

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

УДК 544.725

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМЕРОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ С ЛИПОСОМАМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

Анна Алексеевна Скуредина¹, Линара Ринатовна Якупова¹, Ирина Михайловна Ле-Дейген¹, Елена Вадимовна Кудряшова¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Авторы, ответственные за переписку: Ирина Михайловна Ле-Дейген, i.m.deygen@gmail.com; Анна Алексеевна Скуредина, anna.skuredina@yandex.ru

Аннотация. Полимеры нашли широкое применение в качестве систем доставки лекарственных препаратов и покрытий имплантов. Обзор посвящен механизмам взаимодействия полимеров биомедицинского назначения с модельными клеточными мембранами (липосомами) и реальными биологическими объектами – поверхностями бактериальных клеток. Проведен сравнительный анализ состава, структуры и заряда поверхности разных типов биологических мембран. Рассмотрены основные методы и подходы к изучению влияния полимеров на строение и физико-химические свойства мембран для исследования адсорбции, дефектов в бислое, нарушения целостности бислоя, изменения морфологии клеток и др. Проанализирована корреляция между эффектами, наблюдаемыми на модельных и реальных объектах. Одной из важных задач обзора является поиск ключевых характеристик полимеров (структуры, размера, заряда и др.) для дизайна новых высокомолекулярных соединений с заданными биологическими свойствами.

Ключевые слова: поверхность бактериальных клеток, липосомы, полимеры медицинского назначения

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-5-441-459

Список сокращений: ГО – граммотрицательные клетки, ГР – грамположительные клетки, ПЛГА – сополимер гликолевой и молочной кислот, ТЕМ – просвечивающая электронная микроскопия, $T_{ф.п.}$ – температура фазового перехода, CL – кардиолипин, PE – фосфатидилэтаноламин, PG – фосфатидилглицерин, SEM – сканирующая электронная микроскопия.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (проект № 075-15-2022-397) и стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам (лауреат Скуредина А.А.).

Для цитирования: Скуредина А.А., Якупова Л.Р., Ле-Дейген И.М., Кудряшова Е.В. Структурно-функциональные аспекты взаимодействия полимеров медицинского назначения с липосомами и бактериальными клетками // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. Т. 64. № 5. С. 441–459.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ASPECTS OF THE INTERACTIONS BETWEEN MEDICAL POLYMERS AND THE LIPOSOMS AND BACTERIAL CELLS

Anna A. Skuredina¹, Linara R. Yakupova¹, Irina M. Le-Deygen¹,
Elena V. Kudryashova¹

¹Lomonosov Moscow State University, Chemistry Faculty, Moscow, Russia

Corresponding authors: Irina M. Le-Deygen, i.m.deygen@gmail.com; Anna A. Skuredina anna.skuredina@yandex.ru

Abstract. Polymers are widely applied as drug delivery systems and implant coatings. The review is devoted to the mechanisms of interaction of biomedical polymers with model cell membranes (liposomes) and real biological objects – bacterial cell surfaces. A comparative analysis of the composition, structure and surface charge of different types of biological membranes has been outlined. We consider the main methods and approaches for studying the effect of polymers on the structure and physico-chemical properties of membranes to uncover adsorption, defects in the bilayer, violations of the integrity of the bilayer, changes in cell morphology, etc. The correlation between the observed effects on model and real objects is analyzed. One of the important tasks of the review is to discover the key polymer's characteristic (structure, size, charge, etc.) for the design of new high-molecular compounds with specified biological properties.

Keywords: bacterial cell surface, liposomes, medical polymers

Abbreviations: GN – gram-negative cells, GP – gram-positive cells, PLGA – a copolymer of glycolic and lactic acids, TEM – transmission electron microscopy, T_m – phase transition temperature, CL – cardiolipin, PE – phosphatidylethanolamine, PG – phosphatidylglycerin, SEM – scanning electron microscopy.

Financial Support: The work was supported by the grant of the Russian Federation President for support of young Russian scientists (№ 075-15-2022-397) and a scholarship from the Russian Federation President to young scientists and graduate students (Skuredina A.A.).

For citation: Skuredina A.A., Yakupova L.R., Le-Deygen I.M., Kudryashova E.V. Structural and functional aspects of the interactions between medical polymers and the liposoms and bacterial cells // Vestn. Mosk. Un-ta. Ser. 2. Chemistry. T. 64. № 5. S. 441–459.

В связи с активным развитием исследований в области высокомолекулярных соединений многие полимеры нашли применение в биотехнологии и медицине. Полимеры используются в качестве систем доставки лекарственных препаратов [1], покрытий для различных материалов [2], а также для получения гетерогенных биоорганических катализаторов – иммобилизованных ферментов. Иммобилизованные ферменты, используемые в медицине, имеют ряд неоспоримых преимуществ, среди которых можно отметить снижение иммуногенности и увеличение стабильности под действием неблагоприятных факторов среды (температуры,

pH, ионной силы и др.) [3]. Большой вклад в развитие этого направления внесли сотрудники кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ.

Например, в работе [4] разработаны мицеллярно-полиэлектролитные композиции для стабилизации и активации фаг-ассоциированного фермента, который эффективно лизирует бактериальные клетки *Streptococcus pyogenes*, вызывающие возникновение инфекций дыхательных путей. Показано, что исследуемая композиция сохраняет активность в течение двух месяцев, в то время как сам фермент теряет активность в течение нескольких суток.

На базе кафедры химической энзимологии МГУ разработана уникальная технология «NanoZYME», которая позволяет путем полимерной модификации поверхности ферментов обеспечивать защиту композиции от воздействия иммунной системы при увеличении срока циркулирования препарата в крови. С применением этой технологии разработаны новые наносистемы для разложения фосфорорганических нейротоксинов, терапии воспаления глаз, травм спинного мозга и бактериальных инфекций. Также исследованы возможности использования электромагнитного излучения для дистанционного управления высвобождением препарата в заданной точке в живом организме [5, 6].

Кроме того, активно ведутся работы по исследованию ферментного препарата L-аспарагиназы, которая обладает противоопухолевой активностью и используется для лечения лейкоза. Поскольку L-аспарагиназы получают из бактериальных клеток, фермент может вызывать возникновение множества побочных эффектов, минимизировать которые можно путем покрытия L-аспарагиназы полимерами синтетического или природного происхождения. Так, показано, что сополимеры полиэтиленгликоля и хитозана в значительной степени повышают стабильность фермента и увеличивают цитотоксический эффект по отношению к клеточной линии хронического миелоидного лейкоза человека [7, 8]. Все разработанные бионаноматериалы открывают новые перспективы для улучшения терапии и диагностики широкого круга социально значимых заболеваний и направлены на улучшение качества жизни.

Таким образом, при биомедицинском использовании вышеописанных систем полимеры находятся на поверхности частиц и неизбежно первыми контактируют с биологическими объектами при введении препарата *in vivo*. Быстро развивающаяся область химии полимеров ставит новые задачи перед исследователями по изучению не только физико-химических, но и биологических свойств исследуемых систем. Особенно важно понимание поведения лекарственных композиций после введения в организм человека, что является одной из центральных задач фармакологии, поскольку от этого существенно зависит эффективность терапевтического действия. Среди биологических макроструктур одной из наиболее интересных является клеточная мембрана – основной защитный барьер клетки. Поэтому в представленной работе будут рассмо-

трены механизмы взаимодействия полимеров разного строения с биологическими мембранами (на примере бактериальных и модельных – липосомальных).

Полимеры медицинского назначения

Высокомолекулярные соединения до сих пор остаются одним из наиболее важных классов химических веществ, которые используются в медицине в разных целях. Именно благодаря полимерам с их особыми свойствами удается решить ряд важных биомедицинских задач, например, увеличить стабильность липидных систем, придать лекарственной форме замедленное высвобождение препарата, а также разработать новые покрытия и пленки, высокоэффективные биосенсоры и «умные материалы» [9, 10]. Вкратце рассмотрим основные типы используемых макромолекул.

Наиболее часто полимеры используются для разработки покрытий, например скаффолдов и имплантов, а также для инкапсуляции лекарственных молекул, т.е. для создания систем доставки лекарственных препаратов. В случае дизайна покрытий твердых материалов, например из металла или гидроксиапатита, в полимер также включается лекарственный препарат, что способствует выраженному антибактериальному действию и, как следствие, изделие биомедицинского назначения может снижать риск возникновения инфекций [11, 12]. В случае систем доставки лекарственных препаратов использование полимеров имеет ряд преимуществ, наиболее значимыми из которых являются замедленное высвобождение лекарственной молекулы и увеличение антибактериальных свойств препарата [13, 14].

