

DOI: 10.7868/S3034574X26050144

Обзор

УДК 615.014.6

ГИБРИДНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ ВАТЕРИТА С ФУКОИДАНОМ И ЛАКТОФЕРРИНОМ ДЛЯ ЗАЩИТЫ И КОНТРОЛИРУЕМОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ КАТАЛАЗЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ И ВОСПАЛЕНИЯ

Н. Г. Балабушевич^{1, *}, Д. В. Мосиевич¹, П. И. Мишин¹, Л. Ю. Филатова¹,
Е. А. Образцова^{2, 3}, Т. В. Вахрушева², О. М. Панасенко², Е. В. Михальчик²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина,
химический факультет, Москва, Российская Федерация

³Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Московская область, Долгопрудный, Российская Федерация

*E-mail: nbalab2008@gmail.com

Аннотация. В работе получены микрочастицы ватерита, размером 3 - 4 мкм, с отрицательным ζ -потенциалом, содержащие соосажденные фукоидан, лактоферрин и адсорбированную каталазу. Микрочастицы были стабильными при хранении, рН-чувствительными, пролонгированно высвобождали фукоидан и лактоферрин в условиях, моделирующих прохождение желудочно-кишечного тракта человека с образованием на их поверхности кальций-фосфатного слоя и защищали адсорбированную каталазу от действия протеаз. Частицы с адсорбированной каталазой оказывали антиоксидантное действие при взаимодействии с нейтрофилами *in vitro* и при интраперитонеальном введении крысам. В модельных системах показали, что комплексные микрочастицы ватерита с каталазой обеспечивали контролируемое рН-зависимое высвобождение и стабильную активность антиоксидантного фермента в условиях желудочно-кишечного тракта, а также при взаимодействии с нейтрофилами.

Ключевые слова: карбонат кальция, каталаза, рН-чувствительность, пролонгированное высвобождение, защита от протеолиза, антиоксидантное действие, противовоспалительный эффект

Финансирование. Работа выполнена при поддержке средств регистрационной темы 121041500039-8 МГУ имени М.В. Ломоносова.

Соблюдение этических стандартов. Эксперименты на животных проводились в соответствии с протоколом, одобренным локальным этическим комитетом Федерального научно-клинического центра фи-

© Н. Г. Балабушевич, Д. В. Мосиевич, П. И. Мишин, Л. Ю. Филатова, Е. А. Образцова, Т. В. Вахрушева, О. М. Панасенко, Е. В. Михальчик, 2026

Сокращения: АФК – активные формы кислорода; ВЗК – воспалительные заболевания кишечника; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ИФА – иммуноферментный анализ; К – каталаза; Л – лактоферрин, СС – ватерит; ССФЛ – частицы ватерита с соосажденными фукоиданом и лактоферрином; ССФЛК – частицы ватерита с соосажденными фукоиданом, лактоферрином и каталазой; ССФЛ-К – частицы ватерита с соосажденными фукоиданом, лактоферрином и адсорбированной каталазой; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия; Ф – фукоидан; ФЛ – комплекс фукоиданан и лактоферрина; ФМА – форбол-12-миристат-13 ацетат; ЭДС – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия; K_M – константа Михаэлиса; V_{max} – максимальная скорость; $k_{кат}$ – каталитическая константа; $C_{акт}$ – концентрация активных центров фермента

зико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина (протокол №2022/10/05-1).

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них отсутствует конфликт интересов.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи.

Ссылка цитирования: Балабушевич Н.Г., Мосиевич Д.В., Мишин П.И., Филатова Л.Ю., Образцова Е.А., Вахрушева Т.В., Панасенко О.М., Михальчик Е.В. Гибридные микрочастицы ватерита с фукоиданом и лактоферрином для защиты и контролируемого высвобождения каталазы в условиях моделирования пероральной доставки и воспаления. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 5. С. 850–864. <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050144>

DOI: 10.7868/S3034574X26050144

Original Article

HYBRID VATERITE MICROPARTICLES WITH FUCOIDAN AND LACTOFERRIN FOR PROTECTION AND CONTROLLED RELEASE OF CATALASE IN MODELS OF ORAL DELIVERY AND INFLAMMATION

N. G. Balabushevich^{1, *}, D. V. Mosievich¹, P. I. Mishin¹, L. Yu. Filatova¹, E. A. Obratsova^{2, 3},
T. V. Vakhrusheva², O. M. Panasenko², E. V. Mikhalechik²

¹*Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

²*Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation*

³*Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT), Dolgoprudny, Moscow Region, Russian Federation*

*E-mail: nbalab2008@gmail.com

Abstract. In this study, vaterite microparticles measuring 3–4 μm with a negative ζ-potential were obtained, containing coprecipitated fucoidan, lactoferrin, and adsorbed catalase. The microparticles were storage stable, pH-sensitive; they provided a prolonged release of fucoidan and lactoferrin under conditions simulating passage through the human gastrointestinal, which involve the formation of a surface calcium-phosphate layer, and protected the adsorbed catalase against proteases. The particles with adsorbed catalase exhibited antioxidant activity when interacting with neutrophils in vitro and when administered intraperitoneally to rats. In model systems, it was shown that complex microparticles of vaterite with catalase provided controlled pH-dependent release and stable activity of the antioxidant enzyme under gastrointestinal tract conditions, as well as when interacting with neutrophils.

Keywords: Calcium carbonate, catalase, pH sensitivity, prolonged release, protection from proteolysis, antioxidant effect, anti-inflammatory effect

Funding. This work was carried out using funds from registration topic 121041500039-8 of Lomonosov Moscow State University.

Ethics declarations. Animal experiments were conducted in accordance with a protocol approved by the Local Ethics Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine (protocol no. 2022/10/05-1).

Conflict of interests. The authors of this article declare that they have no conflict of interest.

Authors contribution. All the authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article.

For citation: Balabushevich N.G., Mosievich D.V., Mishin P.I., Filatova L.Yu., Obratsova E.A., Vakhrush-eva T.V., Panasenko O.M., Mikhalechik E.V. Hybrid Vaterite Microparticles with Fucoidan and Lactoferrin for Protection and Controlled Release of Catalase in Models of Oral Delivery and Inflammation. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(5):850–864. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26050144>

ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода (АФК) играют важную роль при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) [11, 24]. При воспалении слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника у пациентов наблюдается значительное местное повышение уровня пероксида водорода, поэтому доставка в участки воспаления препаратов, обладающих антиокислительными свойствами, включая каталазу, считается важным для лечения ВЗК [27, 29, 30, 31].

Каталаза (КФ 1.11.1.6) широко распространена в живых организмах, проявляет антиокислительные свойства, разлагая пероксид водорода с образованием кислорода и воды. Узкий диапазон рН действия и низкая стабильность являются наиболее серьезными проблемами для использования нативной каталазы [1]. При пероральном применении ферменту необходимо сохранять активность в кислой среде желудка, а также под действием протеаз желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Иммобилизация каталазы направлена на улучшение ее свойств, кинетических параметров и защиту от агрессивных воздействий.

Для получения стабильных препаратов иммобилизованной каталазы медицинского назначения используют различные подходы, и прежде всего синтез конъюгатов, микро- и нанокапсулирование [27, 29, 30]. При пероральном введении при лечении ВЗК такие препараты должны обладать отрицательным зарядом, так как воспаленные участки ЖКТ обогащены положительно заряженными белками [27]. В настоящее время акцентируется внимание на создании лекарственных препаратов на основе дешевых частиц карбоната кальция [23], используемых в пищевой промышленности и одобренных в качестве лекарственного средства [25]. Ватерит, являющийся полиморфной модификацией карбоната кальция, на протяжении 20 лет активно исследуется в качестве носителя белков. В по-

следние годы особое значение придается созданию на основе ватерита многокомпонентных и многофункциональных частиц с природными углеводсодержащими полимерами и терапевтически важными белками [5, 6, 9, 20]. Включение биополимеров в микрочастицы проводится из водных растворов без использования органических растворителей и дорогих реагентов, однако выбору дизайна частиц и изучению защитных функций при прохождении ЖКТ уделено мало внимания.

