
БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 57.012.5 + 57.013 + 57.021 + 57.088.3

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОКОМПЛЕКСОВ КУРКУМИНОИДОВ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ, ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

М. А. КАПУСТИН¹⁾, А. С. ЧУБАРОВА¹⁾, А. Д. ЛОДЫГИН²⁾,
И. В. РЖЕПАКОВСКИЙ²⁾, Н. В. ДУДЧИК³⁾, В. Г. ЦЫГАНКОВ³⁾, В. П. КУРЧЕНКО¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина, 1, 355017, г. Ставрополь, Россия

³⁾Научно-практический центр гигиены, ул. Академическая, 8, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Куркуминоиды обладают широким спектром биологической активности и выраженным терапевтическим потенциалом, но низкой биодоступностью, что ограничивает возможность их применения. В целях повышения растворимости и биодоступности куркуминоидов разработана оригинальная технология получения их наноконплексов с циклодекстринами. В связи с этим оптимизирована методика экстракции, очистки и разделения куркуминоидов методом флеш-хроматографии, проведена идентификация выделенных соединений. Установлены оптимальные значения температуры и концентрации циклодекстринов для формирования наноконплексов куркуминоидов с β -циклодекстрином (КД: β -ЦД) и 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином (КД: ГП- β -ЦД). С использованием методов ИК-спектроскопии и термического анализа показаны изменения спектральных свойств и повышение термостабильности куркуминоидов в наноконплексах: энергия активации термодеструкции куркуминоидов в составе наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД увеличилась с $(57,7 \pm 2,9)$ до $(217,4 \pm 4,1)$ и $(268,6 \pm 9,4)$ кДж/моль соответственно. Установлено, что антиоксидантная активность куркуминоидов в ряду куркумин, бисдеметоксикуркумин, деметоксикуркумин снижается по сравнению с антиоксидантной активностью тролокса в 2,5, 3,2, 4,9 раза соответственно. С использованием теста Эймса определена антимуtagenная активность препаратов куркуминоидов, наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. Отмечено, что применение наноконплексов

Образец цитирования:

Капустин МА, Чубарова АС, Лодыгин АД, Ржепаковский ИВ, Дудчик НВ, Цыганков ВГ, Курченко ВП. Технология получения наноконплексов куркуминоидов с циклодекстринами, исследование их свойств и биологической активности. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2025;1:24–39. EDN: TEKSDO

For citation:

Kapustin MA, Chubarova HS, Lodygin AD, Rzhepakovsky IV, Dudchik NV, Tsygankow VG, Kurchenko VP. Technology for nanocomplexes of curcuminoids with cyclodextrins production, investigation of their properties and biological activity. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2025;1:24–39. Russian. EDN: TEKSDO

Сведения об авторах см. на с. 39

Information about the authors see p. 39

КД: β -ЦД в качестве ранозаживляющего средства на модели лоскутной раны кожи у крыс стимулировало репаративный процесс по пути органотипической регенерации. Методом электроспиннинга получены композитные наноприбриллы на основе пуллулана и препаратов куркуминоидов, наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. Разработанный оригинальный покровный материал может быть использован в качестве ранозаживляющего средства.

Ключевые слова: куркуминоиды; наноконплексы; наноструктуры; циклодекстрины; термостабильность; антиоксидантная активность; антимуутагенная активность; ранозаживление.

TECHNOLOGY FOR NANOCOMPLEXES OF CURCUMINOIDS WITH CYCLODEXTRINS PRODUCTION, INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY

M. A. KAPUSTIN^a, H. S. CHUBAROVA^a, A. D. LODYGIN^b,
I. V. RZHEPAKOVSKY^b, N. V. DUDCHIK^c, V. G. TSYGANKOW^c, V. P. KURCHENKO^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bNorth-Caucasus Federal University, 1 Pushkina Street, Stavropol 355017, Russia

^cScientific and Practical Centre for Hygiene, 8 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: M. A. Kapustin (maximkapustin84@gmail.com)

Abstract. Curcuminoids have a wide range of biological activity and pronounced therapeutic potential, but low bioavailability, which limits the possibility of their use. In order to increase the solubility and bioavailability of curcuminoids, an original technology for obtaining their nanocomplexes with cyclodextrins has been developed. In this regard, the method of extraction, purification and separation of curcuminoids by flash chromatography was optimised, and the isolated compounds were identified. The optimal values of temperature and concentration of cyclodextrins for the formation of nanocomplexes of curcuminoids with β -cyclodextrin (Cur: β -CD) and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Cur: HP- β -CD) were established. Using the methods of IR spectroscopy and thermal analysis, changes in spectral properties and an increase in thermal stability of curcuminoids in nanocomplexes are shown: the activation energy of thermal destruction of curcuminoids in the composition of the Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes increased from (57.7 ± 2.9) to (217.4 ± 4.1) and (268.6 ± 9.4) kJ/mol, respectively. It was found that the antioxidant activity of curcuminoids in the series curcumin, bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin is reduced compared to the antioxidant activity of trolox by 2.5, 3.2, 4.9 times, respectively. Using the Ames test, the antimutagenic activity of preparations of curcuminoids, Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes, was determined. It was noted that the application of the Cur: β -CD nanocomplexes as a wound healing agent in a rat skin flap wound model stimulated the reparative process along the path of organotypic regeneration. Composite nanofibrils based on pullulan and preparations of curcuminoids, Cur: β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes were obtained by electrospinning. The resulting original cover material can be used as wound healing agent.

Keywords: curcuminoids; nanocomplexes; nanostructures; cyclodextrins; thermal stability; antioxidant activity; antimutagenic activity; wound healing.

Введение

В число задач биотехнологии входят получение биологически активных веществ из природного сырья, исследование их структурно-функциональных свойств и разработка способов применения. Перспективным объектом для решения таких задач является корневище куркумы (*Curcuma longa* L.).

Порошок корневища куркумы традиционно используется в повседневном питании в качестве приправы, а также добавляется в состав косметических средств и фитопрепаратов [1, р. 34868; 2, р. 1]. Ключевыми активными компонентами корневища куркумы являются куркуминоиды (КД), которые относятся к классу полифенолов [3, р. 2]. Выделяемый из корневища *C. longa* препарат КД представляет собой смесь трех основных соединений: 75–77 % куркумина (К), 10–20 % деметоксикуркумина (ДМК) и 5–7 % бисдеметоксикуркумина (БДМК) [1, р. 34868; 3, р. 3; 4, р. 1586]. Для КД характерна низкая фото- и термостабильность как в кристаллическом, так и в растворенном состоянии [5, р. 2]. Благодаря широкому спектру биологической активности куркума применяется в традиционной медицине Китая, Индии и других стран для лечения различных заболеваний (диабета, ревматизма, атеросклероза и пр.), инфекций, ожогов, ран и т. д. [1, р. 34873; 6, р. 5751; 7, р. 2; 8, р. 2].

Методами доказательной медицины для КД показана выраженная антиоксидантная активность, которая обусловлена инаktivацией свободных радикалов [6, р. 5751; 9, р. 150; 10, р. 115–116] и индукцией ключевых ферментов антиоксидантной защиты [11, р. 5; 12, р. 3; 13, р. 5]. Согласно литературным данным в ряду К, ДМК, БДМК максимальной антирадикальной активностью обладает К за счет присутствия в структуре молекулы двух метоксифенольных групп. Для ДМК и БДМК характерна более низкая антиоксидантная активность [10, р. 116]. Противовоспалительные свойства компонентов *C. longa* опосредованы влиянием на важнейшие биохимические пути регуляции воспаления в организме человека [14, р. 5–6]. Известно, что КД ингибируют ядерный фактор NF-κB, тем самым снижая экспрессию провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1 и IL-6 [15, р. 1–2; 16, р. 6154; 17, р. 196], а также ферменты, индуцирующие воспалительные процессы, – циклооксигеназы-2 (COX-2) и липоксигеназы (LOX) [14, р. 13; 17, р. 197; 18, р. 2].

Антибактериальное действие КД в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий реализуется за счет повреждения клеточной мембраны бактериальной клетки, индукции окислительного стресса, ингибирования выработки факторов вирулентности и образования биопленки [19, р. 4–9; 20, р. 2; 21, р. 1809; 22, р. 23; 23, р. 6]. Противогрибковые свойства КД установлены в отношении дрожжеподобных [24, р. 145; 25, р. 190] и плесневых [26, р. 1; 27, р. 1] грибов, дерматофитов [28, р. 1; 29, р. 101; 30, р. 1] и ряда других грибов [11, р. 3]. Помимо проявления антибактериальной, противогрибковой, антиоксидантной и противовоспалительной активности, КД способствуют пролиферации клеток и ремоделированию тканей, что делает их перспективным средством для стимуляции заживления ран [13, р. 2; 31, р. 427; 32, р. 2494].

Несмотря на различную биологическую активность, применение КД в пищевых продуктах, биологически активных добавках и фармацевтических композициях ограничено их низкой биодоступностью, обусловленной крайне незначительной растворимостью в воде, химической нестабильностью и быстрой трансформацией в организме [6, р. 5755; 11, р. 6; 17, р. 201; 33, р. 1; 34, р. 2; 35, р. 10714]. Возможным способом повышения биодоступности КД является получение их нанокомплексов с циклодекстринами (ЦД). Включение К, ДМК, БДМК в гидрофобную полость ЦД позволяет увеличить их растворимость и стабильность. Такие нанокомплексы представляют собой новые формы КД, перспективные для использования в пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и медицине [36, р. 1259; 37, р. 1; 38, р. 4; 39, р. 5, 7, 12].

С учетом вышеизложенного целью данного исследования является разработка технологии получения нанокомплексов КД с ЦД, изучение их физико-химических свойств и биологической активности, а также создание на основе полученных нанокомплексов инновационных форм ранозаживляющих средств.

