

УДК 544.6.018.22+ 577.352.26

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОВОДИМОСТИ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЛЮРОНИКОВ L61 И F68: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ¹

© 2024 г. А. А. Аносов^{a, b}, Е. Д. Борисова^{a, *}, О. О. Константинов^a, Е. Ю. Смирнова^a,
Е. А. Корепанова^c, В. А. Казаманов^d, А. С. Дерунец^e

^aФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет),
Москва, 119991 Россия

^bИнститут радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Москва, 125009 Россия

^cРоссийский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н. И. Пирогова, Москва, 117997 Россия

^dМИРЭА – Российский технологический университет, 119991, Москва, Россия

^eНИЦ “Курчатовский институт”, Москва, 123182 Россия

* e-mail: ryleeva_e_d@staff.sechenov.ru

Поступила в редакцию 06.06.2023 г.

После доработки 13.10.2023 г.

Принята к публикации 16.10.2023 г.

Исследовано изменение проводимости плоских бислойных липидных мембран из азолектина, вызванное плюронидами L61 и F68 с одинаковой длиной гидрофобных блоков поли(пропиленоксида) и разной длиной гидрофильных блоков поли(этиленоксида). Интегральная проводимость мембран увеличивается с ростом концентраций обоих плюроников. При одинаковой концентрации плюроников в растворе проводимость для L61 выше. По литературным данным [24] для L61 и F68 были рассчитаны концентрации плюроников, связанных с бислоем. При близких концентрациях связанных с мембраной плюроников проводимости мембран также близки. Был сделан вывод, что появление в мембране одинаковых гидрофобных частей плюроников L61 и F68 вызывает одинаковый рост проводимости в первом приближении. Форма кривых проводимости-концентрации является суперлинейной для L61 и сублинейной для F68. В присутствии обоих плюроников для приблизительно 40% мембран наблюдаются скачки проводимости с амплитудой от 10 до 300 пСм и выше. Мы связываем наблюдаемые скачки проводимости с возникновением в мембране проводящих пор или дефектов. Количество зарегистрированных в мембране пор было случайной величиной с большой дисперсией и не коррелировало с концентрацией плюронида. Разница между средними проводимостями пор для мембран с L61 и F68 не была статистически значимой.

Ключевые слова: бислойные липидные мембраны, плюроник, мембранная проводимость, флуктуации мембранного тока, липидная пора

DOI: 10.31857/S0424857024050019, EDN: QOKIBM

CHANGES IN THE CONDUCTIVITY OF BILAYER LIPID MEMBRANES UNDER THE ACTION OF PLURONICS L61 AND F68: SIMILARITIES AND DIFFERENCES

© 2024 A. A. Anosov^{a, b}, E. D. Borisova^{a, *}, O. O. Konstantinov^a, E. Yu. Smirnova^a,
E. A. Korepanova^c, V. A. Kazamanov^d, A. S. Derunets^e

^aI. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

^bKotelnikov Institute of Radioengineering and Electronics of Russian Academy of Sciences, Moscow, 125009 Russia

^cPirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

¹ Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи “Изменение проводимости бислойных липидных мембран под действием плюроников L61 и F68: сходство и различие”

^dMIREA – Russian Technological University, Moscow, 119991 Russia
^eNational Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, 123182 Russia
 * e-mail: ryleeva_e_d@staff.sechenov.ru

The effect of pluronics L61 and F68 with the same length of hydrophobic poly(propylene oxide) blocks and different lengths of hydrophilic poly(ethylene oxide) blocks on the conductivity of planar bilayer lipid membranes made of azolectin was investigated. The integral conductivity of the membranes increases with increasing concentrations of both pluronics. With the same concentration of pluronics in solution, the conductivity for L61 is higher. According to the literature data [24]. At close concentrations of membrane-bound pluronics, membrane conductivities are also close. It was concluded that the appearance of identical hydrophobic parts of pluronics L61 and F68 in the membrane causes the same increase in conductivity in the first approximation. The shape of the conductivity-concentration curves is superlinear for L61 and sublinear for F68. In the presence of both pluronics, conduction spikes with an amplitude from 10 to 300 pSm and higher are observed for approximately 40% of the membranes. We associate the observed surges in conductivity with the appearance of conductive pores or defects in the membrane. The number of pores registered in the membrane was a random variable with a large variance and did not correlate with the concentration of pluronic. The difference between the average pore conductivities for membranes with L61 and F68 was not statistically significant.

Keywords: bilayer lipid membranes, pluronic, membrane conductivity, membrane current fluctuations, lipid pore

ВВЕДЕНИЕ

Плюроники представляют собой симметричные триблок-полимеры поли(этиленоксид) – поли(пропиленоксид) – поли(этиленоксид) РЕО-РРО-РЕО. Амфифильная природа плюроников позволяет использовать их в биомедицинских и фармацевтических целях как перспективные переносчики лекарств и поверхностные стабилизаторы. [1–3]. Плюроники с большим содержанием гидрофильных РЕО-блоков используются для предотвращения адсорбции белков. Например, плюроники F68, F108 и F127 широко используются для формирования оболочек, обеспечивающих “скрытность” коллоидных носителей лекарственных средств [4]. Плюроники F68 и L61 с одинаковыми по длине гидрофобными участками РРО показывают способность к ингибированию Р-гликопротеинов, приводящих к снижению поглощения лекарств клетками [5]. Плюроник L61 оказался самым эффективным для доставки доксорубина в опухолевые ткани с лекарственной резистентностью [6, 7]. К свойствам плюроника F68 относят его нейропротективное действие и улучшение функционирования множества типов клеток, имеющих поврежденные или изначально негерметичные мембраны [8].

Исследования взаимодействия плюроников F68 и L61 с липидными монослоями [9–11] и бислоями липосом [12–14] показали, что гидрофобные блоки РРО внедряются в углеводородную область липидной мембраны, гидрофильные блоки РЕО остаются в водной фазе.

Гидрофобная центральная часть L61 встраивается в мембрану, гидрофильные края находятся на поверхности мембраны. В случае если плюроник F68 находится в окружающей мембрану растворе в виде капсулы, то он слабо взаимодействует с мембраной. Внешняя часть капсулы образована гидрофильными концами молекулы, внутренняя – гидрофобной центральной частью [15]. Это справедливо для подавляющего большинства молекул F68, однако часть молекул взаимодействует с мембраной аналогично L61.