В недавних исследованиях были получены гибридные микрочастицы ватерита с включением сульфополисахарида фукоидана (Ф) и рекомбинантного человеческого лактоферрина из молока трансгенных коз (Л) в виде их полиэлектролитного комплекса (ФЛ) [20]. Оба биополимера обладают противовирусными, противоопухолевыми, антимикробными свойствами. Фукоидан в качестве пробиотика входит в состав биологически активных добавок [15, 19], а лактоферрин, способный модулировать регенеративные процессы в слизистых оболочках [3], включают в состав пищевых продуктов и детского питания [16]. Гибридные микрочастицы ватерита с соосажденным комплексом фукоидана и лактоферрина имеют отрицательный дзета-потенциал, обладают рН чувствительностью, антиоксидантными, антибактериальными и мукоадгезивными свойствами, что важно при пероральной доставке в кишечник [20]. Иммобилизация каталазы в такие гибридные микрочастицы придаст им дополнительные антиокислительные свойства, важные для профилактики и лечения ВЗК, и защитит иммобилизованный фермент от агрессивных факторов ЖКТ.

Цель работы — включение каталазы в гибридные микрочастицы ватерита, содержащие фукоидан и лактоферрин, изучение активности иммобилизованного фермента при моделировании условий ЖКТ и противовоспалительной активности частиц *in vitro* и *in vivo*.

МЕТОДИКА

Реактивы

В работе использовали хлорид кальция, карбонат натрия, фукоидан из *Fucus vesiculosus* (30–100 кДа), каталазу из бычьей печени, свиной пепсин 4500 Ед./мг, пероксид водорода, люминол, люцигенин, форбол-12-миристат-13 ацетат (ФМА), растворы Histopaque плотностью 1,077/1,119 г/мл («Sigma-Aldrich», США), трипсин 40 Ед./мг («Fluka», Германия), рекомбинантный человеческий лактоферрин из молока трансгенных коз («Капрабел», Беларусь), наборы для определения цитокинов («Вектор-Бест», Россия).

Методы определения биополимеров

Концентрацию фукоидана определяли методом Дюбуа, концентрацию лактоферрина и каталазы – методом Лоури [20]. Активность нативной и иммобилизованной каталазы определяли по разложению пероксида водорода, константу Михаэлиса (K_M), максимальную скорость (V_{max}) и каталитическую константу ($k_{кат} = V_{max}/C_{акт}$) вычисляли при изменении концентрации субстрата с использованием графика Лайнуивера–Берка [6].

Получение микрочастиц

Получение микрочастиц ватерита с фукоиданом и лактоферрином (ССФЛ) проводили по методике [20]. Фукоидан и лактоферрин предварительно инкубировали 10 мин для образования комплекса. Реакционная смесь содержала 5 мг/мл фукоидана, 5 мг/мл лактоферрина, 0,33 М Ca^{2+} и 0,33 М CO_3^{2-} .

Для получения микрочастиц с соосажденной каталазой (ССФЛК) перед внесением раствора $CaCl_2$ добавляли каталазу до содержания в реакционной смеси 5 мг/мл. Полученные микрочастицы ССФ или ССФЛК отделяли центрифугированием, дважды промывали водой, замораживали и лиофильно высушивали. Для получения микрочастиц с адсорбированной каталазой (ССФЛ-К) 10 мг ССФЛ инкубировали 30 мин (250 об./мин, 25°C) с 2 мл 0,3 мг/мл каталазы в 0,05 М фосфатном буфере с pH 7,0, суспензию центрифугировали (1000 об./мин, 2 мин) и дважды промывали буфером. Анализировали концентрацию всех компонентов в надосадочных и промывочных растворах и определяли эффективность их включения по убыли в растворах.

Характеристика микрочастиц

Сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) проводили с использованием микроскопа Zeiss Merlin с оптикой GEMINI II Electron Optics («Zeiss», Германия) с ускоряющим напряжением 1–2 кВ. Для определения среднего диаметра

анализировали 100 частиц в каждом образце с использованием программного обеспечения ImageJ. Элементный состав анализировали методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) с использованием приставки Oxford Instruments INCAx-act при ускоряющем напряжении 10–15 кВ.

Низкотемпературную адсорбцию-десорбцию азота проводили на анализаторе ASAP-2020 («Micromeritics», США). Образцы предварительно дегазировали при комнатной температуре до 10^{-3} Па. Изотермы регистрировали при -196°C. Удельную площадь поверхности частиц определяли методом Брунауэра–Эмметта–Теллера, а размер пор рассчитывали методом Барретта–Джойнера–Халенды.

Дзета-потенциал фукоидана и лактоферрина (1 мг/мл), микрочастиц (0,1 мг/мл) измеряли с помощью электрофоретического рассеяния света (ЭРС) на приборе Zetasizer Nano ZS («Nano ZS», Великобритания).

Изучение стабильности микрочастиц

20 мг ССФЛ-К смешивали с 1,5 мл PBS-буфера (pH 7,4) и инкубировали (37°C, 250 об./мин). В процессе инкубации отбирали пробы, анализировали форму частиц с помощью световой микроскопии, а после центрифугирования (2000 об./мин, 2 мин) надосадочные растворы отделяли для анализа фукоидана и белка. Активность каталазы анализировали в суспензии и в надосадочных растворах.

Изучение pH-чувствительности микрочастиц

10 мг ССФЛ-К смешивали с 2 мл универсального буфера (0,02 М H_3PO_4 , 0,02 М CH_3COOH , 0,02 М H_3BO_3 + 1 М $NaOH$, pH 2–8) [4]. В контрольном опыте вместо частиц вносили каталазу в концентрации, аналогичной концентрации каталазы, адсорбированной в ССФЛ-К. Суспензии инкубировали 1 ч (37°C, 250 об./мин) и центрифугировали (2000 об./мин, 2 мин). В надосадочных растворах определяли концентрацию фукоидана, белка, активность каталазы. Осадки микрочастиц после промывки водой анализировали с помощью СЭМ, ЭДС, ЭРС.

Изучение поведения микрочастиц в модельных средах

10 мг микрочастиц ССФЛ-К последовательно инкубировали (37°C, 250 об./мин): 1 ч в растворе HCl с pH 3, 1 ч в 0,05 М фосфатном буфере с pH 6,0 и 4 ч в 0,05 М фосфатном буфере с pH 7,4. При смене буфера суспензию центрифугировали (2000 об./мин, 2 мин) и отделяли надосадочный раствор, а к осадку добавляли аналогичный объем новой среды. В параллельных экспериментах использовали нативную каталазу в концентрации,

эквивалентной ее содержанию в ССФЛ-К. В процессе инкубации отбирали пробы и определяли активность каталазы, далее центрифугировали (2000 об./мин, 2 мин), в надосадочных растворах определяли концентрации фукоидана и белка и рассчитывали их накопительное высвобождение. Осадки микрочастиц промывали водой и анализировали с помощью СЭМ, ЭДС и ЭРС.

При анализе воздействия модельной среды желудочного сока 2,5 мг/мл ССФЛ-К или 0,1 мг/мл каталазы инкубировали 2 ч (37°C, 250 об./мин) в растворе HCl с pH 1,2, содержащем 0,1 мг/мл пепсина и 2 мг/мл NaCl. При моделировании эффектов среды тонкого кишечника 2,5 мг/мл ССФЛ-К или 0,1 мг/мл каталазы инкубировали 2 ч (37°C, 250 об./мин) в 0,05 М трис-буфере с pH 7,0, содержащем 0,023 мг/мл трипсина (опыт) или без трипсина (контроль). Каждые 30 мин отбирали пробы, вычисляли отношение к активности фермента до начала инкубации.