Материалы и методы исследования

Экстракция КД. Препаративное выделение КД из сырья корневища *C. longa* проводили методом экстракции в аппарате Сокслета Behr KEX 500 F (Германия) с использованием 96 % этилового спирта и ацетона. Предварительно из навески порошка корневища куркумы удаляли эфирное масло и липиды с помощью гексана при соотношении сырья и экстрагента 1 : 5 и температуре 70 °C в течение 2 ч. После этого навеску порошка высушивали при 40 °C и экстрагировали на протяжении 5 ч в аппарате Сокслета ацетоном при 60 °C либо 96 % этиловым спиртом при 78 °C до получения насыщенного экстракта. Далее извлечение КД упаривали на ротационном испарителе IKA RV 8 V (*IKA-Werke*, Германия) до минимального объема. Полученный остаток последовательно обрабатывали гексаном и петролейным эфиром для удаления остаточных количеств эфирного масла и липидов. Под действием гексана и петролейного эфира КД образовывали преципитат. Из полученного извлечения петролейным эфиром удаляли эфиромасляной компонент и высушивали препарат под вакуумом.

Хроматографическое разделение КД. Разделение препарата КД на индивидуальные соединения проводили методом колоночной флеш-хроматографии на сорбенте Silica gel 60 Fluka (*Honeywell Research Chemicals*, США) с зернистостью частиц 0,063–0,200 мм. Рабочий объем колонки был равен 170 мл при соотношении ширины и длины 3 : 16. Соотношение разделяемого образца и сорбента составляло 1 : 100. Подвижной фазой являлась смесь хлороформа и метанола в соотношении 99 : 1. Разделение проводилось в изократическом режиме со скоростью 5 мл/мин. Объем отбираемых фракций был равен 10 мл. Для построения хроматографического профиля выполнялось измерение оптической плотности отбираемых фракций на спектрофотометре СФ-103 (научно-производственное объединение «Техноком», Россия) при длине волны 425 нм.

Идентификация выделенных компонентов препарата КД. Идентификацию К, ДМК и БДМК проводили с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Silica gel 60 F254 (*Merck*, Германия); метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографической

системе Agilent 1100/1200 Series (США), оборудованной диодно-матричным детектором, с применением обратно-фазной колонки Zorbax SB-C18 (3,5 мкм; 4,6 × 250 мм) (Agilent Technologies, США) в изократическом режиме (подвижной фазой являлась смесь воды и ацетонитрила в соотношении 54 : 46, содержащая 0,01 об. % уксусной кислоты); метода ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) на хроматографах Agilent-6200 и Agilent-6500, оборудованных масс-селективным детектором Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies), с использованием обратно-фазной колонки Hypersil Gold C18 (1,8 мкм; 2,4 × 100 мм) (Thermo Scientific, США) (в качестве подвижной фазы выступала смесь ацетонитрила и 5 % муравьиной кислоты в соотношении 98 : 2).

Оптимизация технологии получения наноконплексов. Технологию получения наноконплексов оптимизировали с применением метода фазовой растворимости Хигучи – Коннора [40, р. 12]. Для изучения процесса конплексообразования навески КД массой 5 мг помещали в полипропиленовые пробирки объемом 10 мл, в которые вносили равные аликвоты рабочих растворов β-циклодекстрина (β-ЦД) и 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина (ГП-β-ЦД) объемом 5 мл с возрастающей концентрацией ЦД. Концентрация β-ЦД в рабочих растворах изменялась в ряду 0; 0,21; 0,42; 0,85; 1,7; 3,4; 6,4; 8,5; 12,8; 21,3; 42,6 ммоль/л, а концентрация ГП-β-ЦД – в ряду 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 15; 20; 30; 50; 100 ммоль/л. Пробирки укупоривали и инкубировали в термостате при температуре 30; 37 и 50 °С в условиях постоянного перемешивания на орбитальном шейкере со скоростью 300 об/мин в течение 12 ч. По завершении инкубации из пробирок отбирали аликвоты надосадочной фазы объемом 2 мл и фильтровали через тупиковый фильтр с диаметром пор 0,02 мкм. Полученные образцы анализировали методом ВЭЖХ для определения концентрации КД в водной фазе в результате их перехода из кристаллического состояния в раствор в составе наноконплексов. На основании экспериментальных данных строили графики фазовой растворимости КД в зависимости от температуры и концентрации ЦД.

Оригинальная технология получения наноконплексов. Получение наноконплексов КД с ЦД осуществляли комбинированным методом соиспарения и лиофилизации при молярных соотношениях 1 : 2 и 1 : 4. Навески ЦД растворяли в деионизированной воде при температуре 95 °С в течение 10 мин. К растворам β-ЦД или ГП-β-ЦД, охлажденным до 50 °С, при интенсивном перемешивании по каплям прибавляли растворы препарата КД (навеску растворяли в 96 % этиловом спирте либо в ацетоне с последующим добавлением 96 % этилового спирта в соотношении 1 : 2) и инкубировали конечные смеси в темноте в термостате при температуре 50 °С в условиях постоянного перемешивания со скоростью 300 об/мин на протяжении 4 ч. После инкубации постепенно понижали температуру до 4 °С в течение 3 ч. Образовавшийся осадок отфильтровывали, замораживали и лиофильно высушивали при температуре –56 °С и давлении 0,1 атм на протяжении 24 ч.

Получение композитных нановолокон. Электроспиннинг композитных нановолокон проводили на установке для электроформования Yflow® StartUp Electrospinning Machine (Испания) при следующих рабочих параметрах системы: напряжении на инжекторе 20,8 кВ, напряжении на коллекторе 0 кВ. Расстояние между инжектором и коллектором составляло 0,2 м, внутренний диаметр иглы был равен 0,5 мм. Скорость подачи рабочего раствора составляла 2,8 мл/ч. Нановолокна наносились на алюминиевую фольгу толщиной 9 мкм.

Исследование структуры нановолокон. Для анализа структуры нановолокон использовали сканирующий электронный микроскоп JSM-5610LV с системой химического анализа EDX JED-2201 (JEOL, Япония). Рабочее напряжение составляло 20 кВ, увеличение – от ×100 до ×5000.

Термический анализ КД, физических смесей КД и ЦД и наноконплексов КД с ЦД. Исследование проводили с помощью системы TA-4000 (Mettler Toledo, Швейцария) в режиме программированного изменения температуры в диапазоне 25–550 °С со скоростью 5 °С/мин. Время анализа равнялось 110 мин. Масса навески составляла 10,5 мг. Анализ кинетики и расчет энергии активации термодеструкции образцов осуществляли на основе термогравиметрических данных с использованием кинетической модели

Бройдо [41, р. 4]. Для этого выполняли построение графика в системе координат $\frac{10^3}{T}$ (ось Ox ; единицей измерения температуры (T) является кельвин) и $\ln \left(\ln \left(\frac{100}{100 - \Delta m} \right) \right)$ (ось Oy) и по тангенсу угла наклона построенной прямой определяли энергию активации термодеструкции образца по формуле

$$E_a = -\operatorname{tg} \alpha \cdot R,$$

где α – угол наклона прямой; R – универсальная газовая постоянная.

Анализ спектральных свойств наноконплексов. Спектральные свойства наноконплексов КД с ЦД исследовали на ИК-спектрометре IRTracer-100 (Shimadzu, Япония). При определении ИК-спектра образцов в отраженном свете кратность записи спектра для увеличения отношения сигнала к шуму и лучшего разрешения пиков равнялась 64.

Оценка антиоксидантной активности образцов. Анализ антиоксидантных свойств КД и наноконплексов КД с ЦД проводили в модельной системе восстановления радикал-катиона ABTS^{•+}. Генерирование радикал-катионов ABTS^{•+} осуществляли в присутствии персульфата аммония. В качестве стандартного антиоксиданта использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновую кислоту). После добавления к 990 мкл раствора радикал-катионов ABTS^{•+} (оптическая плотность на длине волны 734 нм равна $0,700 \pm 0,050$) 10 мкл раствора анализируемых образцов полученную смесь тщательно перемешивали в течение 10 с и регистрировали оптическую плотность реакционной смеси на длине волны 734 нм с 1-й до 6-й минуты реакции с интервалом 30 с. Образцы КД растворяли в 96 % этиловом спирте, образцы наноконплексов – в деионизированной воде. Антиоксидантную активность КД выражали в процентах ингибирования радикал-катионов ABTS^{•+} (т. е. в процентах уменьшения концентрации свободных радикалов в системе под действием анализируемого соединения) и рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{процент ингибирования} = 100 \left(1 - \frac{A_2}{A_1} \right),$$

где A_1 – оптическая плотность раствора радикал-катионов ABTS^{•+} на длине волны 734 нм без добавления исследуемого образца; A_2 – оптическая плотность раствора радикал-катионов ABTS^{•+} на длине волны 734 нм через 6 мин после добавления исследуемого образца.

Результаты отражали на графике зависимости процента ингибирования от концентрации анализируемого вещества. Для вычисления значений показателя IC₅₀ была построена калибровочная кривая для тролокса как стандартного антиоксиданта. По калибровочной кривой определено уравнение линейной регрессии вида $y = ax + b$, которое использовалось для дальнейших расчетов [42, р. 4].