Несмотря на все многообразие известных высокомолекулярных соединений в биомедицинских целях чаще всего используют ограниченный круг классов полимеров. В табл. 1 приведены ключевые полимеры, относящиеся к природным, полусинтетическим и синтетическим.

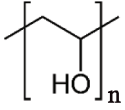
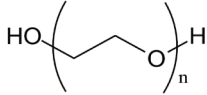
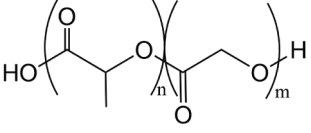
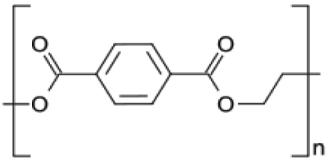
Важная характеристика полимеров при использовании их в медицине – способность к биодegradации. Золотым стандартом систем пролонгированного действия являются полимеры на основе полимолочной и полигликолевой кислот, а также их сополимеры. Эти полимеры образуют частицы и характеризуются низкой токсичностью и замедленным высвобождением инкапсулированных лекарственных молекул. Кроме того, для них характерно длительное время

Т а б л и ц а 1

Примеры наиболее часто используемых полимеров для биомедицинского применения [9, 15–17]

Тип полимера	Подтип	Название полимера	Химическая структура
Природные	полисахариды	альгинаты	
	полисахариды	гиалуроновая кислота	
		гепарин	
		полипептид	низин
	полипептид	коллаген	—
Полусинтетические	полисахарид	хитозан	
	полисахарид	модифицированная целлюлоза	
	полиэфир	полигидроксиалканоат	

Окончание табл. 1

Тип полимера	Подтип	Название полимера	Химическая структура
Синтетические	полиспирт	поливиниловый спирт	
	полиэфир	полиэтиленгликоль	
		сополимер молочной и гликолевой кислот	
		полиэтилентерефталат	

биodeградации (2–24 месяца), что было показано в исследованиях *in vivo*. Важно отметить, что время биodeградации зависит от молярного соотношения лактида и гликолида в сополимере [18].

Представленные в табл. 1 полимеры существенно различаются между собой по физико-химическим свойствам, что обусловлено, в частности, присутствием тех или иных функциональных групп, которые способны придавать поверхности статистического клубка полимера определенный заряд поверхности (полиэфиры, полиэтиленимины, пептиды, поликарбонаты, полисилоксаны и др.). В связи с большим разнообразием таких молекул необходимо определить наиболее значимую характеристику во взаимодействии полимеров с биологическими мембранами и установить основные сайты связывания.

Особенности строения бактериальных клеток

Поверхность прокариотической клетки состоит из многих компонентов разной химической природы и имеет сложное строение, тем не менее, можно выделить три основные

структуры: пептидогликан (полисахарид), биологическая мембрана и находящиеся в ней белки. На сегодняшний день физико-химические свойства поверхности бактерий определяются строением их клеточной стенки. Традиционно бактерии классифицируют согласно результату окрашивания по Граму на грамположительные (ГП) и грамотрицательные (ГО).

Поверхность ГП клеток представляет из себя слой пептидогликана (муреина) толщиной примерно 30–40 нм, который образован цепями аминокислот – N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмураминовой кислоты, связанных между собой β-гликозидными связями. Цепи пептидогликана ковалентно соединены между собой пептидными сшивками. Еще одним важным компонентом клеточной стенки являются тейхоевые кислоты, которые пронизывают пептидогликан и участвуют в поддержании сложной структуры муреина. Отрицательный заряд поверхности клетки частично нейтрализован ионами Mg^{2+} и Ca^{2+} . Необходимо отметить, что в клеточной стенке ГП клеток почти отсутствуют липиды.

Поверхность ГО клеток имеет иное строение. В первую очередь, слой пептидогликана

тоньше (2,0–2,5 нм). Кроме того, поверх муренина располагается дополнительная наружная мембрана, которая по своему составу и функциям отличается от внутренней. Так, для наружной мембраны характерна асимметричность липидного состава: внутренний слой представлен преимущественно фосфолипидами, а внешний слой содержит много липополисахаридов, которые стабилизированы межмолекулярными гидрофобными взаимодействиями и электростатическими взаимодействиями с ионами Mg^{2+} и Ca^{2+} [19].

Важно отметить, что у бактерий поверх клеточной стенки может находиться слизистая капсула, а также множественные выросты – фимбрии (или пили). Фимбрии являются тонкими (от 2 до 10 нм в диаметре) белковыми нитями разной длины (~50 нм – 3 мкм). Известны 4 типа пилей у ГО клеток и 2 типа у ГП бактерий, которые различаются между собой особенностями строения и функциями. Фимбрии участвуют в прикреплении клеток к поверхности, передаче генетической информации (конъюгации), образовании биопленки, фаговой трансдукции и особой форме движения бактерий [20, 21]. Для наиболее изученной ГО бактерии *Escherichia coli* известен аминокислотный состав пилей: белковые нити состоят преимущественно из аланина, аспарагиновой кислоты, треонина, валина, глицина и глутаминовой кислоты (60 мол.%), в то время как присутствие положительно заряженных аминокислот, например лизина и гистидина, составляет менее 5 мол.%. Исследователи отмечают, что пили в высокой степени гидрофобны и отрицательно заряжены [22].

Таким образом, поверхность ГО и ГП бактериальных клеток является полианионной, что обусловлено суммой всех отрицательных и положительных зарядов поверхностных функциональных групп пептидогликана в случае ГП клеток и липополисахаридов в случае ГО клеток. В среднем значение ζ -потенциала ГП и ГО клеток находится в диапазоне от –15 до –45 мВ [13, 23]. В некоторых работах показано, что значения ζ -потенциала у ГО клеток ниже, чем у ГП клеток. Например, ζ -потенциал ГП клеток *S. aureus* больше на 10–20 мВ по сравнению с ГО клетками *E. coli* [23, 24]. Важно отметить, что даже в рамках одного вида заряд поверхности бактерий может сильно различаться. Так, авторы [25] показали, что ζ -потенциал штаммов *E. coli* варьируется от –16 до –30 мВ в зависимости от типа липопо-

лисахаридов в наружной мембране, а также от наличия или отсутствия фимбрий.

Для того чтобы проникнуть в цитоплазму бактериальной клетки, лекарственной форме необходимо преодолеть не только клеточную стенку, но и клеточную мембрану, которая представляет собой липидный бислой. Согласно [26], липиды, входящие в состав мембран бактериальной клетки представляют собой глицерофосфолипиды, состоящие из двух жирных кислот, глицериновой части, фосфатной группы и переменной «головной» группы (табл. 2): фосфатидилэтанолamines (PE), фосфатидилглицерины (PG), кардиолипин (CL), лизилфосфатидилглицерин (LPG), фосфатидилинозитол (PI), фосфатидная кислота (PA) и фосфатидилсерин (PS) и др.

Авторы [26] сделали несколько обобщений в отношении мембранных липидов, присутствующих в разных таксономических группах бактерий. Было обнаружено, что в бислое бактериальных клеток наиболее часто встречаются липиды PG, PE, CL и PC, а также липиды, не содержащие фосфора – орнотиновые липиды (OLs) и гликолипиды (GLs). Так, для наиболее изученных бактерий *E. coli* известно, что преобладающими липидами являются цвиттерионный PE (около 75% мембранных липидов), анионный PG (около 20%), а также CL [29].