Активация микрочастицами изолированных нейтрофилов

Нейтрофилы человека были выделены из крови здоровых добровольцев. Образцы крови центрифугировали 45 мин в двойном градиенте Histopaque 1,077/1,119 г/мл, нейтрофилы собирали, промывали раствором Кребса-Рингера (pH 7,4) и подсчитывали в камере Горяева.

Хемилюменисценцию (ХЛ) измеряли на люминометре Lum1200 (DiSoft, Россия) в 0,5 мл раствора Кребса-Рингера с 0,2 мМ люминолом, 0,5% аутологичной сыворотки крови, нейтрофилами (10^6 /мл) и микрочастицами (0,5 мг/мл). Спонтанную ХЛ измеряли до внесения микрочастиц. После добавления образца ХЛ регистрировали до достижения максимальных значений и рассчитывали амплитуду ХЛ ответа.

Для иммуноферментного анализа (ИФА) цитокинов 10^6 /мл нейтрофилов инкубировали с 0,5 мг/мл микрочастиц в растворе Кребса-Рингера 2 ч при 37°C. Надосадочные растворы после центрифугирования (20 мин, 3000 об./мин) собирали и хранили при -30°C до анализа. Цитокины (ФНО-альфа, ИЛ-6 и ИЛ-8) определяли с помощью наборов ИФА в соответствии с инструкциями производителя.

Изучение реакции нейтрофилов на микрочастицы in vivo

Были использованы половозрелые крысы-самцы линии Вистар массой 200–220 г по 7 животных в группе. Кормление осуществлялось *ad libitum* при свободном доступе к воде. Для введения животным готовили суспензии 25 мг/мл микрочастиц в стерильном 0,15 М NaCl и вводили внутривентрально в объеме 1 мл. Контрольной группе вводили 1 мл стерильного 0,15 М NaCl. Через 1 сутки после введения суспен-

зий животные получали ингаляционный наркоз севораном, затем в брюшную полость вводили по 10 мл стерильного 0,15 М NaCl и отбирали перитонеальный лаваж. Клетки перитонеального лаважа осаждали центрифугированием (15 мин, 1500 об./мин), промывали средой Кребса-Рингера. Готовили мазки и окрашивали по Романовскому для подсчета с использованием светового микроскопа. Клеточные осадки ресуспендировали в 0,5 мл среды Кребса-Рингера и оценивали концентрацию клеток в камере Горяева. Для проведения ХЛ анализа в кювету люминометра вносили пробу, содержащую 0,5 мл раствора Кребса-Рингера с 0,2 мМ люминолом или люцигенином и 0,5 мл клеток лаважа (10^6 /мл), и измеряли кинетику ХЛ ответа, регистрируя максимальную величину. Затем в пробу вносили 0,1 мкг/мл раствора ФМА и регистрировали максимум на кривой ХЛ ответа.

Обработка данных и статистический анализ

Расчеты и статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Excel, Origin и Statistica 12.0. Результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Статистическая значимость различий между группами оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента для независимых переменных и критерия Манна-Уитни. Различие считалось статистически значимым при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение и характеристика микрочастиц ватерита

Для получения гибридных микрочастиц ватерита ССФЛ с фукоиданом (Ф), имеющим pK_a сульфогрупп 1–2,5, и гликопротеином лактоферрином (Л) с молекулярной массой 80 кДа и pI 8,0–8,5 был использован метод спонтанной кристаллизации при сливании растворов хлорида кальция и карбоната натрия с соосаждением предварительно сформированного полиэлектролитного комплекса ФЛ (рис. 1), как было описано в работе [20]. На сохранение активности каталазы (К, 250 кДа, pI 5,4) в гибридных микрочастицах ватерита могут оказывать влияние используемые биополимеры [5, 9], поэтому предварительно установили, что фукоидан и лактоферрин в концентрациях 0,01–5,0 мг/мл не влияли на активность каталазы при pH 7,0.

При загрузке каталазы в ССФЛ путем соосаждения (ССФЛК) и адсорбции (ССФЛ-К) (рис. 1) сравнивали физико-химические характеристики микрочастиц (табл. 1).

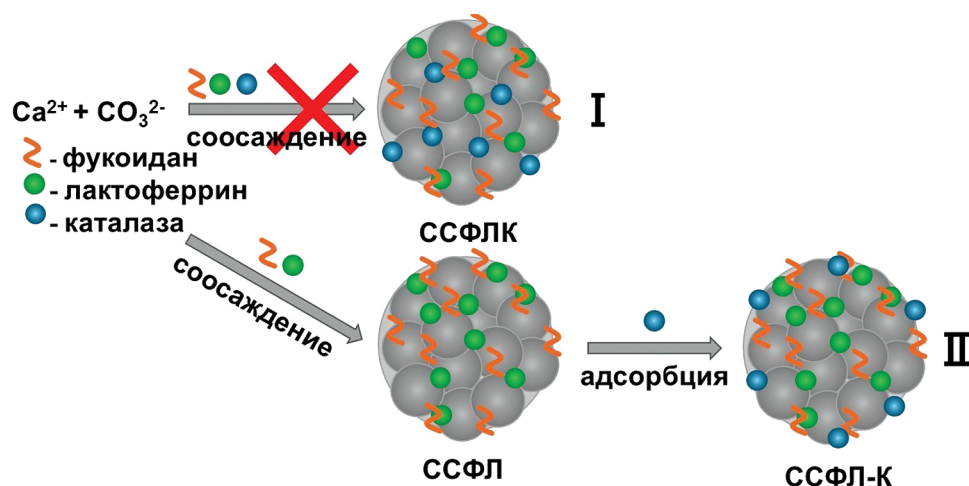


Рис. 1. Схема получения микрочастиц ватерита с фукоиданом и лактоферрином с включением каталазы путем соосаждения (ССФЛК, путь I) или адсорбции (ССФЛ-К, путь II)

Fig. 1. Scheme for producing vaterite microparticles with fucoidan and lactoferrin with incorporation of catalase via coprecipitation (CCFLK, route I) or adsorption (CCFL-K, route II)

Таблица 1. Характеристика микрочастиц ССФЛ до и после включения каталазы с помощью соосаждения (ССФЛК) и адсорбции (ССФЛ-К)

Table 1. Characteristics of CCFL microparticles before and after catalase incorporation using coprecipitation (CCFLK) and adsorption (CCFL-K)

Метод анализа	Параметр	Микрочастицы			Каталаза
		ССФЛ	ССФЛК	ССФЛ-К	
СЭМ	Диаметр частиц, мкм	2,1±0,7	3,0±1,2	3,5±1,1	
Адсорбция-десорбция азота	Площадь частиц, м ² г ⁻¹	35±4	-	-	
	Диаметр пор, нм	5,4	-	-	
ЭРС	ζ-потенциал, мВ	-12 ± 1	-11±2	-9±1	
Дюбуа	Фукоидан, мг/г	101±13	90±10	84±8	
Лоури	Лактоферрин, мг/г частиц	27±3	27±5	28±3	
	Каталаза, мг/г частиц	-	81±9	10±2	
Разложение пероксида водорода	Е/мг белка	-	120±15	980±46	1007±18
	К _м , мМ	-	-	1,4±0,3	48±11
	k _{кат} · 10 ⁻⁷ , с ⁻¹	-	-	0,33±0,10	3,0±1,2

Микрочастицы ССФЛ и ССФЛ-К имели сферическую форму со средним диаметром 2 – 4 мкм (рис. 2), свойственную ватериту, и содержали около 3% масс. лактоферрина и 8 – 10% (масс.) фукоидана. Благодаря наличию на поверхности сульфополисахарида с ζ-потенциалом -60,5 мВ поверхностный заряд всех микрочастиц был отрицательным. Размер пор микрочастиц ССФЛ составлял 5,4 нм

и был сравним с гидродинамическим диаметром молекулы каталазы 10,5 нм.