Оценка антимуtagenной активности образцов. Исследование антимуtagenных свойств препаратов очищенных КД и наноконплексов КД с ЦД проводили в серии опытов *in vitro* с применением одного из вариантов бактериального теста Эймса – планшетного FAT-теста (*high throughput fluctuation Ames test*)¹ [43, р. 49]. Тест-объектами выступали ауксотрофные по гистидину штаммы *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100. Для индукции мутаций сдвига рамки считывания у штамма *S. typhimurium* TA98 в инкубационную смесь вносили 10 мкг 2-нитрофлуорена, для индукции мутаций замены пар оснований у штамма *S. typhimurium* TA100 – 10 мкг азида натрия. Увеличение количества ревертантов в этом тесте указывает на то, что анализируемое соединение индуцирует генные мутации. При внесении в среду инкубации штаммов *S. typhimurium* стандартных мутагенов и исследуемых образцов наличие антимуtagenного эффекта используемых препаратов определялось по снижению частоты обратных мутаций, индуцированных стандартными мутагенами [43, р. 52]. При приготовлении образцов для анализа препарат КД растворяли в 96 % этиловом спирте, а наноконплексы КД с ЦД – в стерильной деионизированной воде. При приготовлении растворов наноконплексов их содержание было стандартизовано по КД и составляло 500 мкг/мл. Исследования проводили с применением препаратов КД и наноконплексов, конечная концентрация которых в тест-системах в пересчете на КД составляла 1,7 и 8,3 мг/л. В качестве отрицательных контролей использовали 96 % этиловый спирт и стерильную деионизированную воду. Визуальный учет результатов осуществляли через 72–120 ч, регистрируя число положительных лунок, цвет раствора в которых изменился с фиолетового на желтый.

Оценка ранозаживляющей активности наноконплексов. Исследования ранозаживляющего действия наноконплексов КД: β-ЦД проводились на половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250–270 г. Манипуляции с животными выполнялись строго в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [44].

Раневой процесс при соблюдении условий асептики и антисептики воспроизводили у крыс на фоне наркоза препаратом «Золетил-100» (*Virbac*, Франция) в дозировке 10 мг на 1 кг массы тела животного. Рана площадью 320 мм² наносилась по шаблону на дорсальной поверхности спины в лопаточной области в проекции шейно-грудного отдела позвоночника на предварительно выбритом участке кожи методом иссечения полнослойного кожного лоскута до подлежащей фасции с помощью скальпеля [45].

После моделирования ран крысы случайным образом были разделены на четыре группы по шесть животных в каждой. Первая группа животных выступала отрицательным контролем со спонтанным заживлением ран без применения каких-либо средств. Вторая группа животных являлась положительным контролем с обработкой ран широко используемым ранозаживляющим препаратом «Банеоцин» (*Sandoz*, Австрия). Третьей (опытной) группе животных на область раневого дефекта наносился порошок β-ЦД, а четвертой группе животных – порошок препарата наноконплексов КД: β-ЦД в соотношении 1 : 2. Все средства в форме порошков использовались через 2 ч после моделирования раны и в последующие

¹ГОСТ ISO 10993-3-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 3. Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию. Введ. 01.01.2013. М. : Стандартинформ, 2013. С. 8.

7 дней до образования струпа. Порошки в количестве 25 мг/см^2 наносились один раз в сутки на область раневого дефекта, предварительно орошенную 0,5 мл физиологического раствора для лучшей адгезии. Раны животных группы отрицательного контроля орошались только физиологическим раствором. В целях предотвращения слизывания препаратов другими животными после нанесения порошков крысы на 1 ч помещались в индивидуальные домики.

Для определения эффективности средства, стимулирующего репаративные процессы в ране, проводилась сравнительная морфологическая оценка заживления раневого дефекта. Образцы тканей для морфологического исследования отбирались из пограничной области раневого повреждения после эвтаназии животных диэтиловым эфиром на 21-й день эксперимента. При приготовлении образцов для гистологического исследования лоскуты кожи вырезали с захватом пораженного и здорового участков, материал фиксировали в 10 % формалине на протяжении 48 ч и заключали в блоки из медицинского парафина Histomix (*Bio Vitrum*, Россия) по общепринятой методике [46]. Гистологические срезы толщиной 7 мкм производили на санном микротоме MC-2 (ООО «АТМ-практика», Россия) и окрашивали гематоксилином и эозином (ООО «Диаэм», Россия). Анализ микропрепаратов кожи осуществляли с использованием лабораторного микроскопа исследовательского класса Axio Imager 2 (A2) (*Carl Zeiss Microscopy*, Германия) при увеличении $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$. Ход репаративного процесса оценивали по качественным характеристикам: степени деструкции клеток в месте воспаления, ростовой активности эпидермиса, направлению эластических и коллагеновых волокон, наличию и локализации клеток белой крови, фибробластов и других клеток соединительной ткани, выраженности ангиогенеза. Результаты документировали микроснимками, полученными с помощью специализированной фотокамеры AxioCam MRC 5 (*Carl Zeiss Microscopy*) и программного обеспечения Zena 2012 Pro (*Carl Zeiss Microscopy*).

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе *Microsoft Excel 2019*. Расчеты выполнялись в трех повторностях с учетом стандартного отклонения и подвергались статистическому анализу с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между средними значениями считались статистически достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Выделение КД и исследование их структурно-функциональных свойств. Для получения наноккомплексов КД с ЦД была оптимизирована методика экстракции КД из корневища куркумы и их последующей очистки. Для оценки эффективности экстракции КД применен модифицированный метод ВЭЖХ-анализа, который основывается на различиях значений коэффициента липофильности $\log K_{o/w}$ разделяемых соединений, убывающего в ряду К, ДМК, БДМК (3,29, 2,792, 2,649 соответственно), и позволяет идентифицировать К, ДМК, БДМК и определять их содержание в экстрактах.

Для получения экстрактов КД из корневища куркумы использованы органические растворители с разной полярностью. Показано, что эффективность экстракции КД снижается в ряду метанол, ацетон, этанол, хлороформ, гексан. В табл. 1 приведено содержание индивидуальных соединений препарата КД в полученных экстрактах.

Таблица 1

Содержание К, ДМК и БДМК в экстрактах,
полученных с использованием различных органических растворителей

Table 1

Contents of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin
in extracts obtained using various organic solvents

Экстрагент	Содержание, мг/л			Общее содержание КД, мг/л
	К	ДМК	БДМК	
Метанол	$1535,6 \pm 34,4$	$1136,6 \pm 26,3$	$517,8 \pm 12,0$	$3190,0 \pm 72,7$
Ацетон	$1467,2 \pm 5,3$	$1061,3 \pm 4,9$	$463,9 \pm 1,8$	$2992,5 \pm 11,9$
Этанол (96 %)	$1376,6 \pm 26,0$	$1006,9 \pm 19,2$	$448,8 \pm 9,3$	$2832,3 \pm 54,6$
Хлороформ	$1354,0 \pm 2,0$	$947,0 \pm 1,5$	$360,4 \pm 3,2$	$2661,9 \pm 2,7$
Гексан	$2,40 \pm 0,01$	$3,40 \pm 0,03$	$0,218 \pm 0,012$	$6,00 \pm 0,03$

В пищевом и фармацевтическом производстве оптимальным экстрагентом для получения КД является этанол. Выход КД при экстракции этанолом составляет 81 % от общего содержания КД в корневище куркумы (3,5 %). По результатам ВЭЖХ-анализа чистота полученного препарата КД составляет не менее 98 %.

Для сравнительной оценки биологической активности индивидуальных соединений препарата КД с применением флеш-хроматографии были получены К, ДМК и БДМК и проведены исследования их антиоксидантных свойств. Показано, что высокая чистота препаратов К, ДМК и БДМК достигается при использовании в качестве подвижной фазы смеси хлороформа и метанола в соотношении 99 : 1. При препаративном разделении 1 г КД было получено 530 мг К, 165 мг ДМК и 240 мг БДМК.

Идентификацию полученных препаратов и определение их чистоты проводили с помощью хроматографов, оборудованных диодно-матричным и масс-селективным детекторами. Аутентичность соединений также была подтверждена спектральными характеристиками индивидуальных веществ, полученных в процессе ВЭЖХ-анализа. По результатам масс-спектрометрии идентифицированы основные ионы типа $(M + H)^+$, образующиеся при ионизации молекул в образцах исследуемых соединений: в образце К – ион с отношением массы к заряду (m/z), равным 369,132, что отвечает молекуле с массой 368,1245 и брутто-формулой $C_{21}H_{20}O_6$; в образце ДМК – ион с m/z , составляющим 339,1216, что соответствует молекуле с массой 338,1136 и брутто-формулой $C_{20}H_{18}O_5$; в образце БДМК – ион с m/z , равным 309,1113, что характерно для молекулы с массой 308,1043 и брутто-формулой $C_{19}H_{16}O_4$. По базе данных NIST (версия 10.0) идентифицированные ионы соответствуют К (№ CAS: 458-37-7), ДМК (№ CAS: 22608-11-3) и БДМК (№ CAS: 33171-05-0).

В ходе исследования биологической активности КД были определены их антиоксидантные и анти-мутагенные свойства, важные для практического использования в качестве ранозаживляющих средств.

Оценка антиоксидантной активности в отношении радикал-катионов $ABTS^{\bullet+}$ показала, что значения параметра IC_{50} для КД, К, ДМК и БДМК составили $(24,45 \pm 0,41)$; $(30,19 \pm 0,94)$; $(58,41 \pm 3,17)$ и $(37,97 \pm 0,12)$ мкмоль/л соответственно. Величины показателя IC_{50} в ряду К, БДМК, ДМК снижаются по сравнению с таковыми тролокса в 2,5, 3,2, 4,9 раза соответственно. Антиоксидантная активность индивидуальных соединений препарата КД в отношении радикал-катионов $ABTS^{\bullet+}$ зависит от наличия в их структуре сопряженных двойных связей — $C=C$ —, количества метокси- и гидроксигрупп в ароматических кольцах.

