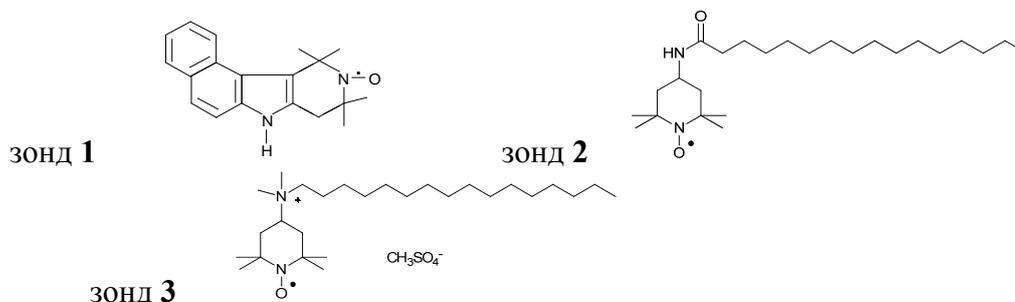


Рис. 1. Спиновые зонды 1, 2 и 3.

Время корреляции зонда (τ_c), пропорциональное вязкости мембраны (η), определяются из следующих эмпирических соотношений [8]:

$$1/\tau_{c(+1)} = 2 \cdot 10^8 / [(h_0/h_{+1})^{1/2} - 1] \Delta H_0; \quad (2)$$

$$1/\tau_{c(-1)} = 3,6 \cdot 10^9 / [(h_0/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_0; \quad (3)$$

$$\tau_{c(+1/-1)} = 6,65 \cdot 10^{-10} [(h_{+1}/h_{-1})^{1/2} - 1] \Delta H_+. \quad (4)$$

Микровязкость мембран является очень важной характеристикой структуры мембран клеток, т.к. от нее напрямую зависят ферментативная активность мембранных ферментов, проницаемость мембран, работа ионных каналов в мембране, биодоступность экзогенных и эндогенных субстратов в ткани и клетки, биодоступность ЛВ. Для оценки изменений ориентации фосфолипидов в мембране эритроцитов использовали параметр анизотропии спектров ЭПР зондов в липидах мембран ε . Теория спектров ЭПР связывает экспериментальный параметр анизотропии спектров ε с величиной анизотропии вращательной диффузии радикала. Анизотропия спектров ЭПР определяется из спектров ЭПР согласно следующей формуле:

$$\varepsilon = [(h_0/h_{+1})^{1/2} - 1] / [(h_0/h_{-1})^{1/2} - 1]. \quad (5)$$

Использовали этиленгликоль, диэтиленгликоль, триэтиленгликоль, ПЭГ-300, ПЭГ-400, ПЭГ-600, ПЭГ-1500 фирмы "Merk". Регистрацию спектров ЭПР осуществляли на радиоспектрометре «ESR Spectrometer CMS8400» («Adani», Беларусь). Результаты исследования представлены в виде средних значений, отклонение - стандартной ошибки среднего. Статистическую значимость различий между значениями оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Особенность полиэтиленгликолей увеличивать биосовместимость различных веществ в первую очередь связана с присутствием в структуре ПЭГ гидрофобных метиленовых групп и полярных гидроксильных и кислородных атомов. Это способствует смешиванию ПЭГ с водой или различными биологическими структурами в любых соотношениях. В структуре ПЭГ изначально заложена способность растворять в себе

гидрофобные веществ и смешиваться с биоструктурами. Проведенные нами эксперименты показали, что гидрофобные спин меченые карболин (зонд **1**) и ряд гидрофобных меченых стероидов хорошо растворяются, как в чистых ПЭГ, так и в водных растворах ПЭГ, т.к. демонстрируют наличие в спектре ЭПР триплета – в случае нерастворения гидрофобных спиновых зондов в ПЭГ спектры ЭПР имели бы широкие синглеты, свидетельствующие о вытеснении из воды гидрофобных зондов друг к другу и наличии обменных взаимодействий между собой [15]. Эти данные представлены на рис. 2. Кроме этого показано, что введение 20 % водных растворов ПЭГ молекулярной массы от ПЭГ-200 до ПЭГ-40000 в раствор сывороточного альбумина быка (САБ) эффективно вытесняют гидрофобные спин меченый прогестерон или карболин (зонд **1**) из гидрофобной полости САБ в воду, конкурентно взаимодействуя с гидрофобной полостью САБ, вытесненной остатками неполярных аминокислот фенилаланина, триптофана и тирозина. Эти данные представлены на рис. 3, из которого следует, что ПЭГ-600 обладает максимальным сродством к основной гидрофобной полости САБ, что по-видимому, соответствует размерам этой полости [13]. Полученные результаты экспериментов показывают, что полиэтиленгликоли демонстрируют полную биосовместимость даже с гидрофобными биологическими структурами и как вещества, повышающие биосовместимость, являются универсальными.