Метод соосаждения приводил к большей загрузке каталазы (табл. 1), однако активность соосажденного фермента в частицах оказалась низкой, вероятно, вследствие недоступности большей части молекул для субстрата. При адсорбции каталазы в 0,05 М фосфатном буфере с рН 7,0 удалось достичь

сохранения удельной активности на уровне нативного фермента, как и при адсорбции каталазы на других частицах ватерита [7, 8], в том числе гибридных [5, 6, 9]. Эффективность адсорбции зависит от соотношения размера пор микрочастиц и гидродинамического диаметра белка, а также их зарядов [5, 9]. Из-за близости размеров фермента и пор ССФЛ большая часть адсорбированной каталазы находилась на поверхности микрочастиц ССФЛ-К. Для адсорбированной каталазы по сравнению с нативной выявлено, как уменьшение каталитической константы ($k_{\text{кат}}$), по-видимому, из-

за диффузионных затруднений для субстрата, так и уменьшение константы Михаэлиса (K_M).

Таким образом, для загрузки каталазы в гибридные микрочастицы предложено использовать адсорбцию.

Стабильность и pH-чувствительные свойства микрочастиц

Стабильность ССФЛ-К, включая высвобождение всех включенных компонентов и изменение активности каталазы, изучали при инкубации в PBS-буфере с pH 7,4 (рис. 3).

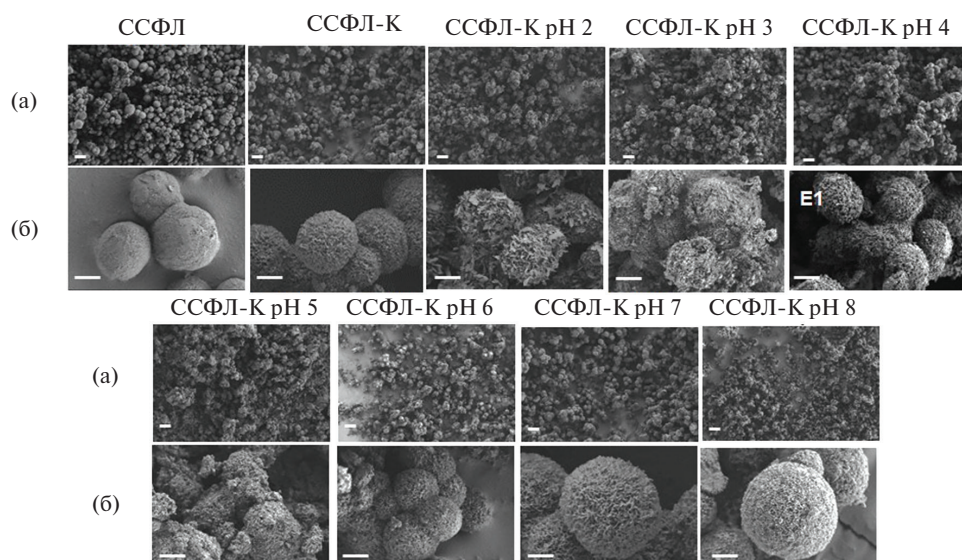


Рис. 2. СЭМ фотографии микрочастиц ССФЛ и ССФЛ-К до и после инкубации в универсальном буфере с pH 2–8. Масштабная линейка: а – 10 мкм, б – 1 мкм

Fig. 2. SEM images of CCFL and CCFL-K microparticles before and after incubation in a universal buffer with pH 2–8. (a) - scale bar in the upper figure is 10 μm, (b) - 1 μm

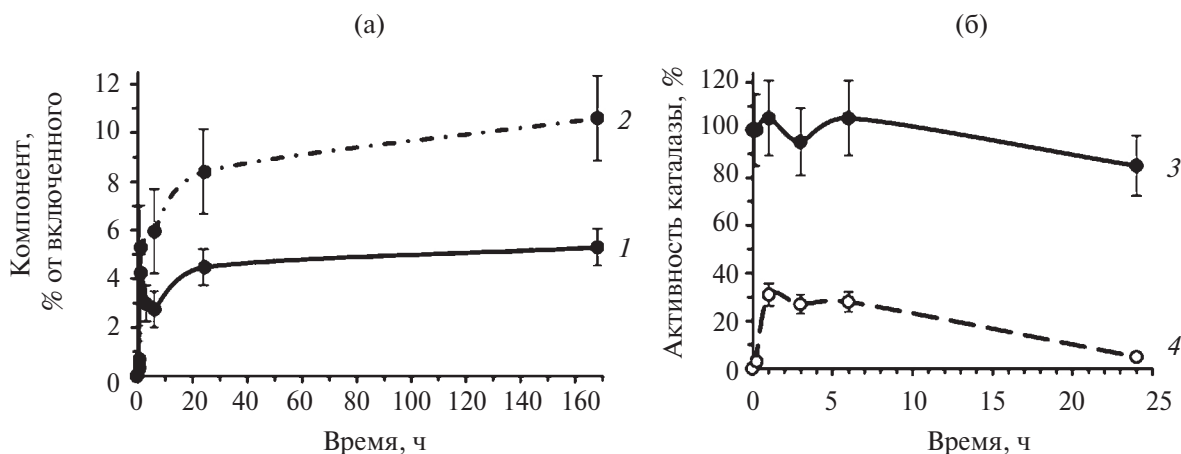


Рис. 3. Высвобождение белка (1, а) и фукоидана (2, а), активность каталазы (в суспензии 3, б и надосадочном растворе 4, б) при инкубации микрочастиц ССФЛ-К в PBS-буфере pH 7,4

Fig. 3. Release of protein (1, a) and fucoidan (2, a), and catalase activity (in suspension 3, b and supernatant solution 4, b) during incubation of CCFL-K microparticles in PBS buffer, pH 7,4

По данным световой микроскопии микро-
частицы в течение 24 ч сохраняли сферическую форму,
свойственную ватериту. Через 1 ч высвобождение
фукоидана и белка (рис. 3а) составляло соответ-
ственно 4 и 6% от количества, загруженного в ча-
стицы, а через 24 ч возрастало до 8% для фукоидана
и практически не изменялось для белков вплоть до

168 ч инкубации. Каталаза в суспензии ССФЛ-К
сохраняла 80% активности в течение 24 ч, в то
время как фермент, высвободившийся в раствор,
терял активность (рис. 3б). Для моделирования
условий ЖКТ использовали два подхода: ССФЛ-К
инкубировали 1 ч при pH от 2 – 8 (рис. 4) или 6 ч
при увеличении значениях pH среды (рис. 5).

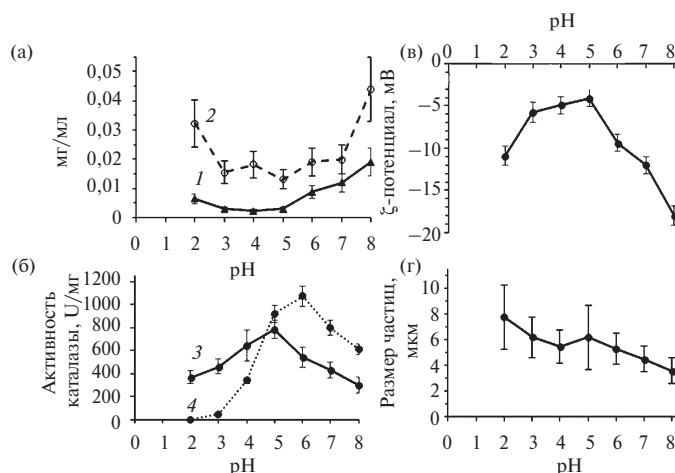


Рис. 4. Влияние pH и длительности инкубации микро-
частиц ССФЛ-К в течение 1 ч в универсальном буфере на
высвобождение белка (1, а) и фукоидана (2, а), активность каталазы в суспензии (3, б) и в надосадочном растворе
(4, б), ζ -потенциал (в) и размер микро-
частиц (г)

