

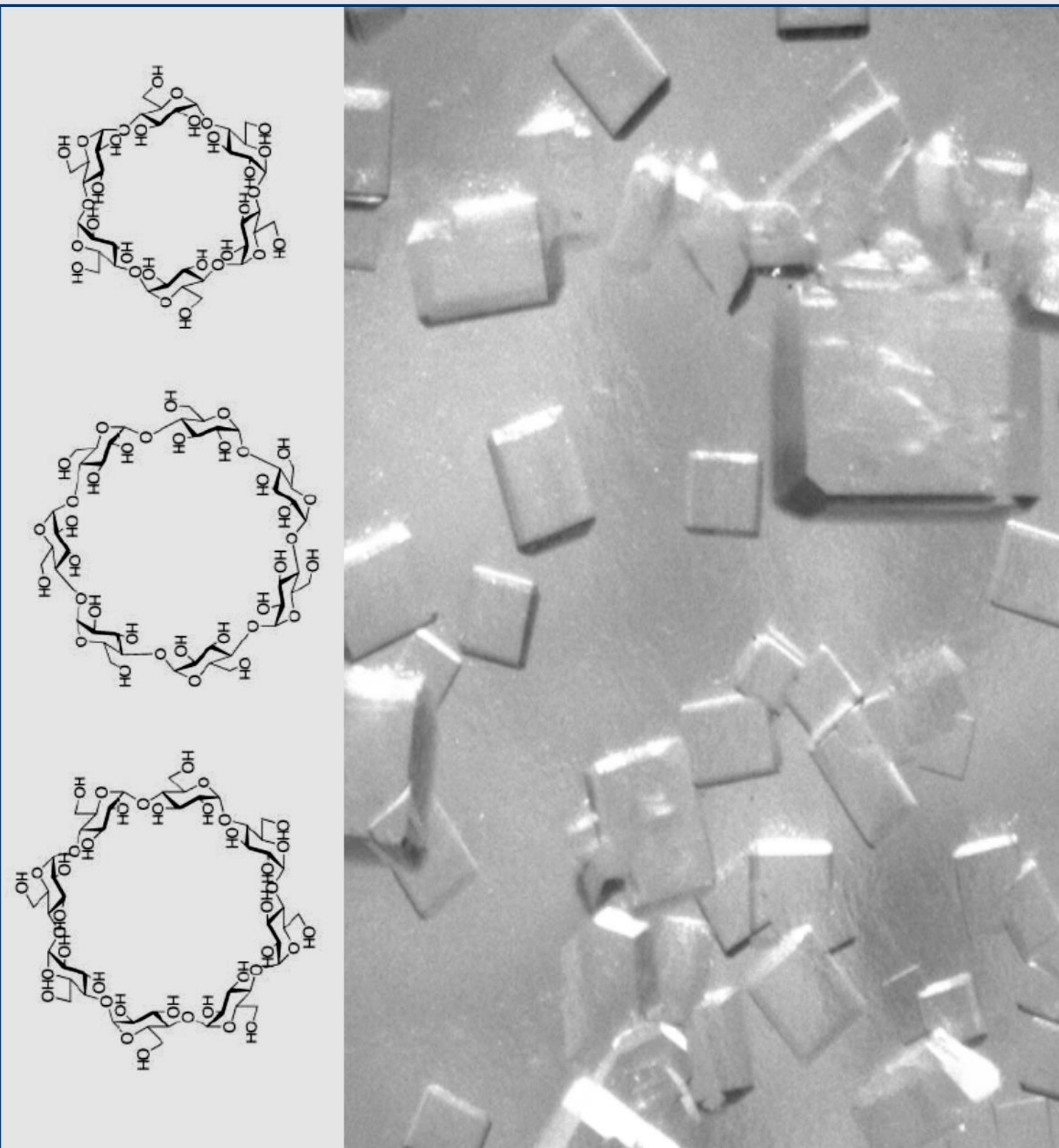


ISSN 2618-964X

ЭКОБИОТЕХ

Электронный рецензируемый журнал Уфимского Института биологии
Уфимского Федерального Исследовательского Центра РАН

2026 Том 9, № 3



ЦИКЛОДЕКСТРИНЫ: ОТ БАКТЕРИИ ДО ТЕХНОЛОГИИ

Уфимский Институт биологии
Уфимского Федерального Исследовательского Центра
Российской академии наук

ЭКОБИОТЕХ

Электронный рецензируемый журнал

2026

Уфимский Институт
биологии Уфимского
Федерального
Исследовательского
Центра Российской
академии наук

ЭКОБИОТЕХ

Том 9. № 3
2026

ISSN: 2618-964X
DOI:10.31163/2618-964X

Научный рецензируемый
электронный журнал

Основан в 2018 г.
Издается 4 раза в год

Редакция

Иванов И.И.
технический директор выпуска

Курченко В.П.,
Мелентьев А.И.,
Мильман П.Ю.
редакторы выпуска

Галин И.Р.,
технический редактор выпуска

Адрес издателя и
редакции:

450054, г. Уфа,
пр. Октября, д. 69

Учредитель:
Федеральное
государственное
бюджетное научное
учреждение Уфимский
федеральный
исследовательский
центр Российской
академии наук

© УФИЦ РАН, 2026

© Редколлегия
Экобиотех, 2026

© Авторы, 2026

E-mail:
ecobiotech@ufaras.ru

Зайцев Г.А.

Комиссаров М.А.
зам. гл. редактора
Мильман П.Ю.
зам. гл. редактора
Иванов И.И.
отв. секретарь
Бикбаев И.Г.
Галин И.Р.

Демченко К.Н.

Емельянов В.В.

Кульбаева Л.А.

Лысенко Е.А.

Мартыненко Е.В.
Сулейманов А.Р.
Феоктистова А.В.

Абакумов Е.В.

Беловежец Л.А.

Веселкин Д.В.

Веселов Д.С.
Коршунова Т.Ю.
Кудоярова Г.Р.
Кузнецов В.В.
Кулагин А.Ю.
Лобанок А.Г.

Маркова Ю.А.

Мартыненко В.Б.
Медведев С.С.
Мелентьев А.И.

Муратова А.Ю.

Онипченко В.Г.

Плотникова Е.Г.

Позднякова Н.Н.

Пшибытко Н.Л.

Тимофеева О.А.

Турковская О.В.

Коноплев А.В.

Петрович М. Д.

Чжан Кевэй
Шабала С.Н.

Мишра Гаурав

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН Уфа, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН,

Санкт-Петербург, Россия

к.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет,

Санкт-Петербург, Россия

Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,

Москва, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

к.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет,

Санкт-Петербург, Россия

д.б.н. Иркутский ин-т химии им. А.Е.Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

д.б.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН,

Екатеринбург, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

чл.-корр. РАН, Ин-т Физиологии растений РАН, Москва, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

акад. НАНБ, Ин-т микробиологии НАНБ, Минск, Беларусь

д.б.н., Сибирский ин-т физиологии и биохимии растений СО РАН,

Иркутск, Россия

чл.-корр. АН РБ, Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

д.б.н., СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

д.б.н., Уфимский Институт биологии, УФИЦ РАН, Уфа, Россия

д.б.н., Ин-т биохим. и физиол. растений и микроорганизмов РАН,

Саратов, Россия

д.б.н., Московский государственный университет, Москва, Россия

д.б.н., Ин-т экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,

Пермь, Россия

д.б.н., Ин-т биохим. и физиол. растений и микроорганизмов РАН,

Саратов, Россия

к.б.н. Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

д.б.н., КФУ, Институт фундаментальной медицины и биологии,

Казань, Россия

д.б.н., Ин-т биохим. и физиол. растений и микроорганизмов РАН,

Саратов, Россия

д.б.н., Ун-т Фукусимы, Институт радиоактивности окружающей среды,

Фукусима, Япония

PhD, Географический институт "Йован Цвиич" Сербской академии наук и

искусств (SASA), Белград, Сербия

PhD., проф., Чжэцзянский пед. университет, Цзиньхуа, КНР

PhD., проф., Университет Западной Австралии, Перт, Австралия

PhD., Центр передового опыта в области устойчивого управления

земельными ресурсами, Индийский совет по исследованиям и

образованию в области лесного хозяйства, Дехрадун, Индия

ISSN: 2618-964X
DOI:10.31163/2618-964X/

Scientific Peer-
Reviewed Electronic
Journal

Founded in 2018
Published quarterly

Editorial Board

Ivanov I.I.
Technical Director of the issue

Kurchenko V.P.
Melentiev A.I.,
Milman P.Yu.
Editors of the issue

Galin I.R.,
Technical Editor of the issue

Publisher and Editorial
Office Address:
450054, Ufa city,
October Ave., 69
Founder: Ufa Federal
Research Centre, Russian
Academy of Science

© UIB RAS, 2026

© Editorial Board
Ecobiotech, 2026

© Authors, 2026

E-mail:
ecobiotech@ufaras.ru

Zaitsev G.A.

Komissarov M.A.
deputy editor-in-chief
Milman P.Yu.
deputy editor-in-chief
Ivanov I.I.
executive secretary
Bikbaev I.G.
Demchenko K.N.
Galin I.R.
Lysenko E.A.
Martynenko E.V.
Kulbaeva L.A.
Suleymanov A.R.
Feoktistova A.V.
Yemelyanov V.V.

Abakumov E.V.
Belovezhets L.A.
Veselkin D.V.

Veselov D.S.
Korshunova T.Yu.
Kudoyarova G.R.

Kuznetsov V.V.
Kulagin A.Yu.

Lobanok A.G.

Markova Y.A.
Martynenko V.B.

Medvedev S.S.
Melentiev A.I.
Muratova A.Y.

Onipchenko V.G.
Plotnikova E.G.

Pozdnyakova N.N.
Pshibytko N.L.
Timofeeva O.A.

Turkovskaya O.V.

Konoplev A.V.

Petrović M.D.
Zhang Kewei

Shabala S.N.
Mishra Gaurav

EDITOR-IN-CHIEF

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

EDITORIAL BOARD

Dr, Ufa Inst Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, Komarov Botanical Institute, St. Petersburg, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, K.A.Timiryazev Inst. of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

PhD, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

EXECUTIVE EDITORS

Dr, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Dr, A.E. Favorsky Irkutsk Inst. of Chemistry, SB RAS, Irkutsk, Russia

Dr, Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Cor. member of the RAS, K.A.Timiryazev Inst. of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

acad. of the Nat. Acad.Sciences of Belarus, Instit. of Microbiology, NASB, Minsk, Belarus

Dr, Siberian Insti. of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia

Cor. member of Acad. of Sciences of the Rep. of Bashkortostan, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Dr, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Dr, Ufa Inst. Biol., UFRC RAS, Ufa, Russia

Dr, Inst. of Biochem. and Physiol. of Plants and Microorganisms RAS, Saratov, Russia

Dr, Moscow State University, Moscow, Russia

Dr, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of Ural Branch RAS, Perm, Russia

Dr, Inst. of Biochem. and Physiol. of Plants and Microorganisms RAS, Saratov, Russia

PhD, Belarusian State University, Minsk, Belarus

Dr, Kazan Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan, Russia

Dr, Inst. of Biochem. and Physiol. of Plants and Microorganisms RAS, Saratov, Russia

Dr, Institute of Environmental Radioactivity, Fukushima University, Fukushima, Japan

PhD, Geographical Institute Jovan Cvijić (SASA), Belgrade, Serbia

PhD, Prof of Plant Biology, College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua, China

PhD, Prof of Plant Biology, University of Western Australia, Perth, Australia

PhD Soil Science, Centre of Excellence on Sustainable Land Management, Indian Council of Forestry Research and Education, Dehradun, India

СОДЕРЖАНИЕ

ЦИКЛОДЕКСТРИНЫ: ОТ БАКТЕРИИ ДО ТЕХНОЛОГИИ

1. Мелентьев А.И., Курченко В.П.
Получение и применение биологически активных наноконплексов циклодекстринов 308-320
2. Поддубная И.В., Урядова Г.Т., Руднева О.Н., Зименс Ю.Н., Гуркина О.А.
Циклодекстриновые комплексы как система доставки антибиотиков в аквакультуре 321-334
3. Головач Т.Н., Курченко В.П., Лодыгин А.Д., Гарибян Л.В., Сисько А.А.
 β -циклодекстрин как селективный экстрагент биоактивных соединений из травы *Thymus serpyllum* L. 335-344
4. Головач Т.Н., Курченко В.П., Тарун Е.И., Дудчик Н.В., Ржепаковский И.В.
Биоактивные супрамолекулярные комплексы включения циклодекстринов с пептидами сывороточных белков молока 345-353
5. Ушмаева У.А., Мильман П.Ю., Гильванова Е.А.
Физико-химический мутагенез для увеличения продукции циклодекстринглюканотрансферазы штаммом *Paenibacillus* sp. IB-663 354-364
6. Гильванова Е.А., Мильман П.Ю., Усанов Н.Н.
Анализ структурного паттерна циклодекстринглюканотрансферазы *Paenibacillus ehimensis* IB-739 365-383
7. Копнова Л.Р., Копнова Т. Ю., Данилов М.Р., Давыдова М.П., Кудряшова Е.В.
Конъюгаты полимерных β -циклодекстринов с сывороточным альбумином модулируют фармакокинетику и биораспределение антибиотика 384-396
8. Романов А.С.
Истоки применения циклодекстринов в качестве полифункциональной пищевой добавки 397-406
9. Баймиев Ан.Х., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В.
Химеры и мутанты ЦГТаз с прицелом на специфичность продукции γ -циклодекстрина 407-417
10. Копнова Т.Ю., Злотников И.Д., Копнова Л.Р., Белогурова Н.Г., Кудряшова Е.В.
Физико-химические свойства и антимикробная активность комплексов фторхинолонов с производными циклодекстринов и полимерными носителями для применения в аквакультуре 418-436
11. Лобова Н.А., Александрова А.В., Святославская Т.А., Святославский Н.Л., Венедиктова О.В.
Композитный материал на основе водорастворимого полиуретана, бриллиантового зелёного и производных циклодекстрина 437-446
12. Чудин А.А., Кудряшова Е.В.
Применение производных циклодекстринов для проведения *in vitro* скрининга нерастворимых ингибиторов медицински значимых ферментов на примере I-галактоно-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* 447-458

СОБЫТИЯ И ЛЮДИ

13. Малинецкий Г.Г., Халитов Г.Г., Терехова Е.Я., Чемерис А.В., Гильванова Е.А., Мильман П.Ю.
Памяти Николая Глебовича Усанова 459-478
14. Зайцев Г.А.
75-летие Уфимского федерального исследовательского научного центра РАН и Уфимского института биологии УФИЦ РАН 479-481

CONTENT

CYCLODEXTRINS: FROM BACTERIA TO TECHNOLOGY

1. *Melentyev A.I., Kurchenko V.P.*
Preparation and application of cyclodextrin complexes with biologically active substances 308-320
2. *Poddubnaya I.V., Uryadova G.T., Rudneva O.N., Ziemens Y.N., Gurkina O.A.*
Cyclodextrin complexes as a delivery system for antibiotics in aquaculture 321-334
3. *Halavach T.M., Kurchenko V.P., Lodygin A.D., Garibian L.V., Sisko A.A.*
 β -cyclodextrin as a selective extractant for bioactive compounds from *Thymus serpyllum* L. 335-344
4. *Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N.V., Rzhepakovsky I.V.*
Bioactive supramolecular inclusion complexes of cyclodextrins with peptides of whey proteins 345-353
5. *Ushmaeva U.A., Milman P.Yu., Gilvanova E.A.*
Physicochemical mutagenesis to increase the efficiency of cyclodextrin glucanotransferase production by *Paenibacillus* sp. IB-663 354-364
6. *Gilvanova E.A., Milman P.Yu., Usanov N.N.*
Analysis of the structural pattern of cyclodextrin glucanotransferase from *Paenibacillus ehimensis* IB-739 365-383
7. *Kopnova L.R., Kopnova T.Yu., Danilov M.R., Davydova M.P., Kudryashova E.V.*
Conjugates of polymeric β -cyclodextrins with serum albumin modulate the pharmacokinetics and biodistribution of the antibiotic 384-396
8. *Romanov A.S.*
The origins of use of cyclodextrins as a multifunctional food additive 397-406
9. *Baymiev An.Kh., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V.*
Chimeras and mutants of CGTases with a focus on the specificity of γ -cyclodextrin production 407-417
10. *Kopnova T.Yu., Zlotnikov I.D., Kopnova L.R., Belogurova N.G., Kudryashova E.V.*
Physicochemical properties and antimicrobial activity of fluoroquinolone complexes with cyclodextrin derivatives and polymeric carriers for aquaculture applications 418-436
11. *Lobova N.A., Aleksandrova A.V., Svyatoslavskaya T.A., Svyatoslavskiy N.L., Venidiktova O.V.*
A composite material based on water soluble polyurethane, brilliant green and β -cyclodextrin derivatives 437-446
12. *Chudin A.A., Kudryashova E.V.*
Application of cyclodextrins derivatives to *in vitro* screening insoluble inhibitors of clinically relevant enzymes using l-galactono-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* as example 447-458

EVENTS AND PERSONALITIES

13. *Malinetsky G.G., Khalitov G.G., Terekhova E.Ya., Chemeris A.V., Gilvanova E.A., Milman P.Yu.*
In memory of Nikolay Glebovich Usanov 459-478
14. *Zaitsev G.A.*
75th anniversary of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences and the Ufa Institute of Biology UFRS RAS 479-481



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 547.9; 573.6; 678.01



Обзорная статья | REVIEW ARTICLE

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НАНОКОМПЛЕКСОВ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Мелентьев А.И.^{1*}, Курченко В.П.²¹ Уфимский институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа, Россия² Белорусский государственный университет,
Минск, Беларусь*E-mail: mlnt@anrb.ru

Аннотация

В обзоре приведена информация по истории открытия циклодекстринов, технологии их ферментативного получения из крахмала. Описаны физико-химические свойства циклодекстринов. Рассмотрены механизмы образования наноконплексов α -, β - и γ -циклодекстринов с веществами, содержащими гидрофобные участки в молекулярной структуре и влияние на этот процесс ключевых физико-химических факторов. Дана информация об использовании циклодекстринов в различных областях, приведены примеры применения циклодекстринов в пищевой промышленности и других сферах деятельности, в том числе фармацевтической. Обзор посвящен памяти Н.Г. Усанова, внесшего значительный вклад в развитие исследований циклодекстринов и их применения.

Ключевые слова:

циклодекстрины, клатраты, биологически активные вещества, терпеноиды, флавоноиды, фенилпропаноиды, стероиды, пептиды

Поступила в редакцию: 19.06.2026

Принято в печать: 12.08.2026

PREPARATION AND APPLICATION OF CYCLODEXTRIN COMPLEXES WITH BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Melentyev A.I.^{1*}, Kurchenko V.P.²¹ Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Center
of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia² Belarusian State University,
Minsk, Belarus*E-mail: mlnt@anrb.ru

Abstract

This review provides information on the history of the discovery of cyclodextrins and the technology for their enzymatic production from starch. The physicochemical properties of α -, β -, and γ -cyclodextrins, the mechanism of their complexation with hydrophobic substances, and the key factors influencing this process are described. Information on the use of cyclodextrins in various industrial sectors is also provided. Examples of the practical use of cyclodextrins in the food industry are presented for extracting biologically active substances from plant materials, producing inclusion complexes with essential oils, and reducing the bitter taste of milk protein hydrolyzed peptides. This review is dedicated to the memory of N.G. Usanov, who made a significant contribution to the development of cyclodextrin research and its application.

Keywords:

cyclodextrins, clathrates, biologically active substances, terpenoids, flavonoids, phenylpropanoids, steroids, peptides

Received: 19.06.2026

Accepted: 12.08.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-23> EDN: <https://www.elibrary.ru/xznrfq>

В сентябре 2008 года в курортном поселке Нарочь (Беларусь) проходила международная научно-практическая конференция «Инновационные биотехнологии в XXI веке» (Нарочанские чтения-5). На ней рассматривались вопросы фундаментальных и прикладных аспектов применения биологически активных моно- и полисахаридов; получение, свойства и применение БАВ; вопросы стандартизации, токсикологии и фармацевтической химии полисахаридов и их производных. На конференции был представлен доклад Мелентьева А.И., Усанова Н.Г. (Рис. 1).

Участники конференции с большим интересом отнеслись к этому сообщению и презентации, подготовленной Н.Г. Усановым. Впоследствии многие участники включили в свои планы исследований разработку способов получения и применения как конплексов циклодекстринов с биологически активными веществами, так и как способов улучшения вкусовых качеств пищевой продукции. Для проведения этих работ в лаборатории прикладных проблем биологии Белорусского государственного университета Н.Г. Усановым любезно были переданы циклодекстрины, произведенные в Уфимском институте биологии РАН.

Рисунок 1. Тема доклада А.И. Мелентьева и Н.Г. Усанова на конференции Нарочанские чтения-5

Figure 1. Topic of the report by A.I. Melentyev and N.G. Usanov at the Naroch Readings-5 conference

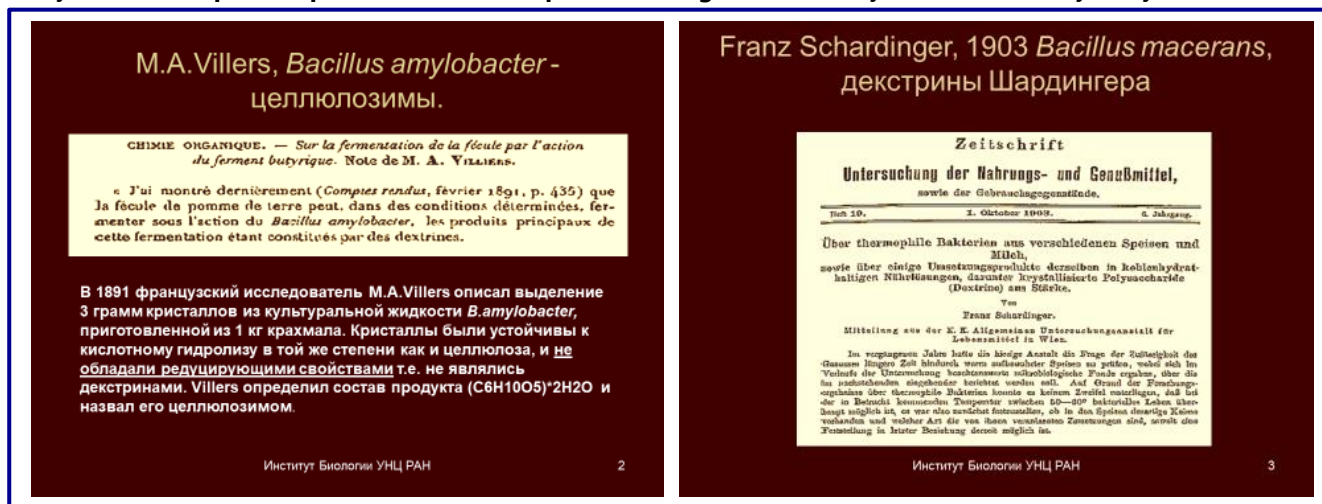


Получение и физико-химические свойства циклодекстринов

В 1891 г. французским исследователем М.А. Villers были обнаружены в среде на основе крахмала, в которой выращивали бактерии *Bacillus amylolactis*, необычные кристаллы. Поскольку эти кристаллы не подвергались кислотному гидролизу в той же степени, как и целлюлоза, он назвал данное вещество целлюлозимом. В 1903 году, из продуктов ферментативной трансформации крахмала F. Schardinger выделил и описал два соединения в кристаллической форме, которые назвал α - и β - декстринами (Рис. 2) [Szejtli 2004; Loftsson et al. 2005; Crini 2014]. Позднее выяснялось, что отсутствие редуцирующих свойств этих веществ обусловлено циклической структурой этих олигосахаридов.

Рисунок 2. История открытия циклодекстринов

Figure 2. History of the discovery of cyclodextrins

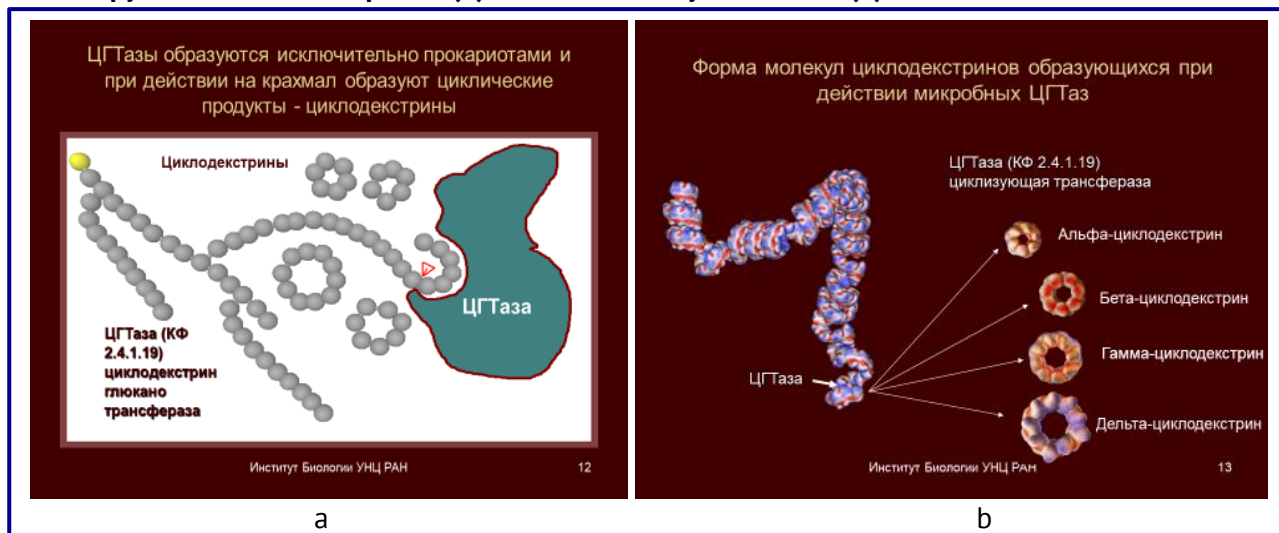


Циклодекстрины, далее ЦД, образуются в результате ферментативной реакции циклизации фрагментов гидролиза крахмала за счет их внутримолекулярного гликолизирования (Рис. 3). Данную реакцию катализирует циклодекстринглюканотрансфераза (КФ 2.4.1.19). Этот уникальный микробный фермент довольно редко встречается и, в основном, лишь у некоторых представителей прокариот рода *Bacillus* Cohn. В 1935 году был обнаружен и изучен γ -циклодекстрин [Larsen 2002; Szejtli 2004].

Циклизация фрагментов гидролиза крахмала возможна лишь в случае наличия не менее шести остатков глюкозы по причине структурно-стерических особенностей строения образуемых молекул [Loftsson, Brewster 1996; Larsen 2002; Del Valle 2004; Szejtli 2004] (Рис. 3b). По физическим свойствам в сухом состоянии ЦД представляют кристаллический порошок белого цвета. При температурах выше 200°C начинается их термическая деструкция и разрушение образованных с гидрофобными продуктами комплексов [Dodziuk 2006; Miranda *et al.* 2011; Das *et al.* 2013].

Рисунок 3. Ферментативный синтез циклодекстринов из крахмала (а) и типы синтезируемых циклодекстринов (b)

Figure 3. Enzymatic synthesis of cyclodextrins from starch (a) and types of synthesized cyclodextrins (b)



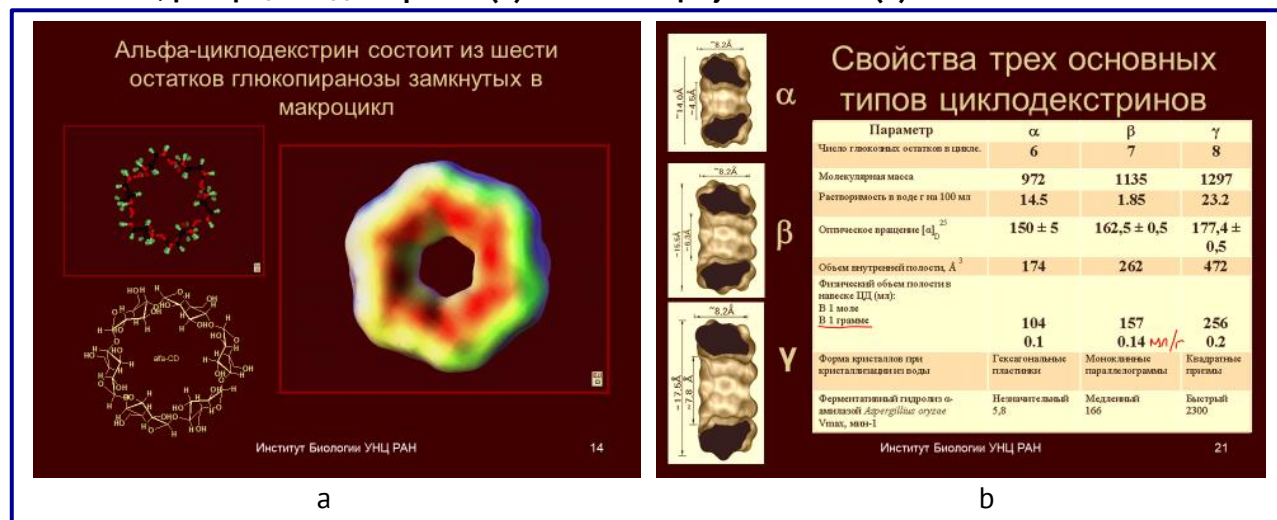
Циклические олигосахариды, полученные в результате биотехнологической конверсии крахмала, различаются по количеству остатков глюкозы в составе молекулы. В 1935 году обнаружили и изучили γ -циклодекстрин [Larsen 2002; Szejtli 2004]. В течение последних десятилетий были выделены в чистом виде и охарактеризованы δ -, ϵ -, ζ -, η -, θ -ЦД. По количеству остатков глюкозы, в составе структурно упорядоченных молекул циклодекстринов, кроме верхнего предела существует и нижнее ограничение. Молекула циклодекстрина не может быть сформирована менее чем 6 остатками глюкопиранозы за счет стерических затруднений (Рис. 3b) [Loftsson, Brewster 1996; Larsen 2002; Del Valle 2004; Szejtli 2004].

В сухом состоянии ЦД имеют вид белого кристаллического порошка. У наиболее изученных α -, β - и γ -циклодекстринов известны значения температуры плавления, которые находятся в диапазоне 240–265°C [Loftsson, Brewster 1996]. При температуре свыше 200°C эти соединения теряют стабильность и подвергаются термической деструкции [Dodziuk 2006; Miranda *et al.* 2011; Das *et al.* 2013]. Физическо-химические свойства α -, β - и γ -циклодекстринов представлены на Рис. 4. Растворимость ЦД в воде ограничивается относительно сильными внутримолекулярными водородными связями в кристаллической решетке [Szejtli 2004]. Самой низкой растворимостью среди всех природных циклодекстринов обладает β -циклодекстрин (Рис. 4b).

На Рис. 4 представлены некоторые физико-химические характеристики трех наиболее изученных циклодекстринов. На Рис. 4а приведена схематическая структура строения циклического декстрина. Особенность его строения заключается в том, что молекула имеет гидрофильную внешнюю поверхность, но внутренняя полость гидрофобна и способна взаимодействовать с липофильными веществами, формируя с ними довольно прочный комплекс включения. Растворимость ЦД в воде (Рис. 4b) ограничивается относительно сильными внутримолекулярными водородными связями, что несколько ограничивает их возможности в реакциях комплексообразования. Тем не менее, пространственная геометрия строения молекул ЦД позволяет образовывать комплексы включения и с нейтральными газообразными веществами, а также, методами механохимии, и с сухими веществами, например, каротиноидами [Szejtli 2004].

Рисунок 4. Особенности строения α -циклодекстрина (а) и физико-химические свойства α -, β - и γ -циклодекстринов (б)

Figure 4. Structural features of α -cyclodextrin (a) and physical and chemical properties of α -, β - and γ -cyclodextrins (b)



Стабильность этих комплексов основана на нековалентных связях и дает возможность высвобождения включенного соединения в определенных физиологических условиях, что позволяет их использовать для целевой доставки фармацевтических веществ [Frömming, Szejtli 1994]. Согласно результатам исследований, при кристаллизации циклодекстринов из водных растворов, с внешней гидрофобной поверхностью молекулы остаются связанными молекулы воды [Sabadini et al. 2006]. В результате встраивания в полость молекулы ЦД гидрофобных веществ растворимость комплекса изменяется [Frömming, Szejtli 1994; Das et al. 2013]. Способность ЦД образовывать комплексы с молекулами других веществ, обусловлена соответствием гидрофобной части молекулы включения формам и размерам внутренней полости [Dardeer 2014]. В результате образования комплекса типа «гость-хозяин» возникает энергетически более выгодное и стабильное состояние обоих компонентов [Miranda et al. 2011]. Этот процесс требует определенного времени для образования устойчивых нековалентных связей с функциональными группами внутренней полости молекул циклодекстринов [Frömming, Szejtli 1994; Del Valle 2004; Flasiński et al. 2010]. Наноструктуры комплексов на основе ЦД могут быть получены различными способами, включая сорастирание, соосаждение, сухого вымешивания, герметичного нагревания, комплексообразования в пастообразном состоянии, распылительной сушки, заморозки, испарения растворителя в зависимости от физико-химических свойств включаемого вещества [Miranda et al. 2011; Rajendra Kumar et al. 2013; Das et al. 2013]. Однако, для образования таких комплексов необходимо наличие хотя бы следовых количеств воды [Del Valle 2004]. Образовавшиеся комплексы с веществами различных органических и неорганических соединений, после их дегидратации, способны храниться длительное время [Marques 2010].

В процессе кристаллизации ЦД из водных растворов, молекулы воды активно включаются в полость тора, а также присутствуют в кристаллической структуре вещества, связываясь с внешней поверхностью молекул. Количество молекул воды ассоциированных с 1 молекулой циклодекстрина составляет: для α -ЦД – 6.2 молекул, для β -ЦД – 9.6 молекул, для γ -ЦД – 14.2 молекул воды [Sabadini et al. 2006]. Как видно из Рис. 5, при образовании комплексов включения происходит вытеснение молекул воды из полостей тора ЦД в результате встраивания в нее молекулы вещества «гостя» [Frömming, Szejtli 1994]. Комплексы включения могут обладать большей растворимостью в воде, чем интактные ЦД, при условии, что молекулы вещества «гостя» хорошо растворимы в воде. И, напротив, при образовании комплексов включения с гидрофобными молекулами вещества «гостя», растворимость ЦД в воде может уменьшаться [Das et al. 2013].

Получение комплексов циклодекстрина с биологически активными веществами и области их использования

Комплексообразование ЦД с молекулами комплементарных веществ существенно изменяет реакционную способность последних. Так, например, предотвращаются их окисление кислородом или воздействием света, а также деградация микроорганизмами [Dodziuk 2006]. Данное свойство комплексов включения разнообразных веществ с ЦД открывает возможность их широкого применения в пищевом, косметическом производствах и фармацевтике. В настоящее время использование циклодекстринов в пищевом производстве и фармацевтическом применении разрешено в ряде развитых стран, в том числе в России и Беларуси (Решение Совета ЕАК от 21.02.2025 № 18 «О внесении изменений в требования к инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата и общей характеристике лекарственного препарата для медицинского применения»).

В Белорусском государственном университете в лаборатории прикладных проблем биологии с энтузиазмом взялись за разработку технологии получения нанокмплесков ЦД с различными биологически активными веществами (далее БАВ) природного происхождения. В первую очередь провели эксперименты с использованием ЦД в качестве экстрагентов. Водные экстракты из трав лекарственных растений - душицы обыкновенной *Origanum vulgare*, Melissa лекарственной *Melissa officinalis*, эхинации пурпурной *Echinacea purpurea*, шалфея *Salvia officinalis* и тимьяна *Thymus* spp. широко используются в качестве лечебно-профилактических средств. При получении экстрактов БАВ из этих лечебных растений важно учитывать не только общий выход экстрактивных веществ, но и способность растворителя направленно извлекать отдельные классы соединений. Анализ составов экстрактов лекарственных трав, полученных водной экстракцией и с использованием раствора β -ЦД 1% масс. показал, что использование ЦД в качестве экстрагента приводит к селективному выделению различных групп метаболитов, которые не содержатся в водном экстракте. В частности, наиболее эффективно проходила экстракция монотерпеновых фенолов и терпеноидов, а также отдельных фенилпропаноидов, липофильных жирных кислот и стерольных компонентов. Полученные результаты подтверждают, что водный раствор β -ЦД является перспективным «зеленым» экстрагентом для направленного извлечения биоактивных соединений из трав лекарственных растений при разработке фитопрепаратов и ингредиентов для функционального питания [Kurchenko et al. 2022; Lodygin et al. 2024; Головач и др. 2025].

Тот факт, что ЦД являются продуктами ферментативно модифицированного крахмала, открывает широкие возможности их применения в пищевой промышленности, в первую очередь для улучшения потребительских качеств продуктов: повышения питательной ценности, вкусовых качеств, реологических свойств, увеличения срока сохранности. ЦД можно использовать в пищевом производстве для сохранения или модификации цвета и органолептических свойств продуктов питания. Эти макроциклические соединения способны образовывать комплексы включения с молекулами жирных кислот, пряно-ароматических соединений, пищевых красителей, витаминов и пр. [Dodziuk 2006; Marques 2010]. Разрешение на использование ЦД в пищевой промышленности в качестве добавок к пищевым продуктам имеется во многих странах, в том числе Франции, Нидерландах, Бельгии и др.

Получение комплексов ЦД с отдельными витаминами

Витамины группы D являются жирорастворимыми и практически не растворимы в воде, что является препятствием для их усвоения. Витамин B₁₂ характеризуется самым сложным строением. Его основой является корриновое кольцо, в которое включен ион кобальта. Выяснилось, что взаимодействие с молекулами ЦД возможно образование клатратов этих витаминов, что значительно увеличивает их биодоступность. В отличие от молекулярных комплексов включения, клатраты формируются в гетерогенных системах (Рис. 5).

Исследования, проведенные в Белорусском государственном университете, позволили разработать метод получения клатратов витаминов D₂, D₃ и B₁₂ с β -ЦД. Методами ИК-спектроскопии было установлено, что клатраты витаминов с β -ЦД формируются при их мольном соотношении 1:4 [Курченко и др. 2021].

Рисунок 5. Примеры образования клатратов ЦД с различными по физико-химическим свойствам веществами

Figure 5. Examples of the formation of CD clathrates with substances of different physico-chemical properties



Получение клатратов ЦД с эфирными маслами

Комплексообразование эфирных масел пряных растений с циклодекстринами позволяет пролонгировать запах, маскирует горький привкус, и сохраняет аромат при длительном хранении. Методом сорастирания эфирных масел гвоздики, кардамона и мускатного ореха с β -ЦД с добавлением небольшого количества воды, были получены клатраты и изучены их характеристики. При соотношении ЦД:эфирное масло 1:1 масс. содержание эфирного масла гвоздики в клатратах составило 27.8%, кардамона 17.1%, мускатного ореха 22.0%. Вероятно, это связано с различиями в составе терпеновых соединений. Полученные комплексы включения β -ЦД с эфирными маслами мускатного ореха, кардамона и гвоздики были исследованы с использованием ГХ-МС. В результате проведенных анализов выяснилось, что основными компонентами таких клатратов, как мускатного ореха, так и кардамона и гвоздики являются спирты и эфиры терпеновых соединений. Данные биологически активные соединения способствуют улучшению аппетита и процессов пищеварения, что создает возможность их использования в кондитерских изделиях и напитках [Тарасова и др. 2017a, b, c].

Использование ЦД для получения ранозаживляющих комплексов с куркуминоидами

Известно, что куркуминоиды, обладают рядом полезных свойств, в т.ч. иммунофармакологическими и средств, нормализующих деятельность микрофлоры ЖКТ [Гизингер и др. 2018, 2019]. Кроме того, благодаря их антиоксидантным и генопротекторным свойствам, они могут быть использованы и в ранозаживляющей терапии. Представляло интерес получить препараты комплексов ЦД с куркуминоидами, чтоб обеспечить их постепенное выделение в область раны. Комплексы (клатраты) получали способом соиспарения и последующей лиофилизации в двух соотношениях куркуминоид:ЦД 1:2 и 1:4 масс. Как следует из результатов испытаний их эффективности на моделях лоскутной раны кожи, к 21 дню эксперимента в контроле, без лечения, сохранялся глубокий раневый дефект с нагноением. Напротив, при применении препарата на основе клатрата куркуминоидов с ЦД, наблюдалось безрубцовое заживление, то есть процесс регенерации шел в сторону восстановления первоначального строения кожи [Капустин и др. 2020, 2025; Kapustin et al. 2022, 2023].

Использование ЦД для снижения неприятных вкусовых ощущений в молочных продуктах для детского питания

Для питания детей, лишенных грудного вскармливания, используются смеси, содержащие белки сыворотки коровьего молока, которые могут вызывать аллергические реакции у младенцев. Для снижения их аллергенного потенциала они подвергаются ферментативному гидролизу. В результате происходит расщепление их антигенных детерминант, вызывающих синтез иммуноглобулинов Е, которые обуславливают аллергическую реакцию организма ребенка. При ферментации белков молочной сыворотки алкалазой были получены глубокие гидролизаты, содержащие гипоаллергенные пептиды, однако они обладали неприятным горьким вкусом. Это обусловлено наличием в продуктах гидролиза специфических аминокислот, входящих в пептиды, в первую очередь фенилаланина, триптофана, тирозина, изолейцина, пролина и гистидина. Согласно данным ВЭЖХ и масс-спектрометрии, гидролизат белков сыворотки содержал значительную фракцию полипептидов с Mw менее 10 кДа. Согласно данным ВЭЖХ и масс-спектрометрии, гидролизат белков сыворотки содержал значительную фракцию полипептидов с Mw менее 10 кДа. Для экранирования воздействия вышеназванных аминокислот, входящих в состав таких пептидов, был испытан способ получения комплексов или клатратов с такими пептидами. Методами нагревания гидролизатов в смеси с β -ЦД до 50°C, последующего охлаждения и лиофилизации, были получены и охарактеризованы их клатраты. При содержании β -ЦД 5% и пептидов 5% в реакционной смеси, уровень горечи сформированных клатратов достигал минимального значения согласно тестам (ГОСТ ISO 8587, ГОСТ ISO 8588, ГОСТ ISO 10399). Образование комплексов продуктов протеолиза белков сыворотки коровьего молока с β -ЦД подтверждено данными термогравиметрического анализа. Клатраты, сформированные с молекулами β -ЦД алкалазой не несут антигенных детерминант, вызывающих аллергическую реакцию, и могут быть использованы при разработке продуктов детского питания [Halavach et al. 2021, 2023; Курченко и др. 2023].