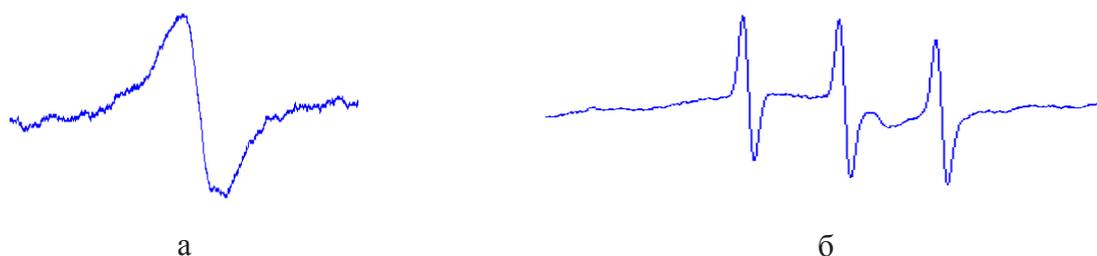


Рис. 2. Спектры ЭПР: а) зонда **1** в воде; б) зонда **1** в чистом ПЭГ-400 при 25 °С

Анализ кривой зависимости микровязкости ПЭГ от молекулярной массы (рис. 4) показывает наличие точки перегиба на кривой в районе молекулярной массы 300-400 Дальтон, что свидетельствует о компактизации структуры ПЭГ и соответствует литературным данным о частичной спирализации молекулы полиэтиленгликоля, начиная с ПЭГ-400 и выше, в которой основную роль играют внутримолекулярные водородные связи молекулы ПЭГ. При этом метиленовые гидрофобные остатки ПЭГ оказываются внутри спирали полиэтиленгликоля [12], а полярные группы, обеспечивающие молекулам ПЭГ осмотически – активные свойства и вызывающие дегидратацию мембран клеток, оказываются снаружи спирали ПЭГ [13].

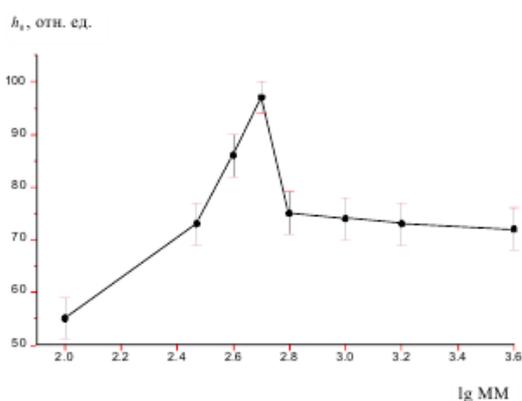


Рис. 3. Зависимость интенсивности h_0 центральной компоненты спектра ЭПР спинового зонда **1** ($5 \cdot 10^{-5}$ М) в растворе САБ (10^{-4} М) от молекулярной массы (ММ) вводимого ПЭГ.

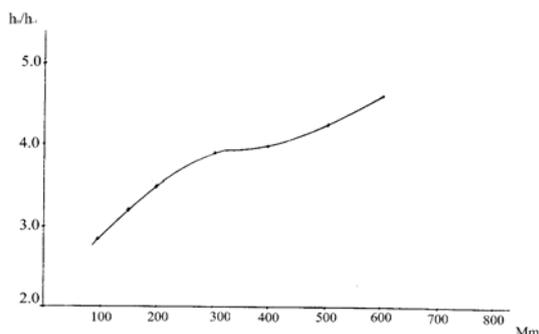


Рис. 4. Зависимость параметра спектра ЭПР h_0/h_{-1} зонда 1 пропорционального микровязкости чистого ПЭГ от молекулярной массы ПЭГ при 25 °С.