Методы молекулярной динамики используются для изучения взаимодействия плюроников и липидных бислоев [16–19]. Они показывают, что полимеры могут локализоваться на границе раздела, частично или полностью включаться в структуру мембраны в зависимости от относительного размера, массовой доли и гидрофобности.

Также проводились исследования влияния плюроников на электрические свойства плоских бислоевых липидных мембран (БЛМ). В работе [20] было показано увеличение проводимости мембраны из дифитаноилфосфатидилхолина (DPhPC) при симметричной добавке L61 с обеих сторон БЛМ. При этом наблюдалось редкое появление дискретных флуктуаций тока, что предполагало появление в мембране сквозных пор. В работе [21] изучали различия в изменении проводимости мембран при добавлении плюроников L61 и F68. Было показано, что при добавлении L61 интегральная проводимость мембран возрастала, при этом наблюдалось появление допол-

нительных пор. При добавлении в окружающий раствор плуроника F68 такой же концентрации, как и L61, проводимость мембран с F68 была ниже, чем с L61. С увеличением концентрации F68 проводимость также возрастала, но на фоне высокой фоновой проводимости наблюдалось блокирование уже существующих пор.

В данной статье мы сравниваем изменение проводимости азолектиновых БЛМ при добавлении плуроников F68 и L61, имеющих одинаковое число гидрофобных РРО блоков. Мы показываем, что, если эти гидрофобные структуры оказались в мембране, то вызванное плурониками появление проводимости одинаково для обоих плуроников в первом приближении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Липиды, плуроники и электролит

Азолектин (Avanti Polar Lipids, США) использовали для формирования плоских БЛМ. Окружающий мембрану раствор содержал 0.1 М КСl с добавлением плуроников заданной концентрации. Использовались плуроники L61 (PEO-РРО-PEO: 2–30–2) и F68 (75–30–75) с одинаковым числом гидрофобных и разным числом гидрофильных блоков. Плуроник L61 получен от Sigma-Aldrich, Германия, плуроник F68 поставлен Gibco by Thermo Fisher Scientific, США.

Измерение критической концентрации мицеллообразования (ККМ) плуроников

Для нахождения ККМ был выбран метод спектрофотометрии. Измерения оптической плотности растворов плуроников L61 и F68 различных концентраций проводились при помощи спектрофотометра СФ-26 (ЛОМО, Россия) в растворе 0.1 М КСl при комнатной температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$ на длине волны УФ-излучения 360 нм. В результате была получена ККМ для плуроника L61 ~ 100 мкМ, что в три раза больше максимальной концентрации (30 мкМ), используемой в электрических измерениях. Для F68 ККМ была выше концентрации начального раствора от производителя – 10% или 13.2 мМ, что более чем в 25 раз больше максимальной концентрации (480 мкМ), используемой в измерениях (см. дополнительные материалы).

Плоские липидные бислойные мембраны

БЛМ формировались по методу Мюллера [22], использовался раствор азолектина в декане с концентрацией 30 мг/мл. Края круглого отверстия площадью 0.5 мм^2 в стенке тefлоновой ка-

меры предварительно покрывались тонким слоем раствора азолектина и высушивались для формирования стабильных мембран. Азолектиновые мембраны формировались после добавления раствора 0.1 М КСl с плурониками в обе ячейки камеры. Измерения проводились при комнатной температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

Электрические измерения

Электроды Ag/AgCl помещались в оба отсека камеры. Трансмембранный ток регистрировали усилителем VA-10X (NPI Electronics GmbH, Германия) с сопротивлением обратной связи 5 Гом и постоянной времени 20 мс. Флуктуации тока регистрировали с частотой дискретизации 1 кГц на 16-разрядном АЦП (L-Card, Россия). Измерения проводились в режиме фиксации напряжения.

Радиусы пор

Встраивание плуроников в мембрану приводило к возрастанию ее проводимости, носившему скачкообразный характер. Мы полагали, что возрастание проводимости обусловлено возникновением проводящих пор. Если рассматривать эти поры как цилиндры и считать, что удельная проводимость в поре равна проводимости в окружающем растворе, то радиус пор R можно приближенно оценить известной формулой [23]:

$$R = \sqrt{Gh/\pi g}, \quad (1)$$

где $h = 5$ нм – толщина мембраны, G – проводимость поры, $g = 1.04$ См/м – удельная проводимость 0.1 М раствора КСl при комнатной температуре. Отметим, что в литературе отсутствуют точные оценки удельной проводимости электролитов в узком канале, поэтому рассчитанные по формуле (1) оценки размера пор являются приближительными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1а представлена зависимость удельной проводимости азолектиновых мембран от концентрации плуроников L61 и F68 в окружающем растворе. Исследовано 14 контрольных мембран, 23 мембраны с L61 и 28 мембран с F68. Обнаружено, что с увеличением концентрации плуроников увеличивается проводимость мембраны. При линейной аппроксимации экспериментальных данных в логарифмическом масштабе были получены концентрационные зависимости удельной проводимости мембран: $g_{L61} = 15.3 \times C^{1.3}$ и $g_{F68} = 12.9 \times C^{0.7}$ пСм/мм² для обоих плуроников. Стандартные ошибки в определении показателей степени составляют 1.3 ± 0.1