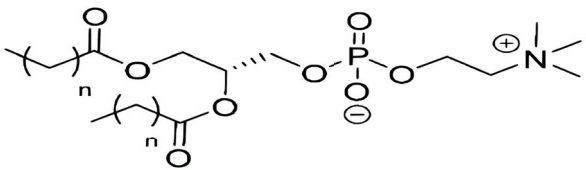
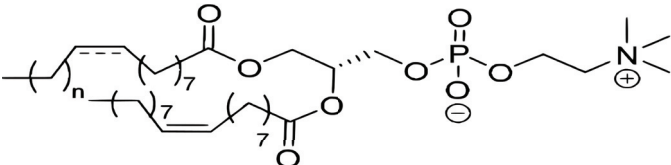
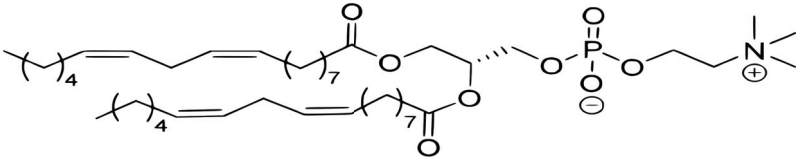
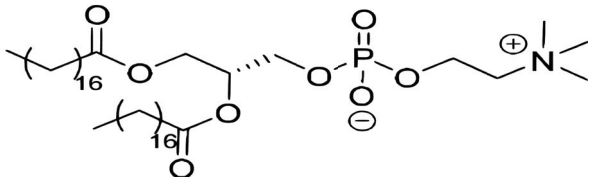
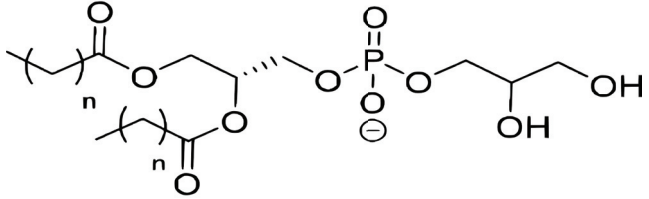
Таким образом, поверхность бактериальной клетки представляет собой сложную многокомпонентную систему, состав которой зависит от штамма микроорганизма. Тем не менее, существует много работ по исследованию механизма взаимодействия полимерных молекул с поверхностью бактерий и влияния этого взаимодействия на метаболизм и функции прокариот.

Механизмы взаимодействия между полимерами и бактериальными клетками

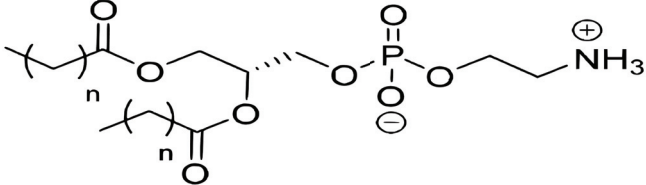
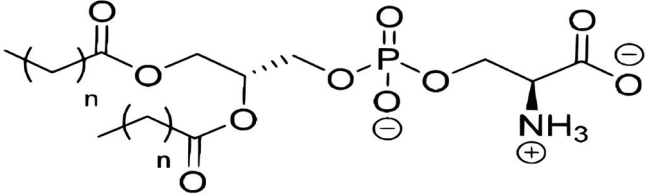
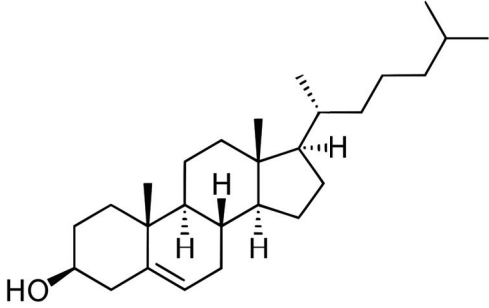
Одним из основных механизмов взаимодействия между полимерами и поверхностью бактериальных клеток является адсорбция частиц на клетках посредством электростатических взаимодействий. Поскольку ζ -потенциал ГО и ГП клеток преимущественно отрицательный, то положительно заряженные частицы достаточно легко адсорбируются на клеточной стенке микроорганизмов. Например, в работе продемонстрирована адсорбция кватернизированного поливинилпиридина на поверхности штамма *E. coli*: при добавлении катионного полимера к суспензии клеток наблюдается постепенный рост

Т а б л и ц а 2

Название, структура и значения температур фазового перехода липидов, которые встречаются в составе бактериальных клеток, а также используются для получения липосом [27, 28]

Липид	Структура	$T_{ф.п.}, ^\circ\text{C}$
Фосфатидилхолин (PC)		
DMPC (n = 12)		23
DPPC (n = 14)		41
DSPC (n = 16)		55
DOPC (n = 7)		-22
POPC (n = 5)		-2
SOPC (n = 7)		6
Soy PC (смесь 63%)		-20
Гидросоевый PC (HSPC) (смесь 89%)		52
Фосфатидилглицерин (PG)		
DMPG (n = 12)		23
DPPG (n = 14)		41
DSPG (n = 16)		55

Окончание табл. 2

Липид	Структура	$T_{ф.п.}, ^\circ\text{C}$
Фосфатидилэтаноламин (PE)		
DMPE (n = 12)		50
DPPE (n = 14)		60
Фосфатидилсерин (PSe)		
DMPS (n = 12)		38
DPPS (n = 14)		51
Холестерин		
		149

ζ -потенциала бактерий от -47 до 20 мВ с увеличением концентрации полимера [30].

Адсорбцией частиц на поверхности бактерий могут быть обусловлены изменения в морфологии и свойствах клеточной мембраны: ее сокращение, увеличение проницаемости липидного бислоя, а также извлечение различных компонентов из клетки. Так, в работе [31] исследовано влияние поли(пропилениминовых) дендримеров, функционализированных четвертичным аммонием, на клетки *E. coli* и *S. aureus*. Авторы

установили, что полимеры повреждают клеточные мембраны обоих штаммов, обеспечивая высвобождение компонентов клетки во внешнюю среду, что было обнаружено по изменению поглощения на длине волны 260 нм, т.е. дендримеры проявляют антибактериальную активность *in vitro*.

Проявление антибактериальных свойств показано и для другого поликатиона – хитозана, деацелированного природного полисахарида хитина. Гибель микроорганизмов обусловлена вза-

имодействием положительного заряда протонированной аминогруппы хитозана с отрицательно заряженными молекулами, расположенными на поверхности бактериальных клеток, что способствует возникновению дефектов на поверхности клеток [32].

Важность присутствия катионных групп в структуре полимера для проявления выраженной антибактериальной активности показана в работе [33], где исследовали свойства пленок, полученных методом послойной адсорбции поликатиона на основе N,N-додецил, метилполиэтиленimina и полианиона полиакриловой кислоты. С уменьшением значения pH раствора наблюдалась более выраженная антибактериальная активность полимеров против *S. aureus*. Как отмечают авторы, такой эффект объясняется тем, что с увеличением концентрации ионов H⁺ (уменьшением pH) на исследуемой пленке происходит увеличение доступных положительных зарядов, которые принимают участие во взаимодействии с мембраной бактериальной клетки.

Антибактериальное действие полимера имеет концентрационную зависимость и может оказывать разное влияние на морфологию ГП и ГО клеток. Так, авторы работы [34] обнаружили активность цитоплазматической β-галактозидазы после воздействия хитозана на *E. coli*, что указывает на высвобождение компонентов цитоплазмы из клетки, т.е. на наличие выраженных дефектов и/или разрывов как в наружной мембране, так и во внутренней. Столь значимое повреждение поверхности клеток было наглядно продемонстрировано с помощью метода просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ). Результаты ТЕМ позволяют проанализировать локализацию и степень возникших дефектов в клеточной стенке бактерий. Адсорбция хитозана на поверхности ГО клеток обуславливает полное разрушение наружной мембраны, в то время как выраженных дефектов во внутренней мембране не было обнаружено. Тем не менее, из-за наличия активности цитоплазматической β-галактозидазы авторы делают вывод о наличии дефектов во внутренней мембране, которые выражены в меньшей степени по сравнению с наглядными разрывами во внешней мембране. В случае *S. aureus* мембрана делящихся клеток имеет дефекты в области образования перегородки между дочерними клетками. Кроме того, продемонстрирована потеря клеточного содержимого. Дочерние клетки имеют неправильную

форму, разорванную мембрану и/или клеточную стенку, а для неделящихся клеток наблюдался такой дефект, как значительное утоньшение клеточной стенки.