Fig. 4. Effect of pH and duration of 1-hour incubation of CCFL-K microparticles in a universal buffer on protein (1, а) and
fucoidan release (2, а), catalase activity (in suspension 3, б and supernatant solution 4, б), ζ -potential (с), and size (д)

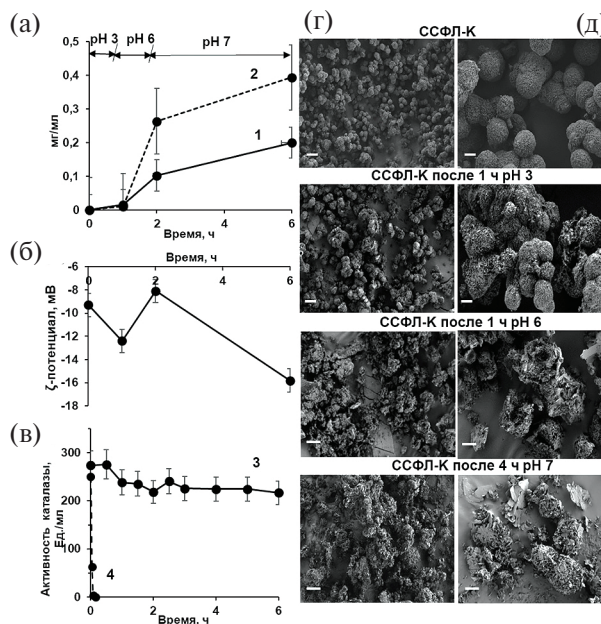


Рис. 5. Влияние pH и длительности последовательной инкубации в средах, моделирующих прохождение ЖКТ, на
свойства микро-
частиц ССФЛ-К: а – накопительное высвобождение белка (1) и фукоидана (2); б – изменение ζ -по-
тенциала; в – активность каталазы в суспензии микро-
частиц (3) и контрольной нативной каталазы (4); г, д – мор-
фологию микро-
частиц по данным СЭМ (масштабная линейка: г – 10 мкм, д – 1 мкм)

Fig. 5. Effect of pH and duration of sequential incubation in media simulating passage through the gastrointestinal tract on
the properties of CCFL-K microparticles: а – cumulative release of protein (1) and fucoidan (2); б – change in ζ -po-
tential; в – catalase activity in suspension (3) and control native catalase (4); г, д – mor-
phology according to SEM data (scale bar
g – 10 μm, e – 1 μm)

Анализировали высвобождение компонентов, активность каталазы, ζ -потенциал (рис. 4, 5), морфологию (рис. 2б) и размер частиц (рис. 4г), элементный состав поверхности частиц (табл. 2). По данным СЭМ (рис. 2) при pH 2–5 наблюдалось изменение морфологии частиц, связанное как с частичным растворением карбоната кальция, так и с образованием кальций-фосфатного слоя, что согласуется с данным ЭДС по обогащению поверхности фосфором (табл. 2). При pH 6,0 и в

большей степени при pH 7,0 – 8,0 частицы сохраняли сферическую форму, но также содержали на поверхности фосфаты кальция (табл. 2). Слипание частиц в кислых средах было более выраженным, что приводило к увеличению среднего диаметра образований (рис. 4г). Сходные изменения ранее наблюдались при инкубации частиц ватерита в плазме крови, которые были связаны с трансформацией в постепенно разрушающиеся игольчатые структуры фосфата кальция [22].

Таблица 2. Влияние инкубации в различных средах на элементный состав поверхности микрочастиц ССФЛ-К в массовых процентах по данным ЭДС

Table 2. Effect of incubation in various media on the elemental composition of the CCFL-K microparticle surface in mass percentages according to EDS

Элемент	Исходно	Инкубация 1 ч в универсальном буфере			Инкубация при моделировании прохождения ЖКТ	
		pH				
		2	5	8	3	7
C	26,8±0,3	24,6±0,3	37,8±0,3	30,5±0,3	24,1±0,3	11,1±0,3
O	42,3±0,3	44,2±03	35,1±0,4	37,7±0,3	43,3±0,3	32,8±0,4
P	0,3±0,1	1,30±0,18	5,1±0,2	5,9±0,1	8,8±0,2	17,4±0,2
Ca	29,6±0,2	13,7±0,2	22,0±0,3	25,9±0,2	23,8±0,2	38,6±0,3

Фукоидан и белок из ССФЛ-К незначительно высвобождались при pH 3–5 (рис. 4а) и чуть больше при pH 2,0 в связи с растворением карбоната кальция в кислой среде. Наибольшее выделение компонентов наблюдалось при pH 7 – 8 в связи с приобретением каталазой отрицательного заряда и с приближением значения pH к pI лактоферрина и, следовательно, с разрушением полиэлектролитных комплексов фукоидана с лактоферрином и/или каталазой. Изменение отрицательного ζ -потенциала ССФЛ-К было колоколообразным (рис. 4в) с возрастанием модуля при pH < 5 и при pH 7–8, по-видимому, за счет одновременного изменения заряда включенных каталазы и лактоферрина. Максимальное сохранение активности адсорбированной каталазы в суспензии микрочастиц наблюдалось при pH 5 (рис. 4б). Однако даже при pH 2–3 активность иммобилизованного фермента в суспензии микрочастиц сохранялась, в отличие от нативной каталазы и надосадочных растворов после отделения частиц. При последовательной инкубации ССФЛ-К в буферных растворах с возрастающими значениями pH (рис. 5) наблюдалось изменение морфологии микрочастиц (рис. 5г, д), что связано с частичным растворением карбоната кальция и образованием фосфатов кальция

(табл. 2). Высвобождение фукоидана и белка за 1 ч инкубации при pH 3 было незначительным, но происходило более активно за 1 ч при pH 6 и более медленно в течение 4 ч при pH 7 (рис. 5а). Активность сорбированной каталазы при pH 3 уменьшалась на 13%, в то время как активность нативной каталазы полностью терялась в этих условиях уже через 10 мин (рис. 5в). При переносе микрочастиц после центрифугирования в среды с pH 6,0 и далее с pH 7,0 активность иммобилизованной каталазы практически не изменялась, что хорошо согласовывалось с данными по влиянию pH на высвобождение белка из частиц (рис. 4). ζ -потенциал ССФЛ-К при инкубации во всех средах оставался отрицательным (рис. 5б).

Защитные свойства микрочастиц при действии протеаз

Исследование активности адсорбированной каталазы в ССФЛ-К проводили в течение 2 ч в двух средах, первая из которых моделировала кислую среду желудочного сока и содержала пепсин (рис. 6а), а вторая – нейтральную среду тонкого кишечника и содержала трипсин (рис. 6б). В параллельных экспериментах проводили инкубацию нативной каталазы.