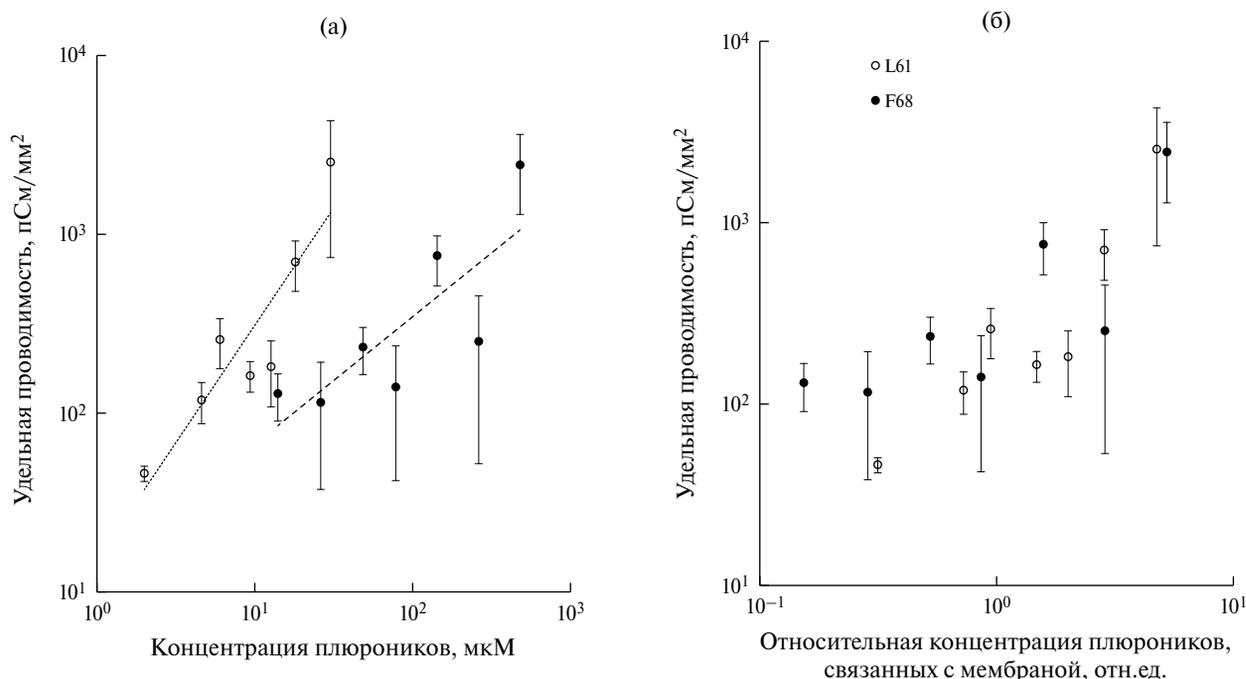


Рис. 1. Экспериментальные зависимости удельной проводимости азолектиновых мембран (а) от концентрации L61 и F68 в окружающем растворе, (б) от относительной концентрации плуроники, связанных с мембраной; аппроксимирующие зависимости удельной проводимости g от концентрации C плуроники в растворе: $g_{L61} = 15.3 \times C^{1.3}$ и $g_{F68} = 12.9 \times C^{0.7}$ пСм/мм²; проводимость контрольных мембран 42 ± 6 пСм/мм². Прикладываемое напряжение не превышало 50 мВ. Окружающий раствор: 0.1 М КСl. Приведены стандартные ошибки.

и 0.7 ± 0.1 [$\lg(\text{пСм/мм}^2)/\lg(\mu\text{М})$]. Эти коэффициенты близки к единице, но различаются значительно согласно критерию Стьюдента ($p < 0.01$).

Плуроники L61 и F68 имеют одинаковое количество (30) гидрофобных групп РРО и различаются по количеству гидрофильных групп РЕО: 152 в F68 и 4 в L61. Мы предположили, что проводящие поры, образуемые обоими плурониками, имеют одинаковую проводимость. Как видно из рис. 1а, для достижения удельной проводимости 100 пСм/мм^2 , для F68 требуется примерно на порядок большая концентрация, чем для L61. Эти результаты согласуются с работой [24], в которой для L61 и F68 были получены безразмерные коэффициенты распределения, определяемые как отношение мольной доли полимера, связанного с мембраной, к мольной доле полимера в окружающем растворе. Для L61 $K \approx 1.58 \times 10^5$ и для F68 $K \approx 1.1 \times 10^4$. На рис. 1б представлена зависимость проводимости от относительной концентрации плуроники, связанных с мембраной. Для построения зависимости использовались экспериментальные данные удельной проводимости, представленные на рис. 1а. Относительная концентрация плуроники, связанных с мембраной, рассчитана из произведения концентрации плуроники и безразмерных коэффициентов

распределения из статьи [24], выраженного в относительных единицах. Как видно из графика, при близких концентрациях связанных с мембраной плуроники удельные проводимости также близки. Это позволяет сделать вывод, что появление в мембране одинаковых гидрофобных частей обоих плуроники вызывает одинаковый рост проводимости в первом приближении.

Измерения индуцированной плуроником проводимости плоских БЛМ ранее проводились для мембран с L61 [20]. В этой работе проводимость БЛМ из DPhPC измеряли для концентраций L61 в диапазоне от 5 до 50 мкМ, что близко к нашему диапазону от 2 до 30 мкМ. Проводимость DPhPC мембран увеличивалась с увеличением концентрации плуроника. С учетом поправки на разницу в концентрации электролита, проводимость DPhPC мембран была на порядок ниже проводимости азолектиновых мембран [25].

На фоне увеличения интегральной проводимости мембран в присутствии плуроники наблюдались дискретные флуктуации тока (см. рис. 2–5). Появление этих флуктуаций можно связать с образованием в мембране проводящих дефектов или пор. Токи регистрировались при напряжении на мембране 25 мВ.