Послесловие

Суть настоящего краткого обзора состоит в том, что непосредственное участие в работе научных конференций, общение с их участниками, обмен опытом, знаниями и идеями с ведущими учеными той или иной отрасли науки, способствует возможному дальнейшему развитию фундаментальных и прикладных исследований в том или данном направлении. Николай Глебович Усанов был очень увлечен уникальными свойствами молекул ЦД, но в СССР и в России вообще отсутствовало производство данных продуктов, как и не было штаммов-продуцентов циклодекстринов глюканотрансфераз (ЦГТаз). Ему, вместе со своим учеником Олегом Николаевичем Логиновым, удалось разработать методику изоляции микроорганизмов-продуцентов ЦГТаз [Усанов и др. 1990, 1992a], выделить из различных природных источников микроорганизмы, обладающие ЦГТ-азной активностью и создать первую в РФ коллекцию микроорганизмов, пригодных к использованию в биотехнологических процессах [Усанов и др. 1992b, 2005, 2008]. В сложные годы начала 90-х годов прошлого столетия по его инициативе была сконструирована опытная установка по производству ЦД от наработки фермента, ферментализации крахмала и получения кристаллов β -ЦД. На этот процесс были разработаны и утверждены соответствующие ТУ, а впервые в России наработанные 300 кг циклодекстринов, были переданы во ВНИИ витаминов (г. Москва). Однако дальнейшая судьба их использования, как и дальнейшая судьба этого ВНИИ неизвестны.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гизингер О.А., Симонян Е.В., Хисамова А.В. (2018) Исследование иммунофармакологических свойств лекарственного средства с метионином и экстрактом куркумы *in vitro*. *Российский иммунологический журнал*. **12(21)**(3): 238–241. <https://doi.org/10.31857/S102872210002388-1> EDN: YYCPFR
- Гизингер О.А., Симонян Е.В., Хисамова А.А. (2019) Способ получения лекарственного средства с метионином и экстрактом куркумы в виде гранул с кишечнорастворимым покрытием системного действия. Патент № RU 2684111 С1.
- Головач Т.Н., Курченко В.П., Казимиров А.Д., Григорян Р.Э., Гарибян Л.В., Лодыгин А.Д. (2025) Оценка эффективности экстракции биоактивных соединений из травы эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) с применением циклодекстрина и белков молочной сыворотки. *Новости медико-биологических наук*. **25**(3): 240–247. EDN: FIPPOC
- Капустин М.А., Чубарова А.С., Евдокимов И.А., Лодыгин А.Д., Лодыгина С.В., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Курченко В.П. (2020) Получение нанокомплексов куркуминоидов с циклодекстринами и характеристика их структурно-функциональных свойств. *Современная наука и инновации*. (3): 105–114. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2020.3.13> EDN: YZHDX
- Капустин М.А., Чубарова А.С., Лодыгин А.Д., Ржепаковский И.В., Дудчик Н.В., Цыганков В.Г., Курченко В.П. (2025) Технология получения нанокомплексов куркуминоидов с циклодекстринами, исследование их свойств и биологической активности. *Экспериментальная биология и биотехнология*. (1): 24–39. EDN: TEKSDO
- Курченко В.П., Головач Т.Н., Сушинская Н.В., Шрамко М.И., Алиева Л.Р., Лодыгин А.Д., Евдокимов И.А. (2023) Использование полисахаридов для снижения горького вкуса гипоаллергенных пептидов гидролизата белков сыворотки молока. *Молочная промышленность*. (3): 28–31. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2023-03-28-31> EDN: IUNAF
- Курченко В.П., Симоненко Е.С., Головач Т.Н., Майорова К.И., Цыганков В.Г., Симоненко С.В. (2021) Нанокомплексы β -циклодекстрина с жирорастворимыми витаминами и пептидами гидролизата белков молока для функциональных продуктов питания. *Пищевая промышленность*. (6): 43–48. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.6.6.016> EDN: TRNRAF
- Тарасова Ю.В., Лодыгина С.В., Лодыгин А.Д., Капустин М.А., Ризевский С.В., Буткевич Т.В., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Филонюк В.А., Курченко В.П. (2017a) Получение и свойства клатратов циклодекстрина с эфирным маслом бутонов гвоздики. В: *Молекулярно-генетические и биотехнологические основы получения и применения синтетических и природных биологически активных веществ (Нарочанские чтения - 11): материалы Международной научно-практической конференции. 20–23 сентября 2017 года*. Минск - Ставрополь: 120–125. EDN: ZISGWF
- Тарасова Ю.В., Лодыгина С.В., Лодыгин А.Д., Капустин М.А., Ризевский С.В., Буткевич Т.В., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Филонюк В.А., Курченко В.П. (2017b) Получение и свойства клатратов циклодекстрина с эфирным маслом кардамона. В: *Молекулярно-генетические и биотехнологические основы получения и применения синтетических и природных биологически активных веществ (Нарочанские чтения - 11): материалы Международной научно-практической конференции. 20–23 сентября 2017 года*. Минск - Ставрополь: 126–132. EDN: ZISGWP
- Тарасова Ю.В., Лодыгина С.В., Лодыгин А.Д., Капустин М.А., Ризевский С.В., Буткевич Т.В., Цыганков В.Г., Бондарук А.М., Филонюк В.А., Курченко В.П. (2017c) Получение и свойства клатратов циклодекстрина с эфирным маслом мускатного ореха. В: *Молекулярно-генетические и биотехнологические основы получения и применения синтетических и природных биологически активных веществ (Нарочанские чтения - 11): материалы Международной научно-практической конференции. 20–23 сентября 2017 года*. Минск - Ставрополь: 133–139. EDN: ZISGWZ

- Усанов Н.Г., Гильванова Е.А., Елизарьев П.А., Мелентьев А.И. (2005) Штамм бактерий *Paenibacillus campinasensis* - продуцент циклодекстринглюканотрансферазы. Патент № RU 2312135 С2.
- Усанов Н.Г., Гильванова Е.А., Мелентьев А.И., Курченко В.П. (2008) Свойства циклодекстринглюканотрансферазы *Paenibacillus illinoisensis* IB-1087. Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. **3**(2): 132–140. EDN: [WMDDMR](#)
- Усанов Н.Г., Логинов О.Н., Мелентьев А.И. (1990) Синтез циклодекстринглюканотрансфераз микроорганизмами, утилизирующими циклодекстрины в качестве единственного источника углерода. Доклады Академии наук СССР. **310**(6): 1489–1492. EDN: [VUMFOH](#)
- Усанов Н.Г., Логинов О.Н., Мелентьев А.И. (1992a) Способ выделения бактерий *Bacillus macerans* из почвы. Патент № SU 1703681 А1.
- Усанов Н.Г., Логинов О.Н., Мелентьев А.И. (1992b) Штамм бактерий *Bacillus* sp. - продуцент - циклодекстринтрансферазы. Патент № SU 1738852 А1. EDN: [MUXYUT](#)
- Crini G. (2014) Review: a history of cyclodextrins. *Chemical Reviews*. **114**(21): 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p> EDN: [UURIYP](#)
- Dardeer H.M. (2014) Importance of cyclodextrins into inclusion complexes. *International Journal of Advanced Research*. **2**(4): 414–428.
- Das S.K., Rajabalaya R., David S., Gani N., Khanam J., Nanda A. (2013) Cyclodextrins-the molecular container. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. **4**(2): 1694–1720. EDN: [YBTNVE](#)
- Del Valle E.M.M. (2004) Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. **39**(9): 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Dodziuk H. (ed.) (2006) Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications. Wiley-VCH. Weinheim: 489. <https://doi.org/10.1002/3527608982>
- Flasiński M., Broniatowski M., Majewski J., Dynarowicz-Łątka P. (2010) X-ray grazing incidence diffraction and Langmuir monolayer studies of the interaction of β -cyclodextrin with model lipid membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*. **348**(2): 511–521. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.086> EDN: [NWOVDB](#)
- Frömming K.-Heinz., Szejtli J. (1994) Cyclodextrins in pharmacy. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht: 224. <https://doi.org/10.1007/978-94-015-8277-3>
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N. V., Yatskou M.M., Lodygin A.D., Alieva L.R., Evdokimov I.A., Ulrih N.P. (2023) Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(18): 13987. <https://doi.org/10.3390/ijms241813987>
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tsygankow V.G., Bondaruk A.M., Tarun E.I., Asafov V.A. (2021) β -cyclodextrin nanocomplexes with biologically active peptides from hydrolysed bovine whey and colostrum. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **12**(6): 8502–8514. <https://doi.org/10.33263/BRIAC126.85028514> EDN: [BYGWWA](#)
- Kapustin M., Chubarova H., Tsygankow V., Lodigina S., Holodova E. (2022) Investigation of the acute, subacute and chronic toxicity of curcuminoids with native and hydroxypropylated β -cyclodextrin complex nanostructures. In: Kurchenko V., Lodygin A., Machado da Costa R.M., et al. (eds.) *Intelligent Biotechnologies of Natural and Synthetic Biologically Active Substances*. Springer International Publishing. Cham: 221–235. https://doi.org/10.1007/978-3-030-96641-6_26 EDN: [KONMJF](#)
- Kapustin M., Piskov S., Rzhepakovsky I., Chubarova H., Antonovich A. (2023) Wound healing activity of curcuminoids: β -cyclodextrin complex nanostructures. *AIP Conference Proceedings*. **2931**(1): 060007. <https://doi.org/10.1063/5.0177712>
- Kurchenko V., Halavach T., Sushynskaya N., Tarun E., Dudchik N., Tsygankow V., Evdokimov I., Lodygin A. (2022) Multicomponent composites of cyclodextrin nanocomplexes with biologically active substances for functional foods. *Food Processing: Techniques and Technology*. **52**(2): 375–389. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2370> EDN: [UALJNZ](#)

- Larsen K.L. (2002) Large cyclodextrins. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*. **43**(1-2): 1–13. <https://doi.org/10.1023/A:1020494503684> EDN: BCARGD
- Lodygin A., Khalanskaya D., Evdokimov I., Lodygina S., Garibyan L., Kurchenko V., Kapustin M., Chubarova H. (2024) Application of whey for plant biologically active substances extraction. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. **46**: 73–79.
- Loftsson T., Brewster M.E. (1996) Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **85**(10): 1017–1025. <https://doi.org/10.1021/js950534b> EDN: YAGPGL
- Loftsson T., Jarho P., Másson M., Järvinen T. (2005) Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. **2**(2): 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>
- Marques H.M.C. (2010) A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*. **25**(5): 313–326. <https://doi.org/10.1002/ffj.2019>
- Miranda J.C. de, Martins T.E.A., Veiga F., Ferraz H.G. (2011) Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **47**(4): 665–681. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400003>
- Rajendra Kumar A., Ashok K., Bonthagarala B., Nama S., Baburao Ch. (2013) The cyclodextrins: A review. *International journal of pharmaceutical research and bio-science*. **2**(2): 291-304. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Sreekanth-Nama-Dr/publication/255763196_The_cyclodextrins_A_review/links/00b49520a577a2445d000000/T-he-cyclodextrins-A-review.pdf? (Accessed: 05/12/2026)
- Sabadini E., Cosgrove T., Egídio F. do C. (2006) Solubility of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) in H₂O and D₂O: a comparative study. *Carbohydrate Research*. **341**(2): 270–274. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.11.004>
- Szejtli J. (2004) Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*. **76**(10): 1825–1845. <https://doi.org/10.1351/pac200476101825>

REFERENCES

- Gizinger O., Simonyan E., Khisamova A. (2018) Investigation of immunofarmacological properties of medicinal medicine with methyonine and extract of kurcum *in vitro*. *Russian Journal of Immunology*. **12**(21)(3): 238–241. <https://doi.org/10.31857/S102872210002388-1> EDN: YYCPFR (in Russian)
- Gizinger O.A., Simonyan E.V., Khisamova A.A. (2019) Method for preparing medicine with methionine and turmeric extract in granular type with intestinal sustainable coating of system action. Patent № RU 2684111 C1. (in Russian)
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Kazimirov A.D., Grigorian R.E., Garibian L.V., Lodygin A.D. (2025) Evaluation of the efficiency of bioactive compound extraction from the herb of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) using cyclodextrin and whey proteins. *News of biomedical sciences*. **25**(3): 240–247. (in Russian)
- Kapustin M.A., Chubarova A.S., Evdokimov I.A., Lodigin A.D., Lodigina S.V., Cigankov V.G., Bondaruk A.M., Kurchenko V.P. (2020) Preparation of nanocomplexes of curcuminoids with cyclodextrins and characteristics of its structural and functional properties. *Sovremennaya nauka i innovatsii*. (3): 105–114. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2020.3.13> EDN: YZHDX (in Russian)
- Kapustin M.A., Chubarova H.S., Lodygin A.D., Rzhepakovsky I.V., Dudchik N.V., Tsygankov V.G., Kurchenko V.P. (2025) Technology for nanocomplexes of curcuminoids with cyclodextrins production, investigation of their properties and biological activity. *Experimental Biology and Biotechnology*. (1): 24–39. EDN: TEKSDO (in Russian)
- Kurchenko V.P., Golovach T.N., Sushynskaya N.V., Shramko M.I., Alieva L.R., Lodygin A.D., Evdokimov I.A. (2023) The use of polysaccharides to reduce the bitter taste of hypoallergenic peptides of milk whey protein hydrolysate. *Dairy industry*. (3): 28–31. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2023-03-28-31> EDN: IUHAPF (in Russian)

- Kurchenko V.P., Simonenko E.S., Golovach T.N., Mayorova K.I., Tsygankov V.G., Symonenko S.V. (2021) Nanocomplexes of β -cyclodextrin with liposoluble vitamins and peptides of milk protein hydrolyzate for functional food products. *Food processing industry*. (6): 43–48. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.6.6.016> EDN: TRNRAF (in Russian)
- Tarasova Yu.V., Lodygina S.V., Lodygin A.D., Kapustin M.A., Rizevskiy S.V., Butkevich T.V., Tsygankov V.G., Bondaruk A.M., Filonyuk V.A., Kurchenko V.P. (2017a) Preparation and properties of cyclodextrin clathrates with clove bud essential oil [Poluchenie i svoystva klatratov tsiklodekstrina s efirnym maslom butonov gvozdiki]. In: *Molecular-genetic and biotechnological bases of obtaining and application of synthetic and natural biologically active substances (Naroch readings - 11): Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. 20–23 September 2017*. Minsk – Stavropol: 120–125. EDN: ZISGWF (in Russian)
- Tarasova Yu.V., Lodygina S.V., Lodygin A.D., Kapustin M.A., Rizevskiy S.V., Butkevich T.V., Tsygankov V.G., Bondaruk A.M., Filonyuk V.A., Kurchenko V.P. (2017b) Preparation and properties of cyclodextrin clathrates with cardamom essential oil [Poluchenie i svoystva klatratov tsiklodekstrina s efirnym maslom kardamona]. In: *Molecular-genetic and biotechnological bases of obtaining and application of synthetic and natural biologically active substances (Naroch readings - 11): Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. 20–23 September 2017*. Minsk – Stavropol: 126–132. EDN: ZISGWP (in Russian)
- Tarasova Yu.V., Lodygina S.V., Lodygin A.D., Kapustin M.A., Rizevskiy S.V., Butkevich T.V., Tsygankov V.G., Bondaruk A.M., Filonyuk V.A., Kurchenko V.P. (2017c) Preparation and properties of cyclodextrin clathrates with nutmeg essential oil [Poluchenie i svoystva klatratov tsiklodekstrina s efirnym maslom muskatnogo orekha]. In: *Molecular-genetic and biotechnological bases of obtaining and application of synthetic and natural biologically active substances (Naroch readings - 11): Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. 20–23 September 2017*. Minsk – Stavropol: 133–139. EDN: ZISGWZ (in Russian)
- Usanov N.G., Gil'vanova E.A., Elizar'ev P.A., Melent'ev A.I. (2005) Strain of bacterium *Paenibacillus campinasensis* campinasensis as producer of cyclodextringlucanotransferase. Patent № RU 2312135 C2. (in Russian)
- Usanov N.G., Gilvanova E.A., Melentev A.I., Kurchenko V.P. (2008) Properties of cyclodextringlucanotransferase *Paenibacillus illinoisensis* IB-1087. *Proceedings of the Belarusian State University. Physiological, biochemical and molecular bases of functioning of Biosystems*. 3(2): 132–140. EDN: WMDDMR (in Russian)
- Usanov N.G., Loginov O.N., Melent'ev A.I. (1990) Synthesis of cyclodextringlucanotransferases by microorganisms utilizing cyclodextrins as sole carbon source. *Doklady Akademii nauk SSSR*. 310(6): 1489–1492. EDN: YUMFOH (in Russian)
- Usanov N.G., Loginov O.N., Melentev A.I. (1992a) Method of isolating *Bacillus macerans* bacteria from soil. Patent № SU 1703681 A1. (in Russian)
- Usanov N.G., Loginov O.N., Melentiev A.I. (1992b) Bacterial strain *Bacillus* sp. – producer of cyclodextrin transferase. Patent № SU 1738852 A1. EDN: MUXYUT (in Russian)
- Crini G. (2014) Review: a history of cyclodextrins. *Chemical Reviews*. 114(21): 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p> EDN: UURIYP
- Dardeer H.M. (2014) Importance of cyclodextrins into inclusion complexes. *International Journal of Advanced Research*. 2(4): 414–428.
- Das S.K., Rajabalaya R., David S., Gani N., Khanam J., Nanda A. (2013) Cyclodextrins-the molecular container. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 4(2): 1694–1720. EDN: YBTNVE
- Del Valle E.M.M. (2004) Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. 39(9): 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Dodziuk H. (ed.) (2006) Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications. Wiley-VCH. Weinheim: 489. <https://doi.org/10.1002/3527608982>

- Flasiński M., Broniatowski M., Majewski J., Dynarowicz-Łątka P. (2010) X-ray grazing incidence diffraction and Langmuir monolayer studies of the interaction of β -cyclodextrin with model lipid membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*. **348**(2): 511–521. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.086> EDN: NWOVDB
- Frömming K.-Heinz., Szejtli J. (1994) Cyclodextrins in pharmacy. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht: 224. <https://doi.org/10.1007/978-94-015-8277-3>
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N. V., Yatskou M.M., Lodygin A.D., Alieva L.R., Evdokimov I.A., Ulrih N.P. (2023) Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(18): 13987. <https://doi.org/10.3390/ijms241813987> EDN: CMHNFZ
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tsygankow V.G., Bondaruk A.M., Tarun E.I., Asafov V.A. (2021) β -cyclodextrin nanocomplexes with biologically active peptides from hydrolysed bovine whey and colostrum. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **12**(6): 8502–8514. <https://doi.org/10.33263/BRIAC126.85028514> EDN: BYGWWA
- Kapustin M., Chubarova H., Tsygankow V., Lodigina S., Holodova E. (2022) Investigation of the acute, subacute and chronic toxicity of curcuminoids with native and hydroxypropylated β -cyclodextrin complex nanostructures. In: Kurchenko V., Lodygin A., Machado da Costa R.M., et al. (eds.) *Intelligent Biotechnologies of Natural and Synthetic Biologically Active Substances*. Springer International Publishing. Cham: 221–235. https://doi.org/10.1007/978-3-030-96641-6_26 EDN: KONMJF
- Kapustin M., Piskov S., Rzhepakovsky I., Chubarova H., Antonovich A. (2023) Wound healing activity of curcuminoids: β -cyclodextrin complex nanostructures. *AIP Conference Proceedings*. **2931**(1): 060007. <https://doi.org/10.1063/5.0177712>
- Kurchenko V., Halavach T., Sushynskaya N., Tarun E., Dudchik N., Tsygankow V., Evdokimov I., Lodygin A. (2022) Multicomponent composites of cyclodextrin nanocomplexes with biologically active substances for functional foods. *Food Processing: Techniques and Technology*. **52**(2): 375–389. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2370> EDN: UALJNZ
- Larsen K.L. (2002) Large cyclodextrins. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*. **43**(1-2): 1–13. <https://doi.org/10.1023/A:1020494503684> EDN: BCARGD
- Lodygin A., Khalanskaya D., Evdokimov I., Lodygina S., Garibyan L., Kurchenko V., Kapustin M., Chubarova H. (2024) Application of whey for plant biologically active substances extraction. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. **46**: 73–79.
- Loftsson T., Brewster M.E. (1996) Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **85**(10): 1017–1025. <https://doi.org/10.1021/js950534b> EDN: YAGPGL
- Loftsson T., Jarho P., Másson M., Järvinen T. (2005) Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. **2**(2): 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>
- Marques H.M.C. (2010) A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*. **25**(5): 313–326. <https://doi.org/10.1002/ffj.2019>
- Miranda J.C. de, Martins T.E.A., Veiga F., Ferraz H.G. (2011) Cyclodextrins and ternary complexes: technology to improve solubility of poorly soluble drugs. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **47**(4): 665–681. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400003>
- Rajendra Kumar A., Ashok K., Bonthagarala B., Nama S., Baburao Ch. (2013) The cyclodextrins: A review. *International journal of pharmaceutical research and bio-science*. **2**(2): 291–304. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Sreekanth-Nama-Dr/publication/255763196_The_cyclodextrins_A_review/links/00b49520a577a2445d000000/The-cyclodextrins-A-review.pdf? (Accessed: 05/12/2026)
- Sabadini E., Cosgrove T., Egídio F. do C. (2006) Solubility of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) in H₂O and D₂O: a comparative study. *Carbohydrate Research*. **341**(2): 270–274. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.11.004>

Szejtli J. (2004) Past, present and futute of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*. **76**(10): 1825–1845. <https://doi.org/10.1351/pac200476101825>

Цитировать как

Мелентьев А.И., Курченко В.П. (2026). Получение и применение биологически активных наноконплексов циклодекстринов. *Экобиотех.* **9**(3): 308-320. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-23> EDN: <https://www.elibrary.ru/xznrfq>

Сведения об авторах

Александр Иванович Мелентьев, доктор биологических наук, профессор, Уфимский Федеральный Исследовательский Центр РАН, Уфа, Россия. E-mail: mlnt@anrb.ru. SPIN-код: 1765-5774, WoS Research ID: P-3862-2015, ORCID: 0000-0003-1166-602X, Scopus Author ID: 8579144700.

Владимир Петрович Курченко, к.б.н., доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: kurchenko@bsu.by. SPIN-код: 6118-6385, WoS Researcher ID: AAC-6642-2022, ORCID: 0000-0002-4859-2389, Scopus Author ID: 6603704011.

Cited as

Melentyev A.I., Kurchenko V.P. (2026). Preparation and application of cyclodextrin complexes with biologically active substances. *Ecobiotech.* **9**(3): 308-320. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-23> EDN: <https://www.elibrary.ru/xznrfq>

Information About the Authors

Alexander I. Melentyev, Doctor in Biological Sciences, Professor, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: mlnt@anrb.ru. SPIN-код: 1765-5774, WoS Research ID: P-3862-2015, ORCID: 0000-0003-1166-602X, Scopus Author ID: 8579144700.

Vladimir P. Kurchenko, PhD, Associate Professor, Head of the Research Laboratory of Applied Biology, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: kurchenko@bsu.by. SPIN-код: 6118-6385, WoS Researcher ID: AAC-6642-2022, ORCID: 0000-0002-4859-2389, Scopus Author ID: 6603704011.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 619:579.62:636.084.1:57.084.1:639.3.05



Научная статья | RESEARCH ARTICLE

ЦИКЛОДЕКСТРИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ КАК СИСТЕМА ДОСТАВКИ АНТИБИОТИКОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Поддубная И.В.^{1*}, Урядова Г.Т.^{1,2}, Руднева О.Н.¹,
Зименс Ю.Н.¹, Гуркина О.А.¹

¹ Саратовский государственный университет генетики,
биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова,
Саратов, Россия

² Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского, Саратов, Россия

*E-mail: poddubnayaiv@yandex.ru

CYCLODEXTRIN COMPLEXES AS A DELIVERY SYSTEM FOR ANTIBIOTICS IN AQUACULTURE

Poddubnaya I.V.^{1*}, Uryadova G.T.^{1,2}, Rudneva O.N.¹,
Ziemens Y.N.¹, Gurkina O.A.¹

¹ Saratov State University of Genetics, Biotechnology
and Engineering named after N.I. Vavilov,
Saratov, Russia

² Saratov State Medical University named
after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

*E-mail: poddubnayaiv@yandex.ru

Аннотация

В научной статье представлены результаты без-инъекционного введения левофлоксацина в составе малорастворимых циклодекстриновых комплексов в оболочке из силикагеля, энтеросгеля или хитозана, которые использовались для создания лечебных и профилактических кормов для заживления резаных ран кожных покровов ценных промысловых рыб. Количественная оценка микробной нагрузки на поверхности раны, а также определение общего микробного числа, доли молочнокислых бактерий и молекулярно-генетическое исследование состава и численности микробиома задней кишки рыб методом qPCR продемонстрировали наибольшую эффективность комплексов силикагель-β-циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина и энтеросгель-β-циклодекстрин с 20% и 15% для заживления ран гидробионтов. К концу наблюдений микрофлора толстого кишечника рыб характеризуется уверенным восстановлением и многократным увеличением числа молочнокислых бактерий и пептострептококков, регулирующих восстановительные и иммунные процессы. Использование силикагель-β-циклодекстрин и энтеросгель-β-циклодекстрин перспективно для адресной доставки левофлоксацина, поскольку позволяет повысить биодоступность антибиотика, снизить его негативное влияние на организм рыб и экосистему, а также уменьшить риски развития устойчивости бактерий.

Ключевые слова:

рыбы, β-циклодекстрин, силикагель, энтеросгель, хитозан, левофлоксацин, микрофлора ран, микрофлора толстого кишечника, молочнокислые бактерии

Abstract

This scientific article presents the results of non-injection administration of levofloxacin as part of poorly soluble cyclodextrin complexes with a silica gel, enterosgel, or chitosan matrix, which were used to create therapeutic and preventive feeds for healing incised wounds of the skin of valuable commercial fish. Quantitative assessment of the microbial load on the surface of the wound, determination of the total microbial count, the proportion of lactic acid bacteria, and a molecular genetic study of the composition and abundance of the microbiome of the hindgut of fish using the qPCR method demonstrated the greatest effectiveness of silica gel-β-cyclodextrin complexes with a 20% content of levofloxacin and enterosgel-β-cyclodextrin with 20% and 15% for wound healing hydrobionts. By the end of the observations, the microflora of the large intestine of fish is characterized by a confident recovery and a multiple increase in the number of lactic acid bacteria and peptostreptococci, which regulate recovery and immune processes. The use of silica gel-β-cyclodextrin and enterosgel-β-cyclodextrin is promising for the targeted delivery of levofloxacin because it increases the bioavailability of the antibiotic, reduces its negative impact on the fish body and the ecosystem, and reduces the risks of developing bacterial resistance.

Keywords:

fish, β-cyclodextrin, silica gel, enterosgel, chitosan, levofloxacin, wound microflora, colon microflora, lactic acid bacteria

Поступила в редакцию: 30.05.2026

Принято в печать: 12.08.2026

Цитировать | Cite as

Received: 30.05.2026

Accepted: 12.08.2026

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-24>

EDN: <https://www.elibrary.ru/cfbysu>

ВВЕДЕНИЕ

Проблема антибиотикорезистентности ставит перед мировым сообществом задачу по созданию растворимых, высокостабильных и нетоксичных препаратов, способных преодолеть устойчивость бактерий (в том числе за счет эффективного воздействия на бактериальные биопленки).

Для решения этого вопроса проводится разработка циклодекстриновых систем с антибиотиками и при этом учитывается возможное изменение свойств препарата в сравнении с простым комплексом [Le-Deygen *et al.* 2017; Skuredina *et al.* 2021; Boczar, Michalska 2022]. Особую важность приобретают исследования по использованию циклодекстринов в ветеринарии, и особенно аквакультуре.

На сегодняшний день циклодекстрины исследуются для точечной доставки и повышения активности антибиотиков различных классов у ряда животных. Так, в исследовании Agnes Marco [Marco 2020] антибиотик пенициллинового ряда (β -лактам) – оксациллин – надежно защищен модифицированным γ -ЦД с присоединенным цистеамином (GCYS) от гидролиза ферментом *E. coli* β -лактамазой. Также этот комплекс способен проникать через клеточные стенки макрофагов, обеспечивая доставку препарата. Дальнейшие эксперименты на биопленках *Staphylococcus epidermidis* не показали значимых различий между комплексом и монотерапией оксациллином. Но при этом другой созданный исследователями комплекс диметил- β -ЦД (DIMEB) с рифампицином, относящимся к ансамицинам, снижал жизнеспособность биопленок в 100 раз эффективнее одного рифампицина [Thomsen *et al.* 2020].

Еще один представитель β -лактамов – амоксициллин – стабилизирован и защищен от кислотной деструкции модифицированным β -ЦД с углеводными и мочевиными группами, что вызывает хемотаксис *Helicobacter pylori* и позволяет препарату прикрепляться к поверхности бактерии [Tsutsumi *et al.* 2011]. Подобная аффинность к бактериям позволяет использовать более низкие концентрации антибиотика, что особенно важно для гидробионтов, предназначенных для употребления в пищу, для снижения риска формирования антибиотикорезистентности.

Относительно препаратов тетрациклинового ряда – доксициклина, миноциклина и тетрациклина – Asadian M. и Kiani-Anbouhi R. установили наиболее стойкое образование с γ - и β -ЦД, а самое нестабильное – с α -ЦД. Исследователи предлагают использовать это для создания систем удаления этих антибиотиков из окружающей среды, в том числе и из воды, куда антибиотические препараты попадают с испражнениями гидробионтов [Asadian, Kiani-Anbouhi 2025a]. В продолжение своей работы ученые также разработали устойчивые комплексы макролидов кларитромицина и азитромицина с γ -ЦД [Asadian, Kiani-Anbouhi 2025b].

Еще один представитель тетрациклинов – хлортетрациклин – в комплексе с гидроксипропил- β -ЦД (HP- β -ЦД) показал более высокую антибактериальную активность *in vivo* на цыплятах, особенно против *Pseudomonas aeruginosa*, что может быть перспективным для ветеринарии и аквакультуры [Zhang *et al.* 2025].

Ряд антибиотиков изначально имеет низкую растворимость в воде, что создает затруднения при использовании в ветеринарии, но имеет преимущество для рыбоводства. Эти антибиотики были включены в структуру ЦД для большей усвояемости: например, γ -циклодекстрин, полученный с помощью технологии сверхкритического диоксида углерода, увеличил растворимость макролидида тилмикозина в 57 раз, что вдвое увеличило биодоступность антибиотика для поросят [Ding *et al.* 2022]. В животноводстве широко используются триметоприм и хлортетрациклин, но их низкая растворимость снижает эффективность, а созданные комплексы с гидроксипропил- β -циклодекстрином (HP- β -ЦД) характеризуются высокой биодоступностью и наибольшим лечебным эффектом, чем терапия антибиотиком, для кроликов и цыплят [Ding *et al.* 2025; Zhang *et al.* 2025]. А исследования на собаках комплексов триметоприма с метил- β -циклодекстрином (М- β -CD) и гидроксипропил- β -циклодекстрином (HP- β -CD) показали увеличение растворимости препарата до 2600 раз, увеличение концентрации в плазме и общей биодоступности более, чем вдвое [Ding *et al.* 2025]. В качестве эффективного противогрибкового, антибиотического и противоракового препарата предложен комплекс гризеофульвина с HP- γ -циклодекстрином, усиленного сверхкритическим диоксидом углерода, который также был исследован перорально на собаках [Ding *et al.* 2023].

Новый антибиотик этанамизурил, обладающий широким спектром действия и высокой безопасностью, использующийся в качестве антикокцидийного препарата, в комплексах с β - и HP- β -циклодекстринами продемонстрировал большую растворимость и доступность, что открывает путь к созданию жидких лекарственных форм для выпаивания птицы [Guo *et al.* 2024].

При разведении и выращивании карпов исследовался β -циклодекстрин (DA- β -CD), содержащий антимикробный (антипротозойный) препарат диминазен ацетурат, который вводился в организм рыб с кормом. Данный комплекс снижал степень инвазии паразита *Ichthyophthirius multifiliis* и уменьшал размер трофонтов паразита, представляя собой эффективную альтернативу лечебным ваннам [Lupu *et al.* 2001].

Известен комплекс с левофлоксацином, возможно, перспективный для использования в аквакультуре [Xiao *et al.* 2026]. Для контролируемого высвобождения антибиотиков, повышения их биодоступности и снижения потенциального токсического побочного эффекта была разработана система на основе тиолированного β -циклодекстрина, сшитого между тиольными и алкеновыми

группами, и инкапсулированного левофлоксацина. Высвобождение антибиотика регулируется маркером воспаления глутатионом (GSH), который запускает дисульфидно-тиольный обмен, приводящий к распаду шитой структуры циклодекстрина. Исследователи подтвердили хорошую биосовместимость системы и ее нетоксичность, а антибактериальные тесты показали, что стимуляция глутатионом повышает антибактериальную эффективность данного комплекса.

Известно, что у бактерий, выделенных из рыб, широко распространена резистентность к антибиотикам [Orozova *et al.* 2010; Ferri *et al.* 2022; Bondad-Reantaso *et al.* 2023], поэтому изыскание новых антимикробных веществ и создание малорастворимых комбинированных препаратов, которые бы можно было использовать для точной доставки лекарственных средств в организм рыб и применять их не только для лечения, но и для профилактики заболеваний, является актуальным.

Антибиотики для лечения и профилактики бактериальных заболеваний вводят в организм рыб с помощью лечебных ванн, инъекций или с кормами перорально [Головина *и др.* 2016; Okocha *et al.* 2018]. Инфекционные осложнения часто возникают у рыбы вследствие механических повреждений, особенно в условиях промышленного рыбоводства. У рыб, как и других живых организмов, также могут возникать механические травмы наружных покровов, например, имеет место быть травматизация при перевозке, сортировке в процессе выращивания [Шульга *и др.* 2009]. Имеются немногочисленные сведения о применении пробиотиков и антибиотиков для лечения инфекций [Okocha *et al.* 2018], в том числе ран [Шульга *и др.* 2009] и паразитарных язв [Хорошелецева *и др.* 2021] на коже рыб. Однако, несмотря на описанные успехи применения циклодекстриновых антибактериальных комплексов, сведений об использовании циклодекстриновых препаратов в аквакультуре не встречалось, что свидетельствует об актуальности данного вопроса.

Целью данной работы явилось обобщение и анализ данных о потенциале применения комплексов β -циклодекстринов с левофлоксацином в аквакультуре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в научно-исследовательской лаборатории «Прогрессивные биотехнологии в аквакультуре» Саратовского государственного университета генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова. Объектами исследования выступали гибрид русского и сибирского осетра (*Acipenser queldenstadti* Brandt & Ratzeburg, 1833 и *Acipenser baerii* Brandt, 1833), африканский клариевый сом (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)). Годовики гибрида осетра средней массой 240.0 г, средней длиной 40.33 см были закуплены у ИП Вертей В.В. (Саратовская область), а сеголетки клариевого сома средней массой 102.0 г, средней длиной 27.17 см в КФХ Бондарчука А.И. (Пензенская область).

Перед началом эксперимента все рыбы прошли 10-дневный карантин. Далее для формирования дисбиоза кишечника всех рыб в течение 10 дней кормили некачественным кормом с истекшим сроком хранения и высоким перекисным числом. Затем в каждой серии опытов (в зависимости от исследуемого комплекса) рыб разделяли на 5 групп (в каждой группе $n=10$): две контрольные группы (K1 и K2) и опытные группы. У рыб всех групп стерильным скальпелем моделировали резаные раны (рисунок 1), делая дорсальные надрезы длиной 2 см и глубиной 0.5 см спинных мышц в области спинного плавника.

Рис. 1 – Внешний вид резаной раны у осетра (а) и сома (b)

Fig. 1 – Appearance of an incised wound in sturgeon (a) and catfish (b)



После процедуры рыб возвращали в аквариумы с чистой аэрируемой водой для восстановления. После нанесения ран особи группы K1 переводились на качественный комбикорм с нормативным

сроком хранения, а особи K2 продолжали получать недоброкачественный корм с высоким перекисным числом. Рыбы опытных групп получали качественный комбикорм с комплексами β -циклодекстринов с силикагелем, хитозаном или энтеросгелем, содержащими 20%, 15% или 10% левофлоксацина. При перерасчете на 1 кг массы рыбы вводили антибиотик в составе вышеуказанных веществ – 4.0 мг (20%), 3.0 мг (15%), 2.0 мг (10%) ежедневно в течение 7 суток [Микулич 2020].

Для кормления осетров был использован производственный комбикорм «Оптим» (ООО «Прометрика», Россия) с размером гранул 4.0 мм, для сомов – производственный комбикорм «Старт» (ООО «Прометрика», Россия) с размером гранул 2.0 мм.

Корм для осетров состоял: рыбная мука, мясная мука, пшеничная мука, глютен кукурузный, глютен пшеничный, шрот соевый, люпин, премикс (витамины, аминокислоты) (таблица 1).

Таблица 1. Декларируемые показатели питательности производственного корма для осетровых рыб «Оптим» (ООО «Прометрика», Россия)

Table 1. Declared nutritional values of the sturgeon production feed «Optima» (Prometrika LLC, Russia)

Наименование показателя	Значение, %
Белок, %	46.0
Жир, %	17.0
Сырая клетчатка, %	1.9
Зола, %	8.0
Фосфор, %	1.1
Общая энергия, МДж/кг	23.0
Витамин А, МЕ/кг	12000.0
Витамин D, МЕ/кг	2100.0
Витамин Е, МЕ/кг	340.0
Витамин С, мг/кг	525.0

Количественное содержание белка в комбикорме составляет 46%, жира – 17%. Для моделирования дисбиоза кишечника у рыб группы K2 применялся корм с истекшим сроком хранения и высоким перекисным числом (таблица 2): накопление продуктов перекисного окисления липидов нарушает целостность мембран энтероцитов, снижает барьерную функцию кишечника, ингибирует рост облигатной анаэробной микрофлоры (бифидобактерий и лактобацилл) и способствует росту условно-патогенных бактерий, запускает каскад воспалительных реакций (активация NF- κ B, повышение провоспалительных цитокинов), что дополнительно угнетает местный иммунитет кишечника и усугубляет дисбиоз [Hotamisligil 2006; Ringø *et al.* 2016; Peng *et al.* 2019].

Таблица 2. Результаты анализа корма для моделирования дисбиоза у осетровых

Table 2. Results of feed analysis for the modeling of dysbiosis in sturgeon

Наименование показателя	Значение	Норматив	Нормативный документ
Микробиология: Сальмонеллы	не обнаружены	не допускаются в 25.0 г корма	ГОСТ 10385-2014
Токсинообразующие анаэробы	не обнаружены	не допускаются	ГОСТ 10385-2014
Энтерогенные типы кишечной палочки	не обнаружены	не допускаются в 1.0 г	ГОСТ 31878-2012
Массовая доля влаги, %	5.8	не более 12%	ГОСТ 10385-2014
Массовая доля сырого протеина в сухом веществе, %	41.63±1.50	не менее 45%	ГОСТ 10385-2014
Массовая доля золы в сухом веществе, %	9.4±0.4	не более 12%	нормируется в ТУ производителя
Массовая доля сырого жира на сухое вещество, %	12.3	не менее 8%	ГОСТ 10385-2014
Перекисное число, ммоль $1/2O_2$ / кг	24.68±2.22	не более 23.6 ммоль/кг (не более 0.3% йода)	нормируется в ТУ производителя с ориентацией на ранее действовавшие нормативные документы, проект ТР ЕАЭС «О безопасности кормов и кормовых добавок»

В состав корма для сомов входили: рыбная мука, мясная мука, мука животного происхождения, мука зародышей пшеницы, пшеничная мука, бобовые, рыбий жир, минералы, витамины и функциональные добавки. Количественное содержание белка в комбикорме составляло от 43.0 до 45.0%, жира – 12.0%. Качественные показатели образца корма для выращивания сомов в индустриальных условиях представлены в таблице 3.

Таблица 3. Декларируемые показатели питательности производственного корма для сома «Старт» (ООО «Прометрика», Россия)

Table 3. Declared nutritional values of the catfish production feed «Start» (Prometrika LLC, Russia)

Наименование показателя	Значение, %
Протеин, %	43.0-45.0
Жир, %	12.0
Клетчатка, %	3.0
Зола, %	10.0
Фосфор, %	1.0
Общая энергия, МДж/кг	20.1
Витамин А, МЕ/кг	12000.0
Витамин D, МЕ /кг	2100.0
Витамин Е, МЕ/кг	450.0
Витамин С, мг/кг	1000.0

Показатели корма с истекшим сроком хранения, который получали сомы для формирования модели дисбиоза кишечника, представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты анализа корма для моделирования дисбиоза у сомов

Table 4. Results of feed analysis for modeling dysbiosis in catfish

Наименование показателя	Значение	Норматив	Нормативный документ
Микробиология: Сальмонеллы	не обнаружены	не допускаются в 25.0 г корма	ГОСТ 10385-2014
Токсинообразующие анаэробы	не обнаружены	не допускаются	ГОСТ 10385-2014
Энтерогенные типы кишечной палочки	не обнаружены	не допускаются в 1.0 г	ГОСТ 31878-2012
Массовая доля влаги, %	4.1	не более 12%	ГОСТ 10385-2014
Массовая доля сырого протеина в сухом веществе, %	44.63±1.56	не менее 33%	ГОСТ 10385-2014
Массовая доля сырого жира на сухое вещество, %	9.3	не менее 6%	ГОСТ 10385-2014
Перекисное число, ммоль $1/2O_2$ / кг	18.40±1.66	не более 23.6 ммоль/кг (не более 0.3% йода)	нормируется в ТУ производителя с ориентацией на ранее действовавшие нормативные документы, проект ТР ЕАЭС «О безопасности кормов и кормовых добавок»

Производные комплексов силикагель, хитозан-β-циклодекстрин и энтеросгель-β-циклодекстрин с различным количеством левофлоксацина синтезированы [Скuredина и др. 2021] и предоставлены кафедрой «Фармацевтическая энзимология» химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, представляют собой порошки с гелеобразными частицами светло-желтого цвета. Исследуемые вещества взвешивали и вносили в корм, интенсивно перемешивая в течение 5 минут для их равномерного распределения. Циклодекстриновые комплексы рыбы получали перорально с кормом трижды в день ежедневно в течение 7 дней. Наблюдения за группами осуществляли в течение 14 дней.

Осетров содержали в аквариумах объемом 250 л, температура воды – 19.9°C, уровень растворенного в воде кислорода – 6.2 мг/л, pH – 7.8, прозрачность воды – 45.0-50.0 см, частота замены воды в аквариуме – 250 л в сутки. Африканских клариевых сомов также выращивали в аквариумах объемом 250 л, при этом оптимальная температура воды составляла 26.0-27.0°C,

уровень растворенного в воде кислорода поддерживался на уровне 7.6 мг/л, pH – 7.8, прозрачность воды – 45.0-50.0 см, частота замены воды в аквариуме – 250 л в сутки. На протяжении всего эксперимента во всех группах поддерживался постоянный гидрохимический режим, являющийся оптимальным для выращивания соответствующих видов рыб.

Для описания развивающегося инфекционного процесса в ранах и влияния применяемых циклодекстриновых комплексов с антибиотиком на его течение определяли общее микробное число (ОМЧ) резаных ран, общее микробное число и количество молочнокислых бактерий (МКБ) задней кишки методом последовательных разведений с последующим высевом на мясо-пептонный агар (МПА) и лактобакагар (ЛБА), а также иных представителей микрофлоры задней кишки рыб методом qPCR. Исследование микрофлоры раневых повреждений и микробиоты кишечника проводили на одних и тех же рыбах в каждой группе последовательно (сначала смыв с раны, затем содержимое задней кишки). В каждой экспериментальной группе содержали по 10 особей. На 8-е и 14-е сутки эксперимента из каждой группы отбирали по 3 рыбы для проведения анализов.

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили по стандартным методикам [Гашев и др. 2024] с помощью программных пакетов MS Excel и Statistica 6.0 с использованием параметрического t-критерия Стьюдента и критерия Колмогорова-Смирнова для проверки соответствия анализируемых данных нормальному распределению (при $p \leq 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительными исследованиями установлена наибольшая эффективность комплексов с 20 и 15% содержанием антибиотика [Poddubnaya et al. 2025], поэтому при сравнении разных комплексов опирались на этот факт. При анализе данных, представленных в таблице 5, установлено, что к концу проводимых исследований на 14 сутки инфекционный процесс в модельных ранах кожных покровов рыб – и сомов, и осетров – в контрольных группах не прекратился, более того, в группе с модельным нарушением пищеварения ОМЧ возрастало по сравнению с К1, что свидетельствует об усугублении инфекционного процесса при употреблении некачественного корма и наличии дисбиоза. Все антимикробные β -циклодекстриновые комплексы с 20% содержанием левофлоксацина снижали ОМЧ в смывах ран сомов на 8 сутки. Комплексы с силикагелем и хитозаном с 15% содержанием антибиотика показали такой же результат, как и большее содержание левофлоксацина. А на 14 сутки наибольшую результативность продемонстрировал комплекс силикагель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина – $1.0 \cdot 10^2 \pm 0.4$ КОЕ/г, что в 1000 и 10000 раз меньше относительно К1 и К2 соответственно.