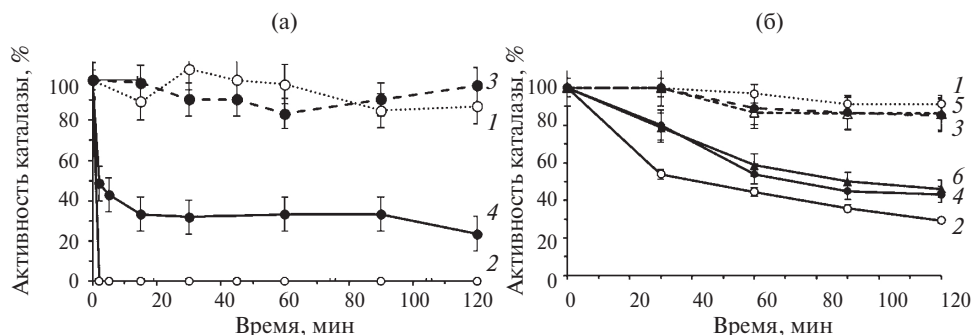


Рис. 6. Кинетика инактивации каталазы нативной при pH 7,0 (1) и в среде с протеолитическим ферментом (2), в составе микрочастиц ССФЛ-К при pH 7,0 (3) и в среде с протеолитическим ферментом (4), в составе микрочастиц ССФЛ-К при pH 7,0 (5) и в среде с протеолитическим ферментом (6). Условия инкубации с протеолитическими ферментами: в растворе пепсина (0,1 мг/мл) при pH 1,2 (а) и в растворе трипсина (0,023 мг/мл) при pH 7,0 (б)

Fig. 6. Kinetics of catalase inactivation in native state at pH 7.0 (1) and in a medium with the enzyme (2), as a component of CCFL-K microparticles at pH 7.0 (3) and in a medium with the enzyme (4), as a component of CCF-K microparticles at pH 7.0 (5) and in a medium with the enzyme (6) during incubation in a pepsin solution (0.1 mg/ml) at pH 1.2 (a) and in a trypsin solution (0.023 mg/ml) at pH 7.0 (b)

Под действием пепсина в кислой среде нативная каталаза полностью инактивировалась в течение 5 мин, в то время как адсорбированная через 2 ч сохраняла 30% активности (рис. 6а). Под действием трипсина адсорбированная каталаза через 2 ч сохранила соответственно на 15% больше активности по сравнению с нативным ферментом (рис. 6б). Защитные свойства гибридных частиц в кислой среде можно объяснить локальным повышением pH в результате частичного растворения карбоната кальция и, следовательно, созданием условий, не оптимальных для действия пепсина. Кроме того, экспонированный на поверхности частиц фукоидан может создавать стерические затруднения для воздействия пепсина и трипсина на иммобилизованную каталазу.

Активация микрочастицами изолированных нейтрофилов

Анализ действия адсорбированной каталазы представляет интерес как с точки зрения подтверждения ее активности в клеточных системах, генерирующих пероксид водорода, так и для обоснования перспективности включения ее в качестве дополнительного антиоксидантного и противовоспалительного компонента в средства доставки. Оценивали активацию нейтрофилов под действием ССФЛ и ССФЛ-К (рис. 7).

Эксперименты с нейтрофилами показали, что амплитуда ХЛ-ответа на ССФЛ-К составляла $75 \pm 23\%$ от ответа на ССФЛ ($p < 0,05$ по критерию Уилкоксона). Внеклеточная продукция ФНО-альфа нейтрофилами под действием ССФЛ и ССФЛ-К возрастала в одинаковой степени, а продукция ИЛ-6 и ИЛ-8 несколько снижалась (рис. 8).

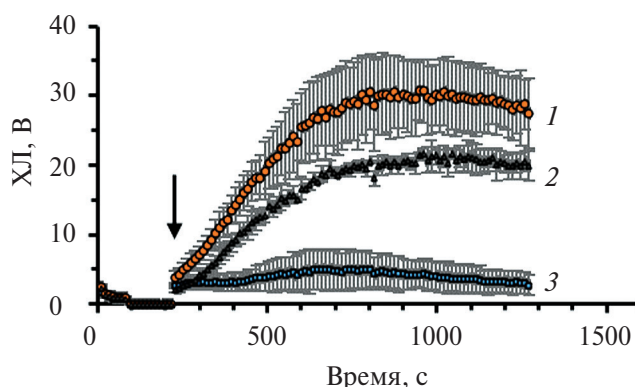


Рис. 7. Типичная кинетика люминол-зависимого ХЛ ответа нейтрофилов на микрочастицы ССФЛ (1), ССФЛ-К (2) и контрольный раствор 0,15 М NaCl (3)
Fig. 7. Typical kinetics of the luminol-dependent CL response of neutrophils to microparticles of CCFL (1), CCFL-K (2) and a control solution of 0.15 M NaCl (3)

Характеристика провоспалительной реакции крыс на микрочастицы

Для сравнительного анализа провоспалительной активности микрочастиц *in vivo* использовали модель с интраперитонеальным введением крысам ССФЛ, ССФЛ-К или стерильного 0,15 М NaCl в контрольной группе. Анализ клеточного состава перитонеального смыва показал, что в группах с введением микрочастиц увеличивалась доля нейтрофилов и снижалась доля эозинофилов по сравнению с контрольной группой (табл. 3). При этом доля моноцитов практически не изменялась. Статус клеток перитонеального смыва оценивали по продукции ими активных форм кислорода спонтанно или под действием ФМА (стандартного активатора клеток), используя метод ХЛ (табл. 4).

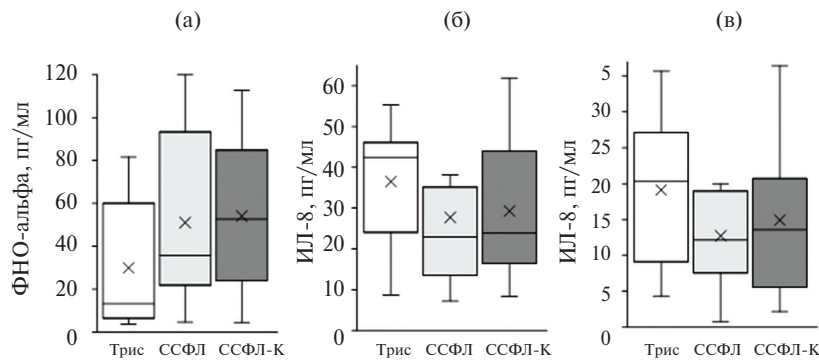


Рис. 8. Внеклеточная концентрация ФНО-альфа (а), ИЛ-8 (б) и ИЛ-6 (в) после инкубации нейтрофилов (1×10^6 кл./мл) с микрочастицами ССФЛ, ССФЛ-К (0,5 мг/мл) или без микрочастиц в течение 2 ч при 37°C. * $p < 0.05$ относительно контроля (Трис)
Fig. 8. Extracellular concentration of TNF-alpha (a), IL-8 (б), and IL-6 (в) after incubation of neutrophils (1×10^6 cells/mL) with CCFL, CCFL-K microparticles (0.5 mg/mL), or without microparticles for 2 hours at 37°C. * $p < 0.05$ relative to the control (Tris).

Таблица 3. Доля моноцитов, эозинофилов и нейтрофилов среди лейкоцитов перитонеального смыва у крыс через сутки после введения микрочастиц (25 мг/животное)
Table 3. Proportion of monocytes, eosinophils, and neutrophils in peritoneal lavage leukocytes in rats 24 hours after microparticles administration (25 mg/animal)

Образец	Лейкоциты в перитонеальном смыве		
	моноциты, %	нейтрофилы, %	эозинофилы, %
0,15 M NaCl	26,1±8,7	33,7±13,4	16,5±6,6
ССФЛ	24,2±8,8	57,1±9,1*	9,0±8,3
ССФЛ-К	25,6±14,1	66,5±14,8*	5,2±0,8*

* $p < 0,05$ относительно группы крыс «0.15 M NaCl»
* $p < 0.05$ relative to the group of rats “0.15 M NaCl”

Таблица 4. Активность клеток перитонеального смыва у крыс через сутки после введения микрочастиц (25 мг/животное)
Table 4. Peritoneal lavage cell activity in rats 24 hours after microparticles administration (25 mg/animal). The measured parameters were normalized to cell concentration and presented as minimum and maximum values (median values are shown in parentheses)

Образец	Люминол-зависимая ХЛ, В/млн		Люциген-зависимая ХЛ, В/млн	
	спонтанная	ФМА-активированная	спонтанная	ФМА-активированная
0,15 M NaCl	1,9–4,3 (2,7)	210–512 (382)	1,5–5,0 (2,7)	11,0–16,5 (12,8)
ССФЛ	0,7–11,0 (2,9)	4,7–179 (22,8) **	1,4–8,7 (4,3)	0,8–10,3 (3,1) **
ССФЛ-К	0,3–13,3 (2,5)	2,7–78,2 (22,1) **	0,4–5,0 (3,7) *	0,1–13,3 (2,8) **

* $p < 0,05$ vs ССФЛ; ** $p < 0,05$ vs NaCl; измеряемые показатели нормировали на концентрацию клеток и представляли как минимальное и максимальное значения (в скобках указана медиана)
* $p < 0.05$ vs. CCFL; ** $p < 0.05$ vs. NaCl; the measured parameters were normalized to the cell concentration and presented as minimum and maximum values (the median is given in brackets).