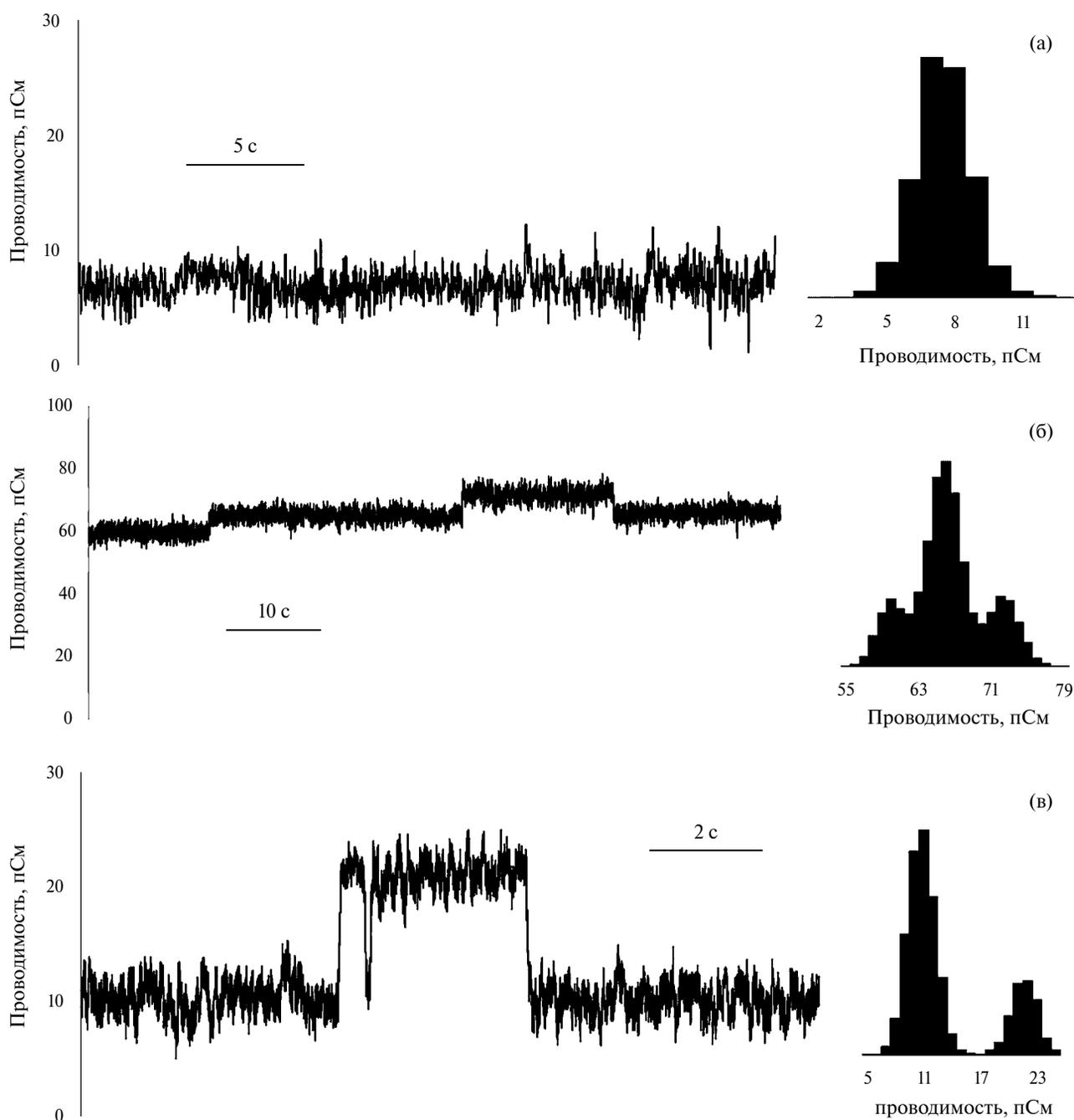


Рис. 2. Ступенчатые треки и гистограммы проводимости азолексиновых мембран в 0.1 М КСл: (а) контроль, (б) с добавкой 12 мкМ L61, (в) 26 мкМ F68. Напряжение на мембране 25 мВ.

Количество зарегистрированных в мембране пор было случайной величиной с большой дисперсией. При этом число пор не коррелировало с концентрацией плуроника. Разница между средними проводимостями пор для мембран с L61 и F68 не была статистически значимой. Как и в [20], такие колебания наблюдались достаточно редко, а именно примерно у 40% мембран как с L61, так и с F68.

Полученные треки можно разделить по тому, как они выглядят: ступенчатые, двух- или трех-

уровневые флуктуации проводимости (см. рис. 2). Присутствуют значительные (~100 пСм) скачки проводимости как вверх (рис. 3б), так и с последующим возвращением к исходному состоянию (рис. 3а); флуктуации проводимости непрямоугольной формы (рис. 4 и 5). Для последнего случая кроме гистограмм проводимости были построены автокорреляционные функции $\psi(\tau) = \overline{g(t)g(t+\tau)} - \overline{g(t)}^2$, где $g(t)$ – зависимость

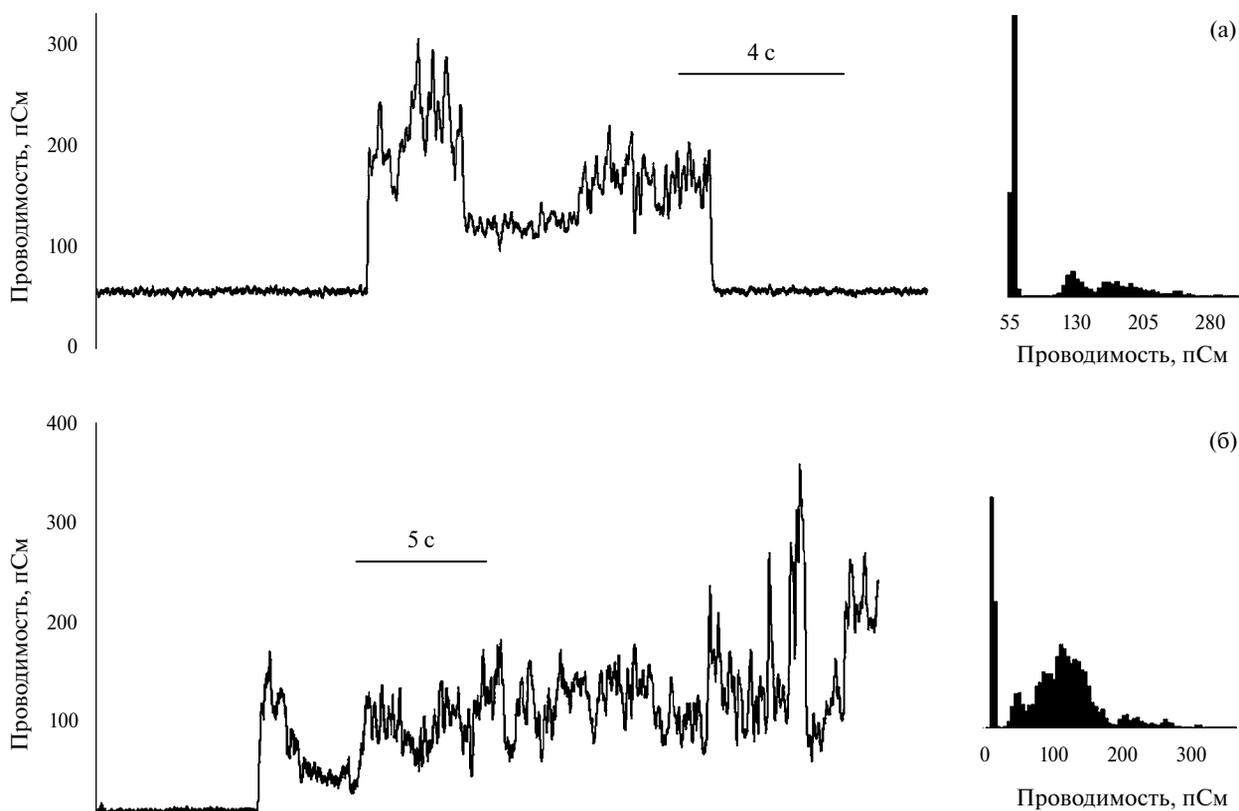


Рис. 3. Треки проводимости и гистограммы азолектиновых мембран в 0.1 М КСl: (а) с добавкой 8 мкМ L61, (б) 26 мкМ F68. Напряжение на мембране 25 мВ.