Помимо полисахаридов и дендримеров антибактериальная активность обнаружена и для пептидов. Так, в работе [35] авторы подробно исследуют влияние низина на морфологию ГП бактерий *Bacillus subtilis*. Низин – положительно заряженный пептид, вырабатываемый *Lactococcus lactis*. Он способен связываться с отрицательно заряженными плазматическими мембранами посредством неспецифических электростатических взаимодействий. Антибактериальная активность низина в первую очередь обусловлена вмешательством пептида в биосинтез клеточной стенки бактерий. Основными мишенями низина считаются предшественники клеточной стенки липид II и ундекапренилпирофосфат [36, 37]. Как показано в [35], обработка *B. subtilis* низином в концентрации 5 г/мл вызывает частичное отделение клеточной стенки от плазматической мембраны. Такой эффект возникает в результате уменьшения объема цитоплазмы после образования пор в клеточной стенке клеток под действием низина.

При более детальном исследовании влияния низина на морфологию бацилл было обнаружено, что при обработке клеток низином в концентрации, превышающей минимальную ингибирующую концентрацию, пептид не оказывает быстрого бактерицидного эффекта, но имеет долгосрочные последствия. Гибель клеток происходит по другому механизму – в результате нарушения метаболизма микроорганизмов и ингибирования роста клеток. Также обнаружены несколько мультисептальных бактерий (формирование двойных перегородок рядом друг с другом в процессе деления клетки). Таким образом, по данным ТЕМ обнаружено, что антибактериальное действие низина имеет два механизма, принципиально отличающихся от механизма, действующего в случае полисахарида хитозана: в клеточной стенке и мембране не возникают разрывы и/или дефекты, однако наблюдаются нарушения в процессах метаболизма и деления клеток.

В работе [38] авторы исследовали влияние пептидов низина и ε-полилизина на морфологию и структуру различных штаммов. С помощью ТЕМ и сканирующей электронной микроскопии (SEM) показано, что оба пептида проявляют антибактериальную активность. Важно

отметить, что поверхность бактериальных клеток *B. subtilis*, обработанных ϵ -полилизинем (в концентрации, равной минимально ингибирующей), была слегка повреждена по сравнению с контрольными клетками, имеющими гладкую поверхность. Механизм антибактериального действия схож с действием хитозана (адсорбция поликатиона на поверхности клеток с последующим нарушением структуры клеточной стенки), однако в целом клеточная поверхность остается относительно неповрежденной, т.е. влияние полилизина мягче, по сравнению с действием хитозана. В случае низина наблюдается более значительное повреждение поверхности клеток и потеря клеточного содержимого. Наиболее выраженный антибактериальный эффект обнаружен при использовании комбинации двух пептидов (полилизина и хитозана). Авторы предполагают, что синергетический эффект обусловлен возникновением пор в клеточной стенке *B. subtilis* под действием низина, что приводит к проникновению ϵ -полилизина внутрь клетки и последующему встраиванию в двойную спираль бактериальной ДНК по механизму, описанному для бромистого этидия. Вследствие нарушения структуры клеточной стенки (возникновения пор), потери клеточного содержимого, а также нарушения репликации ДНК наблюдается выраженный антибактериальный эффект.

Таким образом, положительно заряженные полимеры с разной химической структурой (полисахариды, полипептиды и др.) могут обладать выраженной антибактериальной активностью. Основные действующие механизмы следующие: возникновение разрывов и/или дефектов в клеточной стенке и мембранах клетки, высвобождение компонентов цитоплазмы, нарушение процессов метаболизма и клеточного деления. При этом микроскопические методы анализа являются мощным инструментом для анализа дефектов в поверхности клеточной поверхности и установления механизма антибактериальной активности полимера.

Рассмотрим взаимодействие полианионов с бактериальной поверхностью. В первую очередь, важно отметить, что полимеры с отрицательным ζ -потенциалом способны адсорбироваться на поверхности клеток, однако в меньшей степени, чем поликатионы, поскольку образованные межмолекулярные взаимодействия более слабые. Например, в работе [39] исследовали свойства частиц сополимера гликолевой и молочной кислот (ПЛГА), которые имели

ζ -потенциал от -5 до -20 мВ. Авторы изучали адсорбцию ПЛГА на ГО *Pseudomonas aeruginosa* и ГП *S. aureus* методами динамического светорассеяния (размер частиц и ζ -потенциал) и проточной цитометрии. В качестве еще одного образца использовали второй тип частиц схожей химической структуры, но противоположного заряда. Показано, что примерно 20% добавленных к бактериям частиц адсорбируется на поверхности клеток, что примерно в 5 раз меньше, чем для положительно заряженных. Столь низкая доля адсорбированного полимера связана с отталкиванием отрицательно заряженных молекул от анионной поверхности клеток. Тем не менее, адсорбция полимеров с отрицательным ζ -потенциалом возможна, что было подтверждено и другими авторами [13].

Ранее в наших исследованиях [13, 40] был получен полимер на основе сульфобутилового эфира β -циклодекстрина, биосовместимого биодеградируемого олигосахарида. Показано, что отрицательно заряженный полимер адсорбируется на поверхности клеток *E. coli*, что удалось визуализировать методом ТЕМ с использованием ионов меди для контрастирования органической полимерной матрицы. В условиях проведения эксперимента клетки представляют собой темные пятна овальной формы. Контрастированный полимер равномерно распределяется по поверхности клеток и не демонстрирует селективности по отношению к определенному сайту связывания на клеточной поверхности. В отличие от катионных полимеров, полианионы не проявляют выраженной антибактериальной активности. Как мономер (ζ -потенциал -7 мВ), так и полимер (ζ -потенциал -20 мВ), не проявляли антибактериальной активности против пяти штаммов ГП и ГО бактерий *in vitro*.

Тем не менее, добавление молекул с отрицательным зарядом может способствовать увеличению чувствительности бактерий к гидрофобным лекарствам, что было показано для анионных агентов (ПЛГА, нитрилоуксусной кислоты, гексафосфата, этилендиаминтетраацетата и др.). Механизм действия таких агентов, как предполагается, основан на взаимодействии частиц с бивалентными катионами магния и кальция, которые стабилизируют отрицательно заряженные поверхностные компоненты клеточных стенок ГО и ГП бактерий (тейхоевых кислот и липополисахаридов соответственно). Хелатирование ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} полимерами может приводить к дестабилизации клеточной стенки и лучшему

проникновению лекарственных молекул в цитоплазму [41, 42].

Например, в работе [43] авторы исследовали антибактериальную активность ПЛГА частиц, нагруженных макролидом кларитромицином, на штаммах *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *S. typhi*, *S. aureus* и *S. Streptococcus pneumoniae*. Частицы ПЛГА, нагруженные антибиотиком, имели ζ -потенциал от -4 до -15 мВ, при этом они обладали более выраженной антибактериальной активностью по сравнению со свободным кларитромицином (в 2–4 раза). Этот эффект был наиболее выражен для ГП бактерий, что, по-видимому, обусловлено менее выраженной барьерной функцией у ГП клеток по сравнению с ГО клетками (наличие дополнительной наружной мембраны).

Отдельного внимания заслуживает вопрос о влиянии полимеров на формирование бактериальных биопленок. Так, в работе [44] исследованы возможности предотвращения образования биопленок *Pseudomonas aeruginosa* в зависимости от поверхностного заряда абиотического субстрата. Авторы покрывали подложки полимерными «щетками» разного строения и изучали влияние физико-химических свойств покрытий на подвижность бактерий, а также морфологию и физиологию биопленки. Обнаружено, что покрытия с субъединицами этиленгликоля и катионными щетками покрываются биопленкой в той же степени, как и стеклянные контрольные поверхности. Однако на отрицательно заряженных поверхностях образование биопленки было сильно снижено. Такой эффект, вероятно, связан с подавлением адгезии и подвижности бактерий на поли-3-сульфопропилметакрилате. При этом наблюдается высокий уровень выработки циклического дигуанилата, что может быть связано с изменениями в структуре поверхности бактериальных клеток при контакте с отрицательно заряженными субстратами, а это, в свою очередь, влияет на развитие и архитектуру биопленки. В целом результаты показывают, что из всех исследованных поверхностей именно отрицательно заряженные полимерные щетки являются наиболее эффективными в снижении адгезии бактерий и образовании биопленки. Таким образом, полианионы, несмотря на более мягкое воздействие на свойства поверхности бактериальных клеток, все еще являются перспективными для биомедицинского применения.