Поэтому с ростом молекулярной массы ПЭГ способность дегидратировать клетки возрастает. Метод спиновых зондов оказался очень чувствительным биофизическим методом, т.к. позволил выявить компактизацию молекулы ПЭГ при появлении спиральной структуры в молекуле ПЭГ, которую физики выявили тонким физическим методом. Погрешность при оценке микровязкости чистого ПЭГ составила 1.5 %. Возможность длинных молекул ПЭГ менять свою структуру (компактизация или разворачивание цепочек полимера ПЭГ) в зависимости от полярности биообъекта обеспечивает молекуле ПЭГ уникальные свойства – вызывать дегидратацию не только поверхности белков или мембран клеток, но и дегидратацию внутриклеточной воды изолированных клеток и клеток тканей, существенно меняя форму и размеры клеток [13]. Это в свою очередь позволяет диффундировать низкомолекулярным ПЭГ внутрь клеток, выравнивая осмотическое давление внутри и снаружи. По-видимому, механизмом повышения биосовместимости с помощью ПЭГ является способность молекул ПЭГ за счет компактизации (спирализации) или расширения молекул принимать оптимальную конформацию структуры, предоставляя свои гидрофобные или полярные группы для оптимального связывания с наночастицами и биообъектом.

Таблица. Влияние взвеси нанохорнов на параметры спектров ЭПР зонда 3 в физиологическом растворе

среда нахождения зонда	$A_{\text{изо}}$, гс	$\tau_{c+1/-1} \cdot 10^9$	ε
Физиологический раствор	17,1	0,118±0.005	0,48
Физиологический раствор с нанохорнами через 1 ч контакта	17,1	0,102±0.004	0,64
Физиологический раствор с нанохорнами через 4 ч контакта	17,1	0,097±0.004	0,32
Физиологический раствор с нанохорнами через 24 ч контакта	17,0	0,061±0.002	1,05

При инкубации зонда 3 с нанохорнами в течение суток наблюдается медленное, но прогрессирующее уменьшение времени корреляции τ зонда 3 и значительное (более чем в 2 раза) увеличение параметра анизотропии спектров ε (см. таблицу). Сильное увеличение ε свидетельствует о значительном возрастании анизотропии вращательной диффузии зонда 3 в мицеллах под действием нанохорнов. Уменьшение почти в 2 раза вращательной подвижности зонда 3 возможно связано с разрывом ассоциатов зонда 3 в физрастворе и связывании части зонда с нанохорнами. Кроме этого имеет место взаимодействие длинных алкильных «хвостов» зонда 3 с конусовидными «иглами» агрегатов из нанохорнов, в результате чего происходит ориентирование зондов вдоль нанохорнов, и как следствие этого – возрастание анизотропии вращательной диффузии зонда (анизотропии спектров ЭПР) более, чем в 2 раза. Можно рассматривать зонд 3,

имеющий алкильную цепочку из метиленовых гидрофобных групп, как модель молекулы полиэтиленгликоля, также имеющего метиленовые группы $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-)_n$. Тогда данные таблицы будут свидетельствовать о возможности покрытия нанохорнов слоем полиэтиленгликоля, если он будет присутствовать в физрастворе. Ранее нами с помощью метода спиновых зондов было показано, что углеродные нанотрубки различных размеров и нанохорны способны значительно увеличивать микровязкость мембран эритроцитов при взаимодействии [14, 15]. Показано, что при небольших концентрациях многие ПЭГ уменьшают микровязкость мембран эритроцитов [11]. Мы предположили, что введение в клетки ковалентных или нековалентных конъюгатов наночастиц с ПЭГ, противоположно влияющего на микровязкость мембран и компенсирующего негативное действие наночастиц на мембраны, обеспечивает повышение биосовместимости наночастиц.