В ходе исследования антимуtagenной активности КД с использованием теста Эймса отмечено, что препарат КД в концентрации 8,3 мг/л снижал уровень индуцированного 2-нитрофлуореном мутагенеза в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA98 на 50 %. Кроме того, антимуtagenный эффект препарата КД в концентрации 8,3 мг/л проявлялся в снижении частоты индуцированных азидом натрия мутаций в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA100 более чем в 6,8 раза – до уровня, сопоставимого со спонтанным мутагенезом. Таким образом, препарат КД более эффективно предотвращает мутации замены пар оснований в клетках штамма *S. typhimurium* TA100, чем мутации сдвига рамки считывания в клетках штамма *S. typhimurium* TA98.

Получение нанокомплексов КД с ЦД, исследование их физико-химических свойств и биологической активности. Процесс образования нанокомплексов КД с ЦД исследовался с применением метода фазовой растворимости, основанного на переходе вещества из кристаллического состояния в раствор при взаимодействии с ЦД [40]. К водной суспензии кристаллов КД добавлялся β -ЦД в конечной концентрации 0; 0,21; 0,42; 0,85; 1,7; 3,4; 6,4; 8,5; 12,8; 21,3; 42,6 ммоль/л. Аналогичные опыты проводились с добавлением ГП- β -ЦД, конечная концентрация которого составляла 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 15; 20; 30; 50; 100 ммоль/л. При указанных концентрациях β -ЦД и ГП- β -ЦД анализировалось влияние различных температур на процесс образования нанокомплексов. Включение КД в состав нанокомплексов определялось путем измерения их концентрации в водной фазе методом ВЭЖХ. В табл. 2 представлены результаты, полученные при концентрации β -ЦД 12,8 и 21,3 ммоль/л, концентрации ГП- β -ЦД 100 ммоль/л и температуре 30; 37 и 50 °С. Установлено, что процесс формирования нанокомплексов КД с ЦД зависит от концентрации β -ЦД, ГП- β -ЦД и температуры.

Таблица 2

Растворимость КД в воде в присутствии β -ЦД
и ГП- β -ЦД в зависимости от температуры

Table 2

Water solubility of curcuminoids (Cur) in the presence of β -cyclodextrin (β -CD)
and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) depending on temperature

Тип ЦД	Концентрация ЦД, ммоль/л	Температура, °С	Растворимость суммарного препарата КД, мг/л	Соотношение КД (в свободном состоянии и в составе нанокомплексов) в растворе, %		
				К	ДМК	БДМК
Контроль (без ЦД)	0	30	0,105 ± 0,002	11,58 ± 0,72	23,50 ± 1,96	64,92 ± 1,24
		37	0,205 ± 0,007	9,53 ± 0,20	21,60 ± 1,50	68,87 ± 2,20
		50	0,354 ± 0,017	6,82 ± 0,60	22,92 ± 2,90	70,26 ± 2,30

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Тип ЦД	Концентрация ЦД, ммоль/л	Температура, °С	Растворимость суммарного препарата КД, мг/л	Соотношение КД (в свободном состоянии и в составе наноконплексов) в растворе, %		
				К	ДМК	БДМК
β-ЦД	12,8	30	23,74 ± 0,25	2,81 ± 0,08	18,33 ± 0,37	78,86 ± 0,36
		37	30,92 ± 0,35	3,54 ± 0,13	18,62 ± 0,66	77,86 ± 0,67
		50	29,03 ± 1,05	2,94 ± 0,40	17,43 ± 0,63	79,63 ± 0,14
	21,3	30	23,702 ± 0,230	3,06 ± 0,09	15,35 ± 0,46	81,59 ± 0,39
		37	34,98 ± 0,30	3,02 ± 0,05	16,42 ± 0,20	80,56 ± 0,39
		50	28,13 ± 1,26	3,44 ± 0,15	17,17 ± 1,00	79,39 ± 0,10
ГП-β-ЦД	100	30	390,12 ± 2,39	35,10 ± 0,18	30,43 ± 0,13	34,47 ± 0,15
		37	446,41 ± 3,09	38,30 ± 0,17	31,41 ± 0,16	30,29 ± 0,24
		50	532,25 ± 2,90	41,08 ± 0,09	32,36 ± 0,09	26,56 ± 0,06

Внесение различных концентраций β-ЦД в среду, содержащую кристаллический препарат КД, увеличивает переход его компонентов в водную фазу, который достигает максимальных значений с выходом на плато при концентрациях 12,8 и 21,3 ммоль/л. В сравнении с контролем при концентрации β-ЦД 12,8 ммоль/л растворимость КД возрастает в 82–226 раз. Максимальное содержание КД в составе наноконплексов достигается в водной фазе при концентрации β-ЦД 21,3 ммоль/л и температуре 37 °С. Содержание КД в полученных наноконплексах убывает в ряду БДМК, ДМК, К, составляя 80,56; 16,42; 3,02 % соответственно.

Исследование динамики фазового перехода КД при конплексообразовании с ГП-β-ЦД показало, что в сравнении с контролем растворимость КД возрастает в 1504–3715 раз в зависимости от температуры. Максимальный переход КД из кристаллического состояния в состав водорастворимых наноконплексов наблюдается при температуре 50 °С. Содержание КД в полученных наноконплексах возрастает в ряду БДМК, ДМК, К, составляя 26,56; 32,36; 41,08 % соответственно.

По результатам исследования фазовой растворимости КД разработана технология получения наноконплексов КД с ЦД. В ее основе лежит смешивание насыщенных растворов КД в 96 % этиловом спирте и раствора ЦД в деионизированной воде при температуре 50 °С, а также инкубация в течение 4 ч, в ходе которой испаряется часть органического растворителя и воды и происходит концентрирование смеси, что приводит к интенсификации процесса образования наноконплексов. Последующее постепенное понижение температуры до 4 °С способствует стабилизации КД в полости ЦД и выпадению осадка наноконплексов КД:β-ЦД или КД:ГП-β-ЦД, который отделяют фильтрацией и лиофилизируют. Этап лиофилизации способствует удалению остаточной влаги из полости ЦД и более прочной интеграции КД в торическую полость ЦД. Наноконплексы получали при молярных соотношениях КД:ЦД = 1 : 2 и КД:ЦД = 1 : 4. В качестве образца сравнения использовали физические смеси КД и ЦД с такими же молярными соотношениями. Растворимость в воде КД, физических смесей КД и β-ЦД и наноконплексов КД:β-ЦД представлена в табл. 3. Содержание КД в полученных растворах образцов определяли методом ВЭЖХ.

Таблица 3

Растворимость КД, физических смесей КД и β-ЦД и наноконплексов КД:β-ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 в воде при температуре 30 °С, мг/л

Table 3

Solubility of Cur, physical mixtures of Cur and β-CD and Cur:β-CD nanocomplexes in ratios of 1 : 2 and 1 : 4 in water at a temperature of 30 °C, mg/L

Определяемый компонент	Суммарный препарат КД (контроль)	Физические смеси КД и β-ЦД		Наноконплексы КД:β-ЦД	
		КД:β-ЦД = 1 : 2	КД:β-ЦД = 1 : 4	КД:β-ЦД = 1 : 2	КД:β-ЦД = 1 : 4
Сумма КД	0,105 ± 0,002	4,42 ± 0,01*	4,53 ± 0,03*	8,36 ± 0,04*	8,85 ± 0,05*
К	0,013 ± 0,001	0,46 ± 0,01	0,52 ± 0,01	1,83 ± 0,02	1,08 ± 0,01
ДМК	0,023 ± 0,002	1,18 ± 0,02	1,09 ± 0,03	3,17 ± 0,01	2,85 ± 0,03
БДМК	0,069 ± 0,001	2,78 ± 0,02	2,93 ± 0,02	3,37 ± 0,01	4,92 ± 0,02

*Достоверные различия по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

По сравнению с контролем растворимость КД в составе физических смесей увеличилась в 42 раза. Это связано с переходом β -ЦД и КД в растворенное состояние и спонтанным образованием межмолекулярных комплексов. Растворимость КД в составе полученных по разработанной технологии наноконкомплексов КД: β -ЦД возросла в 1,9 раза по сравнению с их растворимостью в составе физических смесей и в 80 раз по сравнению с контролем.

Для повышения эффективности включения КД в состав наноконкомплексов и увеличения их водорастворимости был использован ГП- β -ЦД. Растворимость в воде КД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД и наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД представлена в табл. 4.

Таблица 4

Растворимость КД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД и наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 в воде при температуре 30 °С, мг/л

Table 4

Solubility of Cur, physical mixtures of Cur and HP- β -CD and Cur: HP- β -CD nanocomplexes in ratios of 1 : 2 and 1 : 4 in water at a temperature of 30 °C, mg/L

Определяемый компонент	Суммарный препарат КД (контроль)	Физические смеси КД и ГП- β -ЦД		Наноконкомплекс КД: ГП- β -ЦД	
		КД: ГП- β -ЦД = 1 : 2	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 4	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 2	КД: ГП- β -ЦД = 1 : 4
Сумма КД	0,105 ± 0,002	38,40 ± 0,05*	37,69 ± 0,08*	25,79 ± 0,08*	91,35 ± 0,24*
К	0,013 ± 0,001	3,47 ± 0,02	4,07 ± 0,03	5,08 ± 0,02	14,98 ± 0,13
ДМК	0,023 ± 0,002	6,89 ± 0,01	7,36 ± 0,03	9,35 ± 0,03	33,44 ± 0,07
БДМК	0,069 ± 0,001	28,05 ± 0,03	26,25 ± 0,05	11,36 ± 0,05	42,93 ± 0,05

*Достоверные различия по отношению к контролю при $p \leq 0,05$.

По сравнению с контролем растворимость физических смесей КД и ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 увеличилась в 366 и 359 раз соответственно. Это обусловлено спонтанным образованием наноконкомплексов при взаимодействии ГП- β -ЦД и КД. Растворимость полученных по разработанной технологии наноконкомплексов КД: ГП- β -ЦД в соотношениях 1 : 2 и 1 : 4 возросла в 246 и 870 раз соответственно по сравнению с контролем. При этом соотношение КД в водной фазе в составе наноконкомплексов с ГП- β -ЦД убывает в ряду БДМК, ДМК, К.