Антибактериальная активность, характерная для полимеров, является значимым для ис-

пользования в биомедицинских целях параметром макромолекулы. Однако в литературе не описано, необходимо ли присутствие какой-то определенной супрамолекулярной структуры или вещества в клеточной стенке бактерий (например, толстого пептидогликанного слоя у ГП бактерий или наружной мембраны у ГО клеток) для обнаружения тех или иных механизмов антибактериального действия при контакте полимера с клеткой. Вероятно, в связи с многокомпонентным сложным строением клеточной стенки исследователи подробно не изучают сайты связывания полимера на бактериальной поверхности. Тем не менее, однозначно можно установить роль липидного бислоя посредством использования более простых модельных объектов – липосом.

Модельные клеточные мембраны – липосомы

Хорошо известно, что в основе мембраны любой клетки лежит липидный бислой, состоящий преимущественно из фосфолипидов, гликолипидов и холестерина. Помимо липидов мембрана эукариотической и прокариотической клеток содержит разнообразные белки (интегральные, полуинтегральные и поверхностные), а также полисахариды [19]. По причине сложного многокомпонентного строения поверхности клеток исследователи для установления механизма взаимодействия веществ с липидным бислоем используют более простые, так называемые модельные клеточные мембраны – липосомы. Липосомы являются сферическими полыми везикулами, которые представляют из себя двойной слой амфифильных липидов с водной внутренней полостью [45].

Липосомы образуются путем самоорганизации липидов в водном растворе. В зависимости от состава системы, концентрации, температуры и способа получения сильно различаются структура и размер везикул, при этом сохраняется толщина билипидного слоя (3–5 нм). Липосомы классифицируют на малые однослойные везикулы (диаметр 20–100 нм), большие однослойные везикулы (диаметр 100–10000 нм) и гигантские однослойные везикулы (диаметр 1–200 мкм). Также встречаются и мультиламеллярные липосомы, состоящие из нескольких слоев [27].

Наиболее распространенными липидами, используемыми при получении липосом, являются исключительно природные фосфолипиды: фосфатидилхолина (PC), фосфатидилглицерина

(PG) и фосфатидилэтаноламины (PE) и их производные, например 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DMPC), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DPPC) и 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DSPC) и др. (табл. 2). Везикулы могут состоять из одного типа липида или нескольких, кроме того, используют и природные смеси липидов, например соевого PG [27, 46, 47]. Эти липиды встречаются и в мембранах бактериальных клеток (табл. 2), что указывает на релевантное использование везикул в качестве модельных объектов.

Во многих работах для получения липосом используется также холестерин, который встречается в мембране эукариотической клетки в концентрации около 30–50 мол.% от всех липидов. Введение холестерина в липосомы способствует увеличению механической жесткости и стабильности везикул, а также уменьшению текучести мембран. [48, 49]. Холестерин является одним из компонентов существующих на фармацевтическом рынке лекарственных форм. Например, входит в состав первого одобренного Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США липосомального препарата «Доксил», который используется для лечения онкологических заболеваний [50]. Кроме того, холестерин используется в качестве компонента липидного бислоя для стабилизации везикул в вакцинах против вируса SARS-CoV-2: «Модерне» компании «Астразенека» и вакцине Пфайзер/БиоНтек [51].

Все вышеперечисленные липиды, за исключением холестерина, имеют сходные структуры и размеры ($M \approx 800$ г/моль). Тем не менее, они различаются длиной алифатических цепей (C13–C17), а также концевыми функциональными группами (первичный амин, третичный амин, диол, карбоновая кислота и др.), которые определяют общий заряд липидов на поверхности везикул. Липиды PC и PE содержат анионные фосфатные группы и положительно заряженные группы холина и этаноламина соответственно, поэтому их называют нейтральными. В случае наличия цвиттерионной «головной» группы (фосфотидилсерин) или неионизирующей (фосфатидилинозитол) функциональных групп фосфолипиды относят к анионным липидам. К анионным липидам также относят CL, поскольку он имеет две отрицательно заряженные фосфатные группы. Напротив, при наличии дополнительной аминогруппы или отсутствии фосфатной группы липиды относят к катионным, как в случае 1,2-диолеоил-3-триметиламмоний-пропана [52].

Для характеристики липосомальной поверхности используют метод электрофоретического рассеяния света, который позволяет определить ζ -потенциал везикул. Поскольку фосфодиэфирный фрагмент всегда депротонирован в условиях, близких к физиологическим (pH 7), то значение ζ -потенциала везикул, как правило, отрицательно [48, 53]. Тем не менее, ζ -потенциал везикул сильно зависит от липидного состава липосом. Так, в работе [52] авторы исследовали трехкомпонентные липосомы на основе холестерина, DSPC и заряженного липида. При исследовании свойств везикул с разным содержанием анионного или катионного липида авторы установили линейную зависимость между ζ -потенциалом везикул и содержанием (мол.%) заряженного липида. Таким образом, ζ -потенциал липосом может находиться в широком интервале значений от –50 до 35 мВ.

Помимо разных значений заряда поверхности и размера везикул, липосомы имеют разные значения температуры фазового перехода – липиды переходят из упорядоченной гелевой фазы к неупорядоченной жидкокристаллической фазе ($T_{ф.п.}$). Этот параметр можно определить по подвижности ацильных цепей липидов, что можно идентифицировать по полосам поглощения CH_2 -групп в ИК-спектре липосом [47] или по положению пика на кривой теплового потока, полученной методом дифференциальной сканирующей калориметрии [54]. Наибольшим значением $T_{ф.п.}$ обладают липиды, у которых углеводородные цепи более длинные и более насыщенные. Ненасыщенные связи в *cis*-конфигурации способствуют повышению текучести бислоя из-за снижения компактности упаковки цепей. В среднем $T_{ф.п.}$ находится в диапазоне от 20 до 60 °C (табл. 2) [27].

Благодаря особенностям строения липосомы активно используются в качестве систем доставки гидрофобных, гидрофильных и амфифильных лекарственных препаратов. При этом в зависимости от структуры включаемой молекулы (наличия ароматической структуры, полярных и/или заряженных функциональных групп и др.) она может располагаться внутри водной полости липосом, в липидном бислое или на границе раздела фаз вода/липиды. Включение препаратов в липосомы способствует увеличению растворимости препарата, замедлению скорости высвобождения и снижению токсичности [45, 55].

Для корректного использования липосом в качестве модельных мембран бактериальных клеток необходимо в первую очередь использовать

липидный состав, которым обусловлен отрицательный заряд на поверхности мембраны примерно от -20 до -40 мВ, что наиболее часто характерно для бактериальных клеток [23]. Кроме того, в исследованиях *in vitro* чаще всего используют грамотрицательные микроорганизмы *E. coli*, для которых в среднем характерна длина клетки порядка 1–2 мкм [40, 56], поэтому в случае липидных везикул лучше использовать большие однослойные везикулы.

Исследование взаимодействия полимеров с липосомами

В связи с особенностями своего строения липосомы являются термодинамически нестабильными, чувствительными к pH и времени хранения, что особенно важно учитывать при разработке липосомальной лекарственной формы. Для повышения стабильности везикулы покрывают различными полимерами [57–59]. Подобные системы, состоящие из липосом и полимера, подробно описаны в литературе, что позволяет установить основные механизмы взаимодействия между макромолекулами медицинского назначения и липидным бислоем. Обволакивание полимером липосом происходит преимущественно за счет электростатических взаимодействий и водородных связей между поверхностными группами липидов (в основном фосфатных групп) и функциональными группами полимеров. В литературе покрытие везикул полимера называют неспецифической адсорбцией [60].

Известно, что взаимодействие с полиэлектролитами способствует повышению устойчивости липосом и увеличению жесткости мембраны, а также увеличению продолжительности циркуляции в кровотоке, уменьшая при этом эффективность захвата везикул ретикуло-эндотелиальной системой. При рассмотрении свойств индивидуальной макромолекулы в растворах следует учитывать существенный энтропийный проигрыш за счет связывания полярных групп полимера с противоионами. В разбавленных растворах, рассматривая свойства индивидуальной макромолекулы полиэлектролитов, можно пренебречь взаимодействием между цепями полимера. Образование комплексов между полиэлектролитами и противоположно заряженными липосомами приводит к высвобождению противоионов в раствор, что приводит к существенному энтропийному выигрышу [61].