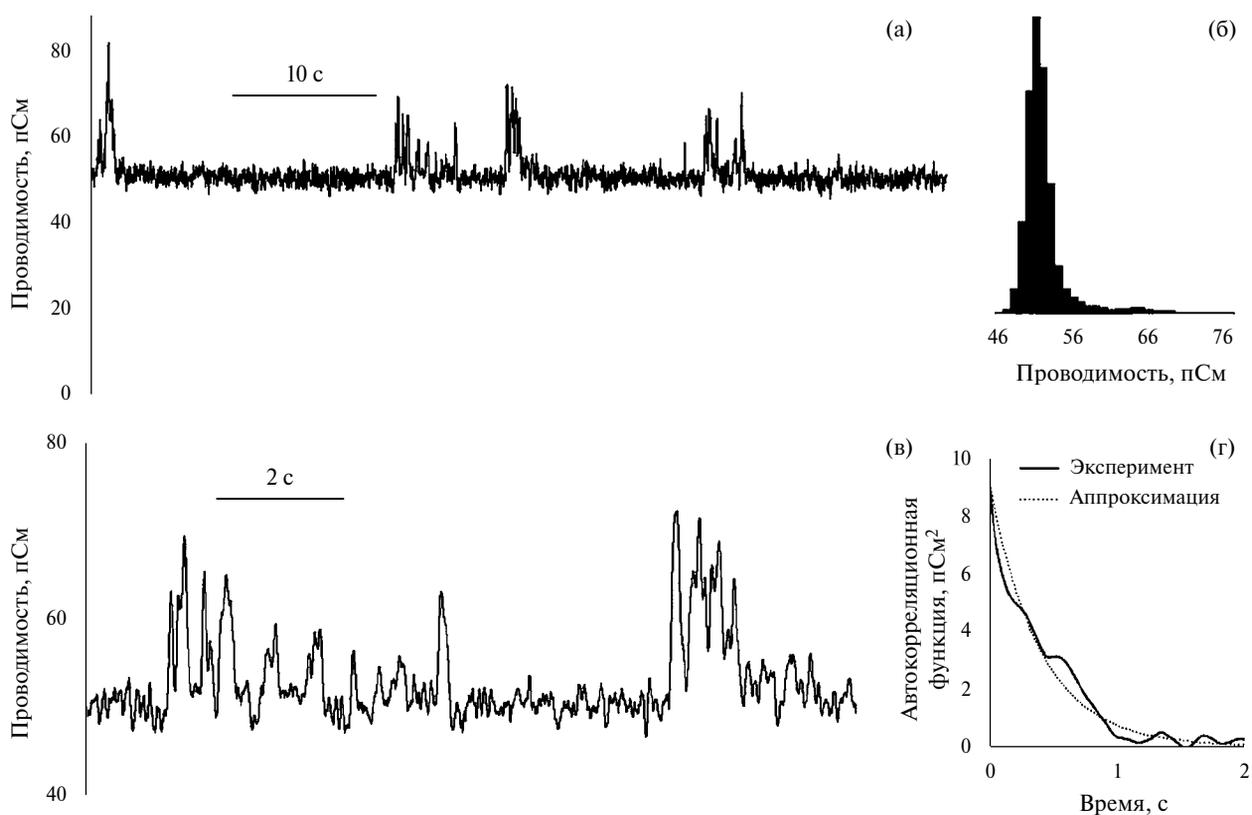


Рис. 4. Флуктуации проводимости азолектиновых мембран в 0.1 М КСl с добавкой 16 мкМ L61: (а) трек, (б) гистограмма, (в) участок трека в увеличенном масштабе, (г) автокорреляционная функция проводимости, рассчитанная по экспериментальным данным и приближенная экспонентой. Напряжение на мембране 25 мВ.