Таким образом, разработанная технология позволяет получить наноконкомплексы КД с ЦД и значительно увеличить растворимость КД в воде.

Для подтверждения образования наноконкомплексов КД с ЦД исследованы их физико-химические свойства с использованием ИК-спектроскопии и термогравиметрии.

Методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье установлены изменения спектральных свойств наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД по сравнению с контрольными образцами. Для β -ЦД и ГП- β -ЦД характерно наличие полос поглощения излучения с частотами 3315; 2925; 1643; 1151; 1020 см^{-1} . Для КД характерные полосы поглощения наблюдаются при частотах 3509; 3285; 1627; 1502; 1429 см^{-1} . Как для физических смесей КД и β -ЦД, так и для физических смесей КД и ГП- β -ЦД выявлено снижение интенсивности поглощения ИК-излучения с частотой 3509 см^{-1} , присутствующего в ИК-спектре нативного препарата КД, а для наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД – полное исчезновение пика в данной области спектра. Для наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД отмечены изменения интенсивности поглощения ИК-излучения и формы пиков в диапазоне частот 1625–1100 см^{-1} , а также снижение интенсивности поглощения излучения с частотой 1429 см^{-1} . Указанные изменения обусловлены перестройкой межмолекулярных водородных связей при образовании наноконкомплексов КД с ЦД. При этом полосы поглощения соответствующих функциональных групп смещаются в низкочастотную область.

В результате термогравиметрического анализа β -ЦД, ГП- β -ЦД, КД, физических смесей КД и β -ЦД, физических смесей КД и ГП- β -ЦД, наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД для каждого образца определены стадии термического разложения в условиях программируемого нагрева от 25 до 550 °С. Установлено, что ГП- β -ЦД более термостабилен, чем β -ЦД. Для препарата КД наблюдается многостадийный процесс окислительной термодеструкции в пределах 140–550 °С. Отмечено, что препарат КД стабилизируется в составе наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. В табл. 5 представлены значения энергии активации термодеструкции (E_a) образцов, рассчитанные по методу Бройдо.

Установлено, что значения E_a наноконкомплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД превышают значения E_a нативного препарата КД в 3,77 и 4,66 раза соответственно. Значения E_a физической смеси КД и β -ЦД

и физической смеси КД и ГП-β-ЦД превосходят значения E_a нативного препарата КД в 3,42 и 3,99 раза соответственно. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в результате комплексообразования КД с ЦД повышается термическая стабильность КД в составе наноконплексов.

Таблица 5

Значения энергии активации термодеструкции КД, ЦД,
физических смесей КД и ЦД и наноконплексов КД с ЦД

Table 5

Values of activation energy of thermal destruction of Cur, CD,
physical mixtures of Cur and CD and nanocomplexes of Cur with CD

Наименование образца	E_a , кДж/моль
КД	$57,7 \pm 2,9$
β-ЦД	$382,9 \pm 8,3$
Физическая смесь КД и β-ЦД (1 : 2)	$197,7 \pm 3,2$
Наноконплекс КД:β-ЦД (1 : 2)	$217,4 \pm 4,1$
ГП-β-ЦД	$302,2 \pm 5,2$
Физическая смесь КД и ГП-β-ЦД (1 : 2)	$230,7 \pm 6,5$
Наноконплекс КД:ГП-β-ЦД (1 : 2)	$268,6 \pm 9,4$

Для разработки способов применения полученных наноконплексов КД с ЦД проанализирована их биологическая активность. В ходе ее определения исследованы антиоксидантные и антимурагенные свойства и дана токсикологическая-гигиеническая оценка наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД.

Отмечено, что антиоксидантная активность наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в отношении радикал-катионов ABTS^{•+} различается. Показана линейная зависимость степени тушения радикал-катионов ABTS^{•+} от концентрации наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в диапазоне 10–100 мг/л. Значения показателя IC₅₀ наноконплекса КД:β-ЦД в соотношении 1 : 2 составили ($1,076 \pm 0,040$) г/л, а значения показателя IC₅₀ наноконплекса КД:ГП-β-ЦД в соотношении 1 : 2 были равны ($0,161 \pm 0,006$) г/л. По величине показателя IC₅₀ антиоксидантная активность наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД меньше антиоксидантной активности тролокса в 359,0 и 53,7 раза соответственно. Значения показателя IC₅₀ препарата КД в пересчете на его содержание в составе наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД составили ($396,6 \pm 14,2$) и ($50,7 \pm 1,5$) мкмоль/л. Полученные данные свидетельствуют о снижении антиоксидантной активности препарата КД в составе наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в 16,2 и 2,1 раза соответственно. Это обусловлено экранированием ЦД функциональных групп КД в составе наноконплексов.

Исследование антимурагенной активности с использованием теста Эймса позволило установить, что в тест-системе штамма *S. typhimurium* TA98 препараты наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в концентрации, эквивалентной 8,3 мг/л КД, снижают уровень индуцированного 2-нитрофлуореном мутагенеза на 25,8 и 8,3 % соответственно. В тест-системе штамма *S. typhimurium* TA100 препараты наноконплексов КД:β-ЦД и КД:ГП-β-ЦД в концентрации, эквивалентной 8,3 мг/л КД, способствуют снижению уровня индуцированного азидом натрия мутагенеза на 25,0 и 16,7 % соответственно. Указанные результаты обуславливаются экранированием ЦД функциональных групп КД в составе наноконплексов и согласуются с результатами изменения антиоксидантной активности.

Для практического использования полученных наноконплексов КД с ЦД важной задачей являлось проведение их токсикологическая-гигиенической оценки в модельных системах протистов и на лабораторных позвоночных животных в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Эти исследования были выполнены ранее, их результаты опубликованы в работе [47].

Благодаря низкой токсичности, антиоксидантным и генопротекторным свойствам наноконплексы КД:β-ЦД могут быть использованы в качестве ранозаживляющего средства. В модели лоскутной раны кожи к 21-му дню эксперимента у животных группы отрицательного контроля (без лечения) в центре повреждения сохраняется глубокий раневой дефект с выраженным альтеративным компонентом воспаления и наличием гнойного экссудата (рис. 1, а). Применение антибактериального препарата местного действия «Банеоцин» в качестве положительного контроля лечения лоскутной раны кожи способствует ликвидации

раневого дефекта по тканетипическому типу с образованием рубца. Как видно из рис. 1, б, происходит восстановление тканей, формирующих кожу как орган, в трансформированном виде. При использовании препарата β -ЦД также отмечается заживление раневого дефекта по тканетипическому типу (рис. 1, в). При этом наблюдается картина незавершенной тканетипической регенерации кожи и формирование рубцовой ткани на фоне сохранения признаков воспалительного процесса. Как свидетельствуют полученные результаты (рис. 1, г), применение препарата наноконплексов КД: β -ЦД приводит к органотипической регенерации кожи без признаков воспалительного процесса. В данном случае отмечаются признаки безрубцового заживления, т. е. процесса регенерации, благодаря которому восстанавливается первоначальное строение кожи.

Таким образом, препарат наноконплексов КД: β -ЦД может применяться в качестве перспективного ранозаживляющего средства, обеспечивающего безрубцовую регенерацию глубоких повреждений кожи.

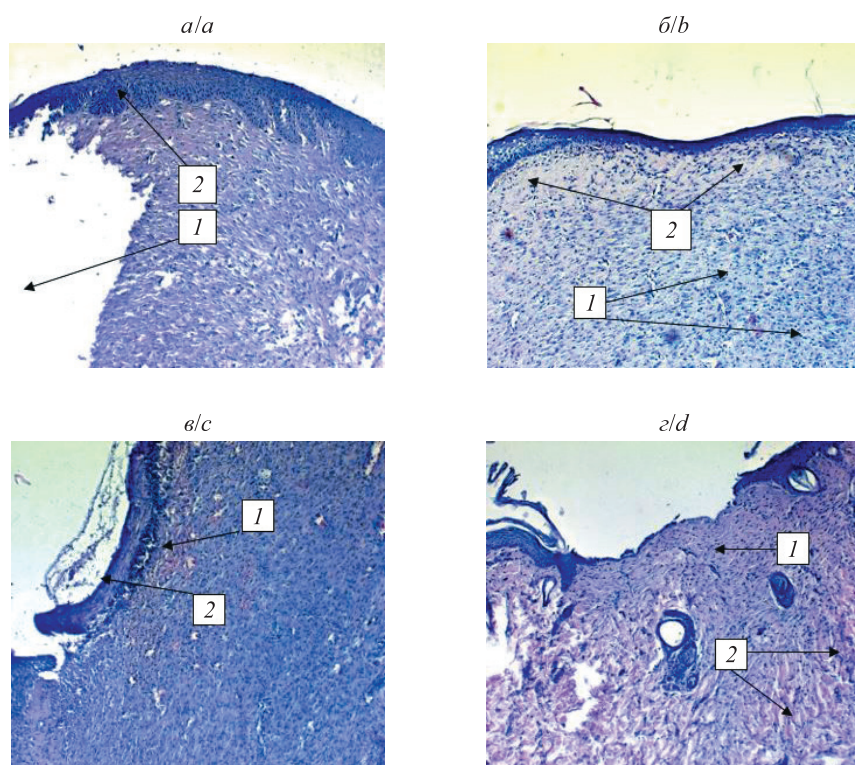


Рис. 1. Результаты гистологического исследования эпидермиса и дермы образцов кожи на 21-й день течения раневого процесса в модели лоскутной раны у крыс линии Wistar: а – без лечения (отрицательный контроль) (1 – наличие глубокого дефекта, 2 – гиперплазия эпителиального слоя по периферии регенерата); б – при применении препарата «Банеоцин» (положительный контроль) (1 – обширный полиморфно-клеточный пул клеток, 2 – очаговая гиалинизация зрелой рубцовой ткани); в – при использовании препарата β -ЦД (1 – гиперемия сосудов микроциркуляторного русла, 2 – скопление лейкоцитов под деструктурированным струпом); г – при применении препарата наноконплексов КД: β -ЦД (1 – фибробластная пролиферация, 2 – мощные и рыхлые волокна соединительной ткани беспорядочно ориентированы с просветами, заполненными достаточным количеством межклеточного вещества).
Изображения получены при окрашивании гематоксилином и эозином и увеличении $\times 100$