Что касается действия изучаемых комплексов в отношении ран осетров, то к 8 суткам отмечено еще большее подавление бактерий в ранах, чем у сомов: в 100 раз при применении силикагель- и энтеросгель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина и в 10 раз при применении препарата с хитозаном. Большая эффективность установлена для комплексов силикагель- и энтеросгель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина.

Исследование состава и количества представителей нормофлоры в задней кишке рыб при использовании лечебных циклодекстриновых препаратов важно, поскольку эти микроорганизмы участвуют в подавлении патогенной микрофлоры, стимуляции местного иммунитета, пищеварении и других обменных процессах макроорганизма.

Среди идентифицированных представителей микрофлоры задней кишки осетров были типичные бактерии, представленные в таблице 6.

Так, под действием комплекса силикагель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина к концу исследований количество пробиотических бифидобактерий возросло в 1000 раз относительно начала исследований, при этом в контрольной группе наблюдали их снижение в 100 раз относительно 1 суток. Количество лактобацилл, производящих молочную кислоту и создающих барьер против патогенов, в опытной группе не только восстанавливалось до исходного значения, но даже увеличивалось в 100 раз и многократно снижалось в контрольной. Количество энтеробактерий в течение эксперимента оставалось неизменным. Эубактерии, клостридии, лактат-утилизирующие бактерии, пептострептококки, актиномицеты, фузобактерии, микоплазмы, стрептококки и грибы рода кандиды не были обнаружены в образцах обеих групп как в начале, так и в конце исследования. Стафилококки были обнаружены только в контрольной группе в начале эксперимента, но по его окончании ни в контрольных, ни в опытных образцах не обнаружены. Из патогенных бактерий под конец исследования в обеих группах был детектирован *Proteus vulgaris/mirabilis*.

Таблица 5. Сравнительный анализ применения комплексов β -циклодекстрин с левофлоксацином ($M \pm m$)Table 5. Comparative analysis of the use of complexes of β -cyclodextrin with levofloxacin ($M \pm m$)

Рыбы	Показатели	Группы											
		Силикагель				Хитозан				Энтеросгель			
		K1	K2	20%	15%	K1	K2	20%	15%	K1	K2	20%	15%
Сомы	ОМЧ резаных ран на 8 сут, КОЕ/г	$2.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.2^*$	$3.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$2.0 \cdot 10^4 \pm 0.6$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4^{**\Delta}$
	ОМЧ резаных ран на 14 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.2^*$	$5.0 \cdot 10^6 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.8^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^{*\Delta}$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^{**}$
	ОМЧ задней кишки на 8 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.5$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.5$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.3^{*\Delta}$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.5$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.3^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.3^{**\Delta}$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.3^{**}$
	Количество МКБ задней кишки на 8 сут, КОЕ/г	$5.0 \cdot 10^3 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^{\Delta}$	$3.0 \cdot 10^3 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.1^{**\Delta}$
	ОМЧ задней кишки на 14 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.8^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.1^*$	$3.0 \cdot 10^4 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.8^*$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.1^{*\Delta}$	$3.0 \cdot 10^5 \pm 0.4^{**\Delta}$	$5.0 \cdot 10^6 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^7 \pm 0.8$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.1^{**\Delta}$	$3.0 \cdot 10^3 \pm 0.4^{**\Delta}$
	Количество МКБ задней кишки на 14 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.8$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^3 \pm 0.8^{*\Delta}$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.1^{\Delta}$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.3$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.8^{\Delta}$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.1^{\Delta}$
Осетры	ОМЧ резаных ран на 8 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.4^*$	$7.0 \cdot 10^1 \pm 0.4^{**}$	$4.0 \cdot 10^2 \pm 0.4^{**}$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.4^*$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^{*\Delta}$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^{**}$	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4$	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.6^*$	$1.0 \cdot 10^1 \pm 0.1^{**\Delta}$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.2^{**}$
	ОМЧ резаных ран на 14 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4^*$	$3.0 \cdot 10^5 \pm 0.8^*$	$5.0 \cdot 10^1 \pm 0.4^{**}$	$1.0 \cdot 10^2 \pm 0.4^{**}$	-	-	-	-	$1.0 \cdot 10^4 \pm 0.4^*$	$3.0 \cdot 10^5 \pm 0.8^*$	$1.0 \cdot 10^1 \pm 0.2^{**}$	$1.0 \cdot 10^1 \pm 0.1^{**}$
	ОМЧ задней кишки на 8 сут, КОЕ/г	$8.2 \cdot 10^6 \pm 0.6^*$	-	$3.0 \cdot 10^{12} \pm 0.4^*$	-	-	-	$13.6 \cdot 10^4 \pm 0.7^{\Delta}$	-	-	-	-	-
	Количество МКБ задней кишки на 8 сут, КОЕ/г	$1.0 \cdot 10^6 \pm 0.3^*$	-	$1.2 \cdot 10^{10} \pm 0.4^*$	-	-	-	$1.0 \cdot 10^1 \pm 0.2^{\Delta}$	-	-	-	-	-
	ОМЧ задней кишки на 14 сут, КОЕ/г	-	-	-	-	$20.1 \cdot 10^5 \pm 0.4$	-	$1.8 \cdot 10^6 \pm 0.4^*$	-	-	-	-	-
	Количество МКБ задней кишки на 14 сут, КОЕ/г	-	-	-	-	$8.4 \cdot 10^2 \pm 0.9$	-	$5.3 \cdot 10^2 \pm 0.2^*$	-	-	-	-	-

Примечание: * $p \leq 0.05$ относительно группы K1; $\blacksquare$ значения в группе K2 в эти же сутки; Δ значения в соответствующей опытной группе, где применялся силикагель- β -циклодекстрин, в эти же сутки (для групп, где применялся комплекс хитозан- β -циклодекстрин); $\blacktriangle$ значения в соответствующей опытной группе, где применялся хитозан- β -циклодекстрин, в эти же сутки (для групп, где применялся комплекс энтеросгель- β -циклодекстрин); $\bullet$ значения в соответствующей группе в эксперименте с сомами (для групп с осетрами); «-» – исследование не проводилось.

Таблица 6. Состав и численность микрофлоры задней кишки осетров под действием комплексов β-циклодекстрина (M±m)

Table 6. Composition and abundance of the hindgut microflora in sturgeon under the effect of β-cyclodextrin complexes (M ± m)

Состав микрофлоры	Содержание микроорганизмов, геномов/г							
	Силикагель- β -циклодекстрин				Хитозан- β -циклодекстрин			
	Начало эксперимента		Конец эксперимента		Начало эксперимента		Конец эксперимента	
	K1	20%	K1	20%	K1	20%	K1	20%
Бактероиды (р. <i>Prevotella</i> и <i>Porphyromonas</i>)	2.0×10 ⁶ ±0.4	<п.д.о	<п.д.о	<п.д.о	2.4×10 ³ ±0.7 ^Δ	2.1×10 ³ ±0.7	2.0×10 ³ ±0.2	2.0×10 ³ ±0.4
<i>Bifidobacterium</i> spp.	2.0×10 ⁸ ±0.6	7.0×10 ⁷ ±0.2*	1.0×10 ⁶ ±0.3	1.0×10 ¹⁰ ±0.4*	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Эубактерии (р. <i>Eubacterium</i>)	<п.д.о	<п.д.о	<п.д.о	<п.д.о	5.0×10 ⁵ ±0.9	1.8×10 ⁵ ±0.7	1.7×10 ⁴ ±0.4*	2.7×10 ³ ±0.4*
Клостридии (р. <i>Lachnobacterium</i> и <i>Clostridium</i>)	<п.д.о	<п.д.о	<п.д.о	<п.д.о	7.0×10 ⁵ ±0.9	1.8×10 ⁵ ±0.9*	5.0×10 ⁴ ±0.4*	4.8×10 ³ ±0.9*
Лактобациллы (р. <i>Lactobacillus</i>)	4.0×10 ⁹ ±0.7	1.0×10 ⁷ ±0.4*	1.0×10 ⁴ ±0.4*	2.0×10 ⁹ ±0.6*	8.4×10 ² ±0.9 ^Δ	<п.д.о.	3.0×10 ² ±0.7 ^Δ	5.3×10 ² ±0.7* ^Δ
Лактат-утилизирующие бактерии (р. <i>Megasphaera</i> spp., <i>Veillonella</i> spp., <i>Dialister</i> spp.)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Пептострептококки (р. <i>Peptostreptococcus</i>)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	7.5×10 ⁵ ±0.9	4.3×10 ² ±0.5	1.0×10 ⁶ ±0.4* ^Δ	7.3×10 ³ ±0.4* ^Δ
Энтеробактерии (сем. <i>Enterobacteriaceae</i>)	1.0×10 ⁵ ±0.8	7.0×10 ⁴ ±0.4*	1.0×10 ⁵ ±0.4	1.0×10 ⁴ ±0.2*	3.4×10 ⁴ ±0.8 ^Δ	5.4×10 ⁴ ±0.9	1.0×10 ⁶ ±0.9* ^Δ	1.4×10 ⁶ ±0.9* ^Δ
<i>Acinetobacter</i> spp	2.0×10 ⁹ ±0.4	5.0×10 ⁹ ±0.4	2.0×10 ⁶ ±0.2*	3.0×10 ¹² ±0.4*	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Актиномицеты (<i>Mobiluncus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Atopobium</i>)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	3.0×10 ² ±0.5	4.3×10 ² ±0.5
Фузобактерии (р. <i>Fusobacterium</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Leptotrichia</i>)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	2.6×10 ⁴ ±0.9	<п.д.о.	2.5×10 ⁵ ±0.8*	4.3×10 ⁵ ±0.8*
Микоплазмы (р. <i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i>)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Стрептококки (р. <i>Streptococcus</i>)	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Стафилококки (р. <i>Staphylococcus</i>)	3.0×10 ⁶ ±0.4	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	8.4×10 ² ±0.9 ^Δ	<п.д.о.	1.7×10 ³ ±0.9*	1.7×10 ³ ±0.9*
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	1.0×10 ⁷ ±0.2	<п.д.о	5.0×10 ⁶ ±0.6*	4.0×10 ⁸ ±0.6*	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.
Грибы рода <i>Candida</i>	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.	<п.д.о.

Примечание: p ≤ 0.05 относительно *значения в группе K1; *значения в начале эксперимента; ^Δзначения в соответствующей группе в эксперименте, где применялся

Также были обнаружены условно-патогенные бактерии *Acinetobacter* spp, что указывает на дисбаланс микробиоты, вызванный приемом антибиотика.

Определение состава и численности микроорганизмов содержимого задней кишки осетров при применении для заживления ран хитозан- β -циклодекстрина свидетельствует о снижении таких представителей нормофлоры как эубактерии и клостридии в обеих группах к концу наблюдений и об увеличении числа пептострептококков, энтеробактерий, актиномицетов и фузобактерий. Количество клостридий к концу проведения опыта в К1 уменьшалось, а в опытной группе возрастало по сравнению с исходными значениями. Установлено снижение лактобацилл в контроле и увеличение их в опытной группе. Бифидобактерии, микоплазмы, стрептококки, ацинетобактер и кандиды в образцах не установлены. Стафилококки были обнаружены и численность их под конец возрастала.

Сравнительный анализ препаратов с силикагелем и хитозаном демонстрирует влияние на количество и состав микробиоты задней кишки гидробионтов. Так, использование в лечении препарата с силикагелем подавляло рост аутохтонной микрофлоры данного биотопа – бактериоидов родов *Prevotella* и *Porphyromonas*, при этом препарат с хитозаном не оказывал значимого влияния. Судить о количестве эубактерий и непатогенных клостридий, поддерживающих целостность кишечного барьера и регулирующих иммунный ответ, можно по данным, полученным в эксперименте с хитозаном: к концу наблюдений отмечено снижение в 10 и 100 раз по сравнению с контролем и при применении препарата соответственно. При этом в завершении инфекционного процесса участвовало возрастающее в обеих группах количество пептострептококков, оказывающих антифлогозный эффект за счет снижения проницаемости стенки кишечника для токсинов и патогенов и подавления выработки провоспалительных цитокинов. Доля энтеробактерий при использовании комплекса с силикагелем оставалась неизменной на протяжении всего исследования, а при применении комплекса с хитозаном к концу эксперимента в обеих группах возрастала в 100 раз. Возрастало количество *Acinetobacter*, незначительно участвующего в пищеварении макроорганизма, но имеющего клиническое значение для человека в возникновении таких тяжелых инфекций как пневмония и сепсис при попадании в стерильные органы при снижении иммунного статуса [Bergogne-Bérézin 1994], что, возможно, может характеризовать течение инфекционного процесса и у гидробионтов. Актиномицеты родов *Mobiluncus*, *Corynebacterium*, *Atopobium*, обнаруженные на конец наблюдений в пробах обеих групп при применении хитозан- β -циклодекстрина, являются комменсалами макроорганизма, участвуют в поддержании колонизационной резистентности (*Corynebacterium* spp.), препятствуя заселению патогенов, и иногда могут быть вовлечены в развитие патологических процессов (*Mobiluncus* spp. И *Atopobium* spp.). Условно-патогенные фузобактерии родов *Fusobacterium*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, участвующие в расстройствах пищеварения [Николаев и др. 2025], были выделены из содержимого задней кишки рыб в эксперименте с хитозаном, что связано с возможным дисбалансом в составе микрофлоры из-за действия антибиотика и антимикробной активности самого хитозана [Costa et al. 2017]. Микоплазмы, стрептококки и кандиды не детектированы. А появление нехарактерных для толстого кишечника *Staphylococcus* spp. и *Proteus* spp. может быть связано с их переносом с поврежденных покровов в кишечник на фоне снижения барьерных функций кожи и стресс-индуцированного дисбиоза. Несмотря на то, что лактат-утилизирующие бактерии родов *Megasphaera*, *Veillonella*, *Dialister*, утилизирующие лактат и тем самым препятствующие развитию воспалительных процессов в кишечнике, а также продуцирующие ценные для регуляции метаболизма короткоцепочечные жирные кислоты, не участвовали в колонизации кишечника, их функции были скомпенсированы ростом лактобацилл в 100 раз и бифидобактерий в 1000 раз к концу эксперимента при применении силикагель- β -циклодекстрина. В случае применения хитозан- β -циклодекстрина наблюдали увеличение числа лактобацилл также в 100 раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя результаты исследования микрофлоры задней кишки рыб, полученные подсчетом числа колониеобразующих единиц и обнаружение геномов бактерий, в группах, где применяли силикагель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина, хитозан- β -циклодекстрин с 20% и 15% и энтеросгель- β -циклодекстрин с 20% и 15% содержанием фторхинолона, была большая доля МКБ, участвующих в формировании «кишечного иммунитета» и обмене веществ, и составляла 10%. Учитывая результаты исследования по подавлению инфекции в ранах, где наибольшую антимикробную активность продемонстрировали силикагель- β -циклодекстрин с 20% содержанием левофлоксацина на модели ран у сомов и осетров и энтеросгель- β -циклодекстрин с 20% и 15% на модели ран у осетров, наибольшим потенциалом применения в аквакультуре обладают именно эти β -ЦД-нанопрепараты. Наблюдаемое устойчивое равновесие кишечного микробиома после

приема лекарственных препаратов и заживления ран позволяет утверждать об эффективности применения данных комплексов не только для заживления ран, но и для восстановления состава микрофлоры при дисбиозах.

Финансовая поддержка

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00061, <https://rscf.ru/project/24-26-00061/>

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гашев С.Н., Бетляева Ф.Х., Иванова М.Ю., Цицкиева К.Р. (2024) Математические методы в биологии: анализ биологических данных в системе Statistica: учебное пособие для вузов. Издательство Юрайт. Москва: 181.
- Головина Н.А., Авдеева Е.В., Евдокимова Е.Б., Казимирченко О.В., Котлярчук М.Ю. (2016) Практикум по ихтиопатологии. МОРКНИГА. Москва: 417.
- Микулич Е.Л. (2020) Ихтиопатология. Лечебные и профилактические препараты, применяемые в рыбоводстве Республики Беларусь: учебно-методическое пособие. Издательство Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. Горки: 124. EDN: [ROCONU](#)
- Николаев С.В., Филатов А.В., Бессолицына Е.А. (2025) Характеристика микробиома кишечника у телят при диарее. *Международный вестник ветеринарии*. (2): 12–19. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.2.12> EDN: [ENOZJU](#)
- Скuredина А.А., Ле-Дейген И.М., Кудряшова Е.В. (2021) 3D-матричная структура для доставки лекарственных препаратов. Патент № RU 2 740 287 C1.
- Хорошельцева В.Н., Стрижакова Т.В., Полуян А.Я., Керимова А.А., Денисова Т.В. (2021) Ихтиопатологические исследования производителей судака *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) в период нерестовой кампании в прудовом хозяйстве. В: *Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса: материалы IX Научно-практической конференции молодых учёных с международным участием, посвященной 140-летию ВНИРО. 11-12 ноября 2021 года*. Москва: 194–196. EDN: [NONUGJ](#)
- Шульга Е.А., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А. (2009) Лечебные свойства пробиотика «Субтилис» при репарации кожных покровов осетровых рыб. *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. (1): 86–89. EDN: [KHORNX](#)
- Asadian M., Kiani-Anbouhi R. (2025a) Extraction and comparison of the interactions of tetracycline antibiotics by different types of cyclodextrins using molecular docking studies. *Scientific Reports*. **15**(1): 26431. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-04120-2> EDN: [MSZIPJ](#)
- Asadian M., Kiani-Anbouhi R. (2025b) γ -Cyclodextrin Inclusion Complexes with Macrolide Antibiotics by Molecular Docking & Comparing their Interactions with the Highest and the Lowest Binding Affinity. *Advanced Journal of Chemistry, Section A*. **8**(9): 1442–1456. <https://doi.org/10.48309/ajca.2025.497828.1761>
- Bergogne-Bérézin E. (1994) *Acinetobacter* spp., saprophytic organisms of increasing pathogenic importance. *Zentralblatt für Bakteriologie*. **281**(4): 389–405. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80326-9](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80326-9)
- Boczar D., Michalska K. (2022) Cyclodextrin inclusion complexes with antibiotics and antibacterial agents as drug-delivery systems—A pharmaceutical perspective. *Pharmaceutics*. **14**(7): 1389. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071389> EDN: [HXBMAN](#)
- Bondad-Reantaso M.G., MacKinnon B., Karunasagar I., Fridman S., Alday-Sanz V., Brun E., Le Groumellec M., Li A., Surachetpong W., Karunasagar I. et al. (2023) Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. **15**(4): 1421–1451. <https://doi.org/10.1111/raq.12786> EDN: [YVJYIT](#)
- Costa E.M., Silva S., Vicente S., Neto C., Castro P.M., Veiga M., Madureira R., Tavaría F., Pintado M.M. (2017) Chitosan nanoparticles as alternative anti-staphylococci agents: Bactericidal, antibiofilm and antiadhesive effects. *Materials Science and Engineering: C*. **79**: 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.047>

- Ding Y., Cui W., Zhang Z., Ma Y., Ding C., Lin Y., Xu Z. (2023) Solubility and pharmacokinetic profile improvement of griseofulvin through supercritical carbon dioxide-assisted complexation with HP- γ -cyclodextrin. *Molecules*. **28**(21): 7360. <https://doi.org/10.3390/molecules28217360> EDN: TJJBAP
- Ding Y., Ma Y., Ding C., Nie J., Xu Z. (2025) Preparation of trimethoprim/methyl β -cyclodextrin complexes, in vitro and in vivo pharmacokinetic study, and evaluation of antibacterial activity in combination with the complex of sulfamethoxazole/methyl β -cyclodextrin. *Journal of Molecular Structure*. **1321**: 140105. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140105> EDN: FCVLZB
- Ding Y., Yu B., Zhang J., Ding C., Zhang Z., Xu S., Li L., Yu H. (2022) Tilmicosin/ γ -Cyclodextrin complexation through supercritical carbon dioxide assistance and its pharmacokinetic and antibacterial study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **181**: 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.10.024> EDN: SMLQM
- Ferri G., Lauteri C., Vergara A. (2022) Antibiotic resistance in the finfish aquaculture industry: a review. *Antibiotics*. **11**(11): 1574. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111574> EDN: UDPZPP
- Guo J., Zhang L., Wang M., Liu Y., Fei C. (2024) Inclusion complexes of ethanamizuril with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous solution and in solid state: a comparison study. *Molecules*. **29**(10): 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules29102164> EDN: RJWCWO
- Hotamisligil G.S. (2006) Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. **444**(7121): 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>
- Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Uporov I. V., Kudryashova E. V. (2017) Thermodynamics and molecular insight in guest–host complexes of fluoroquinolones with β -cyclodextrin derivatives, as revealed by ATR-FTIR spectroscopy and molecular modeling experiments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **409**(27): 6451–6462. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0590-5> EDN: XNUZMZ
- Lupu A.-C., Ciobotarescu S., Lisa G., Hurduc N., Miron L.D., Epure E.-L. (2001) Characterization of β -cyclodextrin-diminazene acetate complex used to treat *Ichthyophthirius multifiliis* infection in common carp. *Revista de Chimie*. **71**(3): 90–101. <https://doi.org/10.37358/RC.20.3.7977>
- Marco A. (2020) Each Antibiotics has its own Cyclodextrin (CD): Suitable, tailored, designed CD-derivatives for the encapsulation and revitalization of existing drugs [Poster presentation]. In: *Supramolecular Chemistry Day, October 22, 2020. Roma, Italy*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5561015>
- Okocha R.C., Olatoye I.O., Adedeji O.B. (2018) Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public Health Reviews*. **39**(1): 21. <https://doi.org/10.1186/s40985-018-0099-2>
- Orozova P., Chikova V., Najdenski H. (2010) Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. **16**(3): 376–386.
- Peng M., Luo H., Kumar V., Kajbaf K., Hu Y., Yang G. (2019) Dysbiosis of intestinal microbiota induced by dietary oxidized fish oil and recovery of diet-induced dysbiosis via taurine supplementation in rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquaculture*. **512**: 734288. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734288>
- Poddubnaya I. V., Uryadova G.T., Zimens Y.N., Zlotnikov I.D., Kudryashova E. V. (2025) Microbiological study of wounds and large intestine of sturgeons using β -cyclodextrin complex with levofloxacin. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. **17**(6–2): 296–312. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-6-2-1555> EDN: MADHEZ
- Ringø E., Zhou Z., Vecino J.L.G., Wadsworth S., Romero J., Kroghdal Å., Olsen R.E., Dimitroglou A., Foey A., Davies S. et al. (2016) Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? *Aquaculture Nutrition*. **22**(2): 219–282. <https://doi.org/10.1111/anu.12346> EDN: WVSBBV
- Skuredina A.A., Tychina A.S., Le-Deygen I.M., Golyshov S.A., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2021) The formation of quasi-regular polymeric network of cross-linked sulfobutyl ether derivative of β -cyclodextrin synthesized with moxifloxacin as a template. *Reactive and Functional Polymers*. **159**: 104811. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104811> EDN: PNNWHM
- Thomsen H., Agnes M., Uwanguo O., Persson L., Mattsson M., Graf F.E., Kasimati E.-M., Yannakopoulou K., Ericson M.B., Farewell A. (2020) Increased antibiotic efficacy and noninvasive monitoring of *Staphylococcus epidermidis* biofilms using per-cysteamine-substituted γ -cyclodextrin – A delivery effect validated by fluorescence microscopy. *International Journal of Pharmaceutics*. **587**: 119646. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119646> EDN: BFNBXI
- Tsutsumi H., Etho S., Shimoda H., Ikeda H., Ishizu T., Niiya T. (2011) Drug Development for Eradication with InclusionComplex of Multifunctional-modified β CD. *Journal of Computer Chemistry, Japan*. **10**(3): 88–97. <https://doi.org/10.2477/jccj.H2303>

- Xiao S., Ren Y., Yu S., Xiao J., Zhou X., Zhang S., Long Y., Yi R., Chen J. (2026) Construction of thiolated beta-cyclodextrin crosslinked complex and its glutathione-responsive levofloxacin release study. *Polymer Bulletin*. **83**(4): 169. <https://doi.org/10.1007/s00289-025-06240-1> EDN: TSXBMP
- Zhang C., Yi L., Bai Y., Yang X., He J., Bai Y., Zhang Y., Li B., Zhang J. (2025) Cyclodextrin inclusion complex enhances solubility and antimicrobial activity of chlortetracycline hydrochloride. *Talanta*. **292**: 127977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.127977> EDN: EFVUKZ

REFERENCES

- Gashev S.N., Betlyayeva F.Kh., Ivanova M.Yu., Tsitskieva K.R. (2024) Mathematical methods in biology: analysis of biological data in the Statistica system: textbook for universities [Matematicheskie metody v biologii: analiz biologicheskikh dannykh v sisteme Statistica: uchebnoe posobie dlya vuzov]. Yurait Publishing. Moscow: 181. (in Russian)
- Golovina N.A., Avdeeva E.V., Evdokimova E.B., Kazimirchenko O.V., Kotlyarchuk M.Yu. (2016) Practical course on ichthyopathology [Praktikum po ikhtiopatologii]. Morkniga Publishing. Moscow: 417. (in Russian)
- Mikulich E.L. (2020) Ichthyopathology. Therapeutic and prophylactic preparations used in fish farming of the Republic of Belarus: teaching aid [Ikhtiopatologiya. Lechebnye i profilakticheskie preparaty, primenyaemye v rybovodstve Respubliki Belarus: uchebno-metodicheskoe posobie]. Belarusian State Agricultural Academy Publishing. Gorki: 124. EDN: ROCONU (in Russian)
- Nikolayev S.V., Filatov A.V., Bessolitsyna E.A. (2025) Characteristics of the intestinal microbiome in calves with diarrhea. *International Journal of Veterinary Medicine*. (2): 12–19. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.2.12> EDN: ENOZJU (in Russian)
- Skuredina A.A., Le-Dejgen I.M., Kudryashova E.V. (2021) 3D-matrix structure for drug delivery. Patent № RU 2 740 287 C1. (in Russian)
- Khorosheltseva V.N., Strizhakova T.V., Poluyan A.Ya., Kerimova A.A., Denisova T.V. (2021) Ichthyopathological studies of pikeperch *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) broodstock during the spawning campaign in a pond farm [Ikhtiopatologicheskie issledovaniya proizvoditeley sudaka *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) v period nerestovoy kampanii v prudovom khozyaystve]. In: *Modern problems and prospects of development of the fishery complex: materials of the IX Scientific and practical conference of young scientists with international participation dedicated to the 140th anniversary of VNIRO [Sovremennye problemy i perspektivy razvitiya rybokhozyaystvennogo kompleksa: materialy IX Nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoy 140-letiyu VNIRO]*. 11–12 November 2021 Moscow: 194–196. EDN: NONUGJ (in Russian)
- Shulga E.A., Grozesku Yu.N., Bakhareva A.A. (2009) The medicinal properties of probiotic "Subtilis" at the reparation of sturgeon coverlet. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing industry*. (1): 86–89. EDN: KHORNX (in Russian)
- Asadian M., Kiani-Anbouhi R. (2025a) Extraction and comparison of the interactions of tetracycline antibiotics by different types of cyclodextrins using molecular docking studies. *Scientific Reports*. **15**(1): 26431. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-04120-2> EDN: MSZIPJ
- Asadian M., Kiani-Anbouhi R. (2025b) γ -Cyclodextrin Inclusion Complexes with Macrolide Antibiotics by Molecular Docking & Comparing their Interactions with the Highest and the Lowest Binding Affinity. *Advanced Journal of Chemistry, Section A*. **8**(9): 1442–1456. <https://doi.org/10.48309/ajca.2025.497828.1761>
- Bergogne-Bérézin E. (1994) *Acinetobacter* spp., saprophytic organisms of increasing pathogenic importance. *Zentralblatt für Bakteriologie*. **281**(4): 389–405. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80326-9](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80326-9)
- Boczar D., Michalska K. (2022) Cyclodextrin inclusion complexes with antibiotics and antibacterial agents as drug-delivery systems—A pharmaceutical perspective. *Pharmaceutics*. **14**(7): 1389. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071389> EDN: HXBMAN
- Bondad-Reantaso M.G., MacKinnon B., Karunasagar I., Fridman S., Alday-Sanz V., Brun E., Le Groumellec M., Li A., Surachetpong W., Karunasagar I. et al. (2023) Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. **15**(4): 1421–1451. <https://doi.org/10.1111/raq.12786> EDN: YVJYIT
- Costa E.M., Silva S., Vicente S., Neto C., Castro P.M., Veiga M., Madureira R., Tavaría F., Pintado M.M. (2017) Chitosan nanoparticles as alternative anti-staphylococci agents: Bactericidal, antibiofilm and antiadhesive effects. *Materials Science and Engineering: C*. **79**: 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.047>

- Ding Y., Cui W., Zhang Z., Ma Y., Ding C., Lin Y., Xu Z. (2023) Solubility and pharmacokinetic profile improvement of griseofulvin through supercritical carbon dioxide-assisted complexation with HP- γ -cyclodextrin. *Molecules*. **28**(21): 7360. <https://doi.org/10.3390/molecules28217360> EDN: TJJBAP
- Ding Y., Ma Y., Ding C., Nie J., Xu Z. (2025) Preparation of trimethoprim/methyl β -cyclodextrin complexes, in vitro and in vivo pharmacokinetic study, and evaluation of antibacterial activity in combination with the complex of sulfamethoxazole/methyl β -cyclodextrin. *Journal of Molecular Structure*. **1321**: 140105. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140105> EDN: FCVLZB
- Ding Y., Yu B., Zhang J., Ding C., Zhang Z., Xu S., Li L., Yu H. (2022) Tilmicosin/ γ -Cyclodextrin complexation through supercritical carbon dioxide assistance and its pharmacokinetic and antibacterial study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **181**: 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.10.024> EDN: SMLQM
- Ferri G., Lauteri C., Vergara A. (2022) Antibiotic resistance in the finfish aquaculture industry: a review. *Antibiotics*. **11**(11): 1574. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111574> EDN: UDPZPP
- Guo J., Zhang L., Wang M., Liu Y., Fei C. (2024) Inclusion complexes of ethanamizuril with β - and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous solution and in solid state: a comparison study. *Molecules*. **29**(10): 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules29102164> EDN: RJWCWO
- Hotamisligil G.S. (2006) Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. **444**(7121): 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>
- Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Uporov I. V., Kudryashova E. V. (2017) Thermodynamics and molecular insight in guest–host complexes of fluoroquinolones with β -cyclodextrin derivatives, as revealed by ATR-FTIR spectroscopy and molecular modeling experiments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **409**(27): 6451–6462. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0590-5> EDN: XNUZMZ
- Lupu A.-C., Ciobotarescu S., Lisa G., Hurduc N., Miron L.D., Epure E.-L. (2001) Characterization of β -cyclodextrin-diminazene acetate complex used to treat *Ichthyophthirius multifiliis* infection in common carp. *Revista de Chimie*. **71**(3): 90–101. <https://doi.org/10.37358/RC.20.3.7977>
- Marco A. (2020) Each Antibiotics has its own Cyclodextrin (CD): Suitable, tailored, designed CD-derivatives for the encapsulation and revitalization of existing drugs [Poster presentation]. In: *Supramolecular Chemistry Day, October 22, 2020. Roma, Italy*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5561015>
- Okocha R.C., Olatoye I.O., Adedeji O.B. (2018) Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public Health Reviews*. **39**(1): 21. <https://doi.org/10.1186/s40985-018-0099-2>
- Orozova P., Chikova V., Najdenski H. (2010) Antibiotic resistance of pathogenic for fish isolates of *Aeromonas* spp. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. **16**(3): 376–386.
- Peng M., Luo H., Kumar V., Kajbaf K., Hu Y., Yang G. (2019) Dysbiosis of intestinal microbiota induced by dietary oxidized fish oil and recovery of diet-induced dysbiosis via taurine supplementation in rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquaculture*. **512**: 734288. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734288>
- Poddubnaya I. V., Uryadova G.T., Zimens Y.N., Zlotnikov I.D., Kudryashova E. V. (2025) Microbiological study of wounds and large intestine of sturgeons using β -cyclodextrin complex with levofloxacin. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. **17**(6–2): 296–312. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-6-2-1555> EDN: MADHEZ
- Ringø E., Zhou Z., Vecino J.L.G., Wadsworth S., Romero J., Kroghdal Å., Olsen R.E., Dimitroglou A., Foey A., Davies S. et al. (2016) Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? *Aquaculture Nutrition*. **22**(2): 219–282. <https://doi.org/10.1111/anu.12346> EDN: WVSBBV
- Skuredina A.A., Tychina A.S., Le-Deygen I.M., Golyshchev S.A., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2021) The formation of quasi-regular polymeric network of cross-linked sulfobutyl ether derivative of β -cyclodextrin synthesized with moxifloxacin as a template. *Reactive and Functional Polymers*. **159**: 104811. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104811> EDN: PNNWHM
- Thomsen H., Agnes M., Uwanguo O., Persson L., Mattsson M., Graf F.E., Kasimati E.-M., Yannakopoulou K., Ericson M.B., Farewell A. (2020) Increased antibiotic efficacy and noninvasive monitoring of *Staphylococcus epidermidis* biofilms using per-cysteamine-substituted γ -cyclodextrin – A delivery effect validated by fluorescence microscopy. *International Journal of Pharmaceutics*. **587**: 119646. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119646> EDN: BFNBXI
- Tsutsumi H., Etho S., Shimoda H., Ikeda H., Ishizu T., Niiya T. (2011) Drug Development for Eradication with InclusionComplex of Multifunctional-modified β CD. *Journal of Computer Chemistry, Japan*. **10**(3): 88–97. <https://doi.org/10.2477/jccj.H2303>

- Xiao S., Ren Y., Yu S., Xiao J., Zhou X., Zhang S., Long Y., Yi R., Chen J. (2026) Construction of thiolated beta-cyclodextrin crosslinked complex and its glutathione-responsive levofloxacin release study. *Polymer Bulletin*. **83**(4): 169. <https://doi.org/10.1007/s00289-025-06240-1> EDN: TSXBMP
- Zhang C., Yi L., Bai Y., Yang X., He J., Bai Y., Zhang Y., Li B., Zhang J. (2025) Cyclodextrin inclusion complex enhances solubility and antimicrobial activity of chlortetracycline hydrochloride. *Talanta*. **292**: 127977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.127977> EDN: EFVUKZ

Цитировать как

Поддубная И.В., Урядова Г.Т., Руднева О.Н., Зименс Ю.Н., Гуркина О.А. (2026). Циклодекстриновые комплексы как система доставки антибиотиков в аквакультуре. **9**(3): 321-334.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-24>
EDN: <https://www.elibrary.ru/cfbysu>

Сведения об авторах

Ирина Васильевна Поддубная, доктор сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия. E-mail: poddubnayaiv@yandex.ru, SPIN: 4555-6523, ORCID: 0000-0002-8565-5633.

Галина Тимофеевна Урядова, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия. E-mail: eni_galina@mail.ru, SPIN: 7233-7500, ORCID: 0000-0002-3684-9028.

Оксана Николаевна Руднева, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия. E-mail: oksanarud979@gmail.com, SPIN: 4804-6707, ORCID: 0000-0002-1175-0793.

Юлия Николаевна Зименс, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия. E-mail: usya-21@mail.ru, SPIN: 1816-8847, ORCID: 0000-0003-1979-5029.

Оксана Александровна Гуркина, кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия. E-mail: ogurkina@sgau.ru, SPIN: 3729-8936, ORCID: 0000-0003-0836-3511.

Cited as

Poddubnaya I.V., Uryadova G.T., Rudneva O.N., Ziemens Y.N., Gurkina O.A. (2026). Cyclodextrin complexes as a delivery system for antibiotics in aquaculture. *Ecobiotech*. **9**(3): 321-334.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-24>
EDN: <https://www.elibrary.ru/cfbysu>

Information About the Authors

Irina V. Poddubnaya, Dr in Agricultural Sciences, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia. E-mail: poddubnayaiv@yandex.ru, SPIN: 4555-6523, ORCID: 0000-0002-8565-5633.

Galina T. Uryadova, PhD in Agricultural Sciences, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: eni_galina@mail.ru, SPIN: 7233-7500, ORCID: 0000-0002-3684-9028.

Oksana N. Rudneva, PhD in Agricultural Sciences, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia. E-mail: oksanarud979@gmail.com, SPIN: 4804-6707, ORCID: 0000-0002-1175-0793.

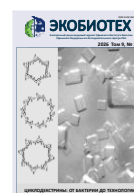
Yulia N. Siemens, PhD in Agricultural Sciences, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia. E-mail: usya-21@mail.ru, SPIN: 1816-8847, ORCID: 0000-0003-1979-5029.

Oksana A. Gurkina, PhD in Agricultural Sciences, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia. E-mail: ogurkina@sgau.ru, SPIN: 3729-8936, ORCID: 0000-0003-0836-3511.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 615.322:582.949.27:544.5:547.918



Научная статья | RESEARCH ARTICLE

β-ЦИКЛОДЕКСТРИН КАК СЕЛЕКТИВНЫЙ ЭКСТРАГЕНТ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ *THYMUS SERPYLLUM* L.

Головач Т.Н.^{1*}, Курченко В.П.¹, Лодыгин А.Д.²,
Гарибян Л.В.², Сисько А.А.¹

¹ Белорусский государственный университет,
Минск, Беларусь

² Северо-Кавказский федеральный университет,
Ставрополь, Россия

*E-mail: halavachtn@gmail.com

β-CYCLODEXTRIN AS A SELECTIVE EXTRACTANT OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *THYMUS SERPYLLUM* L. HERB

Halavach T.M.^{1*}, Kurchenko V.P.¹, Lodygin A.D.²,
Garibian L.V.², Sisko A.A.¹

¹ Belarusian State University,
Minsk, Belarus

² North-Caucasus Federal University,
Stavropol, Russia

*E-mail: halavachtn@gmail.com

Аннотация

Представлено сравнительное исследование экстракционных систем для выделения биоактивных соединений из травы тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.): этанола как классического органического экстрагента и водного раствора β-циклодекстрина (β-ЦД) как экологически безопасной альтернативы. Обоснование выбора β-ЦД в качестве предпочтительного экстрагента базируется на его способности образовывать супрамолекулярные комплексы включения с гидрофобными и амфифильными молекулами, нетоксичности, биосовместимости и биоразлагаемости, что соответствует принципам устойчивой («зеленой») химии. Установлено, что химический профиль экстрактов определяется селективностью экстрагента к отдельным группам растительных метаболитов. Этанол преимущественно извлекал монотерпеновые фенолы (тимол – до 68.74%) и терпеноиды, а также отдельные липофильные компоненты, включая жирные кислоты и стеролы. Водный экстракт характеризовался накоплением полярных фенолпропаноидов, гетероциклических кетонов (мальтола и 4Н-пиран-4-она) и углеводных метаболитов. Для β-ЦД установлена селективность к жирным амидам (9-октадеценамид – 9.71%), ненасыщенным жирным кислотам и гетероциклическим кетонам. ЦД-экстракт превосходил водный контроль в 1.7 раза по выходу экстрактивных веществ, в 6.4 раза по содержанию фенолов и в 4.0 раза по антиоксидантной активности. Полученные результаты подтверждают перспективность β-ЦД как экологически безопасного экстрагента для направленного извлечения целевых групп биоактивных веществ из растительного сырья.

Ключевые слова:

Thymus serpyllum L., «зеленая» экстракция, β-циклодекстрин, супрамолекулярные комплексы включения, монотерпеновые фенолы, жирные амиды, антиоксидантная активность, газовая хроматография–масс-спектрометрия

Поступила в редакцию: 19.06.2026

Принято в печать: 28.08.2026

Abstract

A comparative study of extraction systems for the isolation of bioactive compounds from creeping thyme herb (*Thymus serpyllum* L.) is presented, comparing ethanol as a conventional organic extractant with an aqueous β-cyclodextrin (β-CD) solution as an environmentally friendly alternative. The rationale for selecting β-CD as a preferred extractant is based on its ability to form supramolecular inclusion complexes with hydrophobic and amphiphilic molecules, as well as its nontoxicity, biocompatibility, and biodegradability, which are consistent with the principles of sustainable (“green”) chemistry. The chemical profile of the extracts was determined by the selectivity of the extractant towards particular groups of plant metabolites. Ethanol predominantly extracted monoterpene phenols (thymol – up to 68.74%) and terpenoids, as well as individual lipophilic components, including fatty acids and sterols. The water extract was characterized by the accumulation of polar phenylpropanoids, heterocyclic ketones (maltol and 4H-pyran-4-one) and carbohydrate metabolites. The selectivity of β-CD towards fatty amides (9-octadecenamide, 9.71%), unsaturated fatty acids, and heterocyclic ketones was demonstrated. The CD-extract exceeded the water control by 1.7 times in the yield of extractive substances, 6.4 times in phenolic content, and 4.0 times in antioxidant activity. The obtained results confirm the potential of β-CD as an environmentally safe extractant for the selective recovery of target groups of bioactive compounds from plant raw materials.

Keywords:

Thymus serpyllum L., green extraction, β-cyclodextrin, supramolecular inclusion complexes, monoterpene phenols, fatty amides, antioxidant activity, gas chromatography–mass spectrometry

Received: 19.06.2026

Accepted: 28.08.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-25> EDN: <https://www.elibrary.ru/dcztsq>

ВВЕДЕНИЕ

Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) – фармакопейное лекарственное растение семейства *Lamiaceae*, широко применяемое в фитотерапии благодаря богатому составу биоактивных соединений. В его траве идентифицированы монотерпеновые фенолы (тимол, карвакрол), фенольные кислоты (розмариновая, сальвианоловая, кофейная), флавоноиды (гликозиды лютеолина, апигенина и их производные), а также жирные кислоты и терпеноиды, определяющие антиоксидантные, антимикробные и противовоспалительные свойства растения [Galovičová et al. 2021; Jalil et al. 2024]. Современные исследования подтверждают высокое содержание ценных метаболитов в *T. serpyllum*: доля эфирного масла достигает 1.12%, флавоноидов – 2.15%, дубильных веществ – 12.05% [Pupykina et al. 2025]. При разработке технологии получения экстрактов принципиально важно учитывать не только общий выход экстрактивных веществ, но и способность растворителя направленно извлекать отдельные классы соединений.

Этанол является одним из наиболее распространенных экстрагентов в фитохимии благодаря способности извлекать широкий спектр гидрофобных и умеренно полярных веществ [Lefebvre et al. 2021]. Однако применение органических растворителей сопряжено с экологическими и технологическими ограничениями: необходимость многоступенчатой отгонки, потенциальная остаточная контаминация, неполная экстракция амфифильных соединений и деградация термолабильных полифенолов [Cao et al. 2025; Zalidis et al. 2025]. Водная экстракция, напротив, экологически безопасна, но характеризуется низкой селективностью к гидрофобным терпеноидам и стеролам [Wan Mohd Zamri et al. 2021].

В последние годы наблюдается активное развитие альтернативных экстракционных систем, основанных на принципах супрамолекулярной химии и экологически безопасных подходов [Shahbaz et al. 2025; Vadalà et al. 2025]. В соответствии с концепцией «зеленой» химии, устойчивый процесс направлен на сокращение количества отходов, использование возобновляемых и нетоксичных материалов, минимизацию энергозатрат и обеспечение экологической и социальной безопасности [Anastas, Warner 1998]. Наряду с водой и этанолом, в качестве альтернативных экстрагентов рассматривают глубокие эвтектические растворители [Paiva et al. 2014], ионные жидкости [Ventura et al. 2017], субкритическую воду и супрамолекулярные системы на основе циклодекстринов [Chemat et al. 2012].