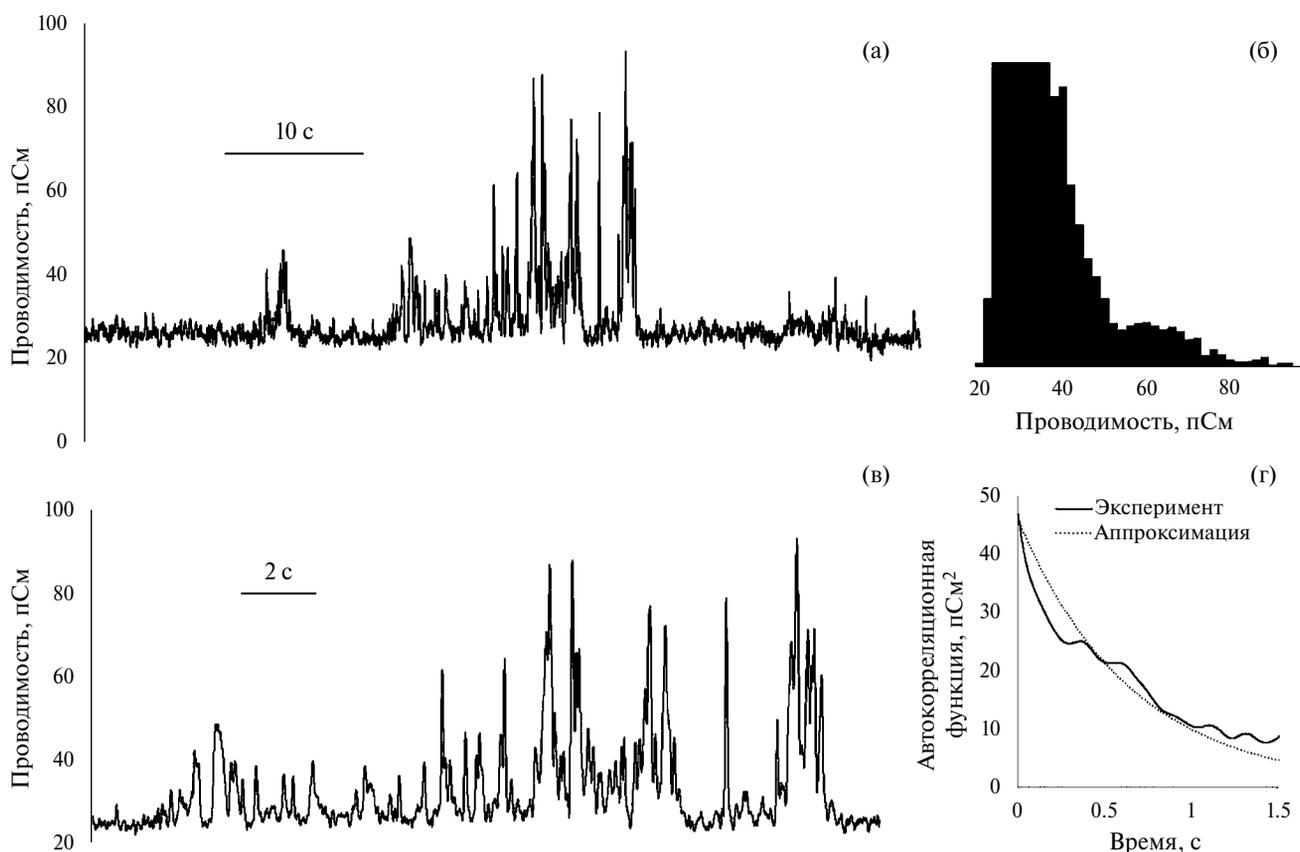


Рис. 5. Флуктуации проводимости азолектиновых мембран в 0.1 М КСl с добавкой 26 мкМ F68: (а) трек, (б) гистограмма (показан локальный максимум в районе 60 пСм, максимум гистограммы приходится на 28 пСм), (в) участок трека в увеличенном масштабе, (г) автокорреляционная функция проводимости, рассчитанная по экспериментальным данным и приближенная экспонентой. Напряжение на мембране 25 мВ.

проводимости от времени, τ – временной сдвиг, которые были аппроксимированы экспонентами.

При построении автокорреляционных функций из проводимостей вычитали фоновую проводимость, которой соответствует максимум на гистограмме (см. рис. 4б и 5б). Для 16 мкМ L61 аппроксимирующая экспонента имела вид $\psi(\tau) = 9 \exp(-\tau[c]/0.4 \text{ с})$ [пСм²] (рис. 4г), для 26 мкМ F68 $\psi(\tau) = 46 \exp(-\tau[c]/0.65 \text{ с})$ [пСм²] (рис. 5г). Согласно [26], экспонента описывает автокорреляционную функцию стохастического импульсного процесса. При этом параметр в знаменателе под знаком экспоненты Θ определяет среднюю длительность импульса, а предэкспоненциальный множитель равен произведению среднего квадрата амплитуды импульса $\overline{a^2}$ на среднее число импульсов, возникающих в единицу времени n_1 , и на уже упомянутую среднюю длительность импульса Θ : $\psi(\tau) = \overline{a^2} n_1 \Theta \exp\left(-\frac{\tau}{\Theta}\right)$.

Отметим, что произведение $n_1 \Theta$ определяет среднее число одновременно существующих импуль-

сов, а также, что указанное выражение получено для прямоугольных импульсов, возникающих согласно распределению Пуассона. Для импульсов другой формы в предэкспоненциальный множитель добавляется численный коэффициент порядка единицы.

Как видно из треков в увеличенном масштабе (рис. 4в и 5в), полученные значения $\Theta = 0.4 \text{ с}$ (L61) и 0.65 с (F68) больше среднего времени импульсов, взятого на половине высоты от максимума. Временные характеристики импульсов, представленных на рис. 4в и 5в, получены следующим образом: учитывались только импульсы, превышавшие 60 пСм (для L61) и 50 пСм (для F68). Было рассмотрено 9 (для L61) и 13 (для F68) импульсов. Средняя длительность импульсов составляла $0.18 \pm 0.09 \text{ с}$ (для обоих пльороников), межимпульсный интервал – $0.9 \pm 0.8 \text{ с}$ (для L61) и $1.1 \pm 1.5 \text{ с}$ (для F68). После знака “ \pm ” указаны стандартные отклонения. Полученные одинаковые значения средней длительности импульсов в 2–3 раза меньше характерного времени спада автокорреляционных функций. По-видимому, это указывает на то, что автокорреляционная

функция описывает более медленный процесс — процесс появления пачек импульсов. Это хорошо видно на рис. 4а: за 60 с появилось 4–6 пачек импульсов. Характерный интервал между пачками составляет 10–15 с, в самой пачке импульсы возникают приблизительно раз в секунду.

Амплитуду импульсов можно оценить с помощью гистограмм (рис. 4б и 5б). Разницу между глобальным максимумом гистограммы (фоновой проводимостью) и локальным максимумом, составляющую 13 (для L61) и 32 (для F68) пСм, будем считать средней амплитудой импульса \bar{a} . Предположим, что $\overline{a^2} \approx \bar{a}^2$, что справедливо только для случая, когда все импульсы имеют одинаковую амплитуду. В результате можно оценить средние частоты импульсов $n_1 \approx \psi(0)/\bar{a}^2 \Theta = 0.13$ (для L61) и 0.07 (для F68) 1/с. Эти оценки на порядок ниже полученных при анализе импульсов. Это говорит о том, что автокорреляционная функция описывает медленный процесс возникновения пачек импульсов.