Fig. 1. Results of a histological study of the epidermis and dermis of skin samples on the 21st day of the course of the wound process on a patchwork wound model in Wistar rats: а – without treatment (negative control) (1 – the presence of a deep defect, 2 – hyperplasia of the epithelial layer along the periphery of the regenerate); б – with the use of the drug «Baneocin» (positive control) (1 – extensive polymorphic cell pool of cells, 2 – focal hyalinisation of mature scar tissue); в – with the use of the drug of β -CD (1 – hyperemia of microcirculatory vessels, 2 – accumulation of leukocytes under a destructured scab); г – with the use of the drug of Cur: β -CD nanocomplexes (1 – fibroblast proliferation, 2 – powerful and loose connective tissue fibers are randomly oriented with gaps filled with a sufficient amount of intercellular substance).
Images were obtained using hematoxylin and eosin staining and magnification $\times 100$

Для заживления лоскутных ран кожи был использован порошок наноконплексов КД: β -ЦД, показавший высокую эффективность. Однако более практичным является покровный материал из нановолокон (скаффолдов) с включенными в их структуру наноконплексами КД: β -ЦД. Применение технологии электроспиннинга позволило получить нановолокна на основе пуллулана с включением в их структуру КД, наноконплексов КД: β -ЦД и КД: ГП- β -ЦД. При электроспиннинге добавление к раствору пуллулана β -ЦД и ГП- β -ЦД сопровождалось их включением в структуру нитей и не приводило к формированию выраженных агрегатов на поверхности нановолокон. Микроструктура образующихся фибрилл мало отличалась от микроструктуры фибрилл из чистого пуллулана (рис. 2, а–е).

В случае электроспиннинга композитных скаффолдов на основе пуллулана и наноконплексов КД: β -ЦД происходило равномерное включение в структуру нановолокон агрегатов наноструктур (рис. 2, з). При электроформовании раствора пуллулана и наноконплексов КД: ГП- β -ЦД образовывалась однородная структура фибрилл без видимых агрегатов на поверхности (рис. 2, д). Добавление к раствору пуллулана КД приводило к формированию гетерогенной структуры композитного скаффолда, при этом агрегаты частиц КД располагались гетерогенно на поверхности нановолокон, а также в порах образующегося нетканого материала (рис. 2, е).

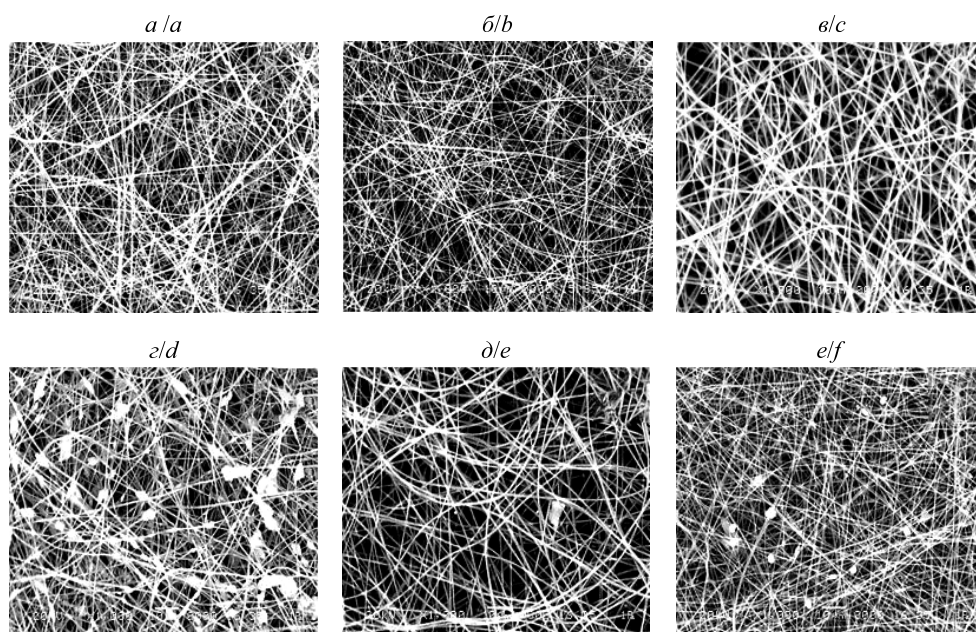


Рис. 2. Фотографии композитных 3D-скаффолдов на основе пуллулана, полученные методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении $\times 100$:

- а – пуллулан; б – композит пуллулана с β -ЦД в соотношении 3 : 1;
- в – композит пуллулана с ГП- β -ЦД в соотношении 3 : 1;
- з – композит пуллулана с наноконплексами КД: β -ЦД в соотношении 3 : 1;
- д – композит пуллулана с наноконплексами КД: ГП- β -ЦД в соотношении 3 : 1;
- е – композит пуллулана с КД в соотношении 3 : 1

Fig. 2. Photographs of pullulan-based composite 3D scaffolds obtained by scanning electron microscopy at a magnification $\times 100$:

- a – pullulan; b – composite of pullulan with β -CD in a ratio of 3 : 1;
- c – composite of pullulan with HP- β -CD in a ratio of 3 : 1;
- d – composite of pullulan with Cur: β -CD nanocomplexes in a ratio of 3 : 1;
- e – composite of pullulan with Cur: HP- β -CD nanocomplexes in a ratio of 3 : 1;
- f – composite of pullulan with Cur in a ratio of 3 : 1

Инновационный подход, примененный при получении ранозаживляющих скаффолдов на основе пуллулана, состоит во включении в структуру нановолокон наноконплексов КД: β -ЦД, показавших высокую эффективность при заживлении лоскутных ран кожи.

На рис. 3 приведены электронные микрофотографии скаффолда на основе пуллулана и наноконплексов КД: β -ЦД, полученные при увеличении от $\times 100$ до $\times 5000$.

На рис. 4 представлена электронная микрофотография скаффолда на основе пуллулана и наноконплексов КД: β -ЦД, полученная при увеличении $\times 64\,000$. Диаметр образующихся нановолокон находится в диапазоне 60–150 нм.

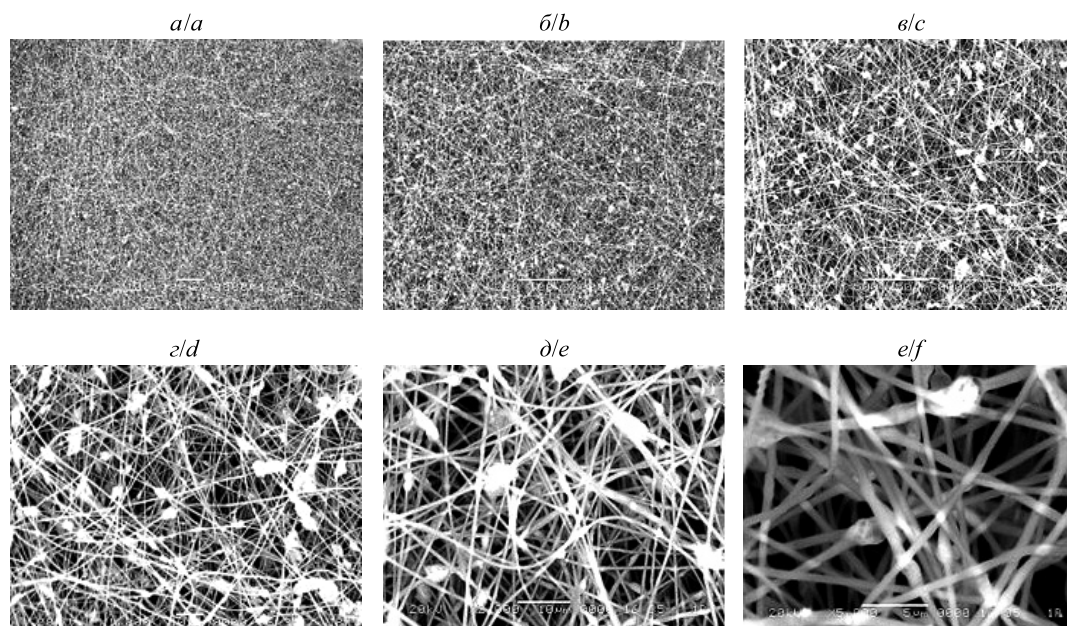


Рис. 3. Фотографии композитных 3D-скаффолдов на основе пуллулана и нанокомплексов КД:β-ЦД, полученные методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении $\times 100$ (а), $\times 200$ (б), $\times 500$ (в), $\times 1000$ (г), $\times 2000$ (д), $\times 5000$ (е)

Fig. 3. Photographs of composite 3D scaffolds based on pullulan and Cur:β-CD nanocomplexes obtained by scanning electron microscopy at a magnification $\times 100$ (a), $\times 200$ (b), $\times 500$ (c), $\times 1000$ (d), $\times 2000$ (e), $\times 5000$ (f)