Связывание липосом с полимерами можно детектировать посредством исследования размера

везикул и значения их ζ -потенциала. Например, в работе [62] липосомы, состоящие из соевого лецитина и холестерина, загружали природным полифенолом ресвератролом, обладающим широким спектром противомикробной активности. Полученные липосомальные лекарственные формы покрывали полианионом пектином с разной молекулярной массой. С помощью метода ИК-спектроскопии установлено, что адсорбция полимера обусловлена преимущественно образованием водородных связей (между фосфатными группами липидов и, вероятно, гидроксильными группами полисахарида). При этом молекулы пектина находились только на поверхности липосом, не заглубляясь внутрь гидрофобного слоя мембраны. Покрытие полимером липосом способствует увеличению размера частиц на 20–40 нм и уменьшению ζ -потенциала с -13 до -30 мВ. При этом наблюдается увеличение стабильности везикул при длительном хранении (до 56 дней), а также в широком диапазоне значений pH (от 4,0 до 7,4) и ионной силы.

Важно отметить, что количество адсорбированного полимера имеет концентрационную зависимость, т.е. при увеличении осново-мольного избытка полимера наблюдается увеличение степени покрытия везикул, что было показано нами ранее [57]. В этой работе изучено влияние полисахарида хитозана, модифицированного маннозой, на физико-химические свойства липосом, состоящих из DPPC, DPPC/CL, яичного PC и яичного PC/CL. Адсорбция полимера на везикулах приводит к увеличению размера частиц на 40 нм и нейтрализации значения ζ -потенциала липосом. Однако при увеличении концентрации добавленного полимера наблюдалась колоколообразная зависимость гидродинамического диаметра покрытых липосом. Уменьшение размера везикул вплоть до исходных значений может быть связано с агрегацией частиц.

В некоторых работах удалось визуализировать адсорбцию полимеров на поверхности везикул с помощью метода ТЕМ. Например, в работе [63] представлены микрофотографии контрольных липосом (соевый PC/холестерин) и везикул, покрытых оболочкой хитозана. Авторы продемонстрировали, что локальный избыток хитозана вызывает образование «краевых дефектов» в липидном бислое.

Таким образом, как и в случае бактериальных клеток, адсорбция полимеров на везикулах может способствовать возникновению дефектов. Для липосом значительное повреждение мембраны может вызывать уменьшение

размера везикул. Так, в работе [64] были определены размеры липидных везикул (PC, H-PC, DSPC) методом динамического рассеяния света после добавления к липосомам олигосахаридов – производных циклодекстрина. Метил-циклодекстрин и гидроксипропил-циклодекстрин в концентрации от 80 до 125 мг/мл способствуют уменьшению гидродинамического диаметра везикул от 118 до 16–36 нм. Механизм столь значимого изменения размера везикул может быть связан с возникновением дефектов в бислое, а также с извлечением и деструктуризацией липидов. Предположение об извлечении липидов из мембраны было доказано с помощью измерения мутности раствора циклодекстрина – липосомы на 500 нм (мутность суспензии липосом уменьшается).

Возникновение дефектов в бислое может вызывать не только уменьшение размера липосом, но также и увеличение проницаемости бислоя. Нарушение целостности мембраны при добавлении в систему полимеров можно детектировать при исследовании высвобожденных из везикул компонентов, например ионов растворимых неорганических солей. Так, в работах [65, 66] липосомы загружались раствором 1 М хлорида натрия. Образование дефектов в мембране приводит к высвобождению ионов соли во внешний раствор, т.е. вызывает увеличение электропроводности раствора, что можно детектировать методом кондуктометрии. Помимо неорганических солей для исследования целостности липосомального бислоя используют также и органические вещества – красители (рисунок). Анализ высвобождения красителя или ионов солей из

липосом является основным методом оценки стабильности и целостности мембран. На основании полученных результатов можно провести количественную оценку возникновения разрывов в мембранах, что имеет важное значение для исследования цитотоксичности полимеров медицинского назначения. Примеры исследований представлены в табл. 3.

Как правило, в качестве красителя используют гидрофобные вещества или соединения с гидрофобным фрагментом (индикаторы, лекарственные молекулы и т.д.) для закрепления в бислое. В обычных условиях при загрузке липосом краситель присутствует только в бислое в концентрации, достаточной для того, чтобы вызвать самогашение флуоресценции. В результате возникновения дефектов в бислое краситель просачивается наружу, где его можно обнаружить с помощью флуоресцентной (или УФ-) спектроскопии.

Таким образом, при наличии дефектов в бислое происходит высвобождение красителя или ионов соли из загруженных липосом. Для определения точного механизма (наличие дефектов или полное разрушение липосом) получают контрольную кинетическую кривую: к липосомам добавляют поверхностно-активное вещество (например, Triton X-100), которое приводит к лизису липосом [67, 71]. Для подтверждения лизиса везикул можно использовать метод динамического светорассеяния.

Помимо возникновения дефектов возможны изменения в структурной организации липосомальной мембраны, которые возникают при сохранении целостности бислоя. Известно, что адсорбция полимера на везикулах может при-

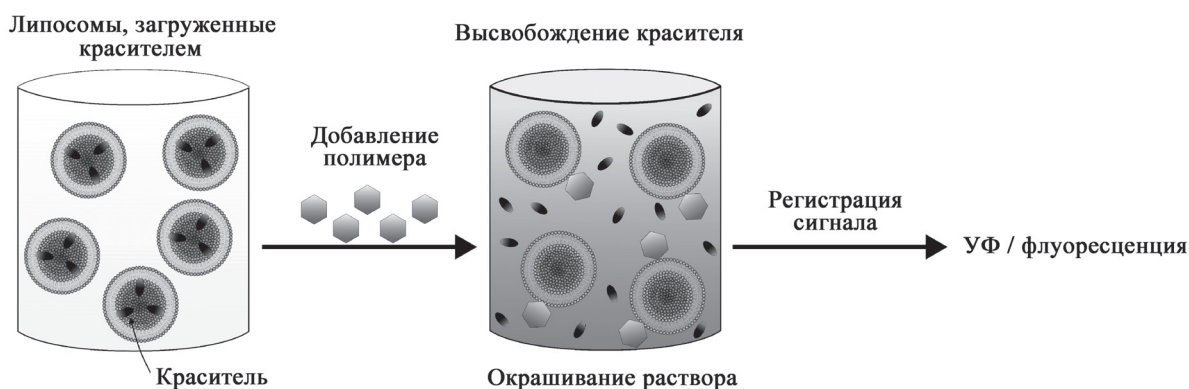
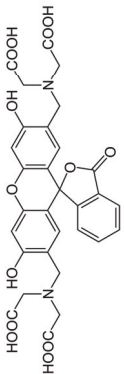
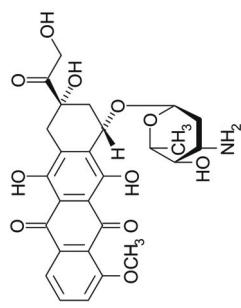
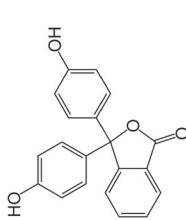
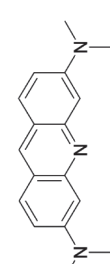


Схема проведения эксперимента по исследованию целостности липосомальной мембраны

Т а б л и ц а 3

Примеры исследований целостности липосомальной мембраны с использованием красителей

Тип полимера	Краситель	Структура красителя	Липидный состав липосом	Метод детекции красителя	Ссылка
Метил-β-ЦД гидроксипропил-β-ЦД	Флуорексон (кальцеин)		DSPC, PC, гидрогенизированный-PC / холестерин (мольное соотношение 1/1)	флуоресценция	[64]
Сополимер N-изопропилакрил-амида и N,N-диолецилакрил- амид	доксорубицин		DPPC / яичный-PC в разном массовом соотношении)	флуоресценция	[67]
Гидрогели на основе желатина/хитозана			PC	флуоресценция	[68]
N-изопропилакрил- амид и сополимер N-изопропилакрил-амида с акриламидом			DPPC / HSPC / холестерин (мольное соотношение 100 / 50 / 30)	флуоресценция	[69]

Тип полимера	Краситель	Структура красителя	Липидный состав липосом	Метод детекции красителя	Ссылка
Полимеры на основе производных β -ЦД	фенолфталеин		DPPC/CL (80/20 по мас. %)	УФ	[13]
Поливиниловый спирт и поливинилпирролидон	акридин оранжев		Соевый лецитин / дицетилфосфат / холестерин (мольное соотношение / 2 / 3)	УФ	[70]

водить к нарушению распределения липидов в бислое. Есть два характерных процесса такого рода: латеральная сегрегация и флип-флоп эффект. Рассмотрим их на примере анионных липосом, состоящих из DPPC и CL. В свободных липосомах липиды распределены равномерно, однако в присутствии поликатиона молекулы CL способны образовывать кластеры, мигрируя в рамках внешнего слоя липосомы. Этот процесс получил название латеральная сегрегация. Введение поликатионов с высокой плотностью заряда, например поли-N-этил-4-винилпиридиний бромида, может также индуцировать перемещение анионного липида из внутреннего слоя мембраны на внешний. Этот эффект, получивший название флип-флоп, сопровождается микрофазовым разделением – на место мигрировавшего анионного липида во внутренний слой приходит нейтральный липид. Следует отметить, что удаление полимера приводит к восстановлению бислоя в исходное состояние; микрофазовое разделение не сохраняется [61].