Выводы

Гидрофобные спин меченые карболин и ряд спин-меченых стероидов хорошо растворяются, как в чистых ПЭГ, так и в водных растворах ПЭГ, демонстрируя наличие в спектре ЭПР триплета. Показано, что введение 20 % водных растворов ПЭГ молекулярной массы от ПЭГ-200 до ПЭГ-40000 в раствор сывороточного альбумина быка эффективно вытесняют гидрофобные спин меченый прогестерон или карболин из гидрофобной полости САБ в воду, конкурентно взаимодействуя с гидрофобной полостью САБ, высланной остатками неполярных аминокислот фенилаланина, триптофана и тирозина. ПЭГ-600 обладает максимальным сродством к основной гидрофобной полости САБ, что, по-видимому, соответствует размерам этой полости. Полиэтиленгликоли демонстрируют полную биосовместимость даже с гидрофобными биологическими структурами и как вещества, повышающие биосовместимость, являются универсальными.

Анализ кривой зависимости микровязкости ПЭГ от молекулярной массы показывает наличие точки перегиба на кривой в районе 300-400 Дальтон, что свидетельствует о компактизации структуры ПЭГ и соответствует литературным данным о частичной спирализации молекулы полиэтиленгликоля, начиная с ПЭГ-400 и выше, в которой основную роль играют водородные связи молекулы ПЭГ. Метиленовые гидрофобные остатки ПЭГ оказываются внутри спирали полиэтиленгликоля, а полярные группы, обеспечивающие молекулам ПЭГ осмотически-активные свойства и вызывающие дегидратацию мембран клеток, оказываются снаружи спирали ПЭГ. Поэтому с ростом молекулярной массы ПЭГ способность дегидратировать клетки возрастает. По-видимому, механизмом повышения биосовместимости с помощью ПЭГ является способность молекул ПЭГ за счет компактизации (спирализации) или расширения молекул принимать оптимальную конформацию структуры, предоставляя свои гидрофобные или полярные группы для оптимального связывания с одной стороны с наночастицами, а с другой – с биообъектом.

Введение в клетки конъюгатов наночастиц с ПЭГ, противоположно влияющего на микровязкость мембран и компенсирующего негативное действие наночастиц на мембраны, является вторым фактором повышения биосовместимости наночастиц. При инкубации зонда 3 на основе пальмитиновой кислоты с нанохорнами в физрастворе в течение суток наблюдается медленное, но прогрессирующее увеличение вращательной диффузии зонда и значительное (более чем в 2 раза) увеличение параметра анизотропии спектров ε . Имеет место взаимодействие алкильных «хвостов» зонда 3 с конусовидными «иглами» (нанотрубками) нанохорнов, в результате чего происходит ориентирование зондов вдоль нанохорнов, и как следствие этого – возрастание анизотропии вращательной диффузии зонда более, чем в 2 раза. Если рассматривать зонд 3, как модель молекулы полиэтиленгликоля, полученные данные могут показывать возможность покрытия нанохорнов слоем полиэтиленгликоля, если в физрастворе будет присутствовать ПЭГ

вместо спинового зонда. Возможно это является еще одним фактором увеличения биосовместимости нековалентных конъюгатов наночастиц с ПЭГ при контакте их с биоструктурами в присутствии ПЭГ.