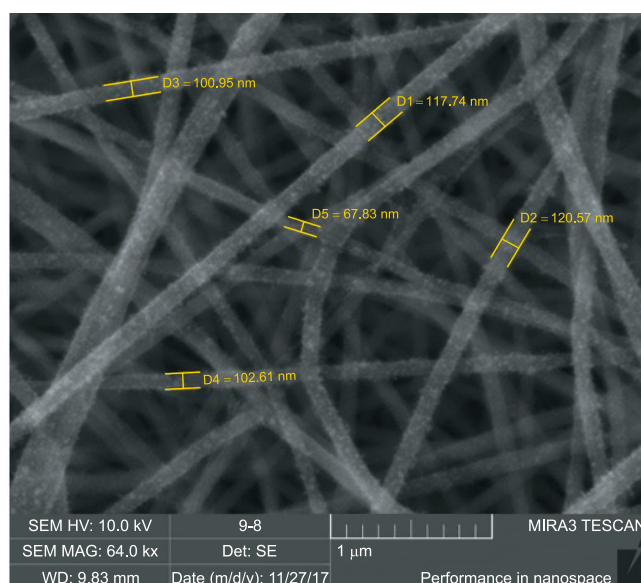


Рис. 4. Электронная микрофотография нановолокон композита пуллулана с нанокомплексами КД:β-ЦД (увеличение $\times 64\,000$)

Fig. 4. Electron micrograph of nanofibers of pullulan composite with Cur:β-CD nanocomplexes (magnification $\times 64\,000$)

На рис. 5 приведены результаты сканирующей электронной микроскопии скаффолдов пуллулана, его композитов с нанокомплексами КД:β-ЦД и внешний вид полученного покровного материала. Формирование композитных скаффолдов пуллулана сопровождается включением в структуру нитей нанокомплексов КД:β-ЦД с образованием на поверхности нановолокон крупных агрегатов диаметром 500–600 нм (см. рис. 5, б). Полученный покровный материал на основе пуллулана и нанокомплексов КД:β-ЦД имеет желтый цвет и шероховатую поверхность (см. рис. 5, в).

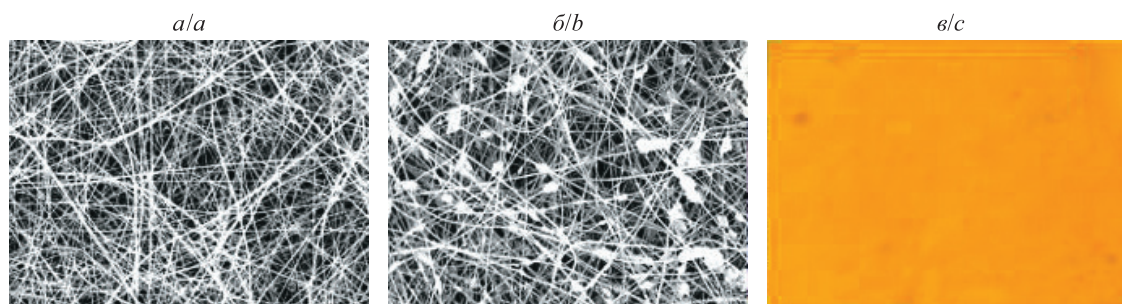


Рис. 5. Электронные микрофотографии (увеличение $\times 1000$) нановолокон пуллулана (а) и его композита с наноконplexами КД: β -ЦД (б), внешний вид полученного покровного материала (в)

Fig. 5. Electronic micrographs (magnification $\times 1000$) of nanofibers of pullulan (a) and its composite with Cur: β -CD nanocomplexes (b), the appearance of the resulting coating material (c)

Таким образом, использование технологии электроспиннинга позволило получить композитные нановолокна пуллулана с включением в их структуру наноконplexов КД: β -ЦД. Разработанный покровный материал может применяться в качестве ранозаживляющего средства.

Заключение

Для разработки ранозаживляющих средств с использованием биологически активных веществ, выделенных из корневища куркумы, проведен сравнительный анализ антиоксидантной и антимутагенной активности препарата КД и наноконplexов КД с ЦД. В связи с этим оптимизирована технология получения индивидуальных соединений препарата КД методом препаративной флеш-хроматографии, позволяющая проводить экспресс-разделение в изократическом режиме и получать высокочистые индивидуальные соединения. Как показали результаты исследования, КД обладают выраженными антиоксидантными и антимутагенными свойствами, что определяет возможность их использования при создании ранозаживляющих средств. Для повышения растворимости и стабильности КД получены их наноконplexы с ЦД. Установлены закономерности конкурентного взаимодействия КД с β -ЦД и ГП- β -ЦД и влияние на образование наноконplexов температуры и полярности КД. Разработана оригинальная технология получения наноконplexов КД с ЦД и предложены способы их применения. Показана высокая эффективность использования наноконplexов КД: β -ЦД в качестве ранозаживляющего средства, обеспечивающего органотипическое восстановление структуры кожи в зонах смоделированных лоскутных ран. Создан нетканый покровный материал из композитных нановолокон на основе биополимера пуллулана и наноконplexов КД: β -ЦД.

Библиографические ссылки

1. Manasa PSL, Kamble AD, Chilakamarthi U. Various extraction techniques of curcumin – a comprehensive review. *ACS Omega*. 2023;8(38):34868–34878. DOI: 10.1021/acsomega.3c04205.
2. Pardeshi S, Mohite P, Rajput T, Puri A. The nanotech potential of curcumin in pharmaceuticals: an overview. *Current Drug Discovery Technologies*. 2024;21(2):e260723219113. DOI: 10.2174/1570163820666230726125809.
3. Cacciola NA, Cuciniello R, Petillo GD, Piccioni M, Filosa S, Crispi S. An overview of the enhanced effects of curcumin and chemotherapeutic agents in combined cancer treatments. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(16):12587. DOI: 10.3390/ijms241612587.
4. Pan Y, Ju R, Cao X, Pei H, Zheng T, Wang W. Optimization extraction and purification of biological activity curcumin from *Curcuma longa* L. by high-performance counter-current chromatography. *Journal of Separation Science*. 2020;43(8):1586–1592. DOI: 10.1002/jssc.201901174.
5. Kaur K, Al-Khazaleh AK, Bhuyan DJ, Li F, Li CG. A review of recent curcumin analogues and their antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities. *Antioxidants*. 2024;13(9):1092. DOI: 10.3390/antiox13091092.
6. Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Swelum AA, Arif M, Abo Ghanima MM, Shukry M, et al. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021;101(14):5747–5762. DOI: 10.1002/jsfa.11372.
7. Iweala EJ, Uche ME, Dike ED, Etumnu LR, Dokunmu TM, Oluwapelumi AE, et al. *Curcuma longa* (Turmeric): ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity profiles – a review. *Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine*. 2023;6:100222. DOI: 10.1016/j.prmcm.2023.100222.
8. Zhang P, Liu H, Yu Y, Peng S, Zhu S. Role of *Curcuma longae* rhizoma in medical applications: research challenges and opportunities. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1430284. DOI: 10.3389/fphar.2024.1430284.
9. Vashist S, Sharma S, Kumari J, Gadewar M, Arora S. A review on curcumin and its use as novel drug delivery system. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 2022;9(3):148–153. DOI: 10.21276/apjhs.2022.9.3.30.