Особый интерес представляет β -циклодекстрин (β -ЦД) – циклический гептасахарид с гидрофобной полостью диаметром 6.0–6.5 Å, способный образовывать комплексы включения типа «гость–хозяин» с гидрофобными и амфифильными соединениями [Sip et al. 2022; Radan et al. 2024; Nicolaescu et al. 2025]. Механизм экстракции с использованием β -ЦД принципиально отличается от классических растворителей и реализуется через супрамолекулярное комплексообразование: молекулы экстрагента инкапсулируют целевые компоненты в своей гидрофобной полости, что повышает их растворимость в водной среде и одновременно защищает от окислительной деградации [Christou et al. 2024]. К числу преимуществ β -ЦД как экологически безопасного экстрагента относятся нетоксичность, биоразлагаемость, отсутствие остаточных органических растворителей в конечном продукте, возможность проведения экстракции в мягких условиях (водная среда, умеренные температуры), а также способность к одновременной экстракции и стабилизации лабильных биоактивных соединений [Arrais et al. 2023; Dorofte et al. 2024]. Согласно современным данным β -ЦД способствует увеличению извлечения флавоноидных гликозидов и повышению антиоксидантной активности экстрактов по сравнению с этанольными вытяжками [Eyiz, Acar 2026]. В ряде работ установлено, что циклодекстрин-ассистированная экстракция является эффективным подходом для извлечения полифенолов из растительного сырья [Kuzmanović Nedeljković et al. 2024; Jakupović et al. 2025; Tsitlakidou et al. 2026]. Систематическое исследование β -ЦД-экстракции остатков после отгона розмарина (*Rosmarinus officinalis* L.) показало, что применение циклодекстринов позволяет получать экстракты, не уступающие по антиоксидантной активности классическим вариантам с этанолом [Tsitlakidou et al. 2026]. Наряду с этим использование β -ЦД в сочетании с ультразвуковым воздействием приводит к значительному повышению выхода биоактивных соединений из фитосубстратов [Jakupović et al. 2025]. Применение гидроксипропил- β -ЦД в смеси с глицерином обеспечивает эффективное извлечение фенольных соединений из растений семейства *Lamiaceae* [Kuzmanović Nedeljković et al. 2024].

С учетом известных данных по составу фитоэкстрактов *T. serpyllum* особую важность приобретает сопоставление групп соединений, преимущественно извлекаемых в различных

экстракционных системах. Несмотря на обширность литературных данных по экстракции БАВ из растений семейства *Lamiaceae*, систематическое сравнительное исследование экстракционной способности β-ЦД по отношению к различным группам метаболитов *T. serpyllum* ранее не проводилось. Новизна работы заключается в комплексном сопоставлении компонентных профилей, содержания фенольных соединений и антиоксидантной активности экстрактов из травы *T. serpyllum*, полученных с использованием как классического органического растворителя (этанол), так и альтернативного экологически безопасного экстрагента (водный раствор β-ЦД).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и материалы. В качестве объекта исследований использовали высушенную траву *T. serpyllum* производства ООО «НПК Биотест» (Беларусь). Для классической экстракции применяли этанол с объемной долей основного вещества 96.0% (Реахим, Россия). В качестве экологически безопасной альтернативы использовали 0.5%-й водный раствор β-ЦД. В работе применяли β-ЦД марки Kleptose® (Roquette, Франция) с массовой долей основного вещества ≥98.0%. Выбор 0.5%-й концентрации данного реагента основан на литературных источниках, согласно которым применение циклодекстринов в качестве экстракционных агентов позволяет повысить содержание извлекаемых фенольных соединений и биоактивность экстрактов [Sip et al. 2022; Radan et al. 2024; Nicolaescu et al. 2025], а оптимизированные протоколы экстракции демонстрируют высокую эффективность в диапазоне концентраций, близких к выбранной [Christou et al. 2024; Dorofte et al. 2024; Kuzmanović Nedeljković et al. 2024; Jakupović et al. 2025; Eyiz, Acar 2026; Tsitlakidou et al. 2026]. Контролем служила водная экстракция; для приготовления растворов использовали дистиллированную воду.

Условия экстракции. Экстракцию этанолом проводили методом мацерации при температуре 20–25°C. К навеске сухого растительного сырья массой 2.0 г добавляли 18.0 мл этанола (соотношение твердой и жидкой фаз 1:9, мас./об.) и выдерживали в течение 24 ч. Выбор условий этанольной экстракции основан на стандартной методике мацерации, широко применяемой в фитохимии для извлечения гидрофобных и умеренно полярных соединений [Lefebvre et al. 2021]. После завершения процесса жидкую фазу отделяли фильтрованием через бумажный фильтр. В случае экстракции водой и 0.5%-м водным раствором β-ЦД навески сухого растительного сырья массой 2.0 г смешивали с 40 мл соответствующего экстрагента (соотношение твердой и жидкой фаз 1:20, мас./об.) и инкубировали при температуре 45°C в течение 2 ч в термостатируемом шейкере (120 об/мин). Выбор температуры 45°C, времени экстракции 2 ч и соотношения фаз 1:20 основан на литературных данных, согласно которым указанные параметры обеспечивают эффективное извлечение фенольных соединений из растительного сырья с использованием ЦД, а более высокие температуры и длительное время не приводят к значимому увеличению выхода, но могут вызывать деградацию термолабильных соединений [Sip et al. 2022; Christou et al. 2024; Tsitlakidou et al. 2026]. На заключительном этапе образцы последовательно фильтровали через синтетическое волокно и бумажный фильтр, после чего подвергали лиофильной сушке. Выход сухого лиофилизированного экстракта рассчитывали гравиметрически (согласно ГОСТ 15113.4–2021). Общее содержание фенольных соединений устанавливали в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14502–1–2010. Для исключения возможного влияния примесей экстрагентов на результаты идентификации соединений проводили анализ холостой пробы. Для этого 0.5%-й раствор β-ЦД без растительного сырья обрабатывали по той же схеме, что и опытные образцы. Полученный лиофилизат анализировали методом ГХ–МС в тех же условиях, что и экстракты.

Определение антиоксидантной активности (ABTS-метод). Антиоксидантную активность (АОА) оценивали по способности образцов экстрактов восстанавливать катион-радикал на основе 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты (ABTS^{•+}) с использованием модифицированного метода, описанного в работе Aarland et al. (2017) [Aarland et al. 2017]. Генерацию катион-радикала осуществляли путем окисления 7 мМ раствора ABTS 2.45 мМ раствором персульфата калия в защищенном от света месте при температуре (25±2)°C в течение 16 ч. Полученный раствор разбавляли до достижения оптической плотности 0.70±0.02 при длине волны 734 нм. К 1.0 мл разбавленного раствора ABTS^{•+} добавляли 0.1 мл экстракта, инкубировали в отсутствие света при температуре (25±2)°C в течение 10 мин и измеряли оптическую плотность при длине волны 734 нм. В качестве стандарта использовали тролокс (водорастворимый аналог

витамина Е) в диапазоне концентраций 0–20 мкМ. Результаты выражали в ммоль эквивалента тролокса на мл экстракта (ммоль тролокс-экв./мл).

ГХ–МС-анализ компонентного состава экстрактов. Компонентный состав экстрактов анализировали методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ–МС) с применением системы Agilent 6850 с масс-селективным детектором Agilent 5975B (Agilent Technologies, США). Для анализа лиофилизированные экстракты растворяли в метаноле (квалификация «ос.ч.») при соотношении 1:10 (мас./об.). Полученные растворы фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм. Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке DB-5MS (5% Phenyl Methyl Siloxane, J&W 122–5062; Agilent Technologies, США). Газом-носителем служил гелий (чистота 99.999 %) при постоянном потоке 1.0 мл/мин. Объем вводимой пробы составлял 1 мкл (сплит 70:1). Температурная программа: начальная температура 35°C, нагрев до 280°C, общая продолжительность анализа – 60 мин. Масс-селективное детектирование выполняли при температуре источника ионов 230°C и температуре квадруполя 150°C. Идентификацию соединений проводили путем сравнения масс-спектров с библиотекой NIST 05 (National Institute of Standards and Technology, США). Идентифицированными считали соединения с коэффициентом совпадения не менее 85%. Количественный анализ осуществляли методом нормализации площадей пиков; результаты выражали в процентах от суммы площадей всех идентифицированных пиков. Идентификацию жирных кислот проводили без предварительной дериватизации на основании совпадения масс-спектров с библиотечными данными NIST 05. Для построения тепловых карт соединений, выявленных в экстрактах по результатам ГХ–МС, применяли онлайн инструмент ClustVis [Metsalu, Vilo 2015].

Статистическую обработку результатов выполняли методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением критерия Тьюки (Tukey's HSD) для множественных попарных сравнений при уровне значимости $p < 0.05$. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения R (версия 4.2.1, R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) с пакетами *stats* и *DescTools*. Результаты расчетов отражены как среднее арифметическое значение $\pm$ половина ширины 95%-го доверительного интервала ($n = 3$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

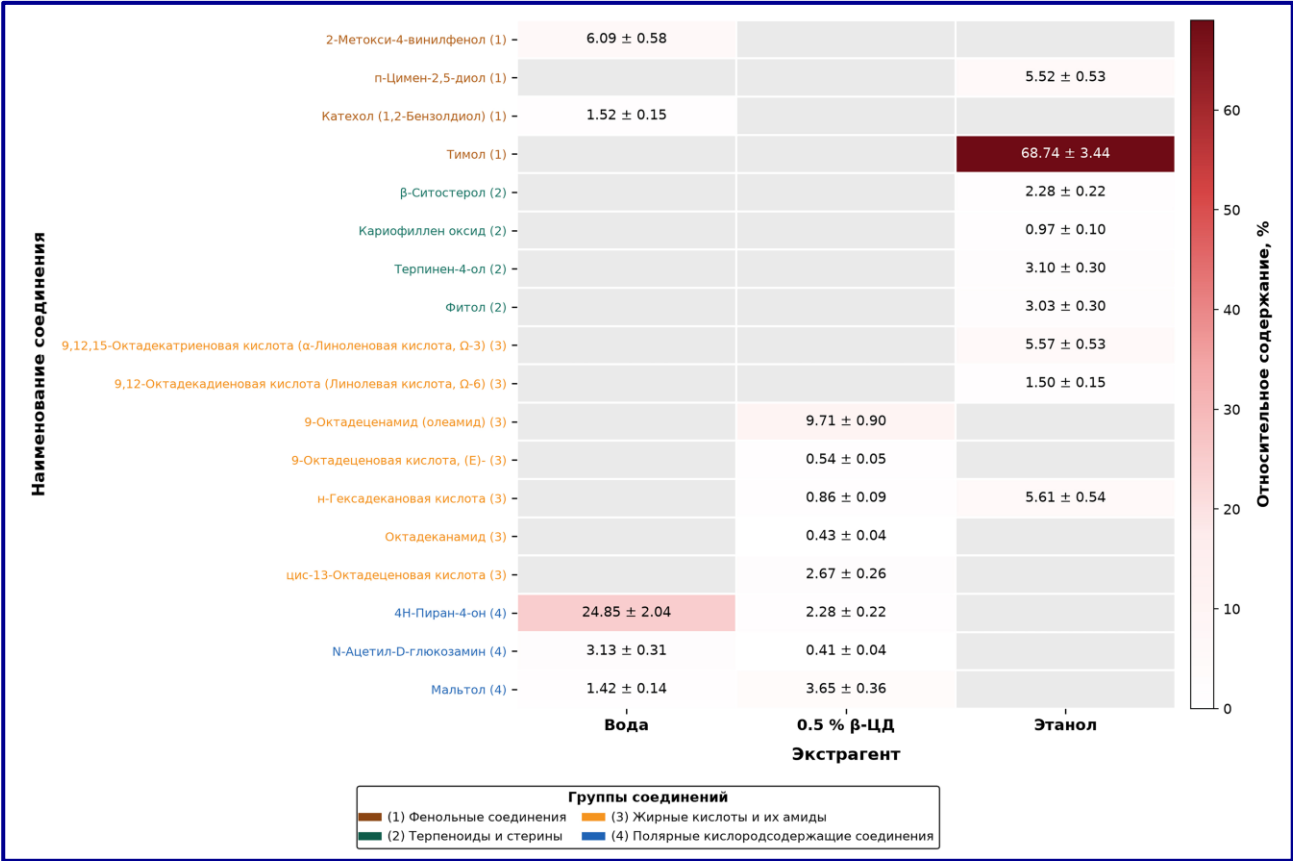
Детализированный анализ компонентного состава экстрактов показал, что исследованные экстракционные системы формируют отчетливо дифференцирующиеся химические профили – как на уровне индивидуальных соединений, так и на уровне групп метаболитов. По данным тепловой карты, представленной на Рис. 1, этанольный экстракт характеризовался максимальным содержанием монотерпенового фенола тимола (68.74%), а также присутствием п-цимен-2,5-диола (5.52%), терпинен-4-ола (3.1%), оксида кариофиллена (0.97%) и фитола (3.03%). Дополнительно этанол эффективно извлекал жирнокислотные и стерольные компоненты – пальмитиновую кислоту (5.61%), α -линоленовую кислоту (5.57%), линолевую кислоту (1.5%) и β -ситостерол (2.28%). Выявленное распределение подтверждает пригодность этанола для извлечения эфиромасличной и липофильной фракции тимьяна, чем объясняется его традиционное использование при получении антимикробных и противовоспалительных фитопрепаратов [Galovičová *et al.* 2021; Jalil *et al.* 2024]. Важно отметить, что тимол и продукты его биотрансформации обладают выраженной АОА [Favre *et al.* 2018], а образование комплексов тимола с β -ЦД повышает стабильность и биодоступность этого монотерпена без потери его радикал-связывающей способности [Miguel *et al.* 2010]. Это указывает на потенциальную комплементарность двух исследованных систем при совместном использовании и определяет направление для дальнейших исследований.

Водный экстракт преимущественно концентрировал полярные соединения: 2-метокси-4-винилфенол (6.09%), катехол (1,2-бензолдиол, 1.52%), N-ацетил-D-глюкозамин (3.13%), мальтол (1.42%) и 4Н-пиран-4-он (24.85%). Отсутствие тимола и других терпеновых компонентов в водном экстракте указывает на ограниченность водной мацерации в отношении гидрофобных эфиромасличных веществ, но при этом подтверждает ее избирательность к фенолпропаноидам, гетероциклическим кетонам (мальтолу и его производным) и углеводным метаболитам.

Экстракт, полученный с использованием 0.5%-го раствора β -ЦД, отличался специфическим профилем по сравнению с этанольным экстрактом и водным контролем. Для него характерно накопление олеамида (9.71%), цис-13-октадеценовой кислоты (2.67%), 9-октадеценовой кислоты (0.54%), н-гексадекановой кислоты (0.86%), октадеканамида (0.43%) и мальтола (3.65%) наряду

с наличием 4Н-пиран-4-она (2.28%) и N-ацетил-D-глюкозамина (0.41%). Особый интерес представляет селективность β-ЦД к жирным амидам, поскольку это открывает возможности для направленного извлечения данной группы соединений. Олеамид – эндогенный липидный медиатор с описанной гиполипидемической, антипролиферативной и модулирующей активностью в отношении центральной нервной системы [Park et al. 2025]. Его накопление в ЦД-экстракте, очевидно, обусловлено способностью гидрофобной полости β-ЦД избирательно инкапсулировать амфифильные амиды жирных кислот, повышая их извлекаемость и защищая от гидролиза. Согласно известным данным [Kobayashi et al. 2022] олеамид транспортируется из кишечника в периферические ткани в свободной форме, а не в составе липопротеинов, что указывает на его высокую биодоступность и потенциальную физиологическую значимость при пероральном поступлении. Мальтол и 4Н-пиран-4-он, в свою очередь, обладают собственной антиоксидантной и хелатирующей активностью по отношению к ионам металлов переменной валентности [Kontoghiorghe 2025], что может вносить вклад в итоговый показатель АОА циклодекстринового экстракта независимо от содержания классических фенольных соединений.

Рисунок 1. Тепловая карта относительного содержания (%) индивидуальных химических соединений, выявленных в экстрактах из травы *T. serpyllum* при использовании воды, 0.5%-го раствора β-ЦД и этанола
Figure 1. Heat map of the relative content (%) of individual chemical compounds identified in extracts from *T. serpyllum* herb using water, 0.5% β-CD solution, and ethanol



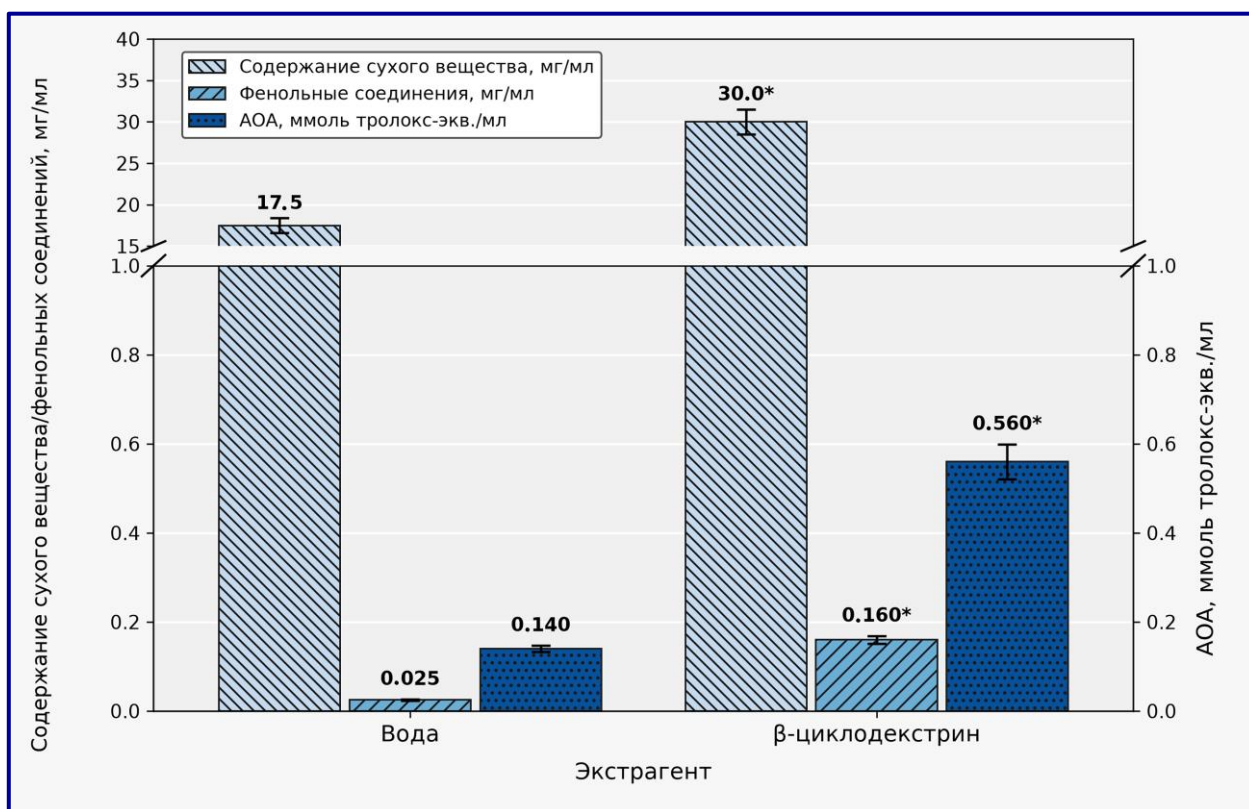
Сравнительный анализ профилей экстракции выявил характерную функциональную специализацию обсуждаемых систем. Этанол обеспечивает преимущественное извлечение монотерпеновых фенолов, терпеноидов, липофильных жирных кислот и стеролов. Водная мацерация, напротив, селективна к полярным фенилпропаноидам, сахаропроизводным и азотсодержащим метаболитам. β-ЦД-система характеризуется иным типом селективности, проявляя специфическую селективность к жирным амидам и оксигетероциклическим соединениям. Так, выбор экстрагента определяется целевым профилем конечного продукта: этанол предпочтителен для получения антимикробных эфиромасличных фракций [Galovičová et al. 2021; Jalil et al. 2024], тогда как β-ЦД перспективен для разработки экологически безопасных экстрактов с высокой антиоксидантной активностью, обогащенных биоактивными амидами и гетероциклическими соединениями.

В дополнение к анализу компонентного состава фитоэкстрактов на Рис. 2 представлены суммарные показатели экстракции водой и 0.5%-м раствором β -ЦД. Содержание сухого вещества в контрольном (водном) образце составило 17.5 мг/мл, тогда как в циклодекстриновом экстракте – 30.0 мг/мл, что свидетельствует о возрастании выхода экстрактивных веществ в 1.7 раза. Содержание фенольных соединений увеличилось с 0.025 до 0.160 мг/мл (в 6.4 раза), а антиоксидантная активность – с 0.140 до 0.560 ммоль тролокс-экв./мл (в 4.0 раза). Непропорциональный прирост АОА относительно увеличения содержания фенольных соединений согласуется с вкладом нефенольных антиоксидантов (мальтола и олеамида) в суммарный результат ABTS-теста.

Установленное в настоящей работе несоответствие между более значительным приростом содержания фенольных соединений (в 6.4 раза) и относительно меньшим увеличением антирадикального эффекта β -ЦД-образца (в 4.0 раза) согласуется с данными, полученными для β -ЦД-экстрактов послеотгонных остатков розмарина [Tsitolakidou *et al.* 2026], где также было показано, что антиоксидантная активность не определяется исключительно содержанием фенольных соединений и зависит от комплексного взаимодействия экстрагента с компонентами растительной матрицы. Это подтверждает вклад нефенольных компонентов (олеамида и гетероциклических кетонов) в формирование итогового показателя антиоксидантной активности β -ЦД-экстракта тимьяна и указывает на нелинейный характер связи между фенольным пулом и суммарным антирадикальным действием экстракта. Кроме того, полученные данные соответствуют описанному в литературе синергическому эффекту циклодекстринов, которые стабилизируют лабильные антиоксидантные метаболиты, предотвращая их окислительную деградацию как на этапе экстракции, так и при последующей лиофилизации [Sip *et al.* 2022; Christou *et al.* 2024]. Прямое количественное сопоставление уровня АОА трех систем некорректно из-за различий в условиях экстракции, поэтому данные для этанольного экстракта не включены в данный анализ и требуют унификации параметров в последующих исследованиях.

Рисунок 2. Содержание сухого вещества, фенольных соединений и антиоксидантная активность экстрактов из травы *T. serpyllum* при использовании воды и 0.5%-го раствора β -циклодекстрина – различия по сравнению с водным экстрактом достоверны при $p < 0.05$

Figure 2. Dry matter content, phenolic compound content, and antioxidant activity of extracts from *T. serpyllum* herb using water and 0.5% β -cyclodextrin solution – differences compared to the aqueous extract are significant at $p < 0.05$



Полученные результаты в целом подтверждают, что применение β-ЦД позволяет не только изменять качественный профиль извлекаемых соединений по сравнению с водной экстракцией, но и повышает общую эффективность выделения фитокомпонентов, обладающих собственной антиоксидантной и потенциальной физиологической активностью (олеамид, мальтол). Наблюдаемое сочетание повышенного выхода экстрактивных веществ и выраженной АОА отражает специфический механизм действия β-ЦД, реализуемый через супрамолекулярное комплексообразование с включаемыми в гидрофобную полость соединениями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что специфичность экстракции биоактивных соединений из травы *T. serpyllum* определяется химической природой экстрагента и проявляется в селективном извлечении различных групп метаболитов. Этанол, как классический органический растворитель, наиболее эффективно извлекал монотерпеновые фенолы (тимол – до 68.74%), терпеноиды, а также липофильные жирные кислоты и стеролы, что подтверждает его пригодность для получения эфиромасличных антимикробных фракций. Водная мацерация, напротив, была селективна к полярным фенилпропаноидам (2-метокси-4-винилфенол), гетероциклическим кетонам (мальтол и 4Н-пиран-4-он) и углеводным метаболитам (N-ацетил-D-глюкозамин), но не обеспечивала извлечения гидрофобных терпеновых компонентов.

Применение 0.5%-го водного раствора β-ЦД позволило получить экстракт с качественно иным профилем: в нем доминировали жирные амиды (олеамид – 9.71%), ненасыщенные жирные кислоты и гетероциклические кетоны (мальтол и 4Н-пиран-4-он). Избирательное связывание β-ЦД жирных амидов, обладающих физиологической активностью, позволяет целенаправленно извлекать данную группу соединений. По сравнению с водным контролем ЦД-экстракт характеризовался повышенным выходом сухого вещества (в 1.7 раза), содержания фенольных соединений (в 6.4 раза) и антиоксидантной активности (в 4.0 раза), что обусловлено как вкладом нефенольных антиоксидантов (мальтола и олеамида), так и стабилизирующим действием циклодекстринов, предотвращающим окислительную деградацию лабильных метаболитов.

Таким образом, водный раствор β-ЦД представляет собой перспективный экологически безопасный экстрагент для улучшения водной экстракции, однако не является прямым аналогом этанола ввиду различий в избираемых группах соединений. Применение β-ЦД наиболее целесообразно при разработке функциональных ингредиентов и фитокомпозиций, где требуется исключить следы органических растворителей, сохранив высокую антиоксидантную активность конечного продукта. Представленные результаты обосновывают дифференцированный подход к выбору экстракционной системы в зависимости от целевого назначения фитопрепарата и открывают перспективы для дальнейшей оптимизации условий экстракции с целью максимальной реализации биоактивного потенциала растительного сырья.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Aarland R.C., Bañuelos-Hernández A.E., Fragoso-Serrano M., Sierra-Palacios E. del C., Díaz de León-Sánchez F., Pérez-Flores L.J., Rivera-Cabrera F., Mendoza-Espinoza J.A. (2017) Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. *Pharmaceutical Biology*. **55**(1): 649–656. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1265989>
- Anastas P.T., Warner J.C. (1998) Green chemistry: theory and practice. Oxford University Press. New York: 135.
- Arrais A., Bona E., Todeschini V., Caramaschi A., Massa N., Roncoli M., Minervi A., Perin E., Gianotti V. (2023) *Thymus vulgaris* essential oil in beta-cyclodextrin for solid-state pharmaceutical

- applications. *Pharmaceutics*. **15**(3): 914. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030914> EDN: HZKZOU
- Cao S., Liang J., Chen M., Xu C., Wang X., Qiu L., Zhao X., Hu W. (2025) Comparative analysis of extraction technologies for plant extracts and absolutes. *Frontiers in Chemistry*. **13**. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1536590> EDN: OPORBO
- Chemat F., Vian M.A., Cravotto G. (2012) Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*. **13**(7): 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- Christou A., Parisis N.A., Tzakos A.G., Gerothanassis I.P., Goulas V. (2024) Optimization of β -cyclodextrin based ultrasound-assisted extraction: A green strategy to enhance the extraction of bioactive compounds from taro leaf byproduct. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. **41**: 101728. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101728> EDN: YYSABB
- Dorofte A.L., Dima C., Bleoanca I., Aprodu I., Alexe P., Kharazmi M.S., Jafari S.M., Dima Ștefan, Borda D. (2024) Mechanism of β -cyclodextrin - thyme nanocomplex formation and release: In silico behavior, structural and functional properties. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. **7**: 100422. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100422> EDN: MJNVWU
- Eyіз V., Acar A. (2026) Synergistic green extraction of elderberry bioactives using glycerol and β -cyclodextrin as sustainable solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. **49**: 102320. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2026.102320> EDN: VWNJHD
- Favre L.C., dos Santos C., López-Fernández M.P., Mazzobre M.F., Buera M. del P. (2018) Optimization of β -cyclodextrin-based extraction of antioxidant and anti-browning activities from thyme leaves by response surface methodology. *Food Chemistry*. **265**: 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.078>
- Galovičová L., Borotová P., Valková V., Vukovic N.L., Vukic M., Terentjeva M., Štefániková J., Ďúranová H., Kowalczewski P.L., Kačániová M. (2021) *Thymus serpyllum* essential oil and its biological activity as a modern food preserver. *Plants*. **10**(7): 1416. <https://doi.org/10.3390/plants10071416> EDN: DEMFFZ
- Jakupović L., Strawa J.W., Nižić Nodilo L., Marijan M., Hafner A., Jakimiuk K., Tomczykowa M., Tomczyk M., Končić M.Z. (2025) Cosmeceutical and wound-healing activities of green hydroxypropyl- β -cyclodextrin-glycerol-based *Satureja montana* extracts. *Molecules*. **30**(12): 2638. <https://doi.org/10.3390/molecules30122638> EDN: DWKHMS
- Jalil B., Pischel I., Feistel B., Suarez C., Blainski A., Spreemann R., Roth-Ehrang R., Heinrich M. (2024) Wild thyme (*Thymus serpyllum* L.): a review of the current evidence of nutritional and preventive health benefits*. *Frontiers in Nutrition*. **11**. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1380962> EDN: SVGTDL
- Kobayashi Y., Watanabe N., Hiura R., Kubota M., Furuta K., Sugimoto K., Murota K., Nakamura E., Matsuura T., Kai K. *et al.* (2022) Transport form and pathway from the intestine to the peripheral tissues and the intestinal absorption and metabolism properties of oleamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **70**(49): 15499–15508. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06791> EDN: ERFMUW
- Kontoghiorghes G.J. (2025) Development of iron-chelating/antioxidant nutraceuticals and natural products as pharmaceuticals for clinical use in diseases with free radical pathologies. *Nutrients*. **17**(20): 3270. <https://doi.org/10.3390/nu17203270> EDN: QYXRMO
- Kuzmanović Nedeljković S., Radan M., Bigović D., Šavikin K. (2024) Cyclodextrin-aided green extraction from *Fagopyrum esculentum* Moench – an effective strategy for the sustainable recovery of polyphenols. *Lekovite Sirovine*. **44**(1). <https://doi.org/10.61652/leksir2444012k>
- Lefebvre T., Destandau E., Lesellier E. (2021) Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*. **1635**: 461770. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461770> EDN: INLXZE
- Metsalu T., Vilo J. (2015) ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research*. **43**(W1): W566–W570. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv468>
- Miguel M.G., Dandlen S.A., Figueiredo A.C., Pedro L.G., Barroso J.G., Marques M.H. (2010) Comparative evaluation of the antioxidant activities of thymol and carvacrol and the corresponding β -cyclodextrin complexes. *Acta Horticulturae*. (853): 363–368. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.853.44>

- Nicolaescu O.E., Belu I., Mocanu A.G., Manda V.C., Rău G., Pîrnu A.S., Ionescu C., Ciulu-Costinescu F., Popescu M., Ciocîlteu M.V. (2025) Cyclodextrins: Enhancing drug delivery, solubility and bioavailability for modern therapeutics. *Pharmaceutics*. **17**(3): 288. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030288> EDN: EDJZNO
- Paiva A., Craveiro R., Aroso I., Martins M., Reis R.L., Duarte A.R.C. (2014) Natural deep eutectic solvents –solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. **2**(5): 1063–1071. <https://doi.org/10.1021/sc500096j>
- Park C.K., Choi S.J., Kim C.R., Shin H.R., Shin E.-C., Kim Y.J., Cho T.J., Shin D.-H., Kim J.K. (2025) Ethanolic extract of *Rosa rugosa* roots and its bioactive compound, oleamide, prevented amyloid β-induced oxidative stress and improved behavioral tests in mice. *International Journal of Molecular Sciences*. **26**(9): 4214. <https://doi.org/10.3390/ijms26094214> EDN: NZSTPE
- Pupykina K.A., Anishchenko I.E., Krasnyuk E. V., Zhigunov O.Yu., Shigapov Z.Kh. (2025) To the biochemistry of some representatives of the genus *Thymus* L. under the culture. *Agricultural Science Euro-North-East*. **26**(6): 1263–1271. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2025.26.6.1263-1271> EDN: UBVPYQ
- Radan M., Jovanović M., Čujić Nikolić N., Mudrić J., Janković T., Bigović D., Šavikin K. (2024) Cyclodextrin-assisted extraction as a green alternative for the recovery of phenolic compounds from *Helichrysum plicatum* DC. flowers. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. **39**: 101547. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101547> EDN: NMGMYO
- Shahbaz M., Riaz M., Momal U., Rasool I.F.U., Naeem H., Raza N., Moreno A., Khalid W., Esatbeyoglu T. (2025) Green solvent extraction and eco-friendly novel techniques of bioactive compounds from plant waste: Applications, future perspective and circular economy. *Applied Food Research*. **5**(2): 101434. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101434> EDN: YKZKSV
- Sip S., Gościński A., Szulc P., Walkowiak J., Cielecka-Piontek J. (2022) Assisted extraction with cyclodextrins as a way of improving the antidiabetic activity of *Actinidia* leaves. *Pharmaceutics*. **14**(11): 2473. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112473> EDN: RIFUZK
- Tsitlakidou P., Deligiannidou G.-E., Bussi A., Kontogiorgis C., Biliaderis C.G., Mourtzinis I. (2026) Cyclodextrins-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from rosemary post-distillation residues—*in vitro* antioxidant activity, comparisons to conventional liquid extracts. *Foods*. **15**(4): 627. <https://doi.org/10.3390/foods15040627> EDN: NMURCN
- Vadalà R., Costa R., Cicero N. (2025) Special issue: “Advances in sources, extraction, encapsulation, bioavailability, and health benefits of functional food ingredients.” *Foods*. **14**(5): 759. <https://doi.org/10.3390/foods14050759> EDN: MFFTID
- Ventura S.P.M., e Silva F.A., Quental M. V., Mondal D., Freire M.G., Coutinho J.A.P. (2017) Ionic-liquid-mediated extraction and separation processes for bioactive compounds: past, present, and future trends. *Chemical Reviews*. **117**(10): 6984–7052. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00550> EDN: YGYQZX
- Wan Mohd Zamri W.M.I., Sjahrir F., Yaacob N.S., Dzulkafli N.F., Ahmad M.F., Abdullah H., Maniyam M.N., Hashim E.F., Kawasaki N., Komatsu K. et al. (2021) Assessment of aqueous extraction methods on extractable organic matter and hydrophobic/hydrophilic fractions of virgin forest soils. *Molecules*. **26**(9): 2480. <https://doi.org/10.3390/molecules26092480> EDN: CJEBFO
- Zalidis A.P., Tsakiridis N., Zalidis G., Mourtzinis I., Gkatzionis K. (2025) Evaluating the effect of thermal treatment on phenolic compounds in functional flours using Vis–NIR–SWIR spectroscopy: a machine learning approach. *Foods*. **14**(15): 2663. <https://doi.org/10.3390/foods14152663> EDN: JCRBDV

Цитировать как

Головач Т.Н., Курченко В.П., Лодыгин А.Д., Гарибян Л.В., Сисько А.А. (2026). β-циклодекстрин как селективный экстрагент биоактивных соединений из травы *Thymus serpyllum* L. *Экобиотех*. **9**(3): 335-344. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-25> EDN: <https://www.elibrary.ru/dcztsq>

Cited as

Halavach T.M., Kurchenko V.P., Lodygin A.D., Garibian L.V., Sisko A.A. (2026). β-cyclodextrin as a selective extractant of bioactive compounds from *Thymus serpyllum* L. herb. *Ecobiotech*. **9**(3): 335-344. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-25> EDN: <https://www.elibrary.ru/dcztsq>

Сведения об авторах

Татьяна Николаевна Головач, к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: halavachtn@gmail.com, [SPIN: 2133-1933](#), [WoS Researcher ID: AAE-7947-2021](#), [ORCID: 0000-0002-2096-8030](#), [Scopus Author ID: 57190978534](#).

Владимир Петрович Курченко, к.б.н., доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: kurchenko@bsu.by, [SPIN: 6118-6385](#), [WoS Researcher ID: AAC-6642-2022](#), [ORCID: 0000-0002-4859-2389](#), [Scopus Author ID: 6603704011](#).

Алексей Дмитриевич Лодыгин, д.т.н., доцент, заведующий кафедрой прикладной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия. E-mail: allodygin@yandex.ru, [SPIN: 2039-7644](#), [WoS Researcher ID: AAC-2953-2022](#), [ORCID: 0000-0001-8460-2954](#), [Scopus Author ID: 57021535400](#).

Лиана Валериковна Гарибян, аспирант кафедры прикладной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия. E-mail: liana.garibian@gmail.com, [SPIN: 1788-4150](#), [ORCID: 0009-0001-5153-0373](#).

Антон Александрович Сисько, студент кафедры общей экологии и методики преподавания биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: bio.sisko@bsu.by.

Information About the Authors

Tatsiana M. Halavach, PhD (Biology), Associate Professor, Leading Researcher of the Research Laboratory of Applied Biology, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: halavachtn@gmail.com, [SPIN: 2133-1933](#), [WoS Researcher ID: AAE-7947-2021](#), [ORCID: 0000-0002-2096-8030](#), [Scopus Author ID: 57190978534](#).

Vladimir P. Kurchenko, PhD (Biology), Associate Professor, Head of the Research Laboratory of Applied Biology, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: kurchenko@bsu.by, [SPIN: 6118-6385](#), [WoS Researcher ID: AAC-6642-2022](#), [ORCID: 0000-0002-4859-2389](#), [Scopus Author ID: 6603704011](#).

Alexey D. Lodygin, Doctor (Technical Sciences), Associate Professor, Head of the Department of Applied Biotechnology, Faculty of Food Engineering and Biotechnologies, North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia. E-mail: allodygin@yandex.ru, [SPIN: 2039-7644](#), [WoS Researcher ID: AAC-2953-2022](#), [ORCID: 0000-0001-8460-2954](#), [Scopus Author ID: 57021535400](#).

Liana V. Garibyan, Postgraduate Student of the Department of Applied Biotechnology, Faculty of Food Engineering and Biotechnologies, North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia. E-mail: liana.garibian@gmail.com, [SPIN: 1788-4150](#), [ORCID: 0009-0001-5153-0373](#).

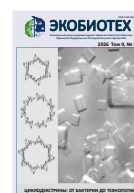
Anton A. Sisko, Student of the Department of General Ecology and Methods of Biology Teaching, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: bio.sisko@bsu.by.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>



УДК 637.1/.3.04/07+577.114



Научная статья | RESEARCH ARTICLE

БИОАКТИВНЫЕ СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ВКЛЮЧЕНИЯ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ С ПЕПТИДАМИ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ МОЛОКА

Головач Т.Н.^{1*}, Курченко В.П.¹, Тарун Е.И.²,
Дудчик Н.В.³, Ржепаковский И.В.⁴

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

² Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ, Минск, Беларусь

³ РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь

⁴ ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Ставрополь, Россия

*E-mail: halavachtn@gmail.com

BIOACTIVE SUPRAMOLECULAR INCLUSION COMPLEXES OF CYCLODEXTRINS WITH WHEY PROTEIN PEPTIDES

Halavach T.M.^{1*}, Kurchenko V.P.¹, Tarun E.I.²,
Dudchik N.V.³, Rzhepakovsky I.V.⁴

¹ Belarusian State University, Minsk, Belarus

² International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Belarus

³ Scientific and Practical Center of Hygiene, Minsk, Belarus

⁴ North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

*E-mail: halavachtn@gmail.com

Аннотация

Предложен комплексный биотехнологический подход к повышению биоактивности и улучшению органолептических свойств частичных ферментативных гидролизатов лактопротеинов. Разработанный технологический процесс включает расщепление белков молочной сыворотки щелочной бактериальной протеазой (алкалаза) и мембранное фракционирование с отсечкой по молекулярной массе 10 кДа, что обеспечивает получение низкомолекулярных пептидных фракций со сниженной остаточной антигенностью наряду с увеличением антиоксидантной активности в 3.0 и 5.3 раза по данным ORAC- и ABTS-методов соответственно. В исследовании продемонстрировано, что комплексообразование β - и γ -циклодекстринов с пептидами дополнительно приводит к возрастанию радикал-восстанавливающего действия гидролизатов в 1.8–1.9 раза (ORAC-метод), сохранению либо усилению антимутагенного и антимикробного эффекта пептидов, а также существенному снижению интенсивности их горечи. Полученные результаты подтверждают перспективность применения β - и γ -циклодекстриновых комплексов включения с гидролизатами лактопротеинов в качестве функциональных ингредиентов для специализированных пищевых продуктов.

Ключевые слова:

сывороточные белки молока; ферментативный гидролиз; пептиды; циклодекстрин; комплексы включения; антиоксидантная активность; органолептические свойства

Поступила в редакцию: 19.06.2026

Принято в печать: 29.08.2026

Abstract

A comprehensive biotechnological approach is proposed to enhance the bioactivity and improve the organoleptic properties of partially hydrolyzed lactoproteins. The developed technological process includes the cleavage of whey proteins by an alkaline bacterial protease (Alcalase) and membrane fractionation with a molecular weight cut-off of 10 kDa, resulting in low-molecular-weight peptide fractions with reduced residual antigenicity, along with a 3.0- and 5.3-fold increase in antioxidant activity according to ORAC and ABTS assays, respectively. This study demonstrates that complex formation of β - and γ -cyclodextrins with peptides further increases the radical-scavenging activity of the hydrolysates by 1.8–1.9 times (ORAC assay), maintains or enhances the antimutagenic and antimicrobial effects of the peptides, and significantly reduces their bitterness intensity. These findings confirm the promise of using β - and γ -cyclodextrin inclusion complexes with lactoprotein hydrolysates as functional ingredients for specialized food products.

Keywords:

whey proteins; enzymatic hydrolysis; peptides; cyclodextrin; inclusion complexes; antioxidant activity; organoleptic properties

Received: 19.06.2026

Accepted: 29.08.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-26> EDN: <https://www.elibrary.ru/fucvey>

ВВЕДЕНИЕ

Коровье молоко и продукты его переработки традиционно являются одним из доминирующих источников пищевого белка и биологически активных пептидов, способных проявлять широкий спектр физиологического действия [Dullius *et al.* 2018; Berry *et al.* 2020]. При создании функциональных продуктов питания особое внимание уделяется гидролизатам сывороточных белков молока и выделяемым из них пептидам, обладающим антиоксидантной, антимуtagenной, антимикробной и др. активностью. Ферментативный гидролиз рассматривается в качестве наиболее эффективного подхода к модификации свойств молочных белков, поскольку позволяет одновременно повышать их биодоступность, изменять техно-функциональные характеристики и снижать аллергенный потенциал за счет разрушения областей антигенных эпитопов [Milessi *et al.* 2022; Najafian 2023; Rivero-Pino *et al.* 2023].

Для получения фракций сывороточных белков молока с глубокой степенью гидролиза широко используют щелочные эндопептидазы микробного происхождения, в частности алкалазу (Alcalase®), в сочетании с мембранным фракционированием (микро- и ультрафильтрация) [Dullius *et al.* 2018; Milessi *et al.* 2022]. В ранее опубликованных работах показано, что при гидролизе сывороточных белков алкалазой с последующей фильтрацией через мембраны с отсечкой по M_w 10 кДа антиоксидантная активность белковой фракции возрастает наряду со снижением иммунореактивности лактопротеинов. Тепловая обработка позволяет дополнительно уменьшить остаточную антигенность гидролизатов при сохранении их биоактивности [Halavach 2024; Halavach *et al.* 2024].