Литература

1. *Yang K., Zhang S., Zhang G., Sun X., Lee S.-T, Liu Z.* Graphene in mice: ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy // *Nano Lett.* – 2010. – V. 10. – P. 3318–3323.
2. *Sun X., Liu Z., Welsher K., Robinson J. T., Goodwin A., Zaric S., Dai H.* Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery // *Nano Res.* – 2008. – V. 1. №3. – P. 203–212.
3. *Liu Z., Robinson J. T., Sun X., Dai H.* PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs // *Am J. Chem. Soc.* – 2008. – V. 130. №33. – P. 10876–10877.
4. *Chen Y.J., Zhou S., Hou P., Yang Y. et al.* Characterization and in vitro cellular uptake of PEG coated iron oxide nano-particles as MRI contrast agent // *Die Pharm. Int. J. Pharm. Sci.* – 2010. – V. 36. № 7. – P. 481 – 486.
5. *Prencipe G., Tabakman S.M., Welsher K., Liu Z. et al.* PEG Branched Polymer for Functionalization of Nanomaterials with Ultralong Blood Circulation // *Am. Chem. Soc.* – 2009. – V.131. №13. – P. 4783–4787.
6. *Romberg B., Hennink W.E., Storm G.* Sheddable coating for longcirculating nanoparticles // *Pharm. Res.* – 2008. – V. 25. P.55–71.
7. *Vonarbourg A., Passirani C., Saulnier P., Benoit J.P.* Parameters influencing the stealthiness of colloidal drug delivery systems // *Biomaterials.* – 2006. – V. 27. P. 4356–4373.
8. *Murakami T., Fan J., Yudasaka M., Iijima S., Shiba K.* Solubilization of single-wall carbon nanohorns using a PEGdoxorubicin conjugate // *Molecular Pharmaceutics.* –2006. –V. 3. P. 407–414.
9. *Лихтенштейн Г.И.* Метод спиновых меток в молекулярной биологии // М.: Наука. – 1974. – С. 12–24.
10. *Берлинера Л.* Метод спиновых меток. Теория и применения // М.: Мир. –1979. – 639 с.
11. *Иванов Л.В., Ляпунов А.Н., Картель Н.Т., Нардид О.А., Окотруб А.В., Кирилюк И.А., Черкашина Я.О.* Доставка липофильных спиновых зондов углеродными нанотрубками в эритроциты и плазму крови // *Поверхность.* – 2014. – Вып. 6. №21. – С. 292–304.
12. *Иванов Л.В., Орлова И.Н.* Биофармацевтические исследования, направленные на оптимизацию состава, свойств и пути введения лекарственных препаратов // В сб. «Технология и стандартизация лекарств». – Т. 2. – 2000. – С. 558–615.
13. *Моисеев В.А.* Молекулярные механизмы криоповреждения и криозащиты белков и биологических мембран // Дисс. на соиск. уч. степени д. б. н.: СР –1984. – 331 с.
14. *Иванов Л.В., Картель Н.Т.* Характеризация реологических свойств поверхности нанобиообъектов методом спиновых зондов // *Поверхность.* – 2012. – Вып. 4. №19. – С. 334–348.
15. *Kartel N.T., Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Okotrub A.V., Nardid O.A., Cherkashina Ya.O., Derymedved L.V.* A study of the effect of carbon nanotubes with different structure on the microviscosity and integrity of erythrocyte membranes using a spin probe method // *Mod. Science- Moderni* – 2017. – V. 6. – P. 111–126.
16. *Картель Н.Т., Иванов Л.В., Ляпунов А.Н., Нардид О.А., Черкашина Я.О., Гурова О.А., Окотруб А.В.* Оценка влияния углеродных нанохорнов на микровязкость мембран эритроцитов и белки плазмы крови крыс методом спиновых зондов // *Доповіді НАН України.* – 2017. – № 12. – С. 73 – 82.

17. Картель Н.Т., Иванов Л.В., Ляпунов А.Н., Нардид О.А., Щербак О.В., Гурова О.А., Окотруб А.В. Изучение особенностей структуры детонационных нанодIAMAZOV и их влияния на микровязкость мембран эритроцитов крысы методом спиновых зондов // Поверхность. – 2018. – Вып. 10. №25. – С. 286–297.