Если приближенно оценить по формуле (1) радиусы возможных цилиндрических пор, соответствующих наблюдаемым скачкам проводимости, то получаются поры с радиусами от 0.13 до 0.7 нм. Структуру радиусом 0.13 нм сложно назвать порой. Скорее, это возникший проводящий дефект в бислое. Наши результаты (см. рис. 2б, 2в) показывают, что такие дефекты стабильны (время существования — от 0.5 до 20 с), возникают скачкообразно. Они имеют, по крайней мере, три уровня (рис. 2б), изменения проводимости которых соответствует отношению 1:2:3. Указанные свойства характерны для проводящих пор. Отметим, что поры радиусом менее 0.5 нм считаются гидрофобными. В классических работах [27–29] гидрофобные поры считались нестабильными и непроводящими, но, согласно нашему исследованию, эти проводящие поры метастабильны. В работах [30–33] заполненные водой гидрофобные поры рассматривались как промежуточные структуры, обеспечивающее образование крупных гидрофильных пор. Возможность существования проводящих гидрофобных пор обсуждалась в [34]. В [35] увеличение дисперсии тока, связанное с появлением гидрофобных дефектов при фазовом переходе, наблюдалось еще до появления первых крупных пор. В последнее время появились модели, учитывающие возможность образования метастабильных, частично гидрофобных пор без необходимости значительных перестроек головных групп липидов [36–39]. Из наших измерений нельзя однозначно определить, какие

именно проводящие структуры, образующиеся в мембране (гидрофильные и гидрофобные поры, короткоживущие дефекты), определяют рост интегральной проводимости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлены общие черты во взаимодействии гидрофобного L61 и гидрофильного плуроников F68 с бислойнными липидными мембранами, вызывающих повышение проводимости мембран. Несмотря на то, что при одной и той же концентрации плуроников L61 и F68 в растворе проводимости азолектиновых мембран разные, при одинаковой концентрации связанных с мембраной плуроников проводимости не различаются. Этот результат получен на основе наших экспериментальных данных и литературных данных [24], которые позволяют оценить концентрацию плуроников, связанных с мембраной. Сходство проводимостей мембран при добавке разных плуроников связано с одинаковым числом гидрофобных блоков в центральных частях обоих полимеров. При появлении гидрофобных структур в мембране происходит одинаковый рост проводимости мембраны в первом приближении. Различие в действии плуроников — суб- и суперлинейная зависимости проводимости от концентрации — является эффектом второго порядка, оказывающим меньшее влияние на проводимость мембран.

Для обоих плуроников с ростом интегральной проводимости наблюдаются редкие флуктуации проводимости с амплитудой от 10 до 300 пСм и выше. Такие эффекты связывают с возникновением в мембране проводящих пор или дефектов. Зарегистрированные флуктуации имеют различную форму, но характерны при добавлении обоих плуроников.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда No 23-12-00125, <https://rscf.ru/project/23-12-00125/>.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

В дополнительных материалах авторами представлен график зависимости оптической плотности раствора 0.1 М KCl от концентрации плуроника L61.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fusco, S., Borzacchiello, A., and Netti, P.A., Perspectives on: PEO-PPO-PEO triblock copolymers and their biomedical applications, *J. Bioact. Compat. Polym.*, 2006, vol. 21, p. 149. <https://doi.org/10.1177/0883911506063207>
2. Rey-Rico, A. and Cucchiari, M., PEO-PPO-PEO tri-block copolymers for gene delivery applications in human regenerative medicine – an overview, *Intern. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, p. 775. <https://doi.org/10.3390/ijms19030775>
3. Zarrintaj, P., Ramsey, J.D., Samadi, A., et al., Ploxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications, *Acta Biomater.*, 2020, vol. 110, p. 37. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.028>
4. Frey, S.L. and Lee, K.Y.C., Temperature dependence of poloxamer insertion into and squeeze-out from lipid monolayers, *Langmuir*, 2007, vol. 23, p. 2631. <https://doi.org/10.1021/la0626398>
5. Yu, J., Qiu, H., Yin, S., Wang, H., and Li, Y., Polymeric Drug Delivery System Based on Pluronics for Cancer Treatment, *Molecules*, 2021, vol. 26, p. 3610. <https://doi.org/10.3390/molecules26123610>
6. Prado-Audelo, J.J., Magaña, B.A., et al., In vitro cell uptake evaluation of curcumin-loaded PCL/F68 nanoparticles for potential application in neuronal diseases, *J. Drug Delivery Sci. and Technol.*, 2019, vol. 52, p. 905.
7. Venne, A., Li, S., Mandeville, R., Kabanov, A., and Alakhov, V., Hypersensitizing effect of pluronic L61 on cytotoxic activity, transport, and subcellular distribution of doxorubicin in multiple drug-resistant cells, *Cancer Res.*, 1996, vol. 56(16), p. 3626.
8. Huang, J., Si, L., Jiang, L., Fan, Z., Qiu, J., and Li, G., Effect of pluronic F68 block copolymer on P-glycoprotein transport and CYP3A4 metabolism, *Intern. J. Pharm.*, 2008, vol. 356, p. 351.
9. Chang, L.C., Lin, C.Y., Kuo, M.W., et al., Interactions of Pluronics with phospholipid monolayers at the air-water interface, *J. Colloid Interface Sci.*, 2005, vol. 285, p. 640. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.11.011>
10. Wu, G., Majewski, J., Ege, C., et al., Interaction between lipid monolayers and poloxamer 188: an X-ray reflectivity and diffraction study, *Biophys. J.*, 2005, vol. 89, p. 3159. <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.052290>
11. Maskarinec, S.A., Hannig, J., Lee, R.C., et al., Direct observation of poloxamer 188 insertion into lipid monolayers, *Biophys. J.*, 2002, vol. 82, p. 1453. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)75499-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75499-4)
12. Krylova, O.O., Melik-Nubarov, N.S., Badun, G.A., Ksenofontov, A.L., Menger, F.L., and Yaroslavov, A.A., Pluronic L61 accelerates flip-flop and transbilayer doxorubicin permeation, *Chemistry*, 2003, vol. 9 (16), p. 3930.
13. Zhirnov, A.E., Demina, T.V., Krylova, O.O., Grozdova, I.D., and Melik-Nubarov, N.S., Lipid composition determines interaction of liposome membranes with Pluronic L61, *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, vol. 1720(1–2), p. 73.
14. Erukova, V.Y., Krylova, O.O., Antonenko, Y.N., and Melik-Nubarov, N.S., Effect of ethylene oxide and propylene oxide block copolymers on the permeability of bilayer lipid membranes to small solutes including doxorubicin, *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, vol. 1468(1–2), p. 73.
15. Cheng, C.Y., Wang, J.Y., Kausik, R., et al., Nature of interactions between PEO-PPO-PEO triblock copolymers and lipid membranes:(II) role of hydration dynamics revealed by dynamic nuclear polarization, *Bio-macromolecules*, 2012, vol. 13, p. 2624. <https://doi.org/10.1021/bm300848c>
16. Ileri Ercan, N., Stroeve, P., Tringe, J.W., et al., Understanding the interaction of pluronics L61 and L64 with a DOPC lipid bilayer: an atomistic molecular dynamics study, *Langmuir*, 2016, vol. 32, p. 10026. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b02360>
17. Hezaveh, S., Samanta, S., De Nicola, A., et al., Understanding the interaction of block copolymers with DMPC lipid bilayer using coarse-grained molecular dynamics simulations, *J. Phys. Chem. B*, 2012, vol. 116, p. 14333. <https://doi.org/10.1021/jp306565e>
18. Rabbel, H., Werner, M., and Sommer, J.U., Interactions of amphiphilic triblock copolymers with lipid membranes: modes of interaction and effect on permeability examined by generic Monte Carlo simulations, *Macromolecules*, 2015, vol. 48, p. 4724.
19. Zaki, A.M. and Carbone, P., How the incorporation of Pluronic block copolymers modulates the response of lipid membranes to mechanical stress, *Langmuir*, 2017, vol. 33, p. 13284. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b02244>
20. Krylova, O.O. and Pohl, P., Ionophoric activity of pluronic block copolymers, *Biochemistry*, 2004, vol. 43, p. 3696. <https://doi.org/10.1021/bi0357681>
21. Anosov, A. A., Smirnova, E. Y., Korepanova, E. A., Kazamanov, V. A., and Derunets, A. S., Different effects of two Poloxamers (L61 and F68) on the conductance of bilayer lipid membranes, *Europ. Phys. J. E*, 2023, vol. 46(3), p. 14. <https://doi.org/10.1140/epje/s10189-023-00270-1>
22. Mueller, P., Rudin, D.O., Tien, H. T., and Wescott, W. C., Reconstitution of excitable cell membrane structure in vitro, *Circulation*, 1962, 26:1167.
23. Antonov, V.F., Smirnova, E.Y., Anosov, A.A., et al., PEG blocking of single pores arising on phase transitions in unmodified lipid bilayers, *Biophys. J.*, 2008, vol. 95 (5), p. 390. <https://doi.org/10.1134/S0006350908050126>
24. Grozdova, I.D., Badun, G.A., Chernysheva, M.G., et al., Increase in the length of poly (ethylene oxide) blocks in amphiphilic copolymers facilitates their cellular uptake, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2017, vol. 134, p. 45492. <https://doi.org/10.1002/app.45492>