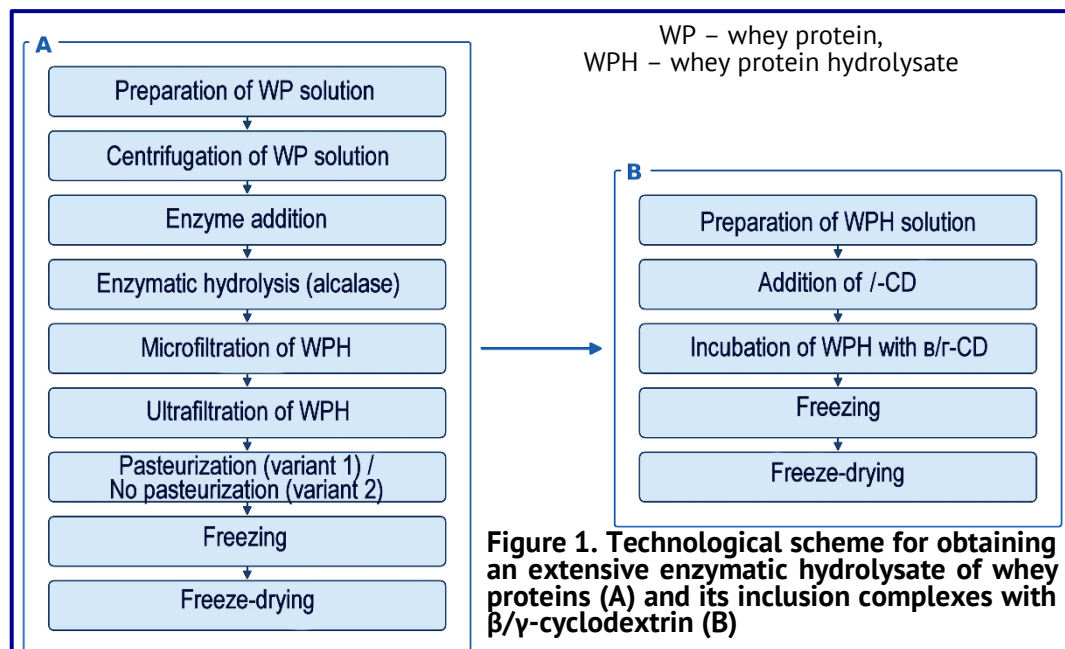
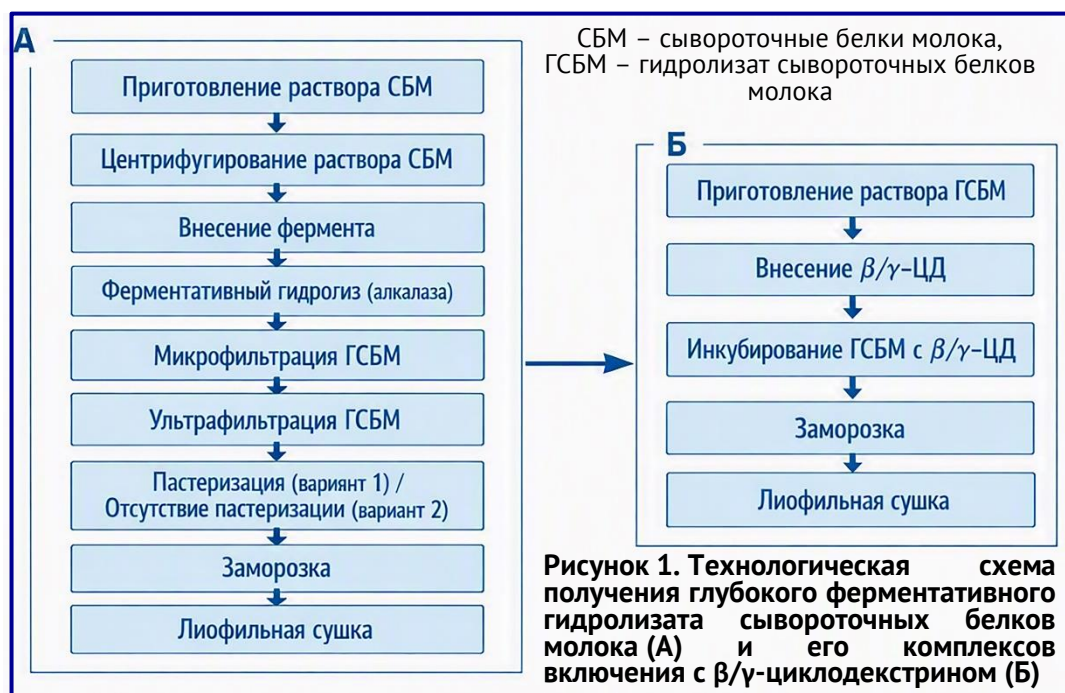
Существенным ограничением применения глубоко гидролизированных белков является выраженный горький вкус, обусловленный накоплением низкомолекулярных продуктов протеолиза [Yang *et al.* 2020]. Для коррекции органолептических характеристик перспективно использование циклодекстринов (ЦД) – циклических олигосахаридов с гидрофобной полостью, которые способны образовывать комплексы включения с гидрофобными и амфифильными лигандами, ассоциированными с горьким вкусом [Poulson *et al.* 2021; Zhou *et al.* 2022]. Согласно данным литературы [Singh *et al.* 2020; Jo *et al.* 2021] и предшествующим собственным исследованиям [Halavach *et al.* 2021, 2022, 2023; Halavach 2023; Головач *и др.* 2024], при формировании супрамолекулярных комплексов β - и γ -ЦД с пептидами сохраняется или усиливается их биоактивное действие наряду с существенным снижением уровня горечи. При этом β -ЦД рассматривается как один из наиболее эффективных агентов, обеспечивающих улучшение органолептических свойств, поскольку размер его полости способствует более селективному связыванию с радикалами ароматических и алифатических аминокислот (Trp, Tyr, Phe, Leu, Ile и Pro) в составе горьких пептидов [Singh *et al.* 2020; Halavach *et al.* 2022, 2023; Halavach 2023].

Цель настоящей работы – охарактеризовать биотехнологический подход к повышению биоактивности и улучшению органолептических свойств лактопротеинов, основанный на частичном ферментативном гидролизе сывороточных белков коровьего молока, мембранном фракционировании пептидов и последующем комплексообразовании с β - и γ -циклодекстринами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения гидролизатов лактопротеинов и их ЦД-комплексов применяли концентрат сывороточных белков молока (массовая доля белка 80%, Щучинский филиал ОАО «Молочный мир», Республика Беларусь), протеолитический фермент Alcalase® 2.4L FG (КФ 3.4.21.62, 2.4 ЕА/г; Novozymes A/S, Дания; далее – алкалаза), β -ЦД (Henan Haoyuhang Economic & Trade Co. Ltd., Китай) и γ -ЦД (Chem-Impex International Inc., Китай).

Ферментативные гидролизаты сывороточных белков коровьего молока и ЦД-комплексы с пептидами получены в НИЛ прикладных проблем биологии БГУ и межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии Северо-Кавказского федерального университета согласно технологической схеме, представленной на Рис. 1. Основные физико-химические свойства опытных образцов приведены в Табл. 1.



Массовую долю общего азота (TN) и белка в образцах гидролизатов определяли по СТБ ISO 8968–1. Массовую долю α-аминного азота (AN) устанавливали по ГОСТ Р 55479. Степень гидролиза (СГ, %) рассчитывали как отношение AN/TN; для исследуемого гидролизата значение СГ составило 31.2%. Анализ молекулярно-массового распределения исследуемых гидролизатов осуществляли методом масс-спектрометрии с применением масс-спектрометра высокого разрешения с источником ионизации MALDI производства Bruker Daltonics (Бремен, Германия).

Антиоксидантную активность (АОА) лактопротеинов, их гидролизатов и β/γ-ЦД-комплексов с пептидами определяли ORAC- и ABTS-методами с расчетом показателя IC₅₀ [Halavach et al. 2023, 2024]. Остаточную антигенность (ОА) оценивали с применением конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) по содержанию иммунореактивного β-лактоглобулина, антимуtagenное действие – в тесте Эймса (штаммы *Salmonella typhimurium* TA 98 и TA 100), антимикробный эффект – импедиметрически в отношении *Escherichia coli* ATCC 8739 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 [Halavach et al. 2021, 2023]. Сенсорную оценку уровня горечи гидролизатов и ЦД-комплексов с пептидами проводили методом ранжирования (ГОСТ ISO 8587–2015), в тестах «А – не А» (ГОСТ ISO 8588–2011) и «дуо – трио» (ГОСТ ISO 10399–2015). Статистическую обработку данных выполняли методами дисперсионного анализа (ANOVA) и множественных сравнений (тест Тьюки) при уровне значимости p<0.05.

Таблица 1. Характеристика лактопротеинов и их гидролизатов ЦД-комплексов с пептидами**Table 1. Characteristics of lactoprotein hydrolysates and their peptide-cyclodextrin inclusion complexes**

Образец	Состав и форма	Степень гидролиза, %	Молекулярно-массовая характеристика	Соотношение компонентов
ГСБМ (вариант 1/2)	Лиофилизированный ГСБМ (80% белка)	31.2	Пептидная фракция с $M_w < 10$ кДа	ЦД отсутствует
β -ЦД-ГСБМ	Лиофилизированные комплексы β -ЦД с пептидами ГСБМ	31.2 (для ГСБМ)	Пептиды с $M_w < 10$ кДа в составе β -ЦД-комплексов	ГСБМ : β -ЦД = 50 : 50 ¹ ; ГСБМ : β -ЦД = 50 : 51 ²
γ -ЦД-ГСБМ	Лиофилизированные комплексы γ -ЦД с пептидами ГСБМ	31.2 (для ГСБМ)	Пептиды с $M_w < 10$ кДа в составе γ -ЦД-комплексов	ГСБМ : γ -ЦД = 50 : 50 ¹

Примечание: – вариант 1 включает пастеризацию, вариант 2 – получение образца без пастеризации; ГСБМ – гидролизат сывороточных белков молока; ЦД – циклодекстрин. 1 – соотношение компонентов при определении биоактивности ЦД-комплексов; 2 – соотношение компонентов в эксперименте по расширенной оценке органолептических свойств комплекса β -ЦД-ГСБМ; M_w – молекулярная масса

Note: option 1 includes pasteurization, option 2 – preparation of sample without pasteurization; WPH – whey protein hydrolysate; CD – cyclodextrin. 1 – component ratio for determination of bioactivity of CD complexes; 2 – component ratio in the experiment for extended evaluation of sensory properties of the β -CD-WPH complex; M_w – molecular weight

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Технологический процесс получения ферментативного гидролизата предусматривает приготовление раствора сывороточных белков молока и его центрифугирование для удаления нерастворимой фракции, внесение щелочной бактериальной протеазы алкалазы, ферментативный гидролиз, микрофильтрацию с отсечкой по размеру пор 0.2 мкм, ультрафильтрацию с отсечкой по M_w 10 кДа, пастеризацию (вариант 1) / отсутствие пастеризации (вариант 2), заморозку, лиофильную сушку (Рис. 1). Проведено комплексное исследование влияния ферментативного расщепления лактопротеинов, фракционирования пептидов и последующего комплексообразования опытных образцов гидролизатов с β - и γ -ЦД на их биоактивные свойства и уровень горечи.

По данным ORAC/ABTS-анализа установлено, что ферментативный гидролиз сывороточных белков с последующей мембранной фильтрацией (M_w 10 кДа) сопровождается увеличением антиоксидантной активности в 3.0 и 5.3 раза соответственно по сравнению с нативной сывороткой (Табл. 2). Значения IC_{50} для пептидной фракции составляют 35.4 мкг белка/мл (ORAC) и 18.1–18.3 мкг белка/мл (ABTS). Комплексообразование гидролизатов с β - и γ -ЦД дополнительно снижает $IC_{50(ORAC)}$ до 19.8 и 18.6 мкг белка/мл (повышение АОА в 1.8–1.9 раза соответственно), при этом $IC_{50(ABTS)}$ сохраняется на уровне 18.3–18.5 мкг белка/мл. Следовательно, в соответствии с результатами ORAC-метода подтверждено возрастание протон-донорных свойств пептидов молока в составе ЦД-комплексов [Halavach et al. 2022, 2023].

Таблица 2. Показатели антиоксидантной активности и остаточной антигенности гидролизатов сывороточных белков молока (ГСБМ), β/γ -ЦД и их комплексов с пептидами (ЦД-ГСБМ)**Table 2. Parameters of antioxidant activity and residual antigenicity of whey protein hydrolysates (WPH), β/γ -CD, and their complexes with peptides (CD-WPH)**

Наименование образца	$IC_{50(ORAC)}$, мкг белка/мл	$IC_{50(ABTS)}$, мкг белка/мл	ОА, %	ОА (СБМ)/ОА (ГСБМ)
СБМ	105.9 ^a	96.9 ^a	100 ^a	1.0 ^a
ГСБМ*	–	18.1 ^b	0.17 ^b	589 ^b
ГСБМ**	35.4 ^b	18.3 ^b	0.38 ^c	265 ^c
β -ЦД-ГСБМ**	19.8 ^c	18.5 ^b	0.43 ^c	237 ^c
γ -ЦД-ГСБМ**	18.6 ^c	18.3 ^b	0.40 ^c	254 ^c
β -ЦД/ γ -ЦД (контроль)	104.9 ^a /79.8 ^d	0	0	–

Примечание: */** – вариант технологического процесса № 1/2 (Рис. 1). Значения без общего буквенного индекса (a–d) в пределах одного столбца указывают на достоверные различия при $p < 0.05$ ($n=3$)

Note: */** – technological process variant No. 1/2 (Fig. 1). Values without a common letter superscript (a–d) within the same column indicate significant differences at $p < 0.05$ ($n=3$)

Согласно данным конкурентного ИФА в результате протеолиза алкалазой и фракционирования (M_w 10 кДа) уровень антигенности основного аллергена коровьего молока (β -лактоглобулина) в ГСБМ существенно снижается по сравнению с нативными сывороточными белками. В частности, остаточная антигенность ГСБМ составляет около 0.38%, а при включении стадии термообработки – порядка 0.17%. Соотношение ОА(СБМ)/ОА(ГСБМ) достигает значений 265–589, что свидетельствует о глубоком разрушении областей антигенных эпитопов. При этом для β/γ -ЦД-комплексов способность связывать антиген-специфичные антитела достоверно не отличалась от исходного гидролизата (Табл. 2).

В соответствии с итогами оценки антимутагенного действия и антимикробной активности (Табл. 3), ГСБМ снижает уровень индуцированного мутирования *S. typhimurium* TA 98 и TA 100, а также проявляет умеренно выраженное антимикробное действие в отношении *E. coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538. Формирование β/γ -ЦД-комплексов сопровождалось сохранением или усилением антимутагенного эффекта и антимикробной активности, особенно для β -ЦД-комплексов, что согласуется с ранее полученными данными для супрамолекулярных комплексов ЦД с пептидами сыворотки и молозива [Halavach et al. 2021].

Таблица 3. Антимутагенное и антимикробное действие гидролизата сывороточных белков молока (ГСБМ), β/γ -ЦД и их комплексов с пептидами (ЦД–ГСБМ)

Table 3. Antimutagenic and antimicrobial effects of whey protein hydrolysate (WPH), β/γ -CD, and their peptide complexes (CD–WPH)

Наименование образца	Уровень снижения мутирования*, %		Уровень антимикробного действия в отношении тест-штаммов***, %	
	<i>S. typhimurium</i> TA 98	<i>S. typhimurium</i> TA 100	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
ГСБМ*	11.2–19.1 ^{A, I}	10.0–13.9 ^{A, II}	19.4 ^{A, I}	10.6 ^{A, II}
β -ЦД–ГСБМ*	16.4–20.0 ^{A, I}	13.8–17.7 ^{B, II}	27.4 ^{B, I}	15.2 ^{B, II}
γ -ЦД–ГСБМ*	11.0–21.4 ^{A, I}	17.8–26.2 ^{C, II}	18.6 ^{A, I}	11.8 ^{A, II}
β/γ -ЦД (контроль)	0	0	0	0

Примечание: * – вариант технологического процесса № 2 (Рис. 1); ** – 0.03–0.5 мг белка на чашку; *** – содержание белка 0.5 мг/мл. Значения без общего буквенного индекса в пределах одного столбца (A–C) и строки (I, II) указывают на достоверные различия при $p < 0.05$

Note: * – technological process variant No. 2 (Fig. 1); ** – 0.03–0.5 mg protein per plate; *** – protein content of 0.5 mg/mL. Values without a common letter superscript within the same column (A–C) and row (I, II) indicate significant differences at $p < 0.05$

В ранее проведенных исследованиях отмечено выраженное снижение горечи при использовании β -ЦД по сравнению с γ -ЦД [Halavach 2023], что обусловлено размером его гидрофобной полости (максимальный диаметр устья – 0.78 нм), оптимально комплементарной радикалам ароматических и алифатических аминокислот в составе горьких пептидов [Singh et al. 2020; Yang et al. 2020]. Циклодекстрины маскируют данные участки, включая их в полость и блокируя контакт с соответствующими рецепторами [Singh et al. 2020; Poulson et al. 2021; Zhou et al. 2022]. Бóльший диаметр полости γ -ЦД (0.95 нм) не обеспечивает достаточной комплементарности для коротких пептидов, тогда как β -ЦД формирует более устойчивые комплексы, что и послужило основанием для его выбора в дальнейших экспериментах.

Таблица 4. Сенсорная оценка интенсивности горечи ГСБМ (вариант 2) и его комплекса с β -ЦД

Table 4. Sensory evaluation of bitterness intensity of WPH (variant 2) and its complex with β -CD

Образец	Соотношение компонентов	Интенсивность горечи, балл	Метод оценки
ГСБМ	ЦД отсутствует	4.5	5-балльная шкала; ранжирование
β -ЦД–ГСБМ	ГСБМ : β -ЦД = 50 : 51	0.5	5-балльная шкала; ранжирование; «А – не А»; «дуо – трио»

Примечание: ГСБМ – гидролизат сывороточных белков молока; β -ЦД – β -циклодекстрин. Расширенная сенсорная оценка выполнена для гидролизата, полученного по варианту 2 технологической схемы (Рис. 1). Интенсивность горечи оценивали по 5-балльной шкале

Note: WPH – whey protein hydrolysate; β -CD – β -cyclodextrin. The extended sensory evaluation was carried out on the hydrolysate produced by technological variant 2 (Fig. 1). The intensity of bitterness was rated on a 5-point scale

Для экспериментального подтверждения эффективности выбранного подхода проведена расширенная сенсорная оценка опытных образцов (Табл. 4). В данном эксперименте использовали ГСБМ, полученный по варианту 2 технологической схемы (Рис. 1). Следует отметить, что оба образца ГСБМ, соответствующие вариантам 1/2, обладали аналогичным уровнем горечи – 4.5 балла по 5-балльной шкале. После образования комплекса с β -ЦД при массовом соотношении ГСБМ : β -ЦД равном 50 : 51 интенсивность горечи снижалась до 0.5 балла, тогда как контрольный образец β -ЦД собственной горечью не обладал.

Так, результаты расширенной сенсорной оценки подтверждают целесообразность выбора β -ЦД для эффективного снижения горечи гидролизатов лактопротеинов. При оптимальном массовом соотношении гидролизат : β -ЦД порядка 50 : 51 интенсивность горечи снижается до уровня, приемлемого для применения в пищевых продуктах (0.5 балла по 5-балльной шкале). При этом согласно полученным данным и опубликованным результатам антиоксидантная, антимуtagenная и антимикробная активность пептидных фракций сохраняется или усиливается, что позволяет рассматривать β -ЦД как эффективный инструмент одновременной коррекции биоактивных свойств и вкусового профиля пептидов лактопротеинов [Singh et al. 2020; Halavach et al. 2022, 2023; Halavach 2023].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный комплексный биотехнологический подход, включающий расщепление сывороточных белков молока щелочной бактериальной протеазой, мембранное фракционирование и комплексообразование с β - и γ -циклодекстринами, обеспечивает получение низкомолекулярных пептидных фракций с подтвержденной антиоксидантной, антимуtagenной и антимикробной активностью, гипоаллергенными свойствами и улучшенными органолептическими характеристиками. Вклад β -циклодекстрина проявляется как в дополнительном увеличении антиоксидантного потенциала и антимикробного действия включенных пептидов, так и в существенном снижении интенсивности горечи ГСБМ с 4.5 до 0.5 балла по 5-балльной шкале, что особенно важно для практического применения в составе специализированных продуктов питания. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о функциональных пептидах лактопротеинов и подтверждают перспективность их использования в составе специализированных пищевых продуктов с антиоксидантными, антимуtagenными и антимикробными свойствами.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Головач Т.Н., Ловкис З.В., Курченко В.П., Янцевич А.В., Тарун Е.И., Дудчик Н.В., Ржепаковский И.В., Лодыгин А.Д. (2024) Биологически активные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с циклодекстринами. *Техника и технология пищевых производств*. **54**(3): 461–482. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2521> EDN: RCPBYJ
- Berry S., Sheehy P., Williamson P., Sharp J., Menzies K., Lefèvre C., Digby M., Harland C., Davis S., Snell R. (2020) Chapter 4 - Defining the origin and function of bovine milk proteins through genomics: The biological implications of manipulation and modification. In: Boland M., Singh H. (eds.) *Milk Proteins* (3 ed.). Academic Press: 143–171. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00004-9> EDN: YVMZJB
- Dullius A., Goettert M.I., de Souza C.F.V. (2018) Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods*. **42**: 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.063> EDN: VDZYLA
- Halavach T. (2023) Taste quality of β/γ -cyclodextrin nanocomplexes with whey and colostrum peptides. *AIP Conference Proceedings*. **2931**(1): 060006. <https://doi.org/10.1063/5.0177511>
- Halavach T.M. (2024) Efficient enzymatic hydrolysis of the whey protein fraction from bovine milk. *Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences*. **12**(3): 743–749. <https://doi.org/10.22194/JGIAS/24.1362> EDN: GOYZSE
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N. V., Yatskou M.M., Lodygin A.D., Alieva L.R., Evdokimov I.A., Ulrih N.P. (2023) Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on

- bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(18): 13987. <https://doi.org/10.3390/ijms241813987> EDN: CMHNFZ
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Yantsevich A. V., Shchur V. V., Tsygankow V.G., Lodygin A.D., Evdokimov I.A., Poklar Ulrih N. (2024) Effect of hydrolysis degree with Alcalase on antioxidant and antigenic properties of whey and colostrum protein hydrolysates. *Journal of Agriculture and Food Research*. **15**: 100975. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.100975> EDN: SKOZRU
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tsygankow V.G., Bondaruk A.M., Tarun E.I., Asafov V.A. (2022) β -Cyclodextrin nanocomplexes with biologically active peptides from hydrolysed bovine whey and colostrum. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **12**(6): 8502–8514. <https://doi.org/10.33263/BRIAC126.85028514> EDN: BYGWWA
- Halavach T.M., Savchuk E.S., Bobovich A.S., Dudchik N. V., Tsygankow V.G., Tarun E.I., Yantsevich A. V., Kurchenko V.P., Kharitonov V.D., Asafov V.A. (2021) Antimutagenic and antibacterial activity of β -cyclodextrin clathrates with extensive hydrolysates of colostrum and whey. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **11**(2): 8626–8638. <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.86268638> EDN: KKJOZK
- Jo Y.-J., Cho H.-S., Chun J.-Y. (2021) Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP. *Food Science and Biotechnology*. **30**(6): 807–814. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00914-y> EDN: LVWNUM
- Milessi T.S., Lopes L.A., Novelli P.K., Tardioli P.W., Giordano R.L.C. (2022) Improvement of functional properties of cow's milk peptides through partial proteins hydrolysis. *Journal of Food Science and Technology*. **59**(11): 4520–4529. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05533-x> EDN: YJPVUX
- Najafian L. (2023) A review of bioactive peptides as functional food ingredients: mechanisms of action and their applications in active packaging and food quality improvement. *Food & Function*. **14**(13): 5835–5857. <https://doi.org/10.1039/D3FO00362K> EDN: MHBBBG
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfaldin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2021) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rivero-Pino F., Villanueva Á., Montserrat-de-la-Paz S., Sanchez-Fidalgo S., Millán-Linares M.C. (2023) Evidence of immunomodulatory food-protein derived peptides in human nutritional interventions: Review on the outcomes and potential limitations. *Nutrients*. **15**(12): 2681. <https://doi.org/10.3390/nu15122681> EDN: AEGVAG
- Singh A., Idowu A.T., Benjakul S., Kishimura H., Aluko R.E., Kumagai Y. (2020) Debittering of salmon (*Salmo salar*) frame protein hydrolysate using 2-butanol in combination with β -cyclodextrin: Impact on some physicochemical characteristics and antioxidant activities. *Food Chemistry*. **321**: 126686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126686> EDN: KMIEEG
- Yang P., Liu C., Song H., Wang L., Wang X., Hua J. (2020) Sensory-directed flavor analysis of off-flavor compounds in infant formula with deeply hydrolyzed milk protein and their possible sources. *LWT*. **119**: 108861. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108861> EDN: KVEYEE
- Zhou J., Jia J., He J., Li J., Cai J. (2022) Cyclodextrin inclusion complexes and their application in food safety analysis: recent developments and future prospects. *Foods*. **11**(23): 3871. <https://doi.org/10.3390/foods11233871> EDN: FDXXHZ

REFERENCES

- Halavach T.M., Lovkis Z.V., Kurchenko V.P., Yantsevich A.V., Tarun E.I., Dudchik N.V., Rzhepakovsky I.V., Lodygin A.D. (2024) Biologically Active Dairy Protein Hydrolysates and Their Cyclodextrin Inclusion Complexes: Biotechnological Aspects of Production. *Food Processing: Techniques and Technology*. **54**(3): 461–482. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2521> EDN: RCPBYJ (in Russian)
- Berry S., Sheehy P., Williamson P., Sharp J., Menzies K., Lefèvre C., Digby M., Harland C., Davis S., Snell R. (2020) Chapter 4 - Defining the origin and function of bovine milk proteins through genomics: The biological implications of manipulation and modification. In: Boland M., Singh H. (eds.) *Milk Proteins* (3 ed.). Academic Press: 143–171. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00004-9> EDN: YVMZIB
- Dullius A., Goetttert M.I., de Souza C.F.V. (2018) Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods*. **42**: 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.063> EDN: VDZYLA
- Halavach T. (2023) Taste quality of β/γ -cyclodextrin nanocomplexes with whey and colostrum peptides. *AIP Conference Proceedings*. **2931**(1): 060006. <https://doi.org/10.1063/5.0177511>

- Halavach T.M. (2024) Efficient enzymatic hydrolysis of the whey protein fraction from bovine milk. *Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences*. **12**(3): 743–749. <https://doi.org/10.22194/JGIAS/24.1362> EDN: GOYZSE
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N. V., Yatskou M.M., Lodygin A.D., Alieva L.R., Evdokimov I.A., Ulrih N.P. (2023) Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**(18): 13987. <https://doi.org/10.3390/ijms241813987> EDN: CMHNFZ
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Yantsevich A. V., Shchur V. V., Tsygankow V.G., Lodygin A.D., Evdokimov I.A., Poklar Ulrih N. (2024) Effect of hydrolysis degree with Alcalase on antioxidant and antigenic properties of whey and colostrum protein hydrolysates. *Journal of Agriculture and Food Research*. **15**: 100975. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.100975> EDN: SKOZRU
- Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tsygankow V.G., Bondaruk A.M., Tarun E.I., Asafov V.A. (2022) β -Cyclodextrin nanocomplexes with biologically active peptides from hydrolysed bovine whey and colostrum. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **12**(6): 8502–8514. <https://doi.org/10.33263/BRIAC126.85028514> EDN: BYGWWA
- Halavach T.M., Savchuk E.S., Bobovich A.S., Dudchik N. V., Tsygankow V.G., Tarun E.I., Yantsevich A. V., Kurchenko V.P., Kharitonov V.D., Asafov V.A. (2021) Antimutagenic and antibacterial activity of β -cyclodextrin clathrates with extensive hydrolysates of colostrum and whey. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. **11**(2): 8626–8638. <https://doi.org/10.33263/BRIAC112.86268638> EDN: KKJOZK
- Jo Y.-J., Cho H.-S., Chun J.-Y. (2021) Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP. *Food Science and Biotechnology*. **30**(6): 807–814. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00914-y> EDN: LVWNUM
- Milessi T.S., Lopes L.A., Novelli P.K., Tardioli P.W., Giordano R.L.C. (2022) Improvement of functional properties of cow's milk peptides through partial proteins hydrolysis. *Journal of Food Science and Technology*. **59**(11): 4520–4529. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05533-x> EDN: YJPVUX
- Najafian L. (2023) A review of bioactive peptides as functional food ingredients: mechanisms of action and their applications in active packaging and food quality improvement. *Food & Function*. **14**(13): 5835–5857. <https://doi.org/10.1039/D3FO00362K> EDN: MHBBBG
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfalddin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2021) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rivero-Pino F., Villanueva Á., Montserrat-de-la-Paz S., Sanchez-Fidalgo S., Millán-Linares M.C. (2023) Evidence of immunomodulatory food-protein derived peptides in human nutritional interventions: Review on the outcomes and potential limitations. *Nutrients*. **15**(12): 2681. <https://doi.org/10.3390/nu15122681> EDN: AEGVAG
- Singh A., Idowu A.T., Benjakul S., Kishimura H., Aluko R.E., Kumagai Y. (2020) Debitting of salmon (*Salmo salar*) frame protein hydrolysate using 2-butanol in combination with β -cyclodextrin: Impact on some physicochemical characteristics and antioxidant activities. *Food Chemistry*. **321**: 126686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126686> EDN: KMIEEG
- Yang P., Liu C., Song H., Wang L., Wang X., Hua J. (2020) Sensory-directed flavor analysis of off-flavor compounds in infant formula with deeply hydrolyzed milk protein and their possible sources. *LWT*. **119**: 108861. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108861> EDN: KVEYEE
- Zhou J., Jia J., He J., Li J., Cai J. (2022) Cyclodextrin inclusion complexes and their application in food safety analysis: recent developments and future prospects. *Foods*. **11**(23): 3871. <https://doi.org/10.3390/foods11233871> EDN: FDXXHZ

Цитировать как

Головач Т.Н., Курченко В.П., Тарун Е.И., Дудчик Н.В., Ржепаковский И.В. (2026). Биоактивные супрамолекулярные комплексы включения циклодекстринов с пептидами сывороточных белков молока. *Экобиотех.* **9**(3): 345–353.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-26>
EDN: <https://www.elibrary.ru/fucvey>

Cited as

Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N.V., Rzhepakovsky I.V. (2026). Bioactive supramolecular inclusion complexes of cyclodextrins with whey protein peptides. *Ecobiotech.* **9**(3): 345–353.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-26>
EDN: <https://www.elibrary.ru/fucvey>

Сведения об авторах

Головач Татьяна Николаевна, к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: halavachtn@gmail.com, [SPIN: 2133-1933](#), [WoS Researcher ID: AAE-7947-2021](#), [ORCID: 0000-0002-2096-8030](#), [Scopus Author ID: 57190978534](#).

Курченко Владимир Петрович, к.б.н., доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии, биологический факультет, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. E-mail: kurchenko@bsu.by, [SPIN: 6118-6385](#), [WoS Researcher ID: AAC-6642-2022](#), [ORCID: 0000-0002-4859-2389](#), [Scopus Author ID: 6603704011](#).

Тарун Екатерина Ивановна, к.х.н., доцент, доцент кафедры экологической химии и биохимии факультета экологической медицины, Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь. E-mail: ktarun@tut.by, [SPIN: 9692-3530](#), [ORCID: 0000-0001-5711-6037](#), [Scopus Author ID: 6603404269](#).

Дудчик Наталья Владимировна, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь. E-mail: n_dudchik@mail.ru, [SPIN: 8438-1266](#), [WoS Researcher ID: JVN-8173-2024](#), [ORCID: 0000-0002-5877-9307](#), [Scopus Author ID: 7801566515](#).

Ржепаковский Игорь Владимирович, к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия. E-mail: 78igorr@mail.ru, [SPIN: 4406-8285](#), [WoS Researcher ID: G-5660-2015](#), [ORCID: 0000-0002-2632-8923](#), [Scopus Author ID: 56465946800](#).

Information About the Authors

Tatsiana M. Halavach, PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Research Laboratory of Applied Biology, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: halavachtn@gmail.com, [SPIN: 2133-1933](#), [WoS Researcher ID: AAE-7947-2021](#), [ORCID: 0000-0002-2096-8030](#), [Scopus Author ID: 57190978534](#).

Vladimir P. Kurchenko, PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Research Laboratory of Applied Biology, Faculty of Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: kurchenko@bsu.by, [SPIN: 6118-6385](#), [WoS Researcher ID: AAC-6642-2022](#), [ORCID: 0000-0002-4859-2389](#), [Scopus Author ID: 6603704011](#).

Ekaterina I. Tarun, PhD in Chemical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Environmental Chemistry and Biochemistry, Faculty of Environmental Medicine, International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Belarus. E-mail: ktarun@tut.by, [SPIN: 9692-3530](#), [ORCID: 0000-0001-5711-6037](#), [Scopus Author ID: 6603404269](#).

Natalia V. Dudchik, Dr in Biological Sciences, Professor, Chief Researcher, Scientific and Practical Centre of Hygiene, Minsk, Belarus. E-mail: n_dudchik@mail.ru, [SPIN: 8438-1266](#), [WoS Researcher ID: JVN-8173-2024](#), [ORCID: 0000-0002-5877-9307](#), [Scopus Author ID: 7801566515](#).

Igor V. Rzhepakovsky, PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Interdepartmental Scientific and Educational Laboratory of Experimental Immunomorphology, Immunopathology and Immunobiotechnology, Faculty of Medicine and Biology, North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia. E-mail: 78igorr@mail.ru, [SPIN: 4406-8285](#), [WoS Researcher ID: G-5660-2015](#), [ORCID: 0000-0002-2632-8923](#), [Scopus Author ID: 56465946800](#).



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 579.6



Научная статья | RESEARCH ARTICLE

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДУКЦИИ ЦИКЛОДЕКСТРИНГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗЫ ШТАММОМ *PAENIBACILLUS* SP. IB-663

Ушмаева У.А.^{1,2*}, Мильман П.Ю.³, Гильванова Е.А.³¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия² Альметьевский государственный технологический университет «Высшая школа нефти», Альметьевск, Россия³ Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия*E-mail: Ulianka102@yandex.ru

PHYSICOCHEMICAL MUTAGENESIS TO INCREASE THE EFFICIENCY OF CYCLODEXTRIN GLUCANOTRANSFERASE PRODUCTION BY *PAENIBACILLUS* SP. IB-663

Ushmaeva U.A.^{1,2*}, Milman P.Yu.³, Gilvanova E.A.³¹ ITMO University, Saint-Petersburg, Russia² Almeteyevsk State Technological University

"Petroleum High School", Almeteyevsk, Russia

³ Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*E-mail: Ulianka102@yandex.ru

Аннотация

Физико-химический мутагенез – метод, широко используемый для изменения свойств микроорганизмов и ферментов путём индуцирования случайных генетических вариаций. Проведено множество исследований по использованию метода направленного мутагенеза для повышения эффективности продукции циклодекстрин глюканотрансферазы (ЦГТазы, EC 2.4.1.19) в микробных клетках. В то же время работ по использованию мутагенов, как физических, так и химических, практически не проводилось. Для создания мутантных штаммов *Paenibacillus* sp. IB-663 с повышенной продукцией ЦГТазы использован мутагенез, вызванный этилметансульфонатом (EMS) и ультрафиолетовым (УФ) облучением. В ходе работы было проанализировано 81 мутантный клон, из которых три показали увеличенную скорость роста и повышенную продукцию целевого фермента по сравнению с родительским штаммом. Индукция EMS-мутагеном не способствовала увеличению синтеза ЦГТазы у жизнеспособных клеток культуры *Paenibacillus* sp. IB-663. В то же время, мутагенез, вызванный УФ-облучением, позволил получить одного из мутантов с уровнем продукции ЦГТазы в 1.4 раза выше, чем у родительского штамма. Разработан быстрый и простой метод скрининга ЦГТазы-активных мутантов с использованием планшетного спектрофотометра, основанный на способности циклодекстринов образовывать комплексы включения с фенолфталеином. Мониторинг динамики роста и экспрессии ЦГТазы у родительского штамма и мутантов выявил совпадение максимумов роста/продукции ЦГТазы, таким образом, косвенно подтвердил согласованность работы генов, ответственных за синтез фермента и его секрецию.

Ключевые слова:

Paenibacillus sp. IB-663, циклодекстрин глюканотрансфераза, ЦГТазы, мутагенез, этилметансульфонат, EMS, ультрафиолетовое облучение, УФ

Abstract

Physicochemical mutagenesis is a method widely used for modifying the characteristics of microorganisms and enzymes by introducing random genetic variations. Numerous studies have investigated the use of site-directed mutagenesis to increase the activity of cyclodextrin glucanotransferase (CGTase, EC 2.4.1.19) production in microbial cells. However, there has been virtually no work has been done with mutagens, both physical and chemical. Ethyl methanesulfonate (EMS)- and ultraviolet (UV)-induced mutagenesis was used to create mutant strains of *Paenibacillus* sp. IB-663 with enhanced CGTase production. Eighty-one mutant clones were analyzed, of which three showed increased growth rate and target enzyme production compared with the parent strain. Induction of EMS mutagen did not increase the synthesis of CGTase in viable *Paenibacillus* sp. IB-663 cells. UV-induced mutagenesis also allowed for the formation of a mutant with a CGTase production level 1.4 times higher than that of the parent strain. A rapid and simple method has been developed for screening mutants with CGTase activity by plate spectrophotometer. This method is based on the ability of cyclodextrins to form inclusion complexes with phenolphthalein. Monitoring of growth and CGTase expression dynamics in parent and mutant strains revealed a coincidence of growth/CGTase production maxima, thus indirectly confirming the co-ordination of the genes responsible for synthesis and secretion of the enzyme.

Keywords:

Paenibacillus sp. IB-663, cyclodextrin glucanotransferase, CGTase, mutagenesis, ethyl methanesulfonate, EMS, ultraviolet irradiation, UV

Поступила в редакцию: 03.08.2026

Принято в печать: 02.09.2026

Received: 03.08.2026

Accepted: 02.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-27> EDN: <https://www.elibrary.ru/gdypbz>

ВВЕДЕНИЕ

Циклодекстрингликозилтрансфераза (ЕС 2.4.1.19, ЦГТаза) – фермент, катализирующий микробную трансформацию крахмала в циклодекстрины (ЦД), представляющие собой циклические формы остатков глюкопиранозы, связанных α -1,4-связями [Rabadiya et al. 2024]. ЦД находят широкое применение в сельском хозяйстве, косметической, текстильной, пищевой, фармацевтической и химической промышленности благодаря способности образовывать комплексы включения с молекулами [Musuc 2024; Urooj et al. 2024; Saffarionpour 2026]. Включение органических или неорганических молекул в ЦД изменяет их свойства, такие как растворимость, реакционная способность, чувствительность к теплу и свету и т.д. [Poulson et al. 2022]. Известно, что ЦГТазы продуцируются различными родами бактерий, такими как *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Clostridium* и др. [Lim et al. 2021]. Несмотря на потенциал этих ферментов, высокая стоимость их производства остается серьезным препятствием для их промышленного внедрения. Эти ограничения подчеркивают необходимость дальнейших исследований для повышения продуктивности и активности ЦГТаз.

Для улучшения физиологических свойств микроорганизмов, например, повышение секреции ферментов, используются методы генной инженерии: гомологичная и негомологичная рекомбинация, сайт-направленный мутагенез, адаптивная эволюция и ненаправленный мутагенез [Khatab et al. 2023; Rabadiya et al. 2024]. Физико-химический мутагенез обеспечивает высокую частоту мутаций за счет модификации азотистых оснований в результате определенных химических реакций и образования пиримидиновых димеров. Это приводит к изменениям в последовательности ДНК, что позволяет получать новые штаммы с уникальными точечными заменами и измененным метаболизмом. Кроме того, полученные эффективные мутантные штаммы можно подвергать дальнейшей модификации методами генной инженерии. Исследований, направленных на усиление синтеза ЦГТазы, с использованием физических и химических мутагенов практически не проводилось. Однако существует множество исследований по использованию метода направленного мутагенеза как для повышения эффективности синтеза ЦГТазы в микробных клетках, так и для улучшения ряда свойств самого фермента [Rabadiya et al. 2024]. Техническая сложность, необходимость использования специализированных реагентов и оборудования делает метод сайт-направленного мутагенеза более затратным для промышленного применения по сравнению с более простыми и массовыми методами физического мутагенеза. В данном исследовании рассматривается влияние мутагенных факторов (химического (этилметансульфонат, EMS) и физического (ультрафиолетовое излучение, УФ)) на продукцию ЦГТазы штаммом *Paenibacillus* sp. IB-663.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовался штамм *Paenibacillus* sp. IB-663. Прочитанная последовательность гена 16S рРНК штамма доступна в базе данных генетических последовательностей (GenBank) под номером FN547418.1. Штамм входит в коллекцию культур УИБ УФИЦ РАН под номером UIB-63.

В качестве отрицательного контроля при селекции ЦГТаза-активных культур использовался штамм *Bacillus subtilis* IB-54, обладающий высокой амилалитической активностью, но не синтезирующий ЦГТазу. Прочитанная последовательность гена 16S рРНК штамма доступна в базе данных генетических последовательностей (GenBank) под номером AM765842.1. Штамм входит в коллекцию культур УИБ УФИЦ РАН под номером UIB-74.

Культуры поддерживали на плотной питательной среде К1 (г/л): крахмал картофельный – 10; пептон – 4; дрожжевой экстракт – 5; KH_2PO_4 – 1; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 13; агар – 15 при pH 7.2÷7.4. Для наработки фермента проводили культивирование в жидкой среде К1 следующего состава (в г/л): крахмал – 10; пептон – 4; дрожжевой экстракт – 5; KH_2PO_4 – 1; Na_2HPO_4 – 1; CaCO_3 – 0.1; pH 7.2÷7.4.

Перед проведением мутагенеза УФ и EMS готовили накопительную культуру следующим образом, стеклянную пробирку с 4 мл среды К1 засеивали отдельными колониями с агаризованной питательной среды. Нарботку биомассы проводили в течение 12 ч при температуре 37°C и аэрации 160 об/мин, после чего культуру пересеивали в новую стеклянную пробирку со средой К1 в количестве 1% от исходного объема среды. Культивирование проводили до $\text{ОП}_{600} = 0.5 \div 0.6$.

Оптическую плотность культуры измеряли на спектрофотометре T7DS («PERSEE», Китай) при длине волны 600 нм. По достижении необходимого значения оптической плотности культуральной жидкости (КЖ) биомассу осаждали низкоскоростным центрифугированием, используя центрифугу CHT210R («CENCE», Китай) при 6000 об/мин и 4°C. Клетки дважды промывали и ресуспендировали в стерильном 0.9%-м растворе хлористого натрия.

Для проведения химического мутагенеза с использованием EMS клеточную суспензию переносили в 24-луночный планшет (1 мл на лунку), добавляли по 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05% EMS и ставили на перемешивание на 60 мин (120 об/мин, 30°C) [Karakus *et al.* 2018]. Каждые 20 мин отбирали пробы, осаждали клетки центрифугированием, дважды промывали 0.9%-м раствором хлористого натрия и ресуспендировали в 200 мкл 0.9%-го раствора хлористого натрия. Далее культуру клеток в разведении от 0 до 10^{-4} в количестве 100 мкл высевали на чашки Петри с твердой агаризованной средой K1. Чашки инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч.

Для проведения физического мутагенеза, вызванного УФ-излучением, клеточную суспензию (без разведений) высевали на чашки Петри с твердой агаризованной средой K1. Мутагенез проводили УФ-лампой в УФ-кросслинкере UCL-3200 («LUYOR», Китай) на расстоянии 15 см с варьированием мощности излучения (в диапазоне 0.03÷0.08 Дж) в течение 10 сек. После облучения чашки оборачивали в фольгу и инкубировали в темноте в течение 24 ч для предотвращения фотореактивации.

Оптимальные дозы EMS и УФ-излучения определяли по уровню выживаемости культур, расчет выживаемости производится по формуле ниже:

$$\text{Выживаемость} = \frac{\text{количество колоний после мутагенеза}}{\text{количество колоний в контроле}} * 100, \%$$

Повторные эксперименты проводили с уже подобранными дозами мутагенов.

Полученные мутантные колонии пересекали на новые чашки с агаризованной средой K1 для закрепления генетических мутаций. Инкубировали в термостате в течение 12 ч при 37°C.

Селекцию полученных мутантных клонов проводили в планшетном режиме. Полученные мутантные клоны (одну колонию) засевали в 24-луночный планшет с 600 мкл среды K1, культивировали в течение 12 ч в шейкере-инкубаторе ES-20 («Biosan», Латвия) при 180 об/мин и 37°C. После этого измеряли оптическую плотность КЖ и пересекали культуру в новый планшет с 1 мл среды K1, уравнивая результаты ОП₆₀₀ для засева одинакового количества стартовой культуры. Культивирование проводили в течение 48 ч, отбирая по 100 мкл каждые 24 ч. Циклизующую активность фермента выделенных клонов измеряли косвенно через способность продукта реакции, а именно молекул β-циклодекстрина образовывать комплекс включения с фенолфталеином, при этом происходит обесцвечивание реакционной смеси. Схема определения эффективности выработки синтеза фермента ЦГТазы мутантными клонами следующая: отобранные пробы КЖ центрифугировали для удаления клеток, супернатант смешивали с 200 мкл насыщенного фенолфталеинового реактива (98.6 мМ K₂CO₃ смешивали с 0.13 мМ фенолфталеина в 96%-ном этаноле). Изменение окраски детектировали на мультимодальном ридере Feyond A300 («ALLSHENG», Китай) при длине волны 553 нм. Для дальнейшей работы оставляли штаммы, уровень продукции ЦГТазы которых превышал уровень секреции фермента родительского штамма.