References

1. Yang K., Zhang S., Zhang G., Sun X., Lee S.-T, Liu Z. Graphene in mice: ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy. *Nano Lett.* 2010. **10**: 3318.
2. Sun X., Liu Z., Welsher K., Robinson J. T., Goodwin A., Zaric S., Dai H. Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery. *Nano Res.* 2008. **1**(3): 203.
3. Liu Z., Robinson J. T., Sun X., Dai H. PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs. *Am J. Chem. Soc.* 2008. **130**(33): 10876.
4. Chen Y.J., Zhou S., Hou P., Yang Y. et al. Characterization and in vitro cellular uptake of PEG coated iron oxide nano-particles as MRI contrast agent. *Die Pharm. Int. J. Pharm. Sci.* 2010. **36**(7): 481.
5. Prencipe G., Tabakman S.M., Welsher K., Liu Z. et al. PEG Branched Polymer for Functionalization of Nanomaterials with Ultralong Blood Circulation. *Am. Chem. Soc.* 2009. **131**(13): 4783.
6. Romberg B., Hennink W.E., Storm G. Sheddable coating for longcirculating nanoparticles. *Pharm. Res.* 2008. **25**: 55.
7. Vonarbourg A., Passirani C., Saulnier P., Benoit J.P. Parameters influencing the stealthiness of colloidal drug delivery systems. *Biomaterials.* 2006. **27**: 4356.
8. Murakami T., Fan J., Yudasaka M., Iijima S., Shiba K. Solubilization of single-wall carbon nanohorns using a PEGdoxorubicin conjugate. *Molecular Pharmaceutics.* 2006. **3**: 407.
9. Lichtenstein G.I. Spin tag method in molecular biology. *M.: Science.* 1974. 12. [in Russian].
10. Berliner L. Method of spin labels. Theory and application. *M.: World.* 1979. 639. [in Russian].
11. Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Kartel N.T., Nardid O.A., Okotrub A.V., Kirilyuk I.A., Cherkashina Y.O. Delivery of lipophilic spin probes by carbon nanotubes to red blood cells and blood plasma. *Surface.* 2014. **6**(21) 292. [in Russian].
12. Ivanov L.V., Orlova I.N. Biopharmaceutical studies aimed at optimizing the composition, properties and route of administration of drugs. *In Sat. "Technology and standardization of drugs".* 2000. **2**. 558. [in Russian].
13. Moiseev V.A. Molecular mechanisms of cryodamage and cryoprotection of proteins and biological membranes. *Diss. for a job. student degrees b. s.: SR.* 1984. 331. [in Russian].
14. Ivanov L.V., Kartel N.T. Characterization of the rheological properties of the surface of nanobioobjects by the method of spin probes. *Surface.* 2012. **4**(19):334. [in Russian].
15. Kartel N.T., Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Okotrub A.V., Nardid O.A., Cherkashina Ya.O., Derymedved L.V. A study of the effect of carbon nanotubes with different structure on the microviscosity and integrity of erythrocyte membranes using a spin probe method *Mod. Science- Moderni.* 2017. **6**: 111.
16. Kartel N.T., Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Nardid O.A., Cherkashina Y.O., Gurova O.A., Okotrub A.V. Evaluation of the effect of carbon nanochorns on the microviscosity of erythrocyte membranes and plasma proteins of rat blood using the spin probe method. *Reports of NAS of Ukraine.* 2017. **12**: 73. [in Russian].
17. Kartel N.T., Ivanov L.V., Lyapunov A.N., Nardid O.A., Scherbak O.V., Gurova O.A., Okotrub A.V. Study of the structural features of detonation nanodiamonds and their effect on the microviscosity of rat erythrocyte membranes using the spin probe method. *Surface.* 2018. **10**(25): 286. [in Russian].

ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ПІДВИЩЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ РІЗНИХ РЕЧОВИН З БІОЛОГІЧНИМИ СТРУКТУРАМИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЕЙ МЕТОДОМ СПІНОВИХ ЗОНДІВ

Л.В. Іванов¹, Н.Т. Картель¹, О.В. Щербак², В.Г. Кравченко³

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

²Харківська державна зооветеринарна академія, вул. Академічна, 1, смт. Мала
Данилівка, Дергачівський район, Харківська обл., 62341, Україна, info@hdzva.edu.ua;

³Українська медична стоматологічна академія, вул. Шевченка 23,
Полтава, 36011. Україна