В группах с введением микрочастиц отмечалось достоверное снижение люминол- и люцигенин-зависимого ХЛ-ответа клеток перинотального смыва на ФМА, несмотря на повышенное содержание нейтрофилов в клеточных суспензиях. По-видимому, этот результат обусловлен антиоксидантным действием включенных в состав частиц биополимеров, однако эффектов адсорбированной каталазы не отмечалось. По результатам спонтанной ХЛ можно отметить тенденцию к снижению люминол-зависимого ответа в группе с введением ССФЛ-К относительно ССФЛ, а в присутствии люцигенина различия между этими группами были достоверными. Поскольку люцигенин-зависимая ХЛ регистрирует образование супероксидного радикала, можно предположить, что в этом случае антиоксидантное действие адсорбированной каталазы было скорее опосредованным и отражало общий противовоспалительный характер действия включенного белка.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование каталазы в качестве белка включения при разработке multifunctional средств мукозальной доставки связано с ее защитным действием при воспалении, сопровождающемся избыточным образованием пероксида водорода. У пациентов с ВЗК отмечается, как правило, более высокий уровень продукции АФК в кишечнике, чем у здоровых лиц [28]. Пероксид водорода может вырабатываться как бактериями кишечной микрофлоры [21], так и макрофагами и нейтрофилами, инфильтрирующими слизистую оболочку кишечника при воспалении [13]. Избыточная продукция АФК и других реакционных соединений, в первую очередь, гидроксильного радикала и хлорноватистой кислоты, образующихся из пероксида водорода под действием ионов металлов и миелопероксидазы нейтрофилов, соответственно, в условиях хронического воспаления приводит к окислительному повреждению, апоптозу и некрозу клеток эпителия кишечника, а также повышает риск колоректального рака [14]. При воспалении в эпителии кишечника было зарегистрировано не только повышение продукции пероксида водорода, но и отсутствие роста активности каталазы [18], способной предотвратить развитие окислительного стресса. В то же время, было показано, что каталаза, разрушая пероксид водорода, позволяла снизить уровень воспаления в моделях колита у крыс и мышей [10, 12, 17, 26]. Пероральная доставка каталазы в кишечник требует разработки новых средств, обеспечивающих ее защиту от воздействия желудочного сока с высокой кислотностью [2].

В данном исследовании подобран дизайн получения комплексных гибридных микрочастиц ватерита, содержащих фукоидан, лактоферрин и ката-

лазу. После сравнения методов загрузки фермента микрочастицы синтезировали соосаждением комплекса фукоидана и лактоферрина при формировании ватерита и последующей адсорбцией каталазы. Все стадии процесса проводили в водных растворах без применения органических растворителей и сшивающих агентов. Полученные частицы размером 3 – 4 мкм имели отрицательный ζ -потенциал. Из-за близости пор частиц и размеров фермента большая часть адсорбированной каталазы находится на поверхности частиц, поэтому удельная активность иммобилизованной каталазы близка к нативной. Для адсорбированной каталазы выявлено уменьшение константы Михаэлиса и каталитической константы, что может свидетельствовать о более высоком сродстве фермента к пероксиду водорода и о наличии диффузионных затруднений для субстрата [12]. Микрочастицы были стабильны при хранении в PBS-буфере. При сравнении инкубации микрочастиц при различных значениях pH выяснено, что в кислых средах происходило изменение морфологии частиц, связанное с частичным растворением карбоната кальция и образованием фосфатов кальция, однако при этом высвобождение фукоидана и белка невелико. Наиболее существенное выделение компонентов из микрочастиц наблюдалось при pH 7,0 – 8,0 в связи с разрушением полиэлектролитного комплекса фукоидана с лактоферрином и/или каталазой. Являясь pH-чувствительными, микрочастицы пролонгированно высвобождали фукоидан и лактоферрин в условиях, моделирующих прохождение ЖКТ человека. По мере повышения pH модельных сред от 3,0 до 7,0 наблюдалось частичное растворение микрочастиц, а при прохождении кишечника образование кальций-фосфатного слоя. Адсорбированная каталаза сохраняла около 80% активности в отличие от нативной, которая полностью инактивировалась при pH 3,0. Отрицательный поверхностный заряд микрочастиц в модельных средах ЖКТ сохранялся, что важно для их удерживания в зонах воспаления слизистой оболочки, характеризующихся повышенной концентрацией положительно заряженных белков [27].

Микрочастицы защищали адсорбированную каталазу от действия основных протеаз ЖКТ, что объясняется как локальным повышением pH в кислой среде в результате частичного растворения карбоната кальция и, следовательно, созданием условий не оптимальных для проявления активности пепсина, так и тем, что экспонированный на поверхности фукоидан может создавать стерические затруднения для воздействия протеаз на адсорбированную каталазу.

Адсорбированная каталаза в составе микрочастиц оказывала антиоксидантное действие при их взаимодействии с нейтрофилами *in vitro*, не влияя при этом на внеклеточную продукцию цитокинов клетками. В предварительных экспериментах было

показано, что адсорбция вместо каталазы человеческого сывороточного альбумина или муцина из желудка свиньи в аналогичных условиях не снижала ХЛ ответ нейтрофилов. Следовательно, эффект каталазы можно объяснить ее ферментативной активностью, а не следствием неспецифического экранирования взаимодействующих с нейтрофилами участков поверхности частиц. Микрочастицы с фукоиданом и лактоферрином и каталазой снижали радикал-продуцирующую активность клеток перитонеального экссудата при внутрибрюшинном введении крысам по сравнению с контрольной группой без введения частиц, однако значительного вклада каталазы в зарегистрированные эффекты не было. По-видимому, гибридные микрочастицы независимо от включения каталазы

стимулировали выход нейтрофилов в брюшную полость, а последующее взаимодействие клеток с частицами приводило к значительному снижению их активности.

Таким образом, в модельных системах продемонстрировали, что комплексные гибридные микрочастицы ватерита с каталазой обеспечивали контролируемое рН-зависимое высвобождение и стабильную активность антиоксидантного фермента в условиях ЖКТ, а также при взаимодействии с нейтрофилами.