Отобранные эффективные штаммы культивировали в 200-мл колбах, содержащих 50 мл среды K1 на шейкере-инкубаторе ES-60C («Miulab», Китай) при 160 об/мин и 37°C. Пробы для измерения ОП₆₀₀ и ЦГТазной активности отбирали каждые 24 ч в течение 96 ч. Клетки отделяли в центрифуге MiniSpin («Eppendorf», Германия) при 6000 об/мин в течение 10 мин. Полученный супернатант использовали в качестве ферментативного препарата для дальнейшего исследования.

Количественное определение ЦГТазной активности в КЖ измеряли фенолфталеиновым методом [Усанов *и др.* 2007], с соответствующим уменьшением объемов и сохранением пропорций, в 96-луночных планшетах на микропланшетном ридере Feyond A300 («ALLSHENG», Китай). В качестве субстрата использовали 3%-й растворимый картофельный крахмал в 0.1 М натрий-ацетатном буфере (pH 5.7). 90 мкл разбавленного ферментного препарата вносили в лунку с 180 мкл субстрата. Планшет инкубировали при 40°C в течение 1 ч в микропланшетном ридере Feyond A300 («ALLSHENG», Китай). После чего 50 мкл реакционной смеси переносили в другой

планшет, содержащего в лунках по 300 мкл фенолфталеинового реактива, и измеряли ОП₅₅₃. В качестве контроля использовали реакцию смеси, не подвергшуюся реакции. За одну единицу активности принималось количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль β-циклодекстрина за 1 минуту при описанных условиях [Усанов и др. 2007].

Статистическую обработку результатов проводили в программе Origin 9.1 («OriginLab Corp.», США). Измерения проводили в пяти технических повторностях. Результаты представлены в виде среднего значения, достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента при $p=0.05$. Описание объектов, условий экспериментов, материалов и методов, используемых в работе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках данного исследования для увеличения синтеза ЦГТазы *Paenibacillus* sp. IB-663 выбраны методы физико-химического мутагенеза с использованием EMS и УФ-облучения.

Клеточную суспензию *Paenibacillus* sp. IB-663 подвергали воздействию 0.03, 0.04 и 0.05% EMS-мутагена в течение различного времени (20, 40 и 60 минут), затем проводили высев на агаризованную среду K1. Было обнаружено, что по мере увеличения периода воздействия EMS (0.03, 0.04 и 0.05%) выживаемость популяции клеток резко снижалась: с 27.48% (19.54%) через 20 минут до 21.53% (7.36%) и 10.76% (3.96%) через 40 и 60 минут, соответственно. Концентрация 0.05% EMS являлась для данного микроорганизма летальной, при которой отсутствовал рост (табл. 1). Снижение уровня выживаемости может быть связано с повреждением нуклеиновой кислоты, вызванным EMS-мутагеном, и/или дефектами других клеточных компонентов [Holman et al. 2026b].

Таблица 1. Выживаемость штамма *Paenibacillus* sp. IB-663 после воздействия мутагена этилметансульфоната (EMS), %

Table 1. Survival of *Paenibacillus* sp. strain IB-663 after exposure to the mutagen ethyl methanesulfonate (EMS), %

Концентрация EMS, %	Время воздействия		
	20 мин	40 мин	60 мин
0 (контроль)	100	100	100
0.03	27.48	21.53	10.76
0.04	19.54	7.36	3.96
0.05	0	0	0

В ходе селекции отобрано 36 мутантных клонов. Однако индуцированные EMS-мутагенезом жизнеспособные клетки не демонстрировали усиленного синтеза ЦГТазы. Поэтому был проведен мутагенез с использованием УФ-облучения. По итогам физического мутагенеза, смертность культуры *Paenibacillus* sp. IB-663 составила более 99% и наблюдались видимые фенотипические изменения полученных колоний (размер, форма) (табл. 2).

Таблица 2. Выживаемость штамма *Paenibacillus* sp. IB-663 после воздействия УФ-облучением

Table 2. Survival of *Paenibacillus* sp. IB-663 strain after exposure to UV irradiation

Энергия воздействия, Дж	КОЕ/100 мкл	Выживаемость, %	Мутантные клоны
0 (контроль)	3533000	100	
0.03	370	0.01	
0.05	298	0.008	
0.06	28	0.0007	
0.07	17	0.0004	12, 21
0.08	11	0.0003	6

Оценка жизнеспособности бактериальной суспензии, подвергшейся воздействию УФ-ламп, показала, что при более интенсивном воздействии (0.06; 0.07; 0.08 Дж) выживаемость бактерий снижается сильнее, чем при менее интенсивном воздействии (0.03; 0.05 Дж). Учитывая высокую летальность для всех вариантов воздействия, приемлемое количество колоний для дальнейшего

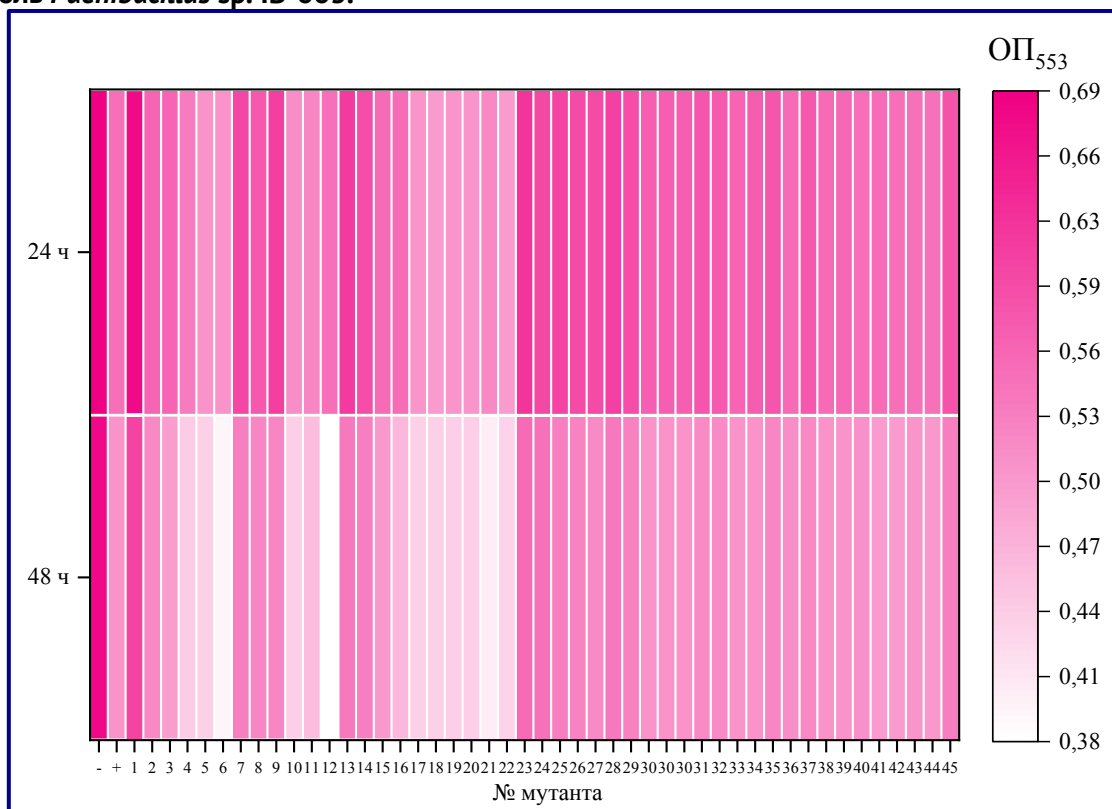
анализа (30–300 клонов) на нулевом разведении, было получено без дополнительных десятичных разведений культуры (табл. 2). После воздействия 0.03-0.08 Дж на расстоянии 15 см от источника УФ-излучения смертность составила более 99%.

В ходе работы было проанализировано 45 мутантных клонов, из которых три (№ 6, 12 и 21) показали увеличение ЦГТазной активности через 48 ч в 1.17-1.34 раз по сравнению с родительским штаммом IB-663 (рис. 1). Активные клоны получены при энергии воздействия УФ-излучения 0.07 и 0.08 Дж. Вероятно, более высокие дозы облучения приводят к значительным перестройкам метаболизма микроорганизма за счет повышенного количества мутаций, а сочетание множества мутаций приводит к позитивному эффекту на выработку целевого фермента (табл. 2).

Для простого и быстрого отбора ЦГТ-активных мутантных штаммов был разработан жидкофазный скрининг среди полученных мутантов в 96-луночных планшетах (рис. 1), как описано в разделе «Материалы и методы». Интенсивность обесцвечивания фенолфталеинового реагента, вызванная взаимодействием β -циклодекстринов, образовавшихся в КЖ под действием выработанной ЦГТазы, с молекулами фенолфталеина, сравнивалась с интенсивностью окрашивания культуральной жидкости, полученной после культивирования штамма дикого типа в тех же условиях. КЖ клонов, содержащие ЦГТазу с более низкой циклизующей активностью, слабо обесцвечивались или имели темно-розовый цвет фенолфталеинового реагента (соответствует начальному ОП₅₅₃). Напротив, культуральные жидкости клонов, содержащих ЦГТазу с повышенным уровнем циклизующей активности, обесцвечивали фенолфталеиновый реагент до светло-розового цвета (рис. 1). Родительский штамм *Paenibacillus* sp. IB-663 использовали в качестве положительного контроля, а *B. subtilis* IB-54 в качестве отрицательного.

Рисунок 1. Тепловая карта этапа селекции ЦГТ-активных штаммов после УФ-облучения: темно-розовым обозначены штаммы, не синтезирующие ЦГТазу, светло-розовым – активные продуценты ЦГТаз, «-» – отрицательный контроль *B. subtilis* IB-54, «+» – положительный контроль *Paenibacillus* sp. IB-663.

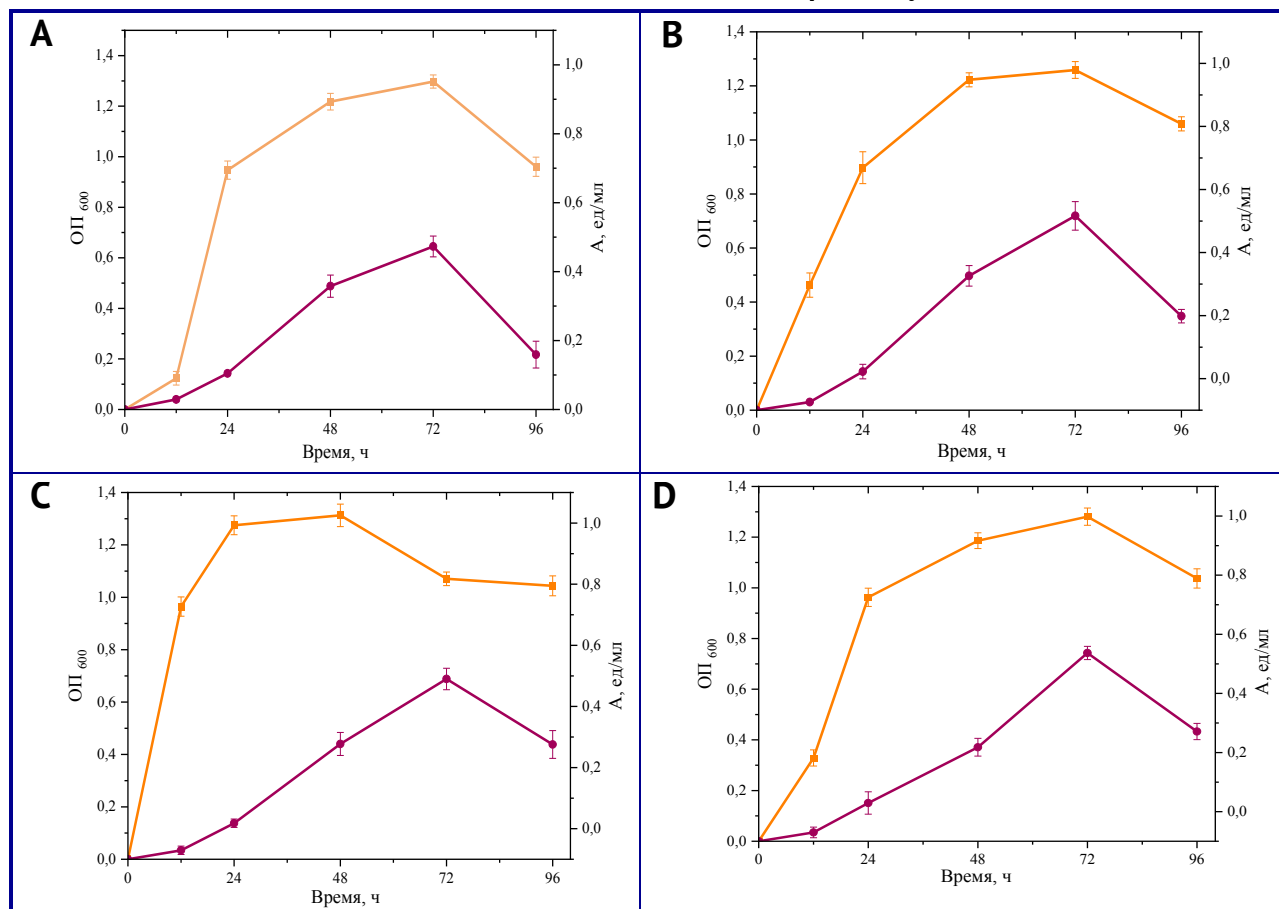
Figure 1. Heat map of the stage of selection of CGT-active strains after UV irradiation: strains that do not synthesize CGTase are shown in dark pink, active CGTase producers are shown in light pink, “-” is the negative control *B. subtilis* IB-54, “+” is the positive control *Paenibacillus* sp. IB-663.



Для родительского штамма и эффективных мутантных клонов проведено сравнительное исследование динамики роста и накопления ЦГТазы (рис. 2).

Рисунок 2. Динамика накопления биомассы (ОП₆₀₀) и синтеза ЦГТазы (ед/мл) на среде К1 во времени (0-96 ч) для А – родительского штамма *Paenibacillus* sp. IB-663 и мутантных клонов №6, 12, 21 соответственно В, С, D.

Figure 2. Dynamics of biomass accumulation (OD₆₀₀) and CGTase synthesis (U/ml) on K1 medium over time (0-96 h) for A – parent strain *Paenibacillus* sp. IB-663 and mutant clones No. 6, 12, 21, respectively B, C, D.



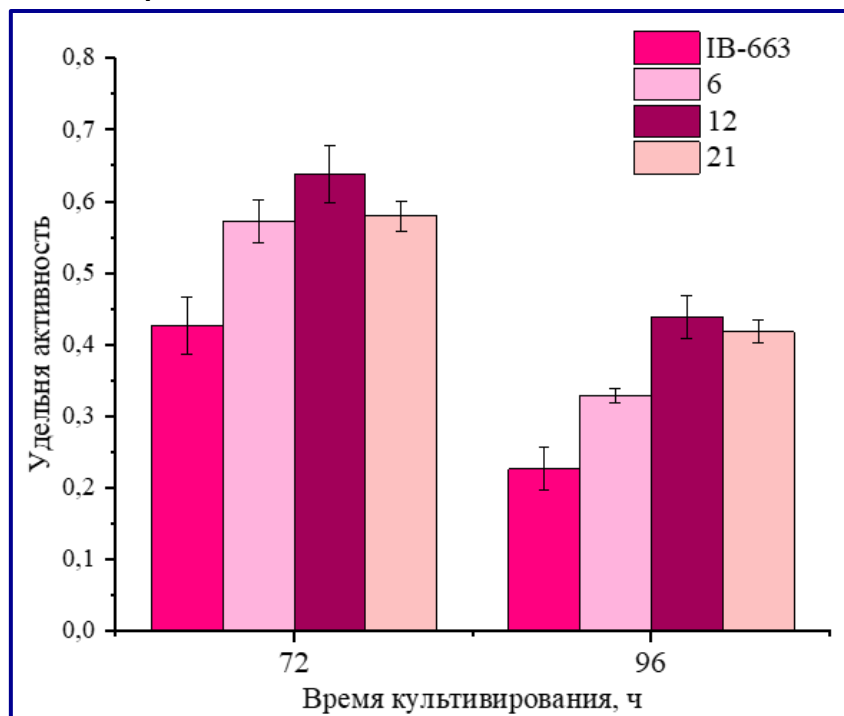
Исследование динамики роста родительского штамма и мутантных клонов показало, что стадии роста культур совпадают по времени (рис. 2). Вероятно, УФ-мутации не затронули ключевые гены и регуляторные механизмы, влияющие на скорость роста и деление клеток. При этом уровень накопления биомассы мутантных штаммов в среднем повысился в 1.05-1.12 раз.

Секреция ЦГТазы как родительского штамма, так и мутантных клонов начиналась в стадии логарифмического роста, и уровень активности достигал максимума на 72 ч культивирования, что соответствовало окончанию стационарной фазы роста. В фазе отмирания и перехода в споры (с 72 до 96 ч) для родительского штамма и мутантного клона № 6 наблюдается резкое падение активности (на 55.1 и 43.8% соответственно), для мутантных клонов № 12 и 21 – постепенное (на 25.9 и 29.3% соответственно) (рис. 2, 3). Вероятно, УФ-облучение интенсивностью 0.07 Дж смогло замедлить фазу отмирания и продлить время синтеза фермента, т.е. повысить его выход. Для мутантного штамма № 6, полученного при интенсивности УФ-облучения 0.08 Дж такого не наблюдалось.

На рисунке 3 представлена удельная активность ЦГТазы, выраженная в виде соотношения активности фермента к накоплению биомассы на разных этапах культивирования, позволяющая оценить, насколько эффективно синтезируется фермент «на единицу» биомассы. Видно, что фермент нарабатывается эффективнее через 72 ч, а через 96 ч уровень активности падает за счет истощения субстрата.

Рисунок 3. Удельная активность ЦГТазы родительского штамма (IB-663) и мутантных клонов (№№ 6, 12, 21), выраженная соотношением активности фермента к накоплению биомассы во времени 72 и 96 ч.

Figure 3. Specific activity of CGTase of the parent strain (IB-663) and mutant clones (No. 6, 12, 21), expressed as the ratio of enzyme activity to biomass accumulation over 72 and 96 hours.



ОБСУЖДЕНИЕ

Случайный мутагенез с использованием химических веществ и УФ-излучения – простой способ генетической и функциональной модификации организма для стимулирования выработки некоторых ферментов у бактерий. Мутации, вызванные мутагенными агентами, приводят к вариациям в нуклеотидной последовательности ДНК. Естественные мутации считаются редкими по сравнению с индуцированными мутациями, но при использовании химических и физических мутагенных агентов значительные изменения в последовательности ДНК (замена пар оснований, добавление и удаление нуклеотидов) происходят случайным образом. Для внесения случайных мутаций в геном бактериальных штаммов используются традиционные мутагенные агенты, такие как ультрафиолетовое излучение и химические мутагенные агенты (EMS и N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин, {NTG}), которые обычно вызывают различные мутации в бактериальной ДНК [Kim *et al.* 2025; Holman *et al.* 2026b].

Мутагенез EMS широко используется для стимуляции наработки ферментов, например, β -1,3-глюканаз, целлюлаз, ксиланаз, амилаз, протеаз [Narasimhan *et al.* 2013; Tai *et al.* 2016; Demirkan, Özdemir 2020; Sharma *et al.* 2021]. Единственное упоминание использования EMS для повышения активности ЦГТазы для бактерий *B. hunanensis* WT3, в результате которого была получена серия мутантных клонов при 20, 40 и 60 минутном воздействии EMS (200 мМ) с увеличенной продукцией фермента от 3 до 11% по сравнению с родительским штаммом [Khattab *et al.* 2023]. Индуцированные EMS-мутагенезом жизнеспособные клоны *Paenibacillus* sp. IB-663 не показали увеличения синтеза ЦГТазы, что вероятно связано с физиологическими особенностями микроорганизмов или концентрацией мутагена. При мутагенезе с использованием EMS алкилируются основания ДНК (чаще гуанин), что приводит к точечным мутациям. Такие мутации могут не затронуть участки, критически важные для активности фермента, либо изменить его так, что он станет менее стабильным. Исследования показывают, что у мицелиальных грибов EMS обычно усиливает секрецию гидролитических ферментов, особенно из классов целлюлаз и ксиланаз при относительно умеренных концентрациях EMS и непродолжительном воздействии [Holman *et al.* 2026a]. Учитывая, что ЦГТаза способна катализировать четыре типа реакций

(циклизации, связывания, диспропорционирования, гидролиз), обработка EMS могла привести к увеличению гидролитической активности и снижению циклизующей, что требует дополнительных исследований.

Экспериментов по ненаправленному мутагенезу штаммов-продуцентов ЦГТаз с использованием физических мутагенов не проводилось. Поэтому данную работу можно считать первой в своем роде, нацеленную на повышение эффективности наработки ЦГТазы с помощью УФ-мутагенеза для получения различных мутаций при синтезе ЦГТазы у *Paenibacillus* sp. IB-663.

В данном исследовании случайный мутагенез был вызван с помощью УФ-излучения в качестве физического фактора. УФ-излучение вызывает повреждения ДНК, в частности образование пиримидиновых димеров (чаще всего тимина). Это приводит к ошибкам при репликации и репарации ДНК, что может вызывать мутации – замены оснований, делеции, дупликации и другие изменения в геноме. Некоторые из этих мутаций могут улучшать физиологические характеристики микроорганизма, в том числе повышать эффективность выработки ферментов [Kim *et al.* 2025]. Например, достигнуто увеличение протеазной активности родительского штамма *B. subtilis* E6-5 на 88% [Demirkan *et al.* 2018] или α -амилазной активности *B. licheniformis* MK90 на 50.8% [Khedr *et al.* 2017].

Использование УФ-излучения в данном исследовании позволило выделить мутантные штаммы с повышенной эффективностью продукции ЦГТазы. При интенсивности воздействия 0.07 и 0.08 Дж был отобран ряд мутантных клонов, синтезирующих большее количество фермента по сравнению с КЖ штамма дикого типа (табл. 2). Следует отметить, что при увеличении интенсивности воздействия выживаемость бактерий закономерно снижалась.

По сравнению с родительским штаммом, мутантные клоны демонстрировали более высокий титр продукции целевого фермента и биомассы. Максимальные значения активности ЦГТазы, а также биомассы увеличились на 14.8-19.7% и 6.5-12.1% соответственно через 72 ч культивирования. При этом пиковые значения активности ферментов и плотности клеток культуры были достигнуты в одни фазы культивирования с исходным родительским штаммом (рис. 2). Совпадение стадий роста и секреции фермента у родительского штамма и его мутантных клонов совпадали во времени культивирования. Таким образом, можно предположить, что УФ-мутации затронули отдельные элементы регуляторных сетей (например, промоторы, операторы, факторы транскрипции), но при этом не нарушили общую логику работы генов, отвечающих за синтез фермента и его секрецию. В результате динамика роста и секреторной активности у родительского штамма и мутантов остаётся согласованной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Физико-химический мутагенез представляет значительный интерес для биотехнологии, особенно в области разработки улучшенных штаммов, продуцирующих ферменты, благодаря своей простоте, доступности и экономичности. Проведенный мутагенез *Paenibacillus* sp. IB-663, вызванный УФ-облучением с интенсивностью 0.07 и 0.08 Дж позволил получить три мутантных клона с повышенной эффективностью продукции ЦГТазы (14.8-19.7%). Оценка динамики роста и синтеза фермента выявила корреляцию между этими процессами у родительского и мутантных клонов, показывая, что УФ-мутации не нарушили общий баланс между клеточным ростом и синтезом фермента. Стабильность секреторной активности мутантных клонов упрощает разработку методов регуляции биосинтеза в промышленных или исследовательских целях.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Усанов Н.Г., Гильванова Е.А., Елизарьев П.А., Пруцакова Е.А., Мелентьев А.И. (2007) Усовершенствованный метод фотометрического определения активности циклодекстринглюканотрансферазы. *Прикладная биохимия и микробиология*. **43**(1): 118–124.
EDN: [HZDLDP](#)

- Demirkan E., Özdemir K. (2020) Ethyl methanesulfonate (EMS) mutation for hyper protease production by *Bacillus subtilis* E6-5 and optimization of culture conditions. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. **48**(4): 355–365. <https://doi.org/10.15671/hjbc.697070> EDN: LDWJBT
- Demirkan E., Sevgi T., Gokoz M., Güler B.E., Zeren B., Özalpar B., Abdou M. (2018) Strain improvement by UV mutagenesis for protease overproduction from *Bacillus subtilis* E6-5 and nutritional optimization. *Journal of Biological and Environmental Sciences*. **12**(35): 69–77. Available at: <https://dergipark.org.tr/en/pub/jbes/article/1679086> (Accessed: 25/05/2026)
- Holman D.E., Abrahams A.I., Hattings K., Saulse C., Hess M., Stegmann D., Roomanay M., Basson G., Klein A., Keyster M. (2026a) Ethyl methanesulfonate mutagenesis in fungi: genetic mechanisms, applications, and implications for agricultural biotechnology. *Archives of Microbiology*. **208**(7): 341. <https://doi.org/10.1007/s00203-026-04858-x> EDN: VOYDBG
- Holman D.E., Basson G., Klein A., Keyster M. (2026b) Ethyl methanesulfonate mutagenesis: Advancing bacterial genetics for sustainable agriculture. *Folia Microbiologica*. **71**(3): 485–495. <https://doi.org/10.1007/s12223-025-01407-9> EDN: LRCJTO
- Karakus B.Z., Korkmaz İ., Demirci K., Sinan Arslan K., Unlu O., Catal T. (2018) A combined treatment using ethylmethane sulfonate and ultraviolet light to compare amylase production by three *Bacillus* sp. isolates. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. **48**(9): 815–822. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1509088>
- Khattab A.E.-N., Abou-Shosha A., Abozaid A., El-Fadly G. (2023) Genetic enhancement of *Bacillus* cyclodextrin glycosyltransferase production. *Egyptian Journal of Chemistry*. **66**(5): 223–235. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.148437.6419>
- Khedr M.A., Ewais E.A., Khalil K.M.A. (2017) Improvement of thermophilic α -amylase productivity through UV mutagenesis and AmyE gene amplification and sequencing. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*. **4**(2): 58–67.
- Kim S., Ha I., Lee Y.-Y., Lee J., Yun J. (2025) Development of a high-performance *Trichoderma* mutant for enhanced cellulase production through UV-induced random mutagenesis. *Journal of Fungi*. **11**(6): 439. <https://doi.org/10.3390/jof11060439> EDN: ALBUZD
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Musuc A.M. (2024) Cyclodextrins: Advances in chemistry, toxicology, and multifaceted applications. *Molecules*. **29**(22): 5319. <https://doi.org/10.3390/molecules29225319> EDN: IEXIMB
- Narasimhan A., Suresh S., Bist D., Shivakumar S. (2013) Enhancement of mycolytic activity of an antagonistic *Bacillus subtilis* through ethyl methane sulfonate (EMS) mutagenesis. *Turkish Journal of Biology*. **37**(3): 323–328. <https://doi.org/10.3906/biy-1209-20>
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfaldin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: an overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sharma N., Mallick S.A., Sheikh Z.N., Raina S., Chalotra R. (2021) Mutagenesis of *Bacillus* spp. using ethyl methane-sulfonate (EMS) for improvement of amylase activity. *Chemical Science Review and Letters*. **10**(38): 227–234.
- Tai W.Y., Lee C.K., Ibrahim D. (2016) Enhancement of cellulolytic enzymes and xylanase production via classical mutational techniques under solid-state fermentation condition. *Malaysian Journal of Microbiology*. **12**(1): 91–101. <https://doi.org/10.21161/mjm.73315>
- Urooj T., Mishra M., Pandey S. (2024) Unlocking environmental solutions: a review of cyclodextrins in pollutant removal. *Discover Environment*. **2**(1): 65. <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00090-w> EDN: EGSNTP

REFERENCES

- Usanov N.G., Gil'vanova E.A., Elizar'ev P.A., Prutsakova E.A., Melent'ev A.I. (2007) An improved method of photometric determination of cyclodextrin glucanotransferase activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*. **43**(1): 118–124. EDN: HZDLDP (in Russian)

- Demirkan E., Özdemir K. (2020) Ethyl methanesulfonate (EMS) mutation for hyper protease production by *Bacillus subtilis* E6-5 and optimization of culture conditions. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. **48**(4): 355–365. <https://doi.org/10.15671/hjbc.697070> EDN: LDWJBT
- Demirkan E., Sevgi T., Gokoz M., Güler B.E., Zeren B., Özalpar B., Abdou M. (2018) Strain improvement by UV mutagenesis for protease overproduction from *Bacillus subtilis* E6-5 and nutritional optimization. *Journal of Biological and Environmental Sciences*. **12**(35): 69–77. Available at: <https://dergipark.org.tr/en/pub/jbes/article/1679086> (Accessed: 25/05/2026)
- Holman D.E., Abrahams A.I., Hattingh K., Saulse C., Hess M., Stegmann D., Roomanay M., Basson G., Klein A., Keyster M. (2026a) Ethyl methanesulfonate mutagenesis in fungi: genetic mechanisms, applications, and implications for agricultural biotechnology. *Archives of Microbiology*. **208**(7): 341. <https://doi.org/10.1007/s00203-026-04858-x> EDN: VOYDBG
- Holman D.E., Basson G., Klein A., Keyster M. (2026b) Ethyl methanesulfonate mutagenesis: Advancing bacterial genetics for sustainable agriculture. *Folia Microbiologica*. **71**(3): 485–495. <https://doi.org/10.1007/s12223-025-01407-9> EDN: LRCJTO
- Karakus B.Z., Korkmaz İ., Demirci K., Sinan Arslan K., Unlu O., Catal T. (2018) A combined treatment using ethylmethane sulfonate and ultraviolet light to compare amylase production by three *Bacillus* sp. isolates. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. **48**(9): 815–822. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1509088>
- Khattab A.E.-N., Abou-Shosha A., Abozaid A., El-Fadly G. (2023) Genetic enhancement of *Bacillus* cyclodextrin glycosyltransferase production. *Egyptian Journal of Chemistry*. **66**(5): 223–235. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2022.148437.6419>
- Khedr M.A., Ewais E.A., Khalil K.M.A. (2017) Improvement of thermophilic α -amylase productivity through UV mutagenesis and AmyE gene amplification and sequencing. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*. **4**(2): 58–67.
- Kim S., Ha I., Lee Y.-Y., Lee J., Yun J. (2025) Development of a high-performance *Trichoderma* mutant for enhanced cellulase production through UV-induced random mutagenesis. *Journal of Fungi*. **11**(6): 439. <https://doi.org/10.3390/jof11060439> EDN: ALBUZD
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Musuc A.M. (2024) Cyclodextrins: Advances in chemistry, toxicology, and multifaceted applications. *Molecules*. **29**(22): 5319. <https://doi.org/10.3390/molecules29225319> EDN: IEXIMB
- Narasimhan A., Suresh S., Bist D., Shivakumar S. (2013) Enhancement of mycolytic activity of an antagonistic *Bacillus subtilis* through ethyl methane sulfonate (EMS) mutagenesis. *Turkish Journal of Biology*. **37**(3): 323–328. <https://doi.org/10.3906/biy-1209-20>
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfaldin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: an overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sharma N., Mallick S.A., Sheikh Z.N., Raina S., Chalotra R. (2021) Mutagenesis of *Bacillus* spp. using ethyl methane-sulfonate (EMS) for improvement of amylase activity. *Chemical Science Review and Letters*. **10**(38): 227–234.
- Tai W.Y., Lee C.K., Ibrahim D. (2016) Enhancement of cellulolytic enzymes and xylanase production via classical mutational techniques under solid-state fermentation condition. *Malaysian Journal of Microbiology*. **12**(1): 91–101. <https://doi.org/10.21161/mjm.73315>
- Urooj T., Mishra M., Pandey S. (2024) Unlocking environmental solutions: a review of cyclodextrins in pollutant removal. *Discover Environment*. **2**(1): 65. <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00090-w> EDN: EGSNTP

Цитировать как

Ушмаева У.А., Мильман П.Ю., Гильванова Е.А. (2026) Физико-химический мутагенез для увеличения продукции циклодекстринглюканотрансферазы штаммом *Paenibacillus* sp. IB-663. *Экобиотех.* **9**(3): 354-364. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-27> EDN: <https://www.elibrary.ru/gydpbz>

Сведения об авторах

Ульяна Андреевна Ушмаева, Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: Ulianka102@yandex.ru, SPIN: 9596-6711, ORCID: 0009-0009-0678-9173.

Полина Юрьевна Мильман, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: milman.polina@gmail.com, SPIN: 1300-1103, ORCID: 0000-0001-6379-7094.

Елена Альбертовна Гильванова, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: gelena@anrb.ru, SPIN: 1897-6291, ORCID: 0000-0003-3656-7925.

Cited as

Ushmaeva U.A., Milman P.Yu., Gilvanova E.A. (2026) Physicochemical mutagenesis to increase the efficiency of cyclodextrin glucanotransferase production by *Paenibacillus* sp. IB-663. *Ecobiotech.* **9**(3): 354-364. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-27> EDN: <https://www.elibrary.ru/gydpbz>

Information About the Authors

Ulyana A. Ushmaeva, ITMO University, Saint-Petersburg, Russia. E-mail: Ulianka102@yandex.ru, SPIN: 9596-6711, ORCID: 0009-0009-0678-9173.

Polina Yu. Milman, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa. Russia. E-mail: milman.polina@gmail.com, SPIN: 1300-1103, ORCID: 0000-0001-6379-7094.

Elena A. Gilvanova, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa. Russia. E-mail: gelena@anrb.ru, SPIN: 1897-6291, ORCID: 0000-0003-3656-7925.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 577.151



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ | RESEARCH ARTICLE

АНАЛИЗ СТРУКТУРНОГО ПАТТЕРНА ЦИКЛОДЕКСТРИНГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗЫ *PAENIBACILLUS EHIMENSIS* IB-739

Гильванова Е.А.^{1*}, Мильман П.Ю.¹, Усанов Н.Н.²¹Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа, Россия²АО «Лаборатория Касперского», Москва, Россия*E-mail: gelena@anrb.ru

ANALYSIS OF THE STRUCTURAL PATTERN OF CYCLODEXTRIN GLUCANOTRANSFERASE FROM *PAENIBACILLUS EHIMENSIS* IB-739

Gilvanova E.A.^{1*}, Milman P.Yu.¹, Usanov N.N.²¹Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia²Kaspersky Lab JSC, Moscow, Russia*E-mail: gelena@anrb.ru

Аннотация

Циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТазы, EC 2.4.1.19) трансформируют крахмал в циклодекстрины (ЦД) в виде трех основных гомологов (α -, β -, γ -), находящихся широкое применение в различных отраслях промышленности. ЦГТаза *Paenibacillus ehimensis* IB-739 уникальна тем, что обеспечивает стабильное соотношение циклодекстринов независимо от дозирования фермента и обладает редкой способностью смещать равновесие реакции в сторону преимущественного синтеза γ -ЦД. Уровень гомологии ЦГТазы IB-739 с аминокислотными последовательностями ЦГТаз из различных таксонов варьирует от 54% до 78%, тогда как уровень внутривидовой идентичности гликозилгидролаз *P. ehimensis* и ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 – 99.56-99.85%. Анализ структурных доменов ЦГТазы показал наличие канонической мультидоменной архитектуры из пяти доменов, характерной для ЦГТаз. Тепловая карта сходства доменов выявила неоднородную идентичность по всей структуре фермента, у которого домен A1 близок к алкалофильным β -ЦГТазам (85.6-87%), а домен B – нормофильным α/β - и β -ЦГТазам (84.4-87.5%). Филогенетическим анализом подтверждена локализация ЦГТазы IB-739 в кластере α/β - и β -специфичных ЦГТаз с высоким показателем бутстрепа, образуя при этом отдельную в кластере ветвь. Анализ множественного выравнивания ЦГТазы IB-739 и 18 гомологов выявил внутривидовые особенности в первичной структуре, свойственные только исследуемому ферменту и гликозилгидролазам вида *P. ehimensis*. Отличительные паттерны обнаружены в каталитических доменах A1/B/A2, ответственных за функциональность и специфичность фермента, и в сайтах связывания с субстратом (MBS).

Ключевые слова:

Paenibacillus ehimensis, циклодекстринглюканотрансфераза, ЦГТаза, гликозилгидролаза, архитектура доменов, каталитический субсайт, циклодекстрины, ЦД

Поступила в редакцию: 10.08.2026

Принято в печать: 04.09.2026

Abstract

Cyclodextrin glucanotransferases (CGTases, EC 2.4.1.19) convert starch to cyclodextrins (CDs) in three major homologues (α -, β -, γ -) that are widely used in various sectors. CGTase of *Paenibacillus ehimensis* IB-739 is unique in providing a stable cyclodextrin ratio irrespective of the dose of the enzyme and has the rare ability to shift the equilibrium of the reaction towards the preferential synthesis of γ -CD. The homology of CGTase IB-739 to amino acid sequences of other taxa ranges from 54% to 78%, and the level of intraspecific identity between *P. ehimensis* glycoside hydrolases and *P. ehimensis* CGTase IB-739 is 99.56-99.85%. An analysis of CGTase structural domains revealed the presence of a canonical five-domain multi-domain structure, which is typical for CGTases. The domain similarity heat map revealed a heterogeneous identity across the entire enzyme structure, with domain A1 close to the alkaliphilic β -CGTases (85.6-87%) and domain B close to the normophilic α/β - and β -CGTases (84.4-87.5%). Phylogenetic analysis confirmed that CGTase IB-739 is localized in a cluster of α/β - and β -specific CGTases with a high bootstrap index, and that it forms a distinct branch within the cluster. Multiple alignment analysis of CGTase IB-739 and 18 homologues revealed intraspecific features in the primary structure, characteristic only of the studied enzyme and glycoside hydrolases of the species *P. ehimensis*. Distinctive patterns are found in the catalytic domains A1/B/A2, responsible for the functionality and specificity of the enzyme, and in the substrate binding sites (MBS).

Keywords:

Paenibacillus ehimensis, cyclodextrin glucanotransferase, CGTase, glycoside hydrolase, domain architecture, catalytic subsite, cyclodextrins, CD

Received: 10.08.2026

Accepted: 04.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-28> EDN: <https://www.elibrary.ru/lmjomq>

ВВЕДЕНИЕ

Циклодекстрины (ЦД) – это циклические олигосахариды, состоящие из звеньев глюкопиранозы, соединенных α -1,4-связями. Распространенными видами ЦД являются α -, β - и γ -ЦД, содержащие 6, 7 и 8 звеньев глюкопиранозы соответственно. ЦД имеют гидрофильную внешнюю поверхность и гидрофобную внутреннюю полость, благодаря чему могут образовывать комплексы включения со многими соединениями, тем самым изменяя физические и химические свойства молекулы, такие как стабильность, растворимость, летучесть [Poulson *et al.* 2022]. Благодаря этим уникальным свойствам они широко применяются в промышленности, в том числе в косметической, пищевой, медицинской и текстильной отраслях [Pardhi *et al.* 2023; Rabadiya *et al.* 2024; Saffarionpour 2026].

ЦД образуются в результате ферментативной трансформации крахмала в реакции трансгликозилирования при участии циклодекстринглюканотрансферазы (ЦГТазы, EC 2.4.1.19). Обнаружено, что различные микроорганизмы способны вырабатывать ЦГТазу, в том числе *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Klebsiella*, *Actinomycetes*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Aspergillus* и *Archaea* [Lim *et al.* 2021; Sharma *et al.* 2026]. Все известные ЦГТазы из различных бактериальных источников при инкубации с крахмалом продуцируют смесь ЦД и линейных мальтоолигосахаридов. Преимущественно образующийся продукт ЦД зависит от типа и происхождения ЦГТазы. В зависимости от доминирующего типа продукта реакции циклизации ЦГТазы можно разделить на α -, β - и γ -ЦГТазы, а также на смешанные α/β -, β/γ -ЦГТазы [Leemhuis *et al.* 2010].

Фермент циклодекстрингликозилтрансфераза относится к подсемейству GH13_2 суперсемейства гликозилгидролаз (GH) (<http://www.cazy.org>). Ферменты α -амилаза и мальтогенные амилазы также относятся к этому классу ферментов, и все три фермента имеют существенное последовательное сходство аминокислотных последовательностей. Все три фермента обладают тремя консервативными доменами: А, В и С, тогда как ЦГТазы имеют еще два домена: D и E. ЦГТазы представляют собой мономерные белки с пятью доменами (А, В, С, D и E) [Klein, Schulz 1991], катализирующие четыре типа реакций: связывание, гидролиз, циклизацию и диспропорционирование [Leemhuis *et al.* 2010]. Домены А и В являются каталитическими и ответственны за основную функциональную активность фермента – гидролиз, циклизацию и диспропорционирование. Домены С и E содержат участки связывания мальтозы, играющие важную роль в связывании сырого крахмала [Qi, Zimmermann 2005]. Последовательность домена D и его значение в ЦГТазе остается неизученным. Функция домена D может быть связана с правильным позиционированием домена E и влиять на каталитическую реакцию фермента [Rimphanitchayakit *et al.* 2005]. Несколько исследований предполагают его гидролитическую активность [Leemhuis *et al.* 2010; Han *et al.* 2014; Zhou *et al.* 2021]. Домен E, или домен связывания сырого крахмала, принадлежит к семейству 20 модулей связывания углеводов (CBM20, <http://www.cazy.org>), имеющих два сайта связывания мальтозы [Machovič, Janeček 2006; Han *et al.* 2014].

Каталитический центр ЦГТазы расположен в основании домена А, представляющего собой симметричную β/α изомеразную бочкообразную структуру с 8 параллельными β -листами, окруженными 8 α -спиралями [Leemhuis *et al.* 2010; Han *et al.* 2014; Lim *et al.* 2021]. Домен В – выступающая петля между 3 β -листом и 3 α -спиралью домена А, разделяющая этот домен на А1 и А2, и содержит 44-133 аминокислотных остатка, играющих решающую роль в связывании субстрата [van der Veen *et al.* 2000b; Goh *et al.* 2012; Lim *et al.* 2021]. Таким образом, каталитический центр и вторичные сайты связывания углеводов (субсайты), локализованные в доменах А/В, расположенные в глубоком кармане, обеспечивают взаимодействие с олиго- и полисахаридными субстратами [Klein *et al.* 1992; Leemhuis, Dijkhuizen 2003; Kumar 2010]. Всего в сайте связывания субстрата ЦГТазы насчитывается девять субсайтов, которые являются донорными субсайтами с -1 по -7 и рецепторными субсайтами +1 и +2. Непосредственно каталитический центр расположен рядом с субсайтами -1 и +1 [Kelly *et al.* 2009]. Все гомологи ЦГТаз, члены клана гликозилгидролаз GH, демонстрируют каталитическую TIM-бочкообразную топологию с как минимум четырьмя консервативными регионами (CSR) от I до IV. Эти четыре мотива содержат функционально важные остатки среди ЦГТаз, каталитическую триаду Asp/Glu/Asp, а также остаток Arg, расположенный на второй позиции перед каталитическим нуклеофилом Asp. Обнаружены три дополнительных мотива CSR V-VII содержащие несколько остатков, которые отличают специфичность ЦГТаз от специфичности других членов семейства GH13 [Janecek *et al.* 1995]. Этот структурный набор обеспечивает разрыв α -1,4-гликозидной связи в крахмале и временное образование ковалентной

связи фермента с углеводом. Три домена (C, D и E) составляют C-концевую область в ЦГТазах и имеют β -листовую структуру [Qi, Zimmermann 2005].