Гідрофобні спін-мічені карболін і ряд спін-мічених стероїдів добре розчиняються як в чистих ПЕГ, так і у водних розчинах ПЕГ, демонструючи наявність в спектрі ЕПР триплета. Показано, що введення 20 % водних розчинів ПЕГ молекулярної маси від 200 до 40000 Дальтон в розчин сироваткового альбуміну бика (САБ) ефективно витісняють гідрофобні спін мічений прогестерон або карболін з гідрофобною порожнини САБ в воду, конкурентно взаємодіючи з гідрофобною порожниною САБ. Поліетиленгліколи демонструють повну біосумісність навіть з гідрофобними біологічними структурами і як речовини, що підвищують біосумісність, є універсальними. Аналіз кривої залежності мікрров'язкості ПЕГ від молекулярної маси показує наявність точки перегину на кривій в районі 300-400 Дальтон, що свідчить про компактизацію структури ПЕГ і відповідає літературним даним про часткову спіралізацію молекули поліетиленгліколю, починаючи з ПЕГ-400 і вище, в якій основну роль відіграють водневі зв'язки молекули ПЕГ. Метиленові гідрофобні залишки ПЕГ виявляються всередині спіралі поліетиленгліколю, а полярні групи, що забезпечують молекулам ПЕГ осмотично активні властивості і викликають дегідратацію клітин виявляються зовні спіралі ПЕГ. Тому з ростом молекулярної маси ПЕГ здатність зневоднення клітин зростає. Мабуть, механізмом підвищення біосумісності за допомогою ПЕГ є здатність молекул ПЕГ за рахунок компактизації (спіралізації) або розширення молекул приймати оптимальну конформацію, надаючи свої гідрофобні або полярні групи для оптимального зв'язування з одного боку з наночастинками, а з іншого - з біооб'єктами. Введення в клітини кон'югатів наночастинок з ПЕГ, протилежно впливаючих на мікрров'язкість мембран і компенсуючих негативну дію наночастинок на мембрани, є другим фактором підвищення біосумісності наночастинок. Показана можливість взаємодії ПЕГ з нанохорнами з орієнтацією ланок ПЕГ уздовж конусних голок (нанотрубок) нанохорнів, що також дає підвищення біосумісності нанохорнів.

Ключові слова: біосумісність, поліетиленгліколи, гідрофобні спінові зонди, розчинність, метиленові групи, біологічні структури, наночастинки, нанохорни, сироватковий альбумін быка

STUDY OF MECHANISMS FOR INCREASING THE BIOCOMPATIBILITY OF VARIOUS SUBSTANCES WITH BIOLOGICAL STRUCTURES USING POLYETHYLENE GLYCOLS USING THE SPIN PROBE METHOD

L.V. Ivanov¹, N.T. Kartel¹, E.V. Shcherbak², V.G. Kravchenko³

¹*Chuyko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, e-mail: nikar@kartel.kiev.ua; Veterinary Academy,*

²*Academic Str., smt. Malaya Danilovka, Dergachevsky district, Kharkiv region, 62341, Ukraine, e-mail: info@hdzva.edu.ua;*

³*Ukrainian Medical Dental Academy, Poltava Ukrainian Medical Dental Academy, str. Shevchenko 23, Poltava, 36011, Ukraine*

Hydrophobic spin-labeled carboline and a number of spin-labeled steroids dissolve well in both pure PEG and aqueous PEG solutions, demonstrating the presence of a triplet in the EPR spectrum. It was shown that the introduction of 20% aqueous solutions of PEG mol. m. from PEG-200 to PEG-40,000, the hydrophobic spin of labeled progesterone or carboline from the hydrophobic cavity of SAB is effectively displaced into the solution of bovine serum albumin (SAB) by competing with the hydrophobic cavity of SAB. Polyethylene glycols demonstrate full biocompatibility even with hydrophobic biological structures and, as biocompatibility enhancers, are universal. Analysis of the curve of the dependence of PEG microviscosity on mol. m. shows the presence of an inflection point on the curve in the area of the pier. m. 300-400, which indicates the compaction of the structure of PEG and corresponds to published data on the partial helixing of a polyethylene glycol molecule, starting with PEG-400 and above, in which the main role is played by hydrogen bonds of the PEG molecule. Methylene hydrophobic PEG residues appear inside the polyethylene glycol helix, and the polar groups providing the PEG molecules with osmotically active properties and causing dehydration of cell membranes appear outside the PEG helix. Therefore, with the growth of mol. m. PEG ability to dehydrate cells increases. Apparently, the mechanism of increasing PEG biocompatibility is the ability of PEG molecules to compact, spiralize, or expand molecules to accept the optimal conformation of the structure, providing their hydrophobic or polar groups for optimal binding on the one hand to nanoparticles and, on the other, to a bioobject. The introduction of conjugates of PEG nanoparticles into cells, which oppositely affects the microviscosity of membranes and compensates for the negative effect of nanoparticles on membranes, is the second mechanism for increasing the biocompatibility of nanoparticles. The possibility of the interaction of PEG with nanochorns with the orientation of PEG units along the cone needles (nanotubes) of nanochorns has been shown to increase the biocompatibility of nanochorns.

Key words: *biocompatibility, polyethylene glycols, hydrophobic spin probes, solubility, methylene groups, biological structures, nanoparticles, nanochorns, serum albumin*