Кроме того, авторы [72] исследовали адсорбцию линейных поликатионов на основе кватернизированного 2-винилпиридина разной степени полимеризации на липосомах, состоящих из DPPC/CL и цвиттерионного яичного лецитина/CL. Показано, что короткие полимеры взаимодействуют с анионными липидами, локализованными на внешней поверхности бислоя, тогда как длинные поликатионы извлекают анионные липиды из внутренней поверхности мембраны во внешнюю (обеспечивают трансмембранную миграцию липидов). При этом происходит образование кластеров липидов, что сопровождается появлением трансмембранной липидной асимметрии. Такие значительные структурные нарушения в клеточной мембране могут оказывать влияние на ее функционирование, что особенно важно учитывать при применении полимеров биомедицинского назначения.

Таким образом, полимеры способны адсорбироваться на липидных везикулах и вызывать появление на них дефектов и/или структурно-функциональных изменений разной степени. Четкой зависимости между физико-химическими свойствами полимеров и/или липосом обнаружено не было, поэтому при разработке новых полимеров биомедицинского назначения особенно важно исследовать их влияние на состояние липидного бислоя. Тем не менее, липидный бислой определенно является одним из основных центров связывания полимера при взаимо-

действию с клеткой, поскольку в большинстве случаев дефекты, которые наблюдались для ГП и ГО клеток были обнаружены также и для везикул. Однако для липосом все вышеперечисленные эффекты выражены в значительно большей степени, чем для микроорганизмов, что связано, вероятно, с большей доступностью липидов для взаимодействия с полимерами.

Заключение

Исследование взаимодействия полимеров с биологическими мембранами остается одной из актуальных задач современной науки, поскольку до сих пор не определена корреляция между физико-химическими свойствами полимеров медицинского назначения и их воздействием на свойства липидных мембран – одного из основных барьеров клетки.

В связи со сложным строением клеточной мембраны исследователи часто используют в качестве модельных объектов липидные везикулы – липосомы. По химическому составу, пространственной структуре и заряду поверхности липосомы являются релевантными моделями мембран бактериальных клеток.

При изучении систем полимер – мембрана можно установить возможности адсорбции полимера на поверхности бислоя, а также возникновения дефектов в мембране. Однако четкой корреляции между эффектами, наблюдаемыми для везикул и бактерий, установить не удалось. Как правило, подобные изменения свойств бислоя под действием полимера наиболее выражены именно для липосом, что может быть связано с большей доступностью липидов для взаимодействия с полимером, в то время как для клеточных мембран такому взаимодействию мешают поверхностные белки, полисахариды и т.д., что особенно характерно для грамположительных микроорганизмов.

Полимеры биомедицинского назначения разнообразны по своей структуре, размеру и заряду. Для предсказания биологических свойств полимеров необходимо в первую очередь обратить внимание на его ζ -потенциал – ключевую характеристику полимера, которая определяет механизм его взаимодействия с мембраной (силу электростатических взаимодействий полимер – бислоем). Для поликатионных полимеров наблюдается адсорбция на поверхности обоих типов биологических мембран, при этом более 90% добавленного высокомолекулярного вещества покрывает анионную поверхность мембраны. Кроме того, наблюдается возникновение выраженных дефектов и разрывов в бислое, чем обусловлена антибактериальная активность макромолекулы *in vitro*. В случае полианионов воздействие на бислое более мягкое – полимеры адсорбируются на поверхности мембран в меньшей степени (в 4–5 раз) и не вызывают значительных повреждений бислоя. Тем не менее, образование дефектов в бислое осуществляется по механизму, не такому, как в случае с поликатионами, а другому: полимер участвует в хелатировании ионов кальция и магния, которые играют важную роль для стабилизации клеточной мембраны. Дестабилизация мембраны бактерий приводит к увеличению проницаемости клеток к лекарственным молекулам, в результате чего происходит увеличение антибактериальной активности препаратов.

Поликатионы и полианионы взаимодействуют с биологическими мембранами, что повышает их биологическую активность. Таким образом, оба типа полимеров являются перспективными материалами для биомедицинского назначения, которые можно использовать как в свободном виде, так и в виде покрытий и/или систем доставки препаратов, для проявления улучшенного терапевтического эффекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zahin N. et al. // Environ. Sci. Pollut. Res. Environmental Science and Pollution Research. 2020. Vol. 27. N 16. P. 19151 (DOI: 10.1007/s11356-019-05211-0).
2. Wei Q., Haag R. // Mater. Horizons. 2015. Vol. 2, N 6. P. 567–577 (DOI: 10.1039/c5mh00089k).
3. Березин И.В. и др. Биотехнология. Т. 7. Имобилизованные ферменты. М., 1987. С. 1.
4. Клячко Н.Л. и др. // Биоорганическая химия. 2008. Т. 34. № 3. P. 416.
5. Majouga A. et al. // Colloids Surfaces B Biointerfaces. Elsevier B.V. 2015. Vol. 125. P. 104 (DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.11.012).
6. Клячко Н.Л. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2014. Т. 55. № 3. P. 139.
7. Kudryashova E.V., Sukhoverkov K.V., Sokolov N.N. // Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem. 2014. Vol. 8. N 3. P. 252 (DOI: 10.1134/S1990750814030081).
8. Dobryakova N.V. et al. // Pharmaceuticals. 2022. Vol. 15. N 4 (DOI: 10.3390/ph15040406).
9. Englert C. et al. // Prog. Polym. Sci. Elsevier B.V. 2018. Vol. 87. P. 107 (DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2018.07.005).
10. Palivan C.G. et al. // Chem. Soc. Rev. Royal Society of Chemistry, 2016. Vol. 45. N 2. P. 377 (DOI: 10.1039/c5cs00569h).