Полученные результаты позволяют рассматривать полученные комплексные гибридные микрочастицы с каталазой в качестве основы многофункционального противовоспалительного средства при воспалительных заболеваниях кишечника.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. *Abdalbagemohammedabdalsadeg S., Xiao B. L., Ma X. X., Li Y. Y., Wei J. S., Moosavi-Movahedi A. A., et al.* // Int. J. Biol. Macromol. 2024. V. 276. 133941. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133941>
2. *Alothman M., Ispas-Szabo P., Mateescu M.A.* // Pharmaceutics. 2021. V. 13. № 1. 69. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010069>
3. *Antoshin A. A., Shpichka A. I., Huang G., Chen K., Lu P., Svistunov A. A., et al.* // Pharmacol. Res. 2021. V. 167. 105564. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105564>
4. *Balabushevich N. G., Borzenkova N. V., Izumrudov V. A., Larionova N. I., Bezborodova, O. A., Nemtsova E. R., Yakubovskaya R. I.* // Appl. Biochem. Microbiol. 2014, V. 50. № 2. P. 232-240. <https://doi.org/10.7868/s0555109914020044>
5. *Balabushevich N. G., Kovalenko E. A., Filatova L. Y., Kirzhanova E. A., Mikhalechik E. V., Volodkin D., Vikulina A. S.* // Macromol. Biosci. 2022. V. 22. № 7. 2200005. <https://doi.org/10.1002/mabi.202200005>
6. *Balabushevich N. G., Kovalenko E. A., Maltseva L. N., Filatova L. Y., Moysenovich A. V., Mikhalechik E. V., et al.* // Adv. Eng. Mater. 2022. V. 24. № 9. 2101797. <https://doi.org/10.1002/adem.202101797>
7. *Balabushevich N. G., Lopez de Guereñu A. V., Feoktistova N. A., Skirtach A. G., Volodkin D.* // Macrom. Biosci. 2016. V. 16. № 1. P. 95-105. <https://doi.org/10.1002/mabi.201500243>
8. *Balabushevich N. G., Lopez de Guereñu A. V., Feoktistova N. A., Volodkin D. V.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. V. 17. № 4. P. 2523-2530. <https://doi.org/10.1039/c4cp04567j>
9. *Balabushevich N. G., Maltseva L. N., Filatova L. Y., Mosievich D. V., Mishin P. I., Bogomiakova M. E., et al.* // Heliyon. 2024. V. 10. № 13. e. 33801. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33801>
10. *Barrett K.E., McCole D.F.* // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2016. V. 43. № 11. P.1097-1106. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12646>
11. *Bhattacharyya A., Chattopadhyay R., Mitra S., Crowe S. E.* // Physiol. Rev. 2014. V. 94. № 2. P. 329-354. <https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2012>
12. *Blau S., Kohen R., Bass P., Rubinstein A.* // Pharm. Res. 2000. V. 17. № 9/ P.1077-84. <https://doi.org/10.1023/a:1026401611961>
13. *Campbell E.L., Colgan S.P.* // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2019 V.16. № 2. P. 106-120. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0079-5>
14. *Chen T., Liu J., Hang R., Chen Q., Wang D.* // J. Inflamm. Res. 2025. V. 18. P. 925-947. <https://doi.org/10.2147/JIR.S497701>
15. *Chollet L., Saboural P., Chauvierre C., Villemain J. N., Letourneur D., Chaubet F.* // Mar. Drugs 2016. V.14. № 8. 145. <https://doi.org/10.3390/md14080145>
16. *Elzoghby A. O., Abdelmoneem M. A., Hassanin I. A., Abd Elwakil M. M., Elnaggar M. A., Mokhtar S., et al.* // Biomaterials. 2020. 263. 120355. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120355>

17. Keshavarzian A., Haydek J., Zabihi R., Doria M., D'Astice M., Sorenson J.R. // Dig. Dis. Sci. 1992. V. 37. № 12. P.1866-73. <https://doi.org/10.1007/BF01308081>
18. Kruidenier L., Kuiper I., Van Duijn W., Mieremet-Ooms M.A., van Hogeand R.A., Lamers C.B., Verspaget H.W. // J. Pathol. 2003. V. 201. № 1. P. 17-27. <https://doi.org/10.1002/path.1408>
19. Liu W., Xu X., Duan L., Xie X., Zeng X., Huang Y., et al. // Food Res. Int. 2025. V. 218. 116752. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116752>
20. Mosievich D. V., Balabushevich N. G., Mishin P. I., Filatova L. Y., Murina M. A., Pobeguts O. V., et al. // Mar. Drugs 2025. V. 23. № 11. 428. <https://doi.org/10.3390/md23110428>
21. Strus M., Gosiewski T., Fyderek K., Wedrychowicz A., Kowalska-Duplaga K., Kochan P., et al. // J. Physiol. Pharmacol. 2009. V. 60. P. 49-54.
22. Sudareva N. N., Popryadukhin P. V., Saprykina N. N., Suvorova O. M., Yukina G. Y., Galibin O. V., Vilesov A. D. // Cellular Therapy and Transplantation. 2020. V. 9. № 2. P. 13-18. <https://doi.org/10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-2-13-19>
23. Taheri S., Volodkin D. V., Skirtach A. G., Parakhonskiy B. V. // Expert Opin. Drug Deliv. 2025. V. 23. № 3. P. 393-415. <https://doi.org/10.1080/17425247.2025.2587907>
24. Tratenšek A., Locatelli I., Grabnar I., Drobne D., Vovk T. // Redox Biol. 2024. V. 77. 103380. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103380>
25. Trushina D. B., Borodina T. N., Belyakov S., Antipina M. N. // Mater. Today Adv. 2022. V. 14. 100214. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100214>
26. Yavuz Y., Yüksel M., Yeğen B.C., Alican I. // Res, Exp. Med. (Berl). 1999. V. 199. № 2. P. 101-110. <https://doi.org/10.1007/s004330050137>
27. Yu Y., Zhao X., Xu X., Cai C., Tang X., Zhang Q., Zhong L., et al. // Adv Mater. 2023. V. 35. № 44. e2304967. <https://doi.org/10.1002/adma.202304967>
28. Zhang T., Jiang J., Liu J., Xu L., Duan S., Sun L., Zhao W., Qian F. // Front. Med. (Lausanne). 2020. V. 7. 207. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00207>
29. Zhang X., Zhu Y., Xiong Z., Xie W., Shao M., Liu Z. // Small. 2025. V. 21. № 23. e2501341. <https://doi.org/10.1002/sml.202501341>
30. Zheng D., Chen W., Chen T., Chen X., Liang J., Chen H., et al. // Adv Mater. 2024. V. 36. № 5. 2306105. <https://doi.org/10.1002/adma.202306105>
31. Zhou J., Li M., Chen Q., Li X., Chen L., Dong Z., et al. // Nat. Commun. 2022. V. 13. 3432. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31171-0>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Author information

Балабушевич Надежда Георгиевна — доктор химических наук, старший научный сотрудник, Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: nbalab2008@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8465-0400>

Balabushevich, Nadezhda G. — Doctor of Chemistry Sciences, Senior Researcher, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: nbalab2008@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8465-0400>

Мосиевич Даниил Викторович — аспирант, Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: dankir98@gmail.com

Mosievich, Daniil V. — graduate student, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: dankir98@gmail.com

Мишин Павел Иванович — студент, Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: pmishin2005@gmail.com

Mishin, Pavel I. — student, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: pmishin2005@gmail.com

Филатова Любовь Юрьевна — кандидат химических наук, научный сотрудник, Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация
E-mail: luboff.filatova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3123-1341>

Образцова Екатерина Александровна — кандидат ф.-м. наук, старший научный сотрудник, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Российская Федерация, Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Московская область, Российская Федерация
E-mail: e.a.obraztsova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0086-0970>

Вахрушева Татьяна Валентиновна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Российская Федерация
E-mail: tvvakhrusheva@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-6280-7588>

Панасенко Олег Михайлович — доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий отделом, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Российская Федерация
E-mail: o-panas@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5245-2285>

Михальчик Елена Владимировна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина, Москва, Российская Федерация
E-mail: lemik2007@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6431-125X>

Filatova, Lyubov Yu. — Candidate of Chemical Sciences, Researcher, Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation
E-mail: luboff.filatova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3123-1341>

Obraztsova, Ekaterina A. — Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Senior Researcher, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia; Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT), Dolgoprudny, Moscow, Russian Federation
E-mail: e.a.obraztsova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-0086-0970>

Vakhrusheva, Tatyana V. — Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation
E-mail: tvvakhrusheva@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-6280-7588>

Panasenko, Oleg M. — Doctor of Biological Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Department, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation
E-mail: o-panas@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5245-2285>

Mikhalchik, Elena V. — Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation
E-mail: lemik2007@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6431-125X>

Поступила в редакцию 06.05.2026

После доработки 03.06.2026

Принята к публикации 11.07.2026

Received May 06, 2026

Revised June 03, 2026

Accepted July 11, 2026