Исследуемая в данной работе ЦГТаза *P. ehimensis* IB-739, была выделена и очищена, изучены ее физико-химические свойства, кинетические характеристики и определено соотношение циклических продуктов [Федорова и др. 2012]. Особенность данной ЦГТаза заключается в образовании относительно постоянных соотношений α -, β - и γ -ЦД, мало зависящих от дозировки внесенного фермента. Ранее было обнаружен факт снижения коэффициента селективности $[\beta]/[\gamma]$ ЦГТаз группы *P. ehimensis*, приводящий к смещению равновесия реакции в сторону образования γ -ЦД на фоне увеличения удельной дозировки фермента, не обнаруженный ранее ни одним из типов ЦГТаз сравниваемых таксономических групп *P. macerans*, *P. illinoisensis* или *P. campinasensis* [Федорова и др. 2011].

Цель работы – анализ первичной и вторичной структуры ЦГТаза *P. ehimensis* IB-739, включающий подоменный анализ, определения сходства с референсными ЦГТазами, установления филогенетического положения исследуемого фермента в семействе гомологов ЦГТаз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служил штамм продуцент ЦГТаза *P. ehimensis* IB-739. Штамм хранится в коллекции культур ВКМ В-2680D и УИБ УФИЦ РАН под номером UIB-29. Для штамма *P. ehimensis* IB-739 выполнено полногеномное секвенирование, аннотирование генома, драфт генома депонирован в международной базе данных GenBank под номером JAUMKJ010000000. Прочитанная последовательность гена 16S рРНК штамма доступна в GenBank (NCBI) под номером FN582329.1, прочитанная аминокислотная последовательность ЦГТаза под номером MDO3678285.1 (locus JAUMKJ010000016).

Анализ гомологии ЦГТаза IB-739 проводился с использованием NCBI BLASTp (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), а функциональная аннотация выполнена с использованием базы данных консервативных доменов NCBI (CDD) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/>), InterProScan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>), Reference Sequence (RefSeq, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/>). Для проведения структурного анализа ЦГТаза IB-739 из базы данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>) были отобраны 18 аминокислотных последовательностей по принципу генетического разнообразия, специфичности ЦГТаз и полноты информации о продуценте фермента (Табл. 1). Сравнительный анализ последовательностей ЦГТаз на основе множественного выравнивания проводили с использованием программного обеспечения ClustalOmega [Sievers et al. 2011]. Для проведения филогенетического анализа и подоменного сравнения отбирали полностью прочитанные аминокислотные последовательности длиной не менее 690 остатков, и депонированные в базе ProteinDataBank (PDB, <https://www.rcsb.org>). Построение филогенетических деревьев для аминокислотной последовательности ЦГТаза *P. ehimensis* IB-739 осуществляли методами присоединения соседей (Neighbor-Joining) максимальной экономии (Maximum Parsimony) и минимальной эволюции (Minimal Evolution) с 1000 бутстреп-репликациями с помощью программы MEGAX [Kumar et al. 2018]. Узлы с поддержкой >70% после 1000 бутстреп-репликаций считались статистически значимыми. Парное сравнение доменов ЦГТаза IB-739 с доменами отобранных последовательностей осуществляли с помощью онлайн-сервиса в программе EMBOSS-NEEDLE, используя матрицу соответствия RAM90 (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/emboss/needle>).

Сравнение со структурно охарактеризованными ЦГТазами проводили на основе базы данных о белках PDB, Swiss-Prot (<http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>).

Для прогнозирования сигнального пептида в ЦГТаза использовался онлайн-сервис SignalP (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-5.0/>).

По аминокислотной последовательности белка рассчитаны индекс нестабильности, алифатический индекс, индекс GRAVY в программе ProtParam на сайте ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>).

Трехмерная структура ЦГТаза смоделирована с помощью AlphaFold2 [Jumper et al. 2021]. Визуализация выполнена с помощью PyMol (v3.29.0a; Schrödinger, LCC).

Статистическую обработку результатов проводили в программе OriginPro 2024 («OriginLabCorp.», США). Результаты считали достоверными при критерии вероятности $p \leq 0.05$.

Таблица 1. Список ЦГТаз, использованных в статье

Источник ЦГТазы	Номер в GenBank (NCBI)	Соотношение ЦД в долях	Специфичность	Ссылка
<i>P. ehimensis</i> IB-739	MDO3678285.1	0.68:1:0.19	α/β	Федорова и др. 2012
<i>P. macerans</i> IFO3490	P04830.2	нд	α	Fujiwara et al. 1992
<i>P. macerans</i> IB7	AAC04359.1	0.54:1:0.2	α	Bikbulatova et al. 2000
<i>P. pabuli</i> US-132	CAO05752.1	0.34:1:0.22	β	Jemli et al. 2008
<i>Thermoanaerobacterium thermosulfugen</i> EM1	P26827.2	0.74:1:0.16	α/β	Wind et al. 1995
<i>Bacillus stearothermophilus</i> NO2 (<i>Geobacillus stearothermophilus</i> NO2)	P31797.1	0.57:1:0.25	α/β	Zuo et al. 2022
<i>Bacillus circulans</i> 251 (<i>Niallia circulans</i> 251)	P43379.1	0.4:1:0.2	β	Lawson et al. 1994
<i>Bacillus</i> sp. 663	P31747.1	0.27:1:0.23	β	Bikbulatova et al. 2000
<i>P. illinoisensis</i> E3	PYY31245.1	0.35:1:0.1	β	Doukyu et al. 2003
<i>Bacillus licheniformis</i>	P14014.1	нд	α/β	Hill et al. 1990
<i>Bacillus</i> sp. 38-2	P09121.2	нд	β	Kato, Horikoshi 1984
<i>Bacillus</i> sp. 1011	P05618.1	нд	β	Kimura et al. 1987
<i>Bacillus</i> sp. B1018	P17692.1	нд	β	Itkor et al. 1990
<i>Bacillus lentus</i> 290-3	CAA01436.1	нд	β/γ	Hirano et al. 2006
<i>Bacillus pseudocaliphilus</i> 20RF	AEL33336.1	0:1:0.25	β/γ	Atanasova et al. 2011
<i>Bacillus ohbensis</i>	P27036.2	0:1:0.2	β/γ	Sin et al. 1991
<i>Brevibacillus brevis</i> CD162	O30565.1	0.03:1:0.3	β/γ	Kim et al. 1998
<i>Bacillus</i> sp. G-825-6	BAE87038.1	0:0.5:1	β/γ	Hirano et al. 2006
<i>Bacillus clarkii</i> 7364 (<i>Evansella clarkii</i> 7364)	4JCM_A	0.09:0.19:1	γ	Takada et al. 2003
<i>Klebsiella pneumoniae</i> M5a1	P08704	нд	α	Binder et al. 1986

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск гомологов ЦГТазы в Protein Data Bank с использованием BLASTp показал, что у ЦГТаз довольно сильно варьирует уровень сходства от 54% до 78% в аминокислотных последовательностях для большинства источников фермента, независимо от вида ЦД, который они продуцируют в качестве основного продукта.

Сравнение со структурно охарактеризованными ЦГТазами, представленными в базах данных (PDB, Swiss-Prot), показало, что наибольшая идентичность 78.17%, наблюдается с ЦГТазой из *B. circulans* 251 (идентификатор PDB: 1CXI) и его мутантами, и 75.11-75.25% с *Bacillus* sp. 1011 (идентификатор PDB: 1PAM). Поиск в базе RefSeq обнаружил 4 ближайших последовательностей белков бактерий *P. ehimensis*, аннотированных как "alpha-amylase family glycosyl hydrolase", включающих регион "AmyAc_AmyMalt_CGTase" (cd11320) (42-432) и домен CBM20 (617-671). Уровень внутривидовой идентичности гликозилгидролаз *P. ehimensis* (WP_420872709.1; WP_411829828.1; WP_407669436.1; WP_439652536.1; WP_127486522.1; MGF9911162.1; MGF9930146.1) и ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 обнаружен очень высоким 99.56-99.85% по сравнению с ЦГТазами других видов и таксонов.

Архитектура доменов. Анализ структурных доменов (NCBI CDD, InterProScan) ЦГТазы IB-739 показал наличие мультидоменной архитектуры из пяти доменов (ABCDE), характерной для ЦГТаз (рис 1, 2), таким образом, подтвердил принадлежность исследуемой ЦГТазы к подсемейству GH13_2 суперсемейства гликозилгидролаз (GH). Домен А, включающий субдомены A1 (0-138) и A2 (203-406), имеет укладку типа β/α ТИМ-бочонка, характерную для семейства α -амилаз. В центре этого домена находится высококонсервативный каталитический триадный комплекс аминокислот (Asp-

Glu-Asp) (Asp229-Glu257-Asp325), отвечающий за гидролиз и трансгликозилирование. Домен В (139-202) представляет собой петлевую структуру, выступающую из домена А, и делящий его на 2 субдомена А1 и А2, с которыми формирует глубокий активный центр, содержащий связывающие участки (субсайты) для углеводной цепи. Домен С (407-495) имеет β -листовую сэндвичевую структуру и содержит специфический участок для связывания мальтозы (MBS3, Trp413), способствующий правильной ориентации субстрата перед реакцией.

Рисунок 1. Доменная структура ЦГТаза *P. ehimensis* IB-739. Домен А1 выделен розовым цветом, А2 – красным, В – синим, С – желтым, D – зеленым, Е – голубым. Визуализация выполнена в программе PyMol.

Figure 1. Domain structure of CGTase from *P. ehimensis* IB-739. Domain A1 is shown in pink, A2 – red, B – blue, C – yellow, D – green, E – light blue. Visualization was performed in PyMol.

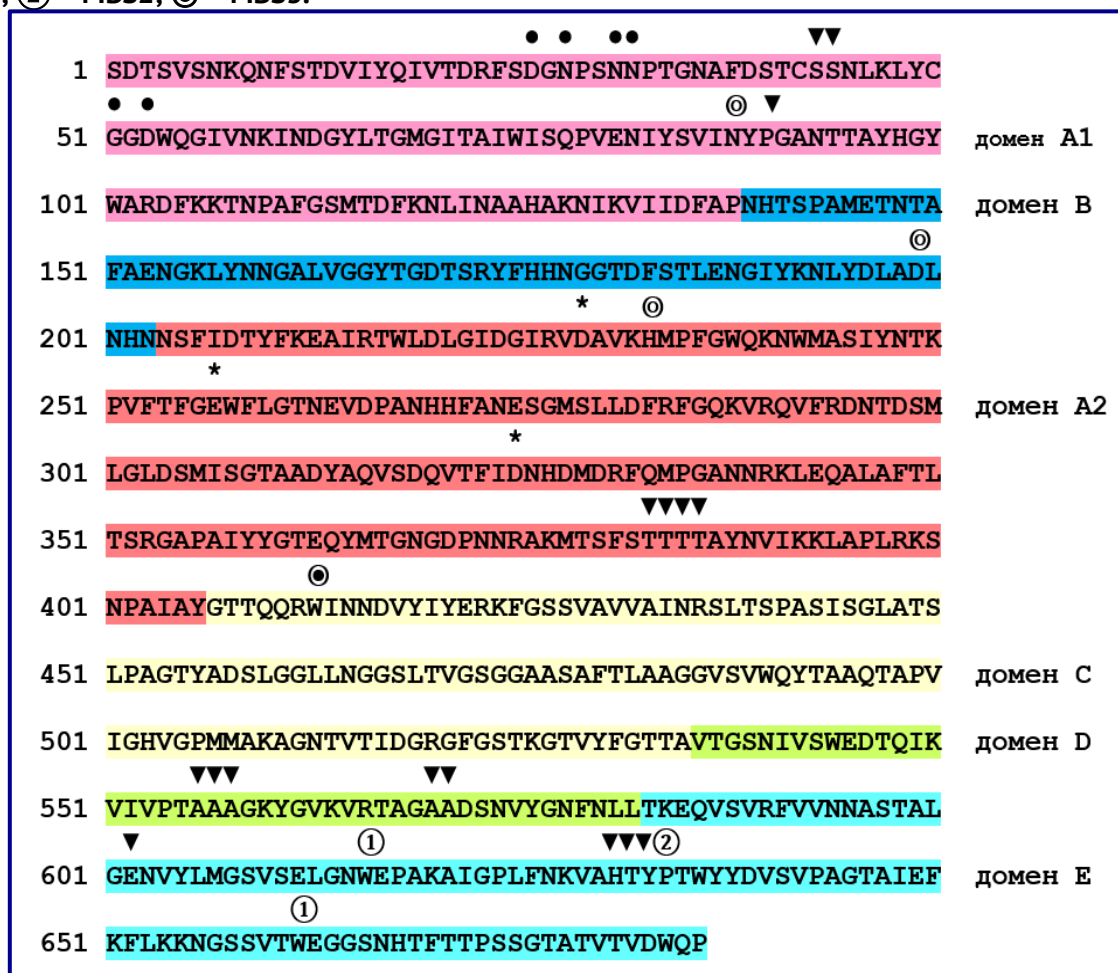


Домен D (496-582) служит гибким линкером, структурно соединяющим каталитическое ядро ABC с терминальным доменом, а домен E (583-686) содержит углеводсвязывающий модуль типа CBM20 и два сайта связывания мальтозы (MBS1, MBS2). MBS1 обеспечивает первичное связывание фермента с субстратом. Его ключевые остатки (Trp616 и Trp662) обеспечивают взаимодействие через ван-дер-ваальсовы контакты индольных групп с глюкозными кольцами, а дополнительные водородные связи с Lys653, Asn667 и молекулами воды усиливают связывание. MBS2 направляет линейные цепочки полисахаридов к активному центру фермента и его ключевой остаток (Tyr633) помогает «подвести» субстрат к каталитическому центру.

ЦГТаза IB-739 имеет два сайта связывания кальция (Ca-I, Ca-II). Взаимодействие с кальцием в Ca-I происходит за счет трех остатков домена В (Ile190, Asp199 и His233) и Asn139 из домена А2. Ca-II расположен в домене А1 и содержит шесть остатков, взаимодействующих с кальцием: Asp27, Asn29, Asn32, Asn33, Gly51 и Asp53. Ca-II представляет собой протяженный участок из петель и коротких альфа-спиралей, который по форме напоминает искажённую букву U. Ион кальция связывается прямо в центре этой «карманоподобной» структуры. [Goh et al. 2012].

Рисунок 2. Последовательность зрелой формы ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 с координатами и указанием доменов. Домен A1 выделен розовым цветом, B – синим, A2 – красным, C – желтым, D – зелёным, E – голубым. Знаком ▼ обозначены структурные паттерны ЦГТазы IB-739). Другие обозначения: * отмечена каталитическая триада; • – Ca-I; ◎ – Ca-II; ① – MBS1; ② – MBS2; ◎ – MBS3.

Figure 2. Sequence of the mature form CGTase from *P. ehimensis* IB-739 with coordinates and domains indicated. Domain A1 is shown in pink, B – blue, A2 – red, C – yellow, D – green, E – light blue. The ▼ symbol indicates structural patterns of CGTase from *P. ehimensis* IB-739. Other legend: * marks the catalytic triad; • – Ca-I; ◎ – Ca-II; ① – MBS1; ② – MBS2; ◎ – MBS3.



Аминокислотные остатки Asp229, Glu257 и Asp325 (согласно нумерации ЦГТазы *B. circulans* 251) образуют каталитическую триаду ЦГТазы. Остатки Asp229 и Glu257 участвуют в начальном расщеплении субстрата α -1,4-связанного глюкоолигосахарида. На первом этапе реакции синтеза ЦД Glu257 протонирует кислород гликозидной связи субстрата, образуя промежуточное соединение. Протонированное состояние Glu257 образуется водородной связью с Asp229. При связывании субстрата водородная связь разрывается, и Asp229 депротонируется. На втором этапе реакции гидроксильная группа Glu257 активируется депротонированием молекулы акцептора. Asp325 совершает нуклеофильную атаку на аномерный атом C1 молекулы донора, что приводит к образованию ЦД.

ЦГТаза из *P. ehimensis* IB-739 состоит из 716 аминокислот (ProtParam) имеет низкий индекс нестабильности (20.55), алифатический индекс (72.39), указывающий на низкую термическую стабильность, и отрицательное значение GRAVY (-0.211), указывающее на гидрофильность и хорошую растворимость в водных средах.

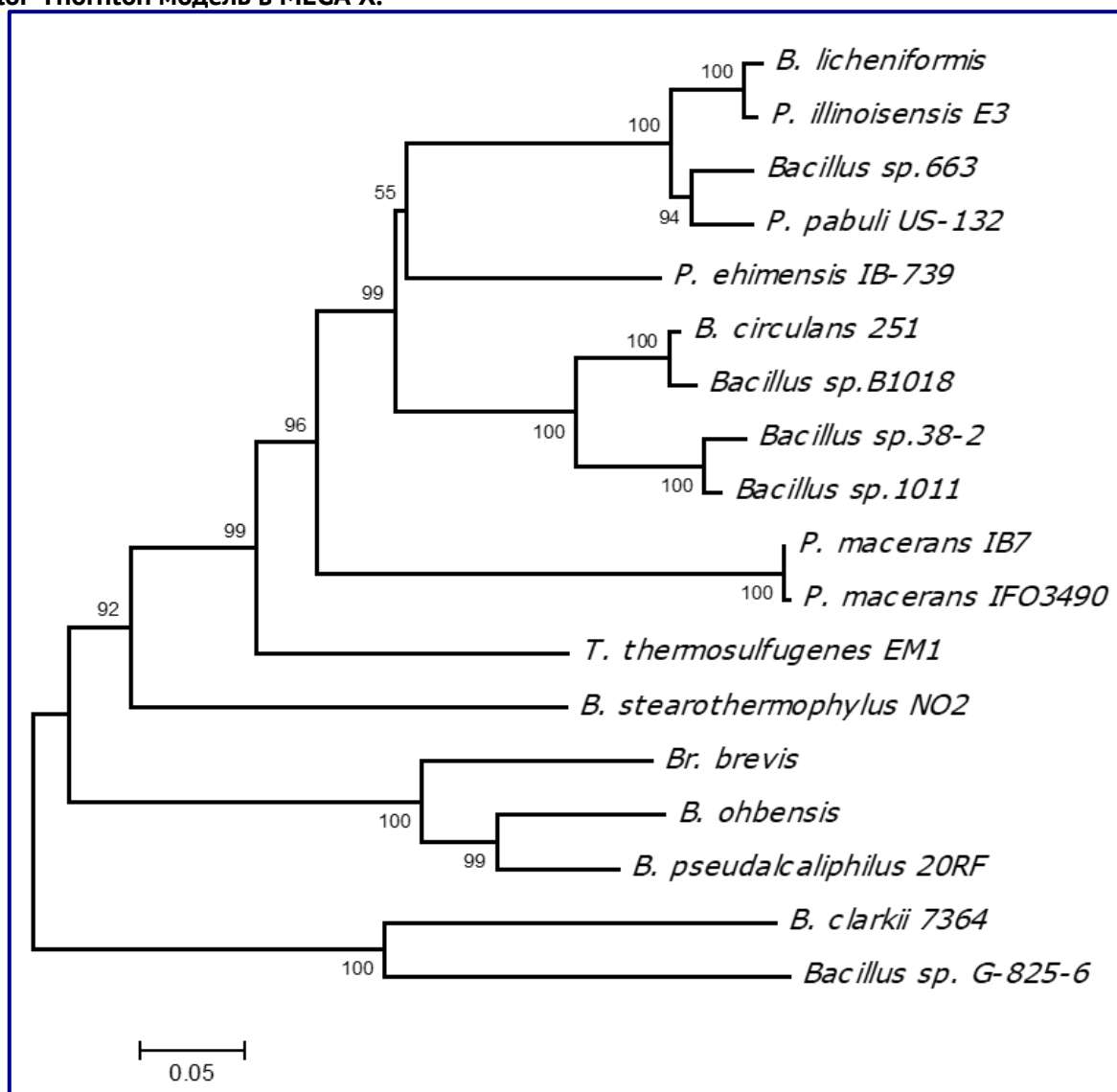
Сигнальный пептид. Анализ последовательности (SignalP) выявил наличие N-концевого сигнального пептида из 29 остатков (MKTLPKLLAAVLAMSLTTALPPLSPAASA), который удаляется при секреции ЦГТазы. Аминокислотная последовательность этого пептида с несколькими положительно заряженными аминокислотами вблизи N-конца (для взаимодействия с клеточными компонентами), за которыми следует гидрофобное аминокислотное ядро (для встраивания в клеточные мембраны), заканчивающаяся участком AlaAlaSerAla, характерным для сайта расщепления сигнальной

пептидазы и согласуется с сигнальными пептидами других грамположительных бактерий [Zhang et al. 2025].

Филогения ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739. Для установления филогенетического родства были построены бескорневые филогенетические деревья и с внешней группой (*K. pneumoniae*) методами Parsimony, Minimal Evolution и Neighbor-Joining, UPGMA, демонстрируя схожую топологию деревьев со статистически значимой бутстреп-поддержкой. ЦГТаза IB-739 на всех построенных филограммах образует отдельную ветвь в кластере α/β - и β -специфичных ЦГТаз, объединенных высоким показателем бутстрепа. На рисунке 3 представлено одно из многих деревьев, построенное методом присоединения ближайших соседей, где кластеризуются филогенетические группы микроорганизмов с различной специфичностью ЦГТаз, продуцируемых бактериями из родов *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Geobacillus*, *Evansella*, *Niallia*, *Paenibacillus* и *Thermoanaerobacter* с достоверной бутстреп-поддержкой.

Рисунок 3. Неокоренное филогенетическое дерево ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 в окружении референсных гомологов ЦГТазы (семейств GH13), демонстрирующее их эволюционные взаимоотношения. Дерево было построено с использованием методом Neighbor-Joining с 1000 бутстрап-репликациями, используя Jones Taylor-Thornton модель в MEGA X.

Figure 3. Unrooted phylogenetic tree of CGTase from *P. ehimensis* IB-739 surrounded by reference CGTase homologs (GH13 families), demonstrating their evolutionary relationships. The tree was constructed using the neighbor-joining method with 1000 bootstrap replicates using the Jones Taylor-Thornton model in MEGA X.

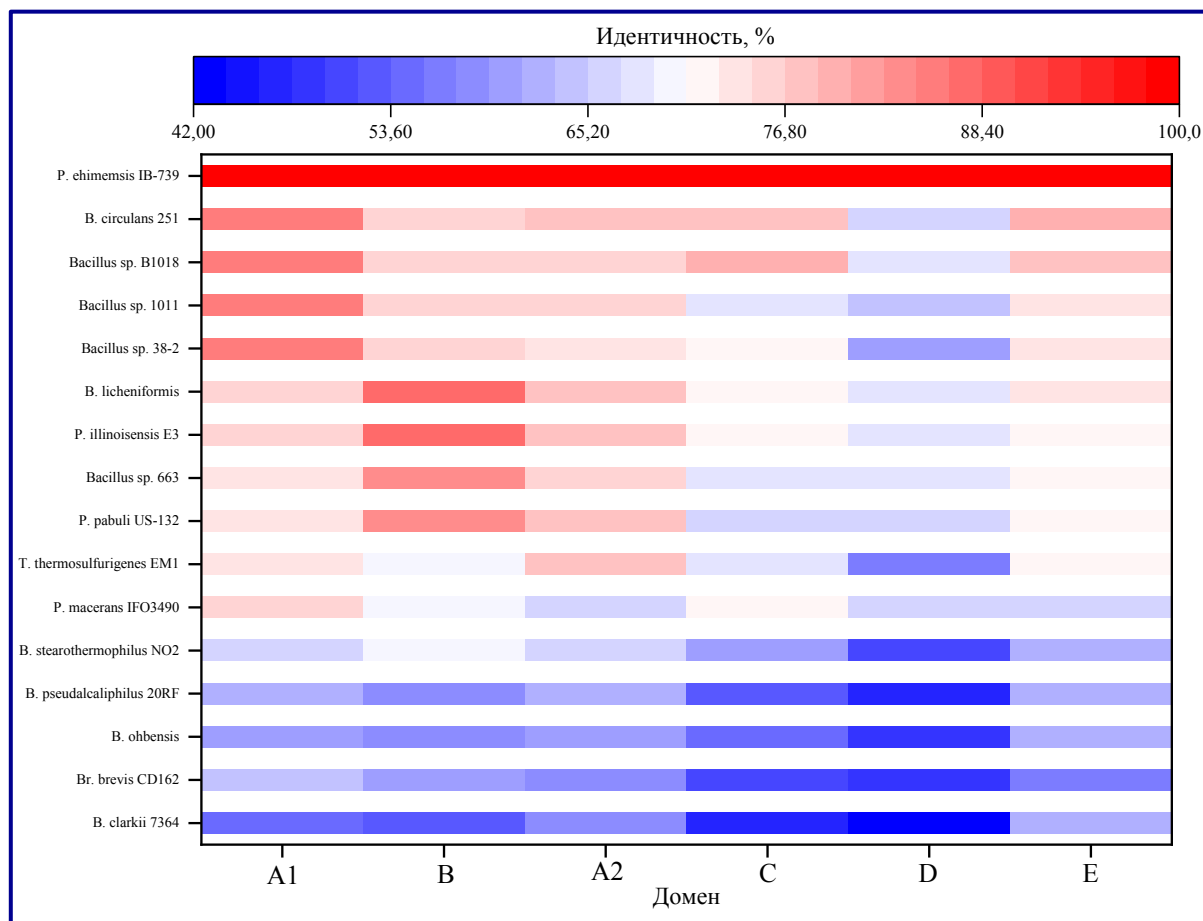


Определение уровня сходства доменов ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 с доменами гомологов. Попарное сравнение доменов ЦГТазы IB-739 с доменами выбранных ЦГТаз показал неравномерную идентичность по всей структуре белка (рис. 4). Особенно это заметно в субдоменах

A1 и В, где локализовано большинство как консервативных мотивов, так и значимых отличий в структуре, влияющих на специфичность (каталитические свойства) фермента (петлевые структуры 87-93, 145-152). Уровень гомологии субдомена A1 ЦГТазы IB-739 с аналогичными субдоменами β -ЦГТаз составляет порядка 85.6-87%, тогда как с α/β -ЦГТазами сходство меньше (74.1-76.3%). Уровень идентичности домена В выглядит зеркальным отображением в обозначенном кластере ЦГТаз, то есть наиболее близкими становятся α/β -ЦГТазы с 84.4-87.5%, а с β -ЦГТазами гомология ниже (75-76.5%). Тепловая карта идентичности доменов может отражать результат «эволюционного шаффлинга», который привел к появлению ЦГТазы IB-739, с уникальными каталитическими свойствами, у которой структура домена A1 близка к аналогичному домену алкалофильных β -ЦГТаз, а домена В – к домену нормофильных α/β и β -ЦГТаз, что наглядно демонстрирует достоверно поддержанная эволюционная история на филогенетическом дереве (рис. 3). Подобный шаффлинг, проведенный не природой, а в лабораторных экспериментах, когда домены A1, В, A2 и CDE γ -ЦГТазы алкалофильного штамма *Bacillus* sp. G825-6 были заменены соответствующими доменами ЦГТазы термофильного *G. stearothermophilus* ET1/NO2 (GeoT) С в различных сочетаниях, привел к появлению двух вариантов с увеличенной продукцией γ -ЦД [Sonnendecker, Zimmermann 2019]. Не исключено также, что наблюдаемый феномен у ЦГТазы IB-739 обусловлен дивергентной эволюцией доменов A1 и В. Далее, в отношении домена A2 ранжирование сходства более равномерное, и находится в соответствии с уровнем сходства полной аминокислотной последовательности ЦГТазы IB-739 с последовательностями выбранных ЦГТаз, 58.8-74.8%. Профили доменов С и Е схожи, за исключением небольших зеркальных вариаций для *P. macerans*/*T. thermosulfugenens* и *P. pabuli*/*Bacillus* sp. 663. Менее гомологичные домены D (42-67.8%) более открыты для изменений по сравнению, например, с каталитическими A1 и В (85-87%), важными участками для функционирования белка.

Рисунок 4. Тепловая карта, отображающая уровень сходства доменной организации различных ЦГТаз. Цветовая шкала показывает идентичность доменов, %: синий обозначает низкие значения, красный – высокие.

Figure 4. Heat map showing the level of similarity in the domain organization of different CGTases. The color scale indicates domain identity (%): blue indicates low values, red indicates high values.



Сравнение аминокислотных последовательностей ЦГТаз из различных источников.

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей 18 гомологов ЦГТаз (по базе PDB) выявило наличие высоко консервативных и вариабельных участков (Табл. 2). Консервативные локусы характерны не только для локаций уже описанных ранее субсайтов связывания с субстратом в каталитических доменах A1/A2 и В, но и для остальных трех доменов. В рамках обзора информации по сайт-направленному мутагенезу в консервативных субсайтах связывания (триаде) ЦГТазы, установлено, что подобные замены приводят к падению циклизующей и увеличению гидролизующей активности фермента [Xie *et al.* 2014]. Также методами белковой инженерии получены убедительные результаты после вводимых мутаций в активном центре, которые изменили специфичность, позволяя превращать ЦГТазу в α -амилазу [Kelly *et al.* 2007]. Тем не менее, субсайты связывания углеводов, более удаленные от каталитического центра, могут влиять на специфичность ЦГТазы, и изменения сродства к остаткам углеводов в этих субсайтах, могут привести к изменению соотношения образующихся ЦД, увеличить выход целевых ЦД и линейных олигосахаридов [van der Veen *et al.* 2000b; Kelly *et al.* 2009].

Таким образом, вариации в консервативных участках не учитывали при анализе, равно как и мотивы и полиморфизм отдельных позиций, где наблюдали допустимый уровень вариаций (более 3 аминокислотных остатков) между сравниваемыми последовательностями. Для дальнейшего анализа были отобраны те позиции, где обнаружены аминокислотные остатки, свойственные только для ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739. Множественное выравнивание ЦГТазы IB-739 с гликозилгидролазами *P. ehimensis* подтвердило идентичность обнаруженных отличий, что позволяет в дальнейшем обозначать их как структурные паттерны ЦГТазы *P. ehimensis* (Табл. 2).

Таблица 2. Сравнение специфических аминокислотных остатков ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739 с вариабельными мотивами и остатками различных ЦГТаз (согласно нумерации ЦГТазы *B. circulans* 251)

Table 2. Comparison of specific amino acid residues of CGTase from *P. ehimensis* IB-739 with variable motifs and residues of different CGTases (according to the numbering of CGTase *B. circulans* 251)

Локализация остатка	Источник ЦГТазы					
	<i>P. ehimensis</i> IB-739 ($\alpha/\beta/\gamma$)const	<i>B. circulans</i> 251 (β)	<i>P. macerans</i> IFO3490 (α)	<i>B. stearothermophilus</i> NO2 (α/β)	<i>B. pseudocalcalophilus</i> 20RF (β/γ)	<i>B. clarkii</i> (γ)
Домен A1, 44-45	CSSNLKLYC	CT-NLRLYC	RS-NLKLYF	CT-NLRKYC	CS-DLHKYC	CS-DLTKYC
Домен A1, субсайт-3, 87-93	INYPGAN	INYSGVN	IKYSGVN	MNDASGS	HPSG----	HPEG----
Домен В субсайт-7 145-152	METNTAFA	SSDQPSFA	DRDNPFGA	SETNPSYM	LETDPITYA	D-----I
Домен A2 около MBS3 383-386, 392-393	TTTT, KK	TSTT, QK	TGTT, QA	KNTR, QK	RSTT, SS	QTTT, QK
Домен D, 556-558, 570-571	AAA, AA	VAG, GT	VAA, GT	VSP, GQ	VT A, DS	TLG, GV
Домен E MBS2, 607, 625, 628	M, L, K	T, M, Q	V, M, Q	V, M, Q	V, M, Q	V, M, Q

Петлевые структуры, имеющие локализацию около субсайтов связывания с субстратом -3 (87-93) и -7 (145-152), влияние которых на специфичность и регуляцию активности подробно исследовано и подтверждено [Kelly *et al.* 2009], были включены в анализ (рис. 5).

Рисунок 5. Сравнение аминокислотных последовательностей петлевых структур различных ЦГТаз, имеющих локализацию около субсайтов связывания с субстратом -3 (87-93) и -7 (145-152).

Figure 5. Comparison of amino acid sequences of loop structures of various CGTases localized near the substrate-binding subsites -3 (87-93) and -7 (145-152).

	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96		145	146	147	148	149	150	151	152	153
<i>P. ehimensis</i> IB-739	I	N	Y	P	G	A	N	-	T	T		A	M	E	T	N	T	A	F	A
<i>P. macerans</i> IFO3490	I	K	Y	S	G	V	N	-	N	T		A	D	R	D	N	P	G	F	A
<i>P. macerans</i> sIB7	I	K	Y	S	G	V	N	-	N	T		A	D	R	D	N	P	G	F	A
<i>B. circulans</i> 251	I	N	Y	S	G	V	N	-	N	T		A	S	S	D	Q	P	S	F	A
<i>Bacillus</i> sp. B1018	I	N	Y	S	G	V	N	-	N	T		A	S	S	D	Q	P	S	F	A
<i>Bacillus</i> sp. 663	I	N	Y	S	G	V	T	-	N	T		A	M	E	T	D	T	S	F	A
<i>P. illinoisensis</i> E3	I	N	Y	S	G	V	T	-	N	T		A	M	E	T	D	T	S	F	A
<i>B. licheniformis</i>	I	N	Y	S	G	V	T	-	N	T		A	M	E	T	D	T	S	F	A
<i>P. pabuli</i> US-132	I	N	Y	G	G	V	I	-	N	T		A	M	E	T	D	T	S	F	A
<i>Bacillus</i> sp. 1011	I	N	Y	S	G	V	N	-	N	T		A	S	S	D	D	P	S	F	A
<i>Bacillus</i> sp. 38-2	I	N	Y	S	G	V	H	-	N	T		A	S	S	D	D	P	S	F	A
<i>T. thermosulfigenes</i> EM1	L	P	D	S	T	F	G	G	S	T		A	S	E	T	D	P	T	Y	A
<i>B. stearothermophilus</i> NO2	M	N	D	A	S	G	-	-	S	A		A	S	E	T	N	P	S	Y	M
<i>B. pseudocaliphilus</i> 20RF	H	P	S	G	-	-	-	-	Y	T		A	L	E	T	D	P	T	Y	A
<i>B. ohbensis</i>	H	P	S	G	-	-	-	-	Y	T		A	L	E	T	D	P	S	Y	A
<i>Br. brevis</i>	H	P	S	G	-	-	-	-	Y	T		A	L	E	T	N	P	N	Y	V
<i>B. clarkii</i> 7364	H	P	E	G	-	-	-	-	F	S		V	D	-	-	-	-	-	-	I
<i>Bacillus</i> sp. G-825-6	H	P	G	G	-	-	-	-	F	A		V	D	-	-	-	-	-	-	I

Участок 44-45. Локализация двух последовательно соединенных остатков серина (Ser44, Ser45) в домене A1 может влиять на локальную конформацию геометрии петли, замыкаемой дисульфидной связью, образованной двумя цистеинами (Cys43, Cys51). Для других ЦГТаз также свойственно наличие коротких повторов, содержащих два или три остатка серина в других позициях, тогда как у IB-739 данный гоморепит расположен около субсайта связывания субстрата (-3), мутации в котором приводят к изменению специфичности ЦГТазы. В частности, замены Arg47Leu и Arg47Gln в β -ЦГТазе *B. circulans* 251 привели к сдвигу в сторону образования γ -ЦД и сопутствующему снижению активности циклизации [van der Veen et al. 2000a]. Мутация His47Tyr в β/γ -ЦГТазе *Bacillus* sp. G1 привела к увеличению выхода γ -ЦД [Goh et al. 2009].

Петля 87-93. Область петли 87-93 с высокой вариабельностью обеспечивает взаимодействие с субстратом в субсайте -3 [Kelly et al. 2009]. Мутации проводимые в этой области влияют на специфичность образуемых продуктов. Было показано, что изменение ориентации углевода в субсайте -3 оказывает значительное влияние на положение углеводов в более отдаленных субсайтах [Uitdehaag et al. 1999]. Проведенные мутации в ЦГТазе *B. circulans* 251, в частности, Asn88Pro, удаление Tyr89, Val92, или Asn94 приведших к увеличению выхода β - и γ -ЦД, представлены в манускрипте как направляющие рекомендации по получению необходимого спектра циклических продуктов [Dijkhuizen et al. 1999] α - и β -ЦГТазы имеют последовательность IKYSGVN и INYSGVN соответственно; а последовательности HP(E/S/G)G- встречается в β/γ - и γ -ЦГТазах (рис. 5). Тот факт, что петли в γ -ЦГТазах короче, чем в других типах ЦГТаз, указывает на то, что для более высокого уровня γ -циклизирующей активности требуется больше места для связанной гликозильной цепи в этом участке [Hirano et al. 2006].

Исследуемая ЦГТаза IB-739 на участке 87-93 единственная содержит аминокислоту пролин в 90 позиции. У α -, α/β - и β -ЦГТаз в этой позиции находится серин, у β/γ - и γ -ЦГТаз – глицин. Мутации в ЦГТазе *B. circulans* 251 за счет удаления позиции 90 или замены Ser90Gly/Ser90Ala приводили к накоплению только β - и γ -ЦД, α -ЦД не образовывался [Dijkhuizen et al. 1999]. Пролин в позиции 90 блокирует -NH- основной цепи и нарушает водородные связи с предполагаемым углеводным фрагментом в субсайта -3. Таким образом, прослеживается конформационное сходство петли 83INYPGAN89 с укороченной петлей γ -ЦГТаз в субсайте -3, что может быть причиной наблюдаемого сдвига в специфичности размера ЦД. Также близкое родство с петлей алкалофильных β -ЦГТаз наглядно визуализируется на тепловой карте (рис. 4).

Петля 145-152. Участок, расположенный в субсайте -7 (остатки 145-152) в начале домена В, тоже связан со специфичностью ЦГТаз. Мутация участка 145-151 в β -ЦГТазе *B. circulans* 8, вызванная заменой одним остатком аспарагиновой кислоты, привела к увеличению выработки γ -ЦД из-за отсутствия специфических взаимодействий [Parsiegla et al. 1998]. Мутации Arg146Pro и Asp147Pro в α -ЦГТазе *P. macerans* JFB05-01 способствуют увеличению выработки α -ЦД и снижению образования β -ЦД [Wang et al. 2016].

Различия в специфичности продукта ЦГТаз вызваны вариативностью мотива аминокислот, следующего за консервативным Pro143. В ЦГТазах, продуцирующих преимущественно β -ЦД, это либо ASSD (для алкалофильных *Bacillus* sp. 38-2, *Bacillus* sp. 1011, *B. circulans* 251), либо AMET (для нормофильных ЦГТаз), тогда как в термостабильных ЦГТазах, продуцирующих α - и β -ЦД (*T. thermosulfogenes* EM1 и *B. stearothermophilus* NO2), обнаруживается участок ASET, а в β/γ -ЦГТазах, продуцирующих мало или совсем не продуцирующих α -ЦД (*B. stearothermophilus* 20RF, *B. ohbensis*, *B. brevis* CD162) – ALET. γ -ЦГТаза полностью лишены остатков в этом регионе, участвующих в связывании субстрата. Для исследуемой ЦГТаза IB-739 на этом участке AMET, что относит его к нормофильным β -ЦГТазам, что подтверждается более высоким уровнем гомологии домена D на тепловой карте (рис. 4). При этом петля с мотивом 146METNTAFA153 является более жесткой, ввиду появления объемного MET и создает локальный барьер в петле, меняя жесткость контура по сравнению с гибким участком SSDQ в петле ЦГТаза *B. circulans* 251, имеющей мотив 145SSDQPSFA152. Подобная жесткая петля ускоряет отщепление определенного числа глюкозных остатков, меняя преобладающий тип продукта и скорость циклизации [Uitdehaag et al. 1999].

Участок 392-393. Дуплеты LysLys (так называемые «лизиновые мостики») обладают высокой относительной доступностью (около 50%) на поверхности белковой глобулы и участвуют в структурной организации белка и формировании поверхности, взаимодействующей с субстратом [Rojas et al. 2019]. Ранее для ЦГТаза *T. thermosulfogenes* EM1 (содержащего 3 таких остатка) сообщалось, что наличие таких мотивов связано с термостабильностью фермента [Wind et al. 1995]. Однако позже была показана связь LysLys-мотивов со стабильностью ферментов, а не с его термостабильностью [Rojas et al. 2019]. В ЦГТазе *B. circulans* 251 обнаружены 2 таких дуплета, тогда как в IB-739 – 3, при этом фермент не обладает устойчивостью к повышенной температуре [Федорова и др. 2012]. Такие заряженные мотивы часто работают как «якоря», помогая стабилизировать третичную структуру фермента, компенсируя снижение гибкости за счёт образования дополнительных ионных связей (солевых мостиков) для поддержания устойчивости фермента в неблагоприятных условиях [Pedersen et al. 2019].

Участок 384-387. Наличие четырех последовательно соединенных остатков треонина в позициях (Thr384-387) в домене A2, расположенного около субсайта -3, на границе с доменом С, обладает высокой склонностью к образованию β -слоёв. Данный мотив из четырех треонинов в этой же позиции присутствует у алкалофильных β -ЦГТаз (*Bacillus* sp. 38-2, *Bacillus* sp. 1011). У *P. pabuli* US-132 и *B. clarkii* 7364 в этой позиции присутствует триплет из треонинов. Мотив из четырёх треонинов (TTTT) предпочтительнее мотива TSTT (*B. circulans* 251), т.к. поддержание стабильного «кармана» для удержания углевода вблизи сайта связывания мальтозы (MBS3) в домене С, требует устранения излишней гибкости петли/полипептидной цепи, а повышенная подвижность, вызванная остатком серина, может приводить к срыву правильной укладки или ослаблению сайта связывания [Centeno-Leija et al. 2022].

Участки 556-558, 570-571. В домене D между двумя β -листами для ЦГТаза IB-739 обнаружены триплет 556AAA558 и дуплет 570AA571 из остатков аланина. Наличие таких кодонов подряд усиливают гидрофобность участка цепи, что влияет на сворачивание белка, его взаимодействие с другими молекулами и стабильность [Makowska et al. 2008]. Для α -ЦГТаз (*P. macerans* IFO3490, *P. macerans* IB7) свойственно наличие дуплетов из остатков аланина в позиции 557-558, для β -ЦГТаз (*Bacillus* sp. 663, *P. pabuli* US-132) 557-558, для алкалофильных β - и β/γ -ЦГТаз (*Bacillus* sp. 38-2, *Bacillus* sp. 1011, *B. firmus* 37) 568-569 также находящихся в домене D. Домен D вариативный по аминокислотному составу (рис. 4). Обильное наличие коротких аланиновых повторов, свойственное всем представленным ЦГТахам, может влиять на формирование поворотов в β -листной структуре домена D. Подобные повторы создают участки с повышенной подвижностью, что критически важно для изменения направления цепи и обеспечения гибкости активного центра ферментов, связанных с правильным позиционированием домена E [Zhou et al. 2021].

Позиции 607, 625, 628. Присутствие метионина в позиции 607 (Met607) обеспечивает более высокую гибкость и гидрофобность белковой цепи домена Е по сравнению с валином (у α -, β/γ -, γ -ЦГТаз) и треонином (у нормофильных и алкалофильных β -ЦГТаз), оптимизируя структуру сайта MBS2 для эффективного связывания крахмала [Gastón *et al.* 2009]. Метионин обеспечивает оптимальный баланс гидрофобности, необходимой для связывания сахаров, и структурной гибкости, чего не могут дать более жесткий валин и полярный треонин.

Присутствие Leu625 и Lys628 характерно только для IB-739 из всей подборки ЦГТаз. У других в этих позициях на консервативном участке 622-629 находятся Met625 и Gln628. Мутации Met625Leu и Gln628Lys для ЦГТазы *B. circulans* 251 показали улучшение связывания субстрата и стабильности фермента по сравнению с диким типом [Dijkhuizen *et al.* 1999]. Leu625 обеспечивает плотную упаковку в гидрофобном кармане и правильную ориентацию сайта связывания мальтозы (MBS). Замена Met625 на более гидрофобный Leu625 обычно стабилизирует белок лучше, чем Met625.