25. Tristram-Nagle, S., Kim, D.J., Akhuznada, N., et al., Structure and water permeability of fully hydrated diphytanoylPC, *Chem. Phys. Lipids*, 2010, vol. 163, p. 630. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2010.04.011>
26. РЫТОВ, С. М. *Введение в статистическую радиофизику*. М.: Наука, 1976. С. 36–41. [Rytov, S.M., *Introduction to Statistical Radiophysics* (in Russian), Moscow: Science, 1976, p. 36–41.]
27. Abidor, I.G., Arakelyan, V.B., Chernomordik, L.V., et al., Electric breakdown of bilayer lipid membranes: I. The main experimental facts and their qualitative discussion, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, 1979, vol. 104, p. 37. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(79\)81006-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(79)81006-2)
28. Glaser, R.W., Leikin, S.L., Chernomordik, L.V., et al., Reversible electrical breakdown of lipid bilayers: formation and evolution of pores, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 1988, vol. 940, p. 275. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(88\)90202-7](https://doi.org/10.1016/0005-2736(88)90202-7)
29. Weaver, J.C. and Chizmadzhev, Y.A., Theory of electroporation: a review, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1996, vol. 41, p. 135. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3)
30. Böckmann, R.A., De Groot, B.L., Kakorin, S., et al., Kinetics, statistics, and energetics of lipid membrane electroporation studied by molecular dynamics simulations, *Biophys. J.*, 2008, vol. 95, p. 1837. <https://doi.org/10.1529/biophysj.108.129437>
31. Kirsch, S.A. and Böckmann, R.A., Membrane pore formation in atomistic and coarse-grained simulations, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 2016, vol. 1858, p. 2266. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.12.031>
32. Bennett, W.D., Sapay, N., and Tieleman, D.P., Atomistic simulations of pore formation and closure in lipid bilayers, *Biophys. J.*, 2014, vol. 106, p. 210. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.11.4486>
33. Melikov, K.C., Frolov, V.A., Shcherbakov, A., et al., Voltage-induced nonconductive pre-pores and metastable single pores in unmodified planar lipid bilayer, *Biophys. J.*, 2001, vol. 80, p. 1829. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)76153-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)76153-X)
34. Dehez, F., Delemotte, L., Kramar, P., et al., Evidence of conducting hydrophobic nanopores across membranes in response to an electric field, *J. Phys. Chem. C*, 2014, vol. 118, p. 6752. <https://doi.org/10.1021/jp4114865>
35. Anosov, A.A., Smirnova, E.Y., Sharakshane, A.A., et al., Increase in the current variance in bilayer lipid membranes near phase transition as a result of the occurrence of hydrophobic defects, *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 2020, vol. 1862, p. 183147. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183147>
36. Akimov, S.A., Volynsky, P.E., Galimzyanov, T.R., et al., Pore formation in lipid membrane I: Continuous reversible trajectory from intact bilayer through hydrophobic defect to transversal pore, *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, p. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12127-7>
37. Hub, J.S. and Awasthi, N., Probing a continuous polar defect: A reaction coordinate for pore formation in lipid membranes, *J. Chem. Theory Comput.*, 2017, vol. 13, p. 2352. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00106>
38. Ting, C.L., Awasthi, N., Müller, M., et al., Metastable prepores in tension-free lipid bilayers, *Phys. Rev. Lett.*, 2018, vol. 120, p. 128103. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.120.128103>
39. Bubnis, G. and Grubmüller, H., Sequential water and headgroup merger: Membrane poration paths and energetics from MD simulations, *Biophys. J.*, 2022, vol. 119, p. 2418. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.10.037>