11. Baghdan E. et al. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2019. Vol. 139. February. P. 59 (DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.03.003).
12. Huang D. et al. // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2011. Vol. 22. N 7. P. 931 (DOI: 10.1163/092050610X496576).
13. Skuredina A.A. et al. // *Polymers (Basel)*. 2022. Vol. 14. P. 4476 (DOI: 10.3390/polym14214476).
14. Motwani S.K. et al. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008. Vol. 68. N 3. P. 513 (DOI: 10.1016/j.ejpb.2007.09.009).
15. Tong X. et al. // *React. Funct. Polym.* Elsevier B.V. 2020. Vol. 148. P. 104501 (DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104501).
16. Germershaus O. et al. // *Int. Mater. Rev.* 2015. Vol. 60. N 2. P. 101 (DOI: 10.1179/1743280414Y.0000000045).
17. Ranganathan B., Miller C., Sinskey A. // *Pharm. Nanotechnol.* 2018. Vol. 6. N 1. P. 28 (DOI: 10.2174/2211738505666171023152549).
18. Anderson J.M., Shive M.S. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012. Vol. 64. N SUPPL. P. 72 (DOI: 10.1016/j.addr.2012.09.004).
19. Seltmann G., Holst O. *Cell Wall Models / The Bacterial Cell Wall*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002. P. 204.
20. Proft T., Baker E.N. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2009. Vol. 66. N 4. P. 613 (DOI: 10.1007/s00018-008-8477-4).
21. Otto K., Elwing H., Hermansson M. // *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 1999. Vol. 15. N 1. P. 99 (DOI: 10.1016/S0927-7765(99)00050-8).
22. Eshdat Y., Silverblatt F.J., Sharon N. *Dissociation and Reassembly of Escherichia coli Type 1 Pili*. 1981. Vol. 148. N 1. P. 308.
23. Halder S. et al. // *Springerplus*. 2015. Vol. 4. N 1. P. 1 (DOI: 10.1186/s40064-015-1476-7).
24. Сычева М.В. et al. // *Бюл. Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2016. Vol. 1. P. 1.
25. Chao Y., Zhang T. // *Langmuir*. 2011. Vol. 27. N 18. P. 11545 (DOI: 10.1021/la202534p).
26. Sohlenkamp C., Geiger O. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2015. Vol. 40. N 1. P. 133 (DOI: 10.1093/femsre/fuv008).
27. Rideau E. et al. // *Chem. Soc. Rev. Royal Society of Chemistry*. 2018. Vol. 47. N 23. P. 8572 (DOI: 10.1039/c8cs00162f).
28. Nes W.D. // *Chem. Rev.* 2011. Vol. 111. N 10. P. 6423 (DOI: 10.1021/cr200021m).
29. Raetz C.R.H., Dowhan W. // *J. Biol. Chem.* 1990. Vol. 265. N 3. P. 1235 (DOI: 10.1016/s0021-9258(19)40001-x).
30. Châtellier X., Bottero J.Y., Le Petit J. // *Langmuir*. 2001. Vol. 17. N 9. P. 2791 (DOI: 10.1021/la010171x).
31. Chen C.Z., Cooper S.L. // *Biomaterials*. 2002. Vol. 23. N 16. P. 3359 (DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00036-4).
32. Li J., Zhuang S. // *Eur. Polym. J.* Elsevier, 2020. Vol. 138. N August. P. 109984 (DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109984).
33. Wong S.Y. et al. // *Biomaterials*. Elsevier Ltd, 2010. Vol. 31. N 14. P. 4079 (DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.119).
34. Liu H. et al. // *Int. J. Food Microbiol.* 2004. Vol. 95. N 2. P. 147 (DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.022).
35. Hyde A.J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006. Vol. 103. N 52. P. 19896 (DOI: 10.1073/pnas.0608373104).
36. Wiedemann I. et al. // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. N 3. P. 1772 (DOI: 10.1074/jbc.M006770200).
37. Bonev B.B. et al. // *FASEB J.* 2004. Vol. 18. N 15. P. 1862 (DOI: 10.1096/fj.04-2358com).
38. Liu H. et al. // *Food Control*. Elsevier Ltd, 2015. Vol. 47. P. 444 (DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.07.050).
39. Dillen K. et al. // *Int. J. Pharm.* 2008. Vol. 349. N 1–2. P. 234 (DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.07.041).
40. Skuredina A.A. et al. // *Molecules*. 2022. Vol. 27. P. 8026 (DOI: 10.3390/molecules27228026).
41. Azhdarzadeh M. et al. // *Adv. Pharm. Bull.* 2012. Vol. 2. N 1. P. 17 (DOI: 10.5681/apb.2012.003).
42. Vaara M. // *Microbiol. Rev.* 1992. Vol. 56. N 3. P. 395.
43. Valizadeh H. et al. // *Pharmazie*. 2012. Vol. 67. N 1. P. 63 (DOI: 10.1691/ph.2012.1052).
44. Rzhepishevskaya O. et al. // *Biomater. Sci.* 2013. Vol. 1. N 6. P. 589 (DOI: 10.1039/c3bm00197k).
45. Li M. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* Elsevier Masson SAS. 2019. Vol. 164. P. 640 (DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.01.007).
46. Le-Deygen I.M. et al. // *Chem. Phys. Lipids*. 2020. Vol. 228. N 104891. P. 1 (DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2020.104891).
47. Skuredina A.A. et al. // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2020. Vol. 46. N 5. P. 692 (DOI: 10.1134/S1068162020050246).
48. Nakhaei P. et al. // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. Vol. 9. N September. P. 1 (DOI: 10.3389/fbioe.2021.705886).
49. Kudryashova E.V. et al. // *J. Colloid Interface Sci.* Elsevier Inc., 2011. Vol. 353. N 2. P. 490 (DOI: 10.1016/j.jcis.2010.09.072).
50. Barenholz Y. // *J. Control. Release*. Elsevier B.V., 2012. Vol. 160. N 2. P. 117 (DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.03.020).
51. Tenchov R. et al. // *ACS Nano*. 2021. Vol. 15. N 11. P. 16982 (DOI: 10.1021/acsnano.1c04996).
52. Smith M.C. et al. // *Anal. Bioanal. Chem. Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2017. Vol. 409. N 24. P. 5779 (DOI: 10.1007/s00216-017-0527-z).
53. Ле-Дейген И.М., Скуредина А.А., Кудряшова Е.В. // *Биоорганическая химия*. 2020. Vol. 46. N 4. P. 340.
54. Bilge D. et al. // *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* Elsevier B.V. 2014. Vol. 130. P. 250 (DOI: 10.1016/j.saa.2014.04.027).
55. Deygen I.M. et al. // *Langmuir*. 2016. Vol. 32. N 42. P. 10861 (DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b01023).
56. Zhou Y. et al. // *Ind. Crops Prod.* Elsevier, 2020. Vol. 152. N January. P. 112464 (DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112464).
57. Le-Deygen I.M. et al. // *Futur. Pharmacol.* 2022. Vol. 2. N 3. P. 330 (DOI: 10.3390/futurepharmacol2030023).
58. Trucillo P., Reverchon E. // *J. Supercrit. Fluids*. Elsevier B.V. 2021. Vol. 167. P. 105048 (DOI: 10.1016/j.supflu.2020.105048). (DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.12.047).
60. Panova T. V. et al. // *Eur. Polym. J.* 2019. Vol. 119. N July. P. 222 (DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.07.037).
61. Yaroslavov A.A. et al. // *Chem. - A Eur. J.* 2013. Vol. 19. N 41. P. 13674 (DOI: 10.1002/chem.201301944).

62. Shao P. et al. // *Int. J. Biol. Macromol.* Elsevier B.V, 2018. Vol. 119. P. 53 (DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.139).
63. Bochicchio S. et al. // *RSC Adv.* 2018. Vol. 8. N 60. P. 34614 (DOI: 10.1039/C8RA07069E).
64. Hatzi P. et al. // *Int. J. Pharm.* 2007. Vol. 333. N 1–2. P. 167 (DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.09.059).
65. Yaroslavov A.A. et al. // *Macromol. Biosci.* 2014. Vol. 14. N 4. P. 491 (DOI: 10.1002/mabi.201300436).
66. Sybachin A. V. et al. // *Langmuir.* 2014. Vol. 30. N 9. P. 2441 (DOI: 10.1021/la4036248).
67. Kono K. et al. // *J. Control. Release.* 1999. Vol. 59. N 1. P. 63 (DOI: 10.1016/S0168-3659(98)00180-1).
68. Ciobanu B.C. et al. // *Mater. Sci. Eng. C.* 2014. Vol. 43. P. 383 (DOI: 10.1016/j.msec.2014.07.036).
69. Han H.D., Shin B.C., Choi H.S. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006. Vol. 62. N 1. P. 110 (DOI: 10.1016/j.ejpb.2005.07.006).
70. Dékány G., Csóka I., Eros I. // *Magy. Kem. Folyoirat, Kem. Kozlemlenyek.* 2001. Vol. 107. N 11. P. 461 (DOI: 10.1081/DIS-100107855).
71. Yuba E. et al. // *Polymers (Basel).* 2018. Vol. 10. N 1. (DOI: 10.3390/polym10010074).
72. Ivashkov O. V. et al. // *ChemPhysChem.* 2015. Vol. 16. N 13. P. 2849 (DOI: 10.1002/cphc.201500474).

Информация об авторах

Скuredина Анна Алексеевна – доцент кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (anna.skuredina@yandex.ru);

Якупова Линара Ринатовна – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (yakupova.linara@mail.ru);

Ле-Дейген Ирина Михайловна – доцент кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (i.m.deygen@gmail.com);

Кудряшова Елена Вадимовна – профессор кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (helenakoudriachova@yandex.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Статья поступила в редакцию 25.04.2023;

одобрена после рецензирования 11.05.2023;

принята к публикации 15.05.2023.