10. Maithilikarpagaselvi N, Sridhar MG, Sripradha R. Evaluation of free radical scavenging activities and phytochemical screening of *Curcuma longa* extracts. *Journal of Young Pharmacists*. 2020;12(2):113–117. DOI: 10.5530/jyp.2020.12.23.
11. Anas M, Falak A, Khan A, Khattak WA, Nisa SG, Aslam Q, et al. Therapeutic potential and agricultural benefits of curcumin: a comprehensive review of health and sustainability applications. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* [Internet]. 2024 November 5 [cited 2025 January 10]:[about 16 p.]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43994-024-00200-7#citeas>. DOI: 10.1007/s43994-024-00200-7.
12. Sathyabhama M, Priya Dharshini LC, Karthikeyan A, Kalaiselvi S, Min T. The credible role of curcumin in oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction in mammals. *Biomolecules*. 2022;12(10):1405. DOI: 10.3390/biom12101405.
13. Tuong DTC, Moniruzzaman M, Smirnova E, Chin S, Sureshbabu A, Karthikeyan A, et al. Curcumin as a potential antioxidant in stress regulation of terrestrial, avian, and aquatic animals: a review. *Antioxidants*. 2023;12(9):1700. DOI: 10.3390/antiox12091700.
14. Rahaman MM, Rakib A, Mitra S, Tareq AM, Emran TB, Shahid-Ud-Daula AFM, et al. The genus *Curcuma* and inflammation: overview of the pharmacological perspectives. *Plants*. 2021;10(1):63. DOI: 10.3390/plants10010063.
15. Buhrmann C, Brockmueller A, Mueller A-L, Shayan P, Shakibaei M. Curcumin attenuates environment-derived osteoarthritis by Sox9/NF- κ B signaling axis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(14):7645. DOI: 10.3390/ijms22147645.
16. Edwards RL, Luis PB, Nakashima F, Kunihiro AG, Presley S-H, Funk JL, et al. Mechanistic differences in the inhibition of NF- κ B by turmeric and its curcuminoid constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(22):6154–6160. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c02607.
17. Hsu K-Y, Ho C-T, Pan M-H. The therapeutic potential of curcumin and its related substances in turmeric: from raw material selection to application strategies. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2023;31(2):194–211. DOI: 10.38212/2224-6614.3454.
18. Abdel-Kader MS, Salkini AA, Alam P, Alshahrani KA, Foudah AI, Alqarni MH. A high-performance thin-layer chromatographic method for the simultaneous determination of curcumin I, curcumin II and curcumin III in *Curcuma longa* and herbal formulation. *Separations*. 2022;9(4):94. DOI: 10.3390/separations9040094.
19. Dai C, Lin J, Li H, Shen Z, Wang Y, Velkov T, et al. The natural product curcumin as an antibacterial agent: current achievements and problems. *Antioxidants*. 2022;11(3):459. DOI: 10.3390/antiox11030459.
20. Adamczak A, Ożarowski M, Karpiński TM. Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals*. 2020;13(7):153. DOI: 10.3390/ph13070153.
21. Shukla A, Parmar P, Rao P, Goswami D, Saraf M. Twin Peaks: presenting the antagonistic molecular interplay of curcumin with LasR and LuxR quorum sensing pathways. *Current Microbiology*. 2020;77(8):1800–1810. DOI: 10.1007/s00284-020-01997-2.
22. Abdulrahman H, Misba L, Ahmad S, Khan AU. Curcumin induced photodynamic therapy mediated suppression of quorum sensing pathway of *Pseudomonas aeruginosa*: an approach to inhibit biofilm *in vitro*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2020;30:101645. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.101645.
23. Trigo-Gutierrez JK, Vega-Chacón Y, Soares AB, Mima EGO. Antimicrobial activity of curcumin in nanoformulations: a comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(13):7130. DOI: 10.3390/ijms22137130.
24. Narayanan VS, Muddaiah S, Shashidara R, Sudheendra US, Deepthi NC, Samaranayake L. Variable antifungal activity of curcumin against planktonic and biofilm phase of different *Candida* species. *Indian Journal of Dental Research*. 2020;31(1):145–148. DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_521_17.
25. Phuna ZX, Yu JKE, Tee JY, Chuah SQ, Tan NWH, Vijayabalan S, et al. *In vitro* evaluation of nanoemulsions of curcumin, piperine, and tualang honey as antifungal agents for *Candida* species. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 2020;7(3):189–197. DOI: 10.30491/JABR.2020.109997.
26. Song L, Zhang F, Yu J, Wei C, Han Q, Meng X. Antifungal effect and possible mechanism of curcumin mediated photodynamic technology against *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*. 2020;167:111234. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2020.111234.
27. Zhang D, Yang Y, Yao B, Hu T, Ma Z, Shi W, et al. Curcumin inhibits *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production possibly by inducing ROS burst. *Food Research International*. 2023;167:112646. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.112646.
28. Legabão BC, Galinari CB, dos Santos RS, Bruschi ML, Gremião IDF, Boechat JS, et al. *In vitro* antifungal activity of curcumin mediated by photodynamic therapy on *Sporothrix brasiliensis*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2023;43:103659. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2023.103659.
29. Zarrinfar H, Behnam M, Hatamipour M, Sahebkar A. Antifungal activities of curcuminoids and difluorinated curcumin against clinical dermatophyte isolates. In: Barreto GE, Sahebkar A, editors. *Pharmacological properties of plant-derived natural products and implications for human health*. Cham: Springer; 2021. p. 101–107 (Crusio WE, Dong H, Radeke HH, Rezaei N, Steinlein O, Xiao J, editors. *Advances in experimental medicine and biology*; volume 1308). DOI: 10.1007/978-3-030-64872-5_8.
30. Prajapati J, Rao P, Poojara L, Goswami D, Acharya D, Patel SK, et al. Unravelling the antifungal mode of action of curcumin by potential inhibition of CYP51B: a computational study validated *in vitro* on mucormycosis agent, *Rhizopus oryzae*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2021;712:109048. DOI: 10.1016/j.abb.2021.109048.
31. Jiang T, Ghosh R, Charcosset C. Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials – a comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;112:419–430. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.015.
32. Salehi B, Rodrigues CF, Peron G, Dall’Acqua S, Sharifi-Rad J, Azmi L, et al. Curcumin nanoformulations for microbial and wound healing purposes. *Phytotherapy Research*. 2021;35(5):2487–2499. DOI: 10.1002/ptr.6976.
33. Zhang S, Asghar S, Yu F, Hu Z, Ping Q, Chen Z, et al. The enhancement of N-acetylcysteine on intestinal absorption and oral bioavailability of hydrophobic curcumin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;154:105506. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105506.
34. Stohs SJ, Chen O, Ray SD, Ji J, Bucci LR, Preuss HG. Highly bioavailable forms of curcumin and promising avenues for curcumin-based research and application: a review. *Molecules*. 2020;25(6):1397. DOI: 10.3390/molecules25061397.
35. Hegde M, Girisa S, Bharathwaj Chetty B, Vishwa R, Kunnumakkara AB. Curcumin formulations for better bioavailability: what we learned from clinical trials thus far? *ACS Omega*. 2023;8(12):10713–10746. DOI: 10.1021/acsomega.2c07326.
36. Pancholi V, Smina TP, Kunnumakkara AB, Maliakel B, Krishnakumar IM. Safety assessment of a highly bioavailable curcumin – galactomannoside complex (CurQfen) in healthy volunteers, with a special reference to the recent hepatotoxic reports of curcumin supplements: a 90-days prospective study. *Toxicology Reports*. 2021;8:1255–1264. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.06.008.
37. Shahriari M, Kesharwani P, Johnston TP, Sahebkar A. Anticancer potential of curcumin – cyclodextrin complexes and their pharmacokinetic properties. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;631:122474. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122474.

38. Ferreira L, Mascarenhas-Melo F, Rabaça S, Mathur A, Sharma A, Giram PS, et al. Cyclodextrin-based dermatological formulations: dermopharmaceutical and cosmetic applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2023;221:113012. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.113012.
39. Christaki S, Spanidi E, Panagiotidou E, Athanasopoulou S, Kyriakoudi A, Mourtzinis I, et al. Cyclodextrins for the delivery of bioactive compounds from natural sources: medicinal, food and cosmetics applications. *Pharmaceuticals*. 2023;16(9):1274. DOI: 10.3390/ph16091274.
40. Stepniak A, Biernacka M, Malecka M, Palecz B. Host – guest complexes of flavanone and 4'-chloroflavanone with naturals and modified cyclodextrin: a calorimetric and spectroscopy investigations. *Molecules*. 2024;29(13):3123. DOI: 10.3390/molecules29133123.
41. Fayaz H, Karthik K, Jaya Christiyan KG, Arun Kumar M, Sivakumar A, Kaliappan S, et al. An investigation on the activation energy and thermal degradation of biocomposites of jute/bagasse/coir/nano TiO₂/epoxy-reinforced polyaramid fibers. *Journal of Nanomaterials*. 2022;2022:3758212. DOI: 10.1155/2022/3758212.
42. Minarti M, Ariani N, Megawati M, Hidayat A, Hendra M, Primahana G, et al. Potential antioxidant activity methods DPPH, ABTS, FRAP, total phenol and total flavonoid levels of *Macaranga hypoleuca* (Reichb. f. & Zoll.) leaves extract and fractions. *E3S Web of Conferences*. 2024;503:07005. DOI: 10.1051/e3sconf/202450307005.
43. Sui H, Kawakami K, Sakurai N, Hara T, Nohmi T. Improvement and evaluation of high throughput fluctuation Ames test using 384-well plate with *Salmonella typhimurium* TA100 and TA98. *Genes and Environment*. 2009;31(2):47–55. DOI: 10.3123/jemsge.31.47.
44. Council of Europe. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes*. Strasbourg: [s. n.]; 1986. 48 p. (European treaty series; number 123).
45. Вайль СС. *Руководство по патолого-гистологической технике*. 3-е издание. Ленинград: Медгиз; 1947. 264 с.
46. Kumar V, Khan AA, Nagarajan K. Animal models for evaluation of wound healing activity. *International Bulletin of Drug Research*. 2013;3(5):93–107.
47. Капустин МА, Чубарова АС, Журихина ЛН, Курченко ВП, Цыганков ВГ. Токсиколого-гигиеническая характеристика наноструктур куркуминоидов с циклодекстринами. В: Сычик СИ, Шевляков ВВ, Итпаева-Людчик СЛ, Ивко НА, Гасич ЕЛ, Гузик ЕО и др., редакторы. *Здоровье и окружающая среда. Выпуск 33*. Минск: Издательский центр БГУ; 2023. с. 170–177.

Получена 01.02.2025 / исправлена 09.02.2025 / принята 10.02.2025.
Received 01.02.2025 / revised 09.02.2025 / accepted 10.02.2025.

Авторы:

Максим Александрович Капустин – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Анна Сергеевна Чубарова – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Алексей Дмитриевич Лодыгин – доктор технических наук, профессор; заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий.

Игорь Владимирович Ржепаковский – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета.

Наталья Владимировна Дудчик – доктор биологических наук, доцент; заведующий лабораторией микробиологии.

Василий Георгиевич Цыганков – кандидат медицинских наук, доцент; ведущий научный сотрудник лаборатории комплексных проблем гигиены пищевых продуктов.

Владимир Петрович Курченко – кандидат биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Authors:

Maxim A. Kapustin, senior researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

maximkapustin84@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9307-4716>

Hanna S. Chubarova, PhD (biology), docent; senior researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

chubarova.hanna@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9123-5002>

Aleksei D. Lodygin, doctor of science (engineering), full professor; head of the department of applied biotechnology, faculty of food engineering and biotechnology.

alodygin@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>

Igor V. Rzhepakovsky, PhD (biology), docent; leading researcher at the interdepartmental scientific and educational laboratory of experimental immunomorphology, immunopathology and immunobiotechnology, faculty of medicine and biology.

78igorr@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2632-8923>

Natalia V. Dudchik, doctor of science (biology), docent; head of the laboratory of microbiology.

micro_sanitary@rspch.by

<https://orcid.org/0000-0002-5877-9307>

Vasili G. Tsygankow, PhD (medicine), docent; leading researcher at the laboratory of complex problems of food hygiene.

vgz@tut.by

<https://orcid.org/0000-0003-2263-9959>

Vladimir P. Kurchenko, PhD (biology), docent; head of the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

kurchenko@tut.by

<https://orcid.org/0000-0002-4859-2389>