Lys628 обеспечивает электростатические взаимодействия с молекулами субстрата (крахмала или ЦД) и участвует в стабилизации каталитического кармана. Напротив, Gln628 (как в ЦГТазе *B. circulans* 251) является нейтральным и не может обеспечить такое же сильное сродство, так как лизиновый «мостик» критически важен для удержания отрицательно заряженных участков сахаров [Rojas *et al.* 2019].

Таким образом, за специфичность ЦГТазы отвечает не вся петля целиком как жёсткая структура, а конкретные аминокислотные остатки внутри неё, которые формируют специфические водородные связи и/или электростатические взаимодействия с субстратом (глюкозидным остатком), что меняет геометрию субстрат-связывающего кармана, что в свою очередь, приводит к сдвигу соотношения синтеза α -, β - или γ -ЦД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящего исследования впервые был проведён анализ первичной структуры ЦГТазы *P. ehimensis* IB-739, определены ближайшие гомологи в семействе ЦГТаз. Обнаруженные паттерны у исследуемой ЦГТазы IB-739, свойственные гликозилгидролазам *P. ehimensis*, локализованы практически во всех доменах и в каталитических A1, A2 и B, наиболее значимых для продуктивной специфичности у ЦГТаз. Все обнаруженные паттерны, в частности отличия в гибких петлях, приводящие к локальным конформационным изменениям (гибкость/жёсткость сегмента), усиливают тенденцию к определённой укладке полипептидной цепи и вносят свою лепту в общую функциональную работу исследуемого фермента, проявляющего свои уникальные каталитические свойства. Построение филогенетических деревьев различными методами, двумя подходами (безкорневые деревья и с внешней группой), выдающими похожую топологию с высокой бутстреп-поддержкой для ключевых кластеров, позволило достоверно подтвердить отдельную эволюционную историю, обоснованную обнаруженными структурными отличиями. Результаты проведенного структурного анализа архитектуры аминокислотной последовательности ЦГТазы IB-739, равно как и проведение молекулярного моделирования и сайт-направленного мутагенеза, послужат в дальнейшем раскрытию механизмов, лежащих в основе уникальных каталитических свойств фермента, а также созданию фермента с улучшенными каталитическими свойствами.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Федорова П.Ю., Гильванова Е.А., Акуганов Г.Э., Усанов Н.Г. (2012) Очистка и свойства циклодекстринглюканотрансферазы из бактериального штамма *Paenibacillus ehimensis* ВКМ В-2680D (IB-739). *Биотехнология*. (4): 31–38. EDN: PEMMIX
- Федорова П.Ю., Гильванова Е.А., Усанов Н.Г. (2011) Сравнение кинетических свойств различных циклодекстринглюканотрансфераз. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 13(5–3): 203–206. EDN: PFLHKB

- Atanasova N., Kitayska T., Bojadjieva I., Yankov D., Tonkova A. (2011) A novel cyclodextrin glucanotransferase from alkaliphilic *Bacillus pseudocaliphilus* 20RF: Purification and properties. *Process Biochemistry*. **46**(1): 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.027>
- Bikbulatova S.M., Chemeris A. V., Usanov N.G., Vakhitov V.A. (2000) Establishment of the phylogenetic relationships between the microbial producers of cyclodextrin glucanotransferases using complete amino acid sequences. *Microbiology*. **69**(5): 575–581. <https://doi.org/10.1007/BF02756811> EDN: LGHUCD
- Binder F., Huber O., Böck A. (1986) Cyclodextrin-glycosyltransferase from *Klebsiella pneumoniae* M5a1: cloning, nucleotide sequence and expression. *Gene*. **47**(2–3): 269–277. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(86\)90070-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(86)90070-3)
- Centeno-Leija S., Espinosa-Barrera L., Velazquez-Cruz B., Cárdenas-Conejo Y., Virgen-Ortiz R., Valencia-Cruz G., Saenz R.A., Marín-Tovar Y., Gómez-Manzo S., Hernández-Ochoa B. et al. (2022) Mining for novel cyclomalto-dextrin glucanotransferases unravels the carbohydrate metabolism pathway via cyclodextrins in *Thermoanaerobacterales*. *Scientific Reports*. **12**(1): 730. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04569-x> EDN: HVNZPY
- Dijkhuizen L., Dijkstra B.W., Andersen C., von der Osten C. (1999) Cyclomalto-dextrin glucanotransferase variants. Patent № US 6004790 A.
- Doukyu N., Kuwahara H., Aono R. (2003) Isolation of *Paenibacillus illinoisensis* that produces cyclodextrin glucanotransferase resistant to organic solvents. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **67**(2): 334–340. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.334>
- Fujiwara S., Kakiwara H., Sakaguchi K., Imanaka T. (1992) Analysis of mutations in cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus stearothermophilus* which affect cyclization characteristics and thermostability. *Journal of Bacteriology*. **174**(22): 7478–7481. <https://doi.org/10.1128/jb.174.22.7478-7481.1992>
- Gastón J.A.R., Szerman N., Costa H., Krymkiewicz N., Ferrarotti S.A. (2009) Cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* DF 9R: Activity and kinetic studies. *Enzyme and Microbial Technology*. **45**(1): 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.04.002>
- Goh K.M., Mahadi N.M., Hassan O., Rahman R.N.Z.R.A., Illias R.M. (2009) A predominant β -CGTase G1 engineered to elucidate the relationship between protein structure and product specificity. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **57**(1–4): 270–277. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2008.09.016>
- Goh P.H., Illias R.Md., Goh K.M. (2012) Rational mutagenesis of cyclodextrin glucanotransferase at the calcium binding regions for enhancement of thermostability. *International Journal of Molecular Sciences*. **13**(5): 5307–5323. <https://doi.org/10.3390/ijms13055307> EDN: PPMYFX
- Han R., Li J., Shin H., Chen R.R., Du G., Liu L., Chen J. (2014) Recent advances in discovery, heterologous expression, and molecular engineering of cyclodextrin glycosyltransferase for versatile applications. *Biotechnology Advances*. **32**(2): 415–428. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.004>
- Hill D.E., Aldape R., Rozzell J.D. (1990) Nucleotide sequence of a cyclodextrin glucosyltransferase gene, *cgt* A, from *Bacillus licheniformis*. *Nucleic Acids Research*. **18**(1): 199–199. <https://doi.org/10.1093/nar/18.1.199> EDN: IUBEHI
- Hirano K., Ishihara T., Ogasawara S., Maeda H., Abe K., Nakajima T., Yamagata Y. (2006) Molecular cloning and characterization of a novel γ -CGTase from alkaliphilic *Bacillus* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **70**(2): 193–201. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0041-7> EDN: KMYYSH
- Itkor P., Tsukagoshi N., Udaka S. (1990) Nucleotide sequence of the raw-starch-digesting amylase gene from *Bacillus* sp. B1018 and its strong homology to the cyclodextrin glucanotransferase genes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **166**(2): 630–636. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(90\)90855-H](https://doi.org/10.1016/0006-291X(90)90855-H)
- Janecek Š., MacGregor E.A., Svensson B. (1995) Characteristic differences in the primary structure allow discrimination of cyclodextrin glucanotransferases from α -amylases. *Biochemical Journal*. **305**(2): 685–686. <https://doi.org/10.1042/bj3050685>
- Jemli S., Ben Messaoud E., Ben Mabrouk S., Bejar S. (2008) The cyclodextrin glycosyltransferase of *Paenibacillus pabuli* US132 strain: molecular characterization and overproduction of the recombinant enzyme. *BioMed Research International*. **2008**(1). <https://doi.org/10.1155/2008/692573>
- Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Tunyasuvunakool K., Bates R., Žídek A., Potapenko A. et al. (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. **596**(7873): 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2> EDN: GEXUCN

- Kato T., Horikoshi K. (1984) Immobilized cyclomalto-dextrin glucanotransferase of an alkalophilic *Bacillus* sp. No. 38-2. *Biotechnology and Bioengineering*. **26**(6): 595–598. <https://doi.org/10.1002/bit.260260606>
- Kelly R.M., Dijkhuizen L., Leemhuis H. (2009) The evolution of cyclodextrin glucanotransferase product specificity. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **84**(1): 119–133. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1988-6> EDN: PAKAQQ
- Kelly R.M., Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2007) Conversion of a cyclodextrin glucanotransferase into an α -amylase: assessment of directed evolution strategies. *Biochemistry*. **46**(39): 11216–11222. <https://doi.org/10.1021/bi701160h>
- Kim M.H., Sohn C.B., Oh T.K. (1998) Cloning and sequencing of a cyclodextrin glycosyltransferase gene from *Brevibacillus brevis* CD162 and its expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*. **164**(2): 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13117.x> EDN: MNZZXR
- Kimura K., Kataoka S., Ishii Y., Takano T., Yamane K. (1987) Nucleotide sequence of the beta-cyclodextrin glucanotransferase gene of alkalophilic *Bacillus* sp. strain 1011 and similarity of its amino acid sequence to those of alpha-amylases. *Journal of Bacteriology*. **169**(9): 4399–4402. <https://doi.org/10.1128/jb.169.9.4399-4402.1987>
- Klein C., Hollender J., Bender H., Schulz G.E. (1992) Catalytic center of cyclodextrin glycosyltransferase derived from x-ray structure analysis combined with site-directed mutagenesis. *Biochemistry*. **31**(37): 8740–8746. <https://doi.org/10.1021/bi00152a009>
- Klein C., Schulz G.E. (1991) Structure of cyclodextrin glycosyltransferase refined at 2.0 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*. **217**(4): 737–750. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(91\)90530-J](https://doi.org/10.1016/0022-2836(91)90530-J)
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. **35**(6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096> EDN: NORMGO
- Kumar V. (2010) Analysis of the key active subsites of glycoside hydrolase 13 family members. *Carbohydrate Research*. **345**(7): 893–898. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.02.007>
- Lawson C.L., van Montfort R., Strokopytov B., Rozeboom H.J., Kalk K.H., de Vries G.E., Penninga D., Dijkhuizen L., Dijkstra B.W. (1994) Nucleotide sequence and X-ray structure of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 in a maltose-dependent crystal form. *Journal of Molecular Biology*. **236**(2): 590–600. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1994.1168>
- Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2003) Engineering of hydrolysis reaction specificity in the transglycosylase cyclodextrin glycosyltransferase. *Biocatalysis and Biotransformation*. **21**(4–5): 261–270. <https://doi.org/10.1080/10242420310001614333>
- Leemhuis H., Kelly R.M., Dijkhuizen L. (2010) Engineering of cyclodextrin glucanotransferases and the impact for biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **85**(4): 823–835. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2221-3> EDN: MYGXS
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Machovič M., Janeček Š. (2006) Starch-binding domains in the post-genome era. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **63**(23): 2710–2724. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6246-9> EDN: WMWRCL
- Makowska J., Bagińska K., Liwo A., Chmurzyński L., Scheraga H.A. (2008) Acidic-basic properties of three alanine-based peptides containing acidic and basic side chains: Comparison between theory and experiment. *Peptide Science*. **90**(5): 724–732. <https://doi.org/10.1002/bip.21046> EDN: LNOOHE
- Pardhi D.S., Rabadiya K.J., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Rajput K.N. (2023) Cyclodextrin glucanotransferase: fundamentals and biotechnological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **107**(19): 5899–5907. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12708-9> EDN: GVNFI
- Parsiegla G., Schmidt A.K., Schulz G.E. (1998) Substrate binding to a cyclodextrin glycosyltransferase and mutations increasing the γ -cyclodextrin production. *European Journal of Biochemistry*. **255**(3): 710–717. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2550710.x>
- Pedersen J.N., Zhou Y., Guo Z., Pérez B. (2019) Genetic and chemical approaches for surface charge engineering of enzymes and their applicability in biocatalysis: A review. *Biotechnology and Bioengineering*. **116**(7): 1795–1812. <https://doi.org/10.1002/bit.26979> EDN: IIVBKY
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfalddin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Qi Q., Zimmermann W. (2005) Cyclodextrin glucanotransferase: from gene to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **66**(5): 475–485. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1781-5> EDN: MCGGVR

- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Rimphanitchayakit V., Tonozuka T., Sakano Y. (2005) Construction of chimeric cyclodextrin glucanotransferases from *Bacillus circulans* A11 and *Paenibacillus macerans* IAM1243 and analysis of their product specificity. *Carbohydrate Research*. **340**(14): 2279–2289. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.07.013>
- Rojas M.J., Amaral-Fonseca M., Zanin G.M., Fernandez-Lafuente R., Giordano R. de L.C., Tardioli P.W. (2019) Preparation of crosslinked enzyme aggregates of a thermostable cyclodextrin glucosyltransferase from *Thermoanaerobacter* sp. critical effect of the crosslinking agent. *Catalysts*. **9**(2): 120. <https://doi.org/10.3390/catal9020120>
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: an overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1–2): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sharma P., Mondal K., Tamang S., Kumar S., Najar I.N., Das S., Mondal K.C., Thakur N. (2026) A novel and thermostable cyclomaltodextrin glucanotransferase from *Anoxybacillus rupiensis* PSO2 isolated from Yumthang hot spring: cloning and functional characterisation. *Enzyme and Microbial Technology*. **197**: 110840. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2026.110840>
- Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J. et al. (2011) Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*. **7**(1): MSB201175. <https://doi.org/10.1038/msb.2011.75> EDN: GHXFOX
- Sin K.-A., Nakamura A., Kobayashi K., Masaki H., Uozumi T. (1991) Cloning and sequencing of a cyclodextrin glucanotransferase gene from *Bacillus ohbensis* and its expression in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **35**(5). <https://doi.org/10.1007/BF00169623> EDN: DZXGUS
- Sonnendecker C., Zimmermann W. (2019) Domain shuffling of cyclodextrin glucanotransferases for tailored product specificity and thermal stability. *FEBS Open Bio*. **9**(2): 384–395. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12588> EDN: RBEQUL
- Takada M., Nakagawa Y., Yamamoto M. (2003) Biochemical and genetic analyses of a novel γ -cyclodextrin glucanotransferase from an alkalophilic *Bacillus clarkii* 7364. *Journal of Biochemistry*. **133**(3): 317–324. <https://doi.org/10.1093/jb/mvg043> EDN: IRBXKZ
- Uitdehaag J.C.M., Kalk K.H., van der Veen B.A., Dijkhuizen L., Dijkstra B.W. (1999) The cyclization mechanism of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) as revealed by a γ -cyclodextrin-CGTase complex at 1.8-Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*. **274**(49): 34868–34876. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.49.34868>
- van der Veen B.A., Uitdehaag J.C.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (2000a) The role of arginine 47 in the cyclization and coupling reactions of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251. *European Journal of Biochemistry*. **267**(12): 3432–3441. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01353.x> EDN: EUCPZY
- van der Veen B.A., Uitdehaag J.C.M., Penninga D., van Alebeek G.-J.W.M., Smith L.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (2000b) Rational design of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 to increase α -cyclodextrin production. *Journal of Molecular Biology*. **296**(4): 1027–1038. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3528> EDN: KFOBIB
- Wang L., Duan X., Wu J. (2016) Enhancing the α -cyclodextrin specificity of cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus macerans* by mutagenesis masking subsite –7. *Applied and Environmental Microbiology*. **82**(8): 2247–2255. <https://doi.org/10.1128/AEM.03535-15>
- Wind R.D., Liebl W., Buitelaar R.M., Penninga D., Spreinat A., Dijkhuizen L., Bahl H. (1995) Cyclodextrin formation by the thermostable α -amylase of *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1 and reclassification of the enzyme as a cyclodextrin glycosyltransferase. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**(4): 1257–1265. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1257-1265.1995>
- Xie T., Song B., Yue Y., Chao Y., Qian S. (2014) Site-saturation mutagenesis of central tyrosine 195 leading to diverse product specificities of an α -cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus* sp. 602-1. *Journal of Biotechnology*. **170**: 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.10.032>

- Zhang S., He Z., Wang H., Zhai J. (2025) Signal peptides: From molecular mechanisms to applications in protein and vaccine engineering. *Biomolecules*. **15**(6): 897. <https://doi.org/10.3390/biom15060897> EDN: MYUDGU
- Zhou J., Feng Z., Liu S., Wei F., Shi Y., Zhao L., Huang W., Zhou Y., Feng H., Zhu H. (2021) CGTase, a novel antimicrobial protein from *Bacillus cereus* YUPP-10, suppresses *Verticillium dahliae* and mediates plant defence responses. *Molecular Plant Pathology*. **22**(1): 130–144. <https://doi.org/10.1111/mpp.13014> EDN: HERUME
- Zuo F., Su L., Kong D., Wang L., Wu J., Chen S. (2022) Molecular modification of *Bacillus stearothermophilus* NO₂ cyclodextrin glucosyltransferase and preparation of α -cyclodextrin. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. **2**(4): 695–704. <https://doi.org/10.1007/s43393-022-00099-3> EDN: FLVPKT

REFERENCES

- Fedorova P.Yu., Gil'vanova E.A., Aktuganov G.E., Usanov N.G. (2012) Isolation and properties of cyclodextrin glucanotransferase from a *Paenibacillus ehimensis* VKM B-2680D (IB-739) bacteria strain. *Biotechnology in Russia*. (4): 31–38. EDN: PEMMIX (in Russian)
- Fedorova P.Y., Gilvanova E.A., Usanov N.G. (2011) Cyclodextrin glycosyltransferases of different *Paenibacillus* species. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. **13**(5–3): 203–206. EDN: PFLHKB (in Russian)
- Atanasova N., Kitayska T., Bojadjieva I., Yankov D., Tonkova A. (2011) A novel cyclodextrin glucanotransferase from alkaliphilic *Bacillus pseudocaliphilus* 20RF: Purification and properties. *Process Biochemistry*. **46**(1): 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.027>
- Bikbulatova S.M., Chemeris A. V., Usanov N.G., Vakhitov V.A. (2000) Establishment of the phylogenetic relationships between the microbial producers of cyclodextrin glucanotransferases using complete amino acid sequences. *Microbiology*. **69**(5): 575–581. <https://doi.org/10.1007/BF02756811> EDN: LGHUCD
- Binder F., Huber O., Böck A. (1986) Cyclodextrin-glycosyltransferase from *Klebsiella pneumoniae* M5a1: cloning, nucleotide sequence and expression. *Gene*. **47**(2–3): 269–277. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(86\)90070-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(86)90070-3)
- Centeno-Leija S., Espinosa-Barrera L., Velazquez-Cruz B., Cárdenas-Conejo Y., Virgen-Ortíz R., Valencia-Cruz G., Saenz R.A., Marín-Tovar Y., Gómez-Manzo S., Hernández-Ochoa B. *et al.* (2022) Mining for novel cyclomaltodextrin glucanotransferases unravels the carbohydrate metabolism pathway via cyclodextrins in *Thermoanaerobacterales*. *Scientific Reports*. **12**(1): 730. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04569-x> EDN: HVNZPY
- Dijkhuizen L., Dijkstra B.W., Andersen C., von der Osten C. (1999) Cyclomaltodextrin glucanotransferase variants. Patent № US 6004790 A.
- Doukyu N., Kuwahara H., Aono R. (2003) Isolation of *Paenibacillus illinoisensis* that produces cyclodextrin glucanotransferase resistant to organic solvents. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **67**(2): 334–340. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.334>
- Fujiwara S., Kakiwara H., Sakaguchi K., Imanaka T. (1992) Analysis of mutations in cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus stearothermophilus* which affect cyclization characteristics and thermostability. *Journal of Bacteriology*. **174**(22): 7478–7481. <https://doi.org/10.1128/jb.174.22.7478-7481.1992>
- Gastón J.A.R., Szerman N., Costa H., Krymkiewicz N., Ferrarotti S.A. (2009) Cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* DF 9R: Activity and kinetic studies. *Enzyme and Microbial Technology*. **45**(1): 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.04.002>
- Goh K.M., Mahadi N.M., Hassan O., Rahman R.N.Z.R.A., Illias R.M. (2009) A predominant β -CGTase G1 engineered to elucidate the relationship between protein structure and product specificity. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **57**(1–4): 270–277. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2008.09.016>
- Goh P.H., Illias R.Md., Goh K.M. (2012) Rational mutagenesis of cyclodextrin glucanotransferase at the calcium binding regions for enhancement of thermostability. *International Journal of Molecular Sciences*. **13**(5): 5307–5323. <https://doi.org/10.3390/ijms13055307> EDN: PPMYFX
- Han R., Li J., Shin H., Chen R.R., Du G., Liu L., Chen J. (2014) Recent advances in discovery, heterologous expression, and molecular engineering of cyclodextrin glycosyltransferase for versatile applications. *Biotechnology Advances*. **32**(2): 415–428. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.004>
- Hill D.E., Aldape R., Rozzell J.D. (1990) Nucleotide sequence of a cyclodextrin glucosyltransferase gene, *cgt A*, from *Bacillus licheniformis*. *Nucleic Acids Research*. **18**(1): 199–199. <https://doi.org/10.1093/nar/18.1.199> EDN: IUBEHI

- Hirano K., Ishihara T., Ogasawara S., Maeda H., Abe K., Nakajima T., Yamagata Y. (2006) Molecular cloning and characterization of a novel γ -CGTase from alkalophilic *Bacillus* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **70**(2): 193–201. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0041-7> EDN: KMYYSH
- Itkor P., Tsukagoshi N., Uda S. (1990) Nucleotide sequence of the raw-starch-digesting amylase gene from *Bacillus* sp. B1018 and its strong homology to the cyclodextrin glucanotransferase genes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **166**(2): 630–636. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(90\)90855-H](https://doi.org/10.1016/0006-291X(90)90855-H)
- Janecek Š., MacGregor E.A., Svensson B. (1995) Characteristic differences in the primary structure allow discrimination of cyclodextrin glucanotransferases from α -amylases. *Biochemical Journal*. **305**(2): 685–686. <https://doi.org/10.1042/bj3050685>
- Jemli S., Ben Messaoud E., Ben Mabrouk S., Bejar S. (2008) The cyclodextrin glycosyltransferase of *Paenibacillus pabuli* US132 strain: molecular characterization and overproduction of the recombinant enzyme. *BioMed Research International*. **2008**(1). <https://doi.org/10.1155/2008/692573>
- Jumper J., Evans R., Pritzel A., Green T., Figurnov M., Ronneberger O., Tunyasuvunakool K., Bates R., Židek A., Potapenko A. et al. (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. **596**(7873): 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2> EDN: GEXUCN
- Kato T., Horikoshi K. (1984) Immobilized cyclomaltodextrin glucanotransferase of an alkalophilic *Bacillus* sp. No. 38-2. *Biotechnology and Bioengineering*. **26**(6): 595–598. <https://doi.org/10.1002/bit.260260606>
- Kelly R.M., Dijkhuizen L., Leemhuis H. (2009) The evolution of cyclodextrin glucanotransferase product specificity. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **84**(1): 119–133. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1988-6> EDN: PAKAQQ
- Kelly R.M., Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2007) Conversion of a cyclodextrin glucanotransferase into an α -amylase: assessment of directed evolution strategies. *Biochemistry*. **46**(39): 11216–11222. <https://doi.org/10.1021/bi701160h>
- Kim M.H., Sohn C.B., Oh T.K. (1998) Cloning and sequencing of a cyclodextrin glycosyltransferase gene from *Brevibacillus brevis* CD162 and its expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*. **164**(2): 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13117.x> EDN: MNZZXR
- Kimura K., Kataoka S., Ishii Y., Takano T., Yamane K. (1987) Nucleotide sequence of the beta-cyclodextrin glucanotransferase gene of alkalophilic *Bacillus* sp. strain 1011 and similarity of its amino acid sequence to those of alpha-amylases. *Journal of Bacteriology*. **169**(9): 4399–4402. <https://doi.org/10.1128/jb.169.9.4399-4402.1987>
- Klein C., Hollender J., Bender H., Schulz G.E. (1992) Catalytic center of cyclodextrin glycosyltransferase derived from x-ray structure analysis combined with site-directed mutagenesis. *Biochemistry*. **31**(37): 8740–8746. <https://doi.org/10.1021/bi00152a009>
- Klein C., Schulz G.E. (1991) Structure of cyclodextrin glycosyltransferase refined at 2.0 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*. **217**(4): 737–750. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(91\)90530-J](https://doi.org/10.1016/0022-2836(91)90530-J)
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. **35**(6): 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096> EDN: NORMGO
- Kumar V. (2010) Analysis of the key active subsites of glycoside hydrolase 13 family members. *Carbohydrate Research*. **345**(7): 893–898. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.02.007>
- Lawson C.L., van Montfort R., Strokopytov B., Rozeboom H.J., Kalk K.H., de Vries G.E., Penninga D., Dijkhuizen L., Dijkstra B.W. (1994) Nucleotide sequence and X-ray structure of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 in a maltose-dependent crystal form. *Journal of Molecular Biology*. **236**(2): 590–600. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1994.1168>
- Leemhuis H., Dijkhuizen L. (2003) Engineering of hydrolysis reaction specificity in the transglycosylase cyclodextrin glycosyltransferase. *Biocatalysis and Biotransformation*. **21**(4–5): 261–270. <https://doi.org/10.1080/10242420310001614333>
- Leemhuis H., Kelly R.M., Dijkhuizen L. (2010) Engineering of cyclodextrin glucanotransferases and the impact for biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **85**(4): 823–835. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2221-3> EDN: MYGXS
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Machovič M., Janeček Š. (2006) Starch-binding domains in the post-genome era. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **63**(23): 2710–2724. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6246-9> EDN: WMWRCL

- Makowska J., Bagińska K., Liwo A., Chmurzyński L., Scheraga H.A. (2008) Acidic-basic properties of three alanine-based peptides containing acidic and basic side chains: Comparison between theory and experiment. *Peptide Science*. **90**(5): 724–732. <https://doi.org/10.1002/bip.21046> EDN: LNOOHF
- Pardhi D.S., Rabadiya K.J., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Rajput K.N. (2023) Cyclodextrin glucanotransferase: fundamentals and biotechnological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **107**(19): 5899–5907. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12708-9> EDN: GVNFI
- Parsiegla G., Schmidt A.K., Schulz G.E. (1998) Substrate binding to a cyclodextrin glycosyltransferase and mutations increasing the γ -cyclodextrin production. *European Journal of Biochemistry*. **255**(3): 710–717. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2550710.x>
- Pedersen J.N., Zhou Y., Guo Z., Pérez B. (2019) Genetic and chemical approaches for surface charge engineering of enzymes and their applicability in biocatalysis: A review. *Biotechnology and Bioengineering*. **116**(7): 1795–1812. <https://doi.org/10.1002/bit.26979> EDN: IIVBKY
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfaldin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Qi Q., Zimmermann W. (2005) Cyclodextrin glucanotransferase: from gene to applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **66**(5): 475–485. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1781-5> EDN: MCGGVR
- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Rimphanitchayakit V., Tonoizuka T., Sakano Y. (2005) Construction of chimeric cyclodextrin glucanotransferases from *Bacillus circulans* A11 and *Paenibacillus macerans* IAM1243 and analysis of their product specificity. *Carbohydrate Research*. **340**(14): 2279–2289. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.07.013>
- Rojas M.J., Amaral-Fonseca M., Zanin G.M., Fernandez-Lafuente R., Giordano R. de L.C., Tardioli P.W. (2019) Preparation of crosslinked enzyme aggregates of a thermostable cyclodextrin glucosyltransferase from *Thermoanaerobacter* sp. critical effect of the crosslinking agent. *Catalysts*. **9**(2): 120. <https://doi.org/10.3390/catal9020120>
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: an overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1–2): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sharma P., Mondal K., Tamang S., Kumar S., Najar I.N., Das S., Mondal K.C., Thakur N. (2026) A novel and thermostable cyclomalto-dextrin glucanotransferase from *Anoxybacillus rupiensis* PSO2 isolated from Yumthang hot spring: cloning and functional characterisation. *Enzyme and Microbial Technology*. **197**: 110840. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2026.110840>
- Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J. et al. (2011) Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*. **7**(1): MSB201175. <https://doi.org/10.1038/msb.2011.75> EDN: GHXFOX
- Sin K.-A., Nakamura A., Kobayashi K., Masaki H., Uozumi T. (1991) Cloning and sequencing of a cyclodextrin glucanotransferase gene from *Bacillus ohbensis* and its expression in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **35**(5). <https://doi.org/10.1007/BF00169623> EDN: DZXGUS
- Sonnendecker C., Zimmermann W. (2019) Domain shuffling of cyclodextrin glucanotransferases for tailored product specificity and thermal stability. *FEBS Open Bio*. **9**(2): 384–395. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12588> EDN: RBEQUL
- Takada M., Nakagawa Y., Yamamoto M. (2003) Biochemical and genetic analyses of a novel γ -cyclodextrin glucanotransferase from an alkalophilic *Bacillus clarkii* 7364. *Journal of Biochemistry*. **133**(3): 317–324. <https://doi.org/10.1093/jb/mvg043> EDN: IRBXKZ
- Uitdehaag J.C.M., Kalk K.H., van der Veen B.A., Dijkhuizen L., Dijkstra B.W. (1999) The cyclization mechanism of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) as revealed by a γ -cyclodextrin-CGTase complex at 1.8-Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*. **274**(49): 34868–34876. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.49.34868>
- van der Veen B.A., Uitdehaag J.C.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (2000a) The role of arginine 47 in the cyclization and coupling reactions of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans*

- strain 251. *European Journal of Biochemistry*. **267**(12): 3432–3441. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01353.x> EDN: EUCPZY
- van der Veen B.A., Uitdehaag J.C.M., Penninga D., van Alebeek G.-J.W.M., Smith L.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (2000b) Rational design of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 to increase α -cyclodextrin production. *Journal of Molecular Biology*. **296**(4): 1027–1038. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3528> EDN: KFOBIB
- Wang L., Duan X., Wu J. (2016) Enhancing the α -cyclodextrin specificity of cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus macerans* by mutagenesis masking subsite –7. *Applied and Environmental Microbiology*. **82**(8): 2247–2255. <https://doi.org/10.1128/AEM.03535-15>
- Wind R.D., Liebl W., Buitelaar R.M., Penninga D., Spreinat A., Dijkhuizen L., Bahl H. (1995) Cyclodextrin formation by the thermostable α -amylase of *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1 and reclassification of the enzyme as a cyclodextrin glycosyltransferase. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**(4): 1257–1265. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1257-1265.1995>
- Xie T., Song B., Yue Y., Chao Y., Qian S. (2014) Site-saturation mutagenesis of central tyrosine 195 leading to diverse product specificities of an α -cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus* sp. 602-1. *Journal of Biotechnology*. **170**: 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.10.032>
- Zhang S., He Z., Wang H., Zhai J. (2025) Signal peptides: From molecular mechanisms to applications in protein and vaccine engineering. *Biomolecules*. **15**(6): 897. <https://doi.org/10.3390/biom15060897> EDN: MYUDGU
- Zhou J., Feng Z., Liu S., Wei F., Shi Y., Zhao L., Huang W., Zhou Y., Feng H., Zhu H. (2021) CGTase, a novel antimicrobial protein from *Bacillus cereus* YUPP-10, suppresses *Verticillium dahliae* and mediates plant defence responses. *Molecular Plant Pathology*. **22**(1): 130–144. <https://doi.org/10.1111/mpp.13014> EDN: HERUME
- Zuo F., Su L., Kong D., Wang L., Wu J., Chen S. (2022) Molecular modification of *Bacillus stearothermophilus* NO₂ cyclodextrin glucosyltransferase and preparation of α -cyclodextrin. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. **2**(4): 695–704. <https://doi.org/10.1007/s43393-022-00099-3> EDN: FLVPKT

Цитировать как

Гильванова Е.А., Мильман П.Ю., Усанов Н.Н. (2026). Анализ структурного паттерна циклодекстрин глюканотрансферазы *Paenibacillus ehimensis* IB-739. *Экобиотех.* **9**(3): 365-383. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-28> EDN: <https://www.elibrary.ru/lmjomq>

Cited as

Gilvanova E.A., Milman P.Yu., Usanov N.N. (2026). Analysis of the structural pattern of cyclodextrin glucanotransferase from *Paenibacillus ehimensis* IB-739. *Ecobiotech.* **9**(3): 365-383. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-28> EDN: <https://www.elibrary.ru/lmjomq>

Сведения об авторах

Елена Альбертовна Гильванова, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: gelena@anrb.ru, SPIN: 1897-6291, ORCID: 0000-0003-3656-7925.

Полина Юрьевна Мильман, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: milman.polina@gmail.com, SPIN: 1300-1103, ORCID: 0000-0001-6379-7094.

Николай Николаевич Усанов, химик, старший инженер технической поддержки, АО «Лаборатория Касперского», Москва, Россия. E-mail: Unn.eimb@gmail.com, ORCID: 0009-0006-5831-2455.

Information About the Authors

Elena A. Gilvanova, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: gelena@anrb.ru, SPIN: 1897-6291, ORCID: 0000-0003-3656-7925.

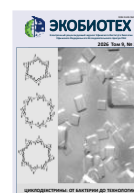
Polina Yu. Milman, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: milman.polina@gmail.com, SPIN: 1300-1103, ORCID: 0000-0001-6379-7094.

Nikolai N. Usanov, chemist, senior technical support engineer, Kaspersky Lab JSC, Moscow, Russia. E-mail: Unn.eimb@gmail.com, ORCID: 0009-0006-5831-2455.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 615.03:615.281.9:547.458



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ | RESEARCH ARTICLE

КОНЬЮГАТЫ ПОЛИМЕРНЫХ β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ МОДУЛИРУЮТ ФАРМАКОКИНЕТИКУ И БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКА

Копнова Л.Р.^{1,2}, Копнова Т.Ю.², Данилов М.Р.^{1,2},
Давыдова М.П.³, Кудряшова Е.В.^{1,2*}

¹Центральный университет, Москва, Россия

²Химический факультет Московского Государственного
Университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Медицинский научно-образовательный институт
Московского Государственного Университета имени
М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru

CONJUGATES OF POLYMERIC β -CYCLODEXTRINS WITH SERUM ALBUMIN MODULATE THE PHARMACOKINETICS AND BIODISTRIBUTION OF THE ANTIBIOTIC

Kopnova L.R.^{1,2}, Kopnova T.Yu.², Danilov M.R.^{1,2},
Davydova M.P.³, Kudryashova E.V.^{1,2*}

¹Central University, Moscow, Russia

²Chemistry department, Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia

³Medical Research and Educational Institute,
Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia

*E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru

Аннотация

Синтезированы конъюгаты полимерного и мономерного гидроксипропил- β -циклодекстрина (ГПЦД) с человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) как модельная система для модуляции фармакокинетики и биораспределения левофлоксацина (ЛВ). Структура синтезированных материалов подтверждена методом ИК-спектроскопии Фурье. Исследование кинетики высвобождения показало, что конъюгат ЧСА-ГПЦД обеспечивает наиболее выраженное замедление высвобождения препарата по сравнению со свободным ЛВ. Исследования *in vivo* продемонстрировали существенное изменение тканевого распределения препарата. Использование конъюгатов увеличивало содержание ЛВ в легочной ткани с 5.4 до 8.7–9.7 мкг/г, что соответствует 1.6–1.8-кратному увеличению по сравнению со свободным препаратом. Одновременно концентрация антибиотика в печени снижалась с 11.2 до 6.5–8.9 мкг/г, а в почках – с 13.4 до 6.3–6.4 мкг/г, то есть в два раза. Кроме того, конъюгаты обеспечивали длительное поддержание высокой концентрации ЛВ в крови на протяжении всего периода наблюдения (480 мин). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности данного подхода как механизма контроля биораспределения ЛВ за счет изменения сайта связывания антибиотика с ЧСА.

Ключевые слова:

β -циклодекстрин, левофлоксацин, человеческий сывороточный альбумин, фармакокинетика, тканевое распределение, конъюгаты

Abstract

Polymeric and monomeric hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) conjugates with human serum albumin (HSA) have been synthesized as a model system to modulate the pharmacokinetics and biodistribution of levofloxacin (LV). The structures of the synthesized materials have been confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy. Drug release studies showed that HSA-HPCD conjugate provided the most pronounced drug release retardation in comparison to free LV. *In vivo* have shown significant changes in the tissue distribution of the drug. Conjugated drugs increased LV accumulation in lung tissue from 5.4 to 8.7–9.7 $\mu\text{g/g}$, which is 1.6 to 1.8 times higher than the free drug. At the same time, antibiotic concentrations in liver decreased from 11.2 to 6.5–8.9 $\mu\text{g/g}$, and in kidney concentrations decreased from 13.4 to 6.3–6.4 $\mu\text{g/g}$, which is approximately a doubling reduction. In addition, conjugates maintained high blood LV concentrations throughout the entire observation period (480 min). These findings demonstrate the potential of this approach as a strategy to control the biodistribution of LV by modulation of the HSA antibiotic binding site.

Keywords:

β -cyclodextrin, levofloxacin, human serum albumin, pharmacokinetics, tissue distribution, conjugates

Поступила в редакцию: 20.08.2026

Принято в печать: 09.09.2026

Received: 20.08.2026

Accepted: 09.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-29> EDN: <https://www.elibrary.ru/muclwf>

ВВЕДЕНИЕ

Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из остатков D-глюкопиранозы, соединенных α -(1 $\rightarrow$ 4)-гликозидными связями. Их уникальная тороидальная структура характеризуется гидрофобной внутренней полостью и гидрофильной внешней поверхностью, что обеспечивает способность образовывать супрамолекулярные комплексы с широким кругом соединений. Взаимодействие циклодекстринов с молекулами реализуется посредством различных механизмов, включая образование комплексов включения по типу «хозяин–гость», внешнюю ассоциацию, кооперативное связывание и многоточечные нековалентные взаимодействия. Благодаря этим особенностям циклодекстрины нашли широкое применение в аналитической химии, хроматографическом разделении, пищевой промышленности, косметологии, экологических технологиях, катализе, создании функциональных материалов и биомедицине. Интересным направлением развития является использование циклодекстринов в качестве строительных блоков для создания супрамолекулярных и полимерных систем, обладающих регулируемыми сорбционными, транспортными и биологическими свойствами [Biber *et al.* 2002; Del Valle 2004; Dhiman, Bhatia 2020].

Благодаря способности образовывать комплексы включения с лекарственными веществами, циклодекстрины могут существенно повышать растворимость соединений, защищать действующее вещество от гидролиза и изменять профиль высвобождения препаратов. Помимо этого, производные циклодекстринов способны взаимодействовать с поверхностью бактериальных клеток, повышая локальную концентрацию антибиотика в непосредственной близости от микроорганизмов и тем самым способствуя усилению антибактериального эффекта. Благодаря высокой биосовместимости, низкой токсичности и возможности химической модификации циклодекстрины рассматриваются как одна из наиболее перспективных платформ для создания систем доставки лекарственных средств. Современным подходом использования циклодекстринов в качестве систем доставки стало создание полимерных материалов на их основе. Формирование объемной пространственной полимерной структуры позволяет многократно увеличить емкость связывания лекарственных соединений, повысить устойчивость комплексов и реализовать эффект контролируемого и пролонгированного высвобождения, что существенно расширяет область их практического применения в качестве носителей лекарственных препаратов [Suárez *et al.* 2014; Nafee *et al.* 2015; Liu *et al.* 2021; Skuredina *et al.* 2023; Yakupova *et al.* 2023a].

Циклодекстрины применяют для доставки широкого спектра биологически активных соединений, включая противоопухолевые препараты, противовирусные средства, антиоксиданты и антибактериальные вещества. Среди последних особый интерес представляет левофлоксацин (ЛВ) – антибактериальный препарат широкого спектра действия из группы фторхинолонов III поколения, обладающий высокой активностью в отношении грамположительных, грамотрицательных и атипичных микроорганизмов, а также *Mycobacterium tuberculosis*. Благодаря высокой биодоступности, благоприятным фармакокинетическим характеристикам и способности проникать в различные органы и ткани, ЛВ широко применяется при лечении инфекций дыхательных путей, мочевыводящей системы, кожи и мягких тканей, а также входит в состав современных схем терапии лекарственно-устойчивого туберкулеза. Однако выраженное системное биораспределение препарата сопровождается его накоплением не только в очаге инфекции, но и в интактных тканях организма, что повышает общую фармакологическую нагрузку и увеличивает риск развития дозозависимых нежелательных реакций, включая кардиотоксичность, нейротоксичность и др. Особенно актуальна данная проблема при лечении туберкулеза, для которого применяются повышенные дозы ЛВ (750–1500 мг/сут). Несмотря на эффективное проникновение препарата в легочную ткань, после перорального введения дозы 500 мг лишь около 12.8% препарата распределяется в легочный компартмент, тогда как основная его часть поступает в системный кровоток и распределяется между другими органами и тканями организма, что обуславливает необходимость разработки систем адресной доставки антибиотика [Fish, Chow 1997; van't Bovenind-Vrubleuskaya *et al.* 2017; Cao *et al.* 2020]. Циклодекстрины и полимеры на их основе преимущественно способствуют повышению растворимости фторхинолонов и пролонгированию высвобождения, а также перспективны для разработки платформ для направленного изменения тканевого биораспределения препарата.

Важнейшим фактором, определяющим фармакокинетику и тканевое распределение лекарственных препаратов, является их взаимодействие с белками плазмы крови, среди которых

основную транспортную функцию выполняет человеческий сывороточный альбумин (ЧСА). Являясь наиболее распространенным белком плазмы, ЧСА обратимо связывает широкий спектр эндогенных и экзогенных низкомолекулярных соединений, включая жирные кислоты, гормоны, металлы и лекарственные вещества, тем самым оказывая существенное влияние на период циркуляции, биодоступность и распределение между органами и тканями [Sutkowska 2002; Fanali *et al.* 2012; Ashraf *et al.* 2023]. Благодаря высокой биосовместимости, отсутствию иммуногенности, длительному времени циркуляции в кровотоке и выраженной способности к связыванию различных лекарственных молекул ЧСА активно рассматривается в качестве естественного носителя для систем доставки лекарственных средств. Наиболее известным примером клинического применения является альбумин-связанная форма паклитаксела (AbraXane), позволившая отказаться от токсичных солюбилизаторов и существенно улучшить фармакокинетические характеристики и профиль безопасности препарата [Spada *et al.* 2021].

Фторхинолоны способны связываться с основными лекарственно-связывающими участками ЧСА. В частности, для ЛВ методом вытеснения сайт-специфичных маркеров показано взаимодействие с сайтом I в субдомене IIA и сайтом II в субдомене IIIA [Seedher, Agarwal 2010]. В то же время циклодекстрины способны самостоятельно взаимодействовать с ЧСА в отсутствие лекарственных лигандов. Для β -ЦД методом спектроскопии и молекулярного моделирования показана преимущественная локализация взаимодействия в области субдомены IIB ЧСА, тогда как для различных производных β -ЦД положение участка взаимодействия может изменяться в зависимости от размера и характера замещения циклодекстрина. При этом ЦД взаимодействуют преимущественно с аминокислотными остатками на поверхности альбумина, не погружаясь в белковую глобулу [Oi *et al.* 2011; Ghosh *et al.* 2014]. В связи с этим ковалентная конъюгация производных ЦД с ЧСА на поверхности ЧСА создает систему, в которой циклодекстриновый компонент фиксирован вне основных лекарственных сайтов альбумина и способен дополнительно связывать ЛВ. Полимерный ЦД, содержащий большое число ЦД фрагментов, способен дополнительно экранировать лекарственно-связывающие участки ЧСА, препятствуя взаимодействию ЛВ с ними и тем самым изменяя механизм связывания ЛВ с ЧСА, что влечет за собой изменение тканевого биораспределения антибиотика.

Существенное значение при формировании таких систем имеет различие в сродстве мономерного и полимерного ЦД к ЛВ. Ранее нами было показано, что константа связывания ЛВ с гидроксипропил- β -циклодекстрином (ГПЦД) составляет $(1.0 \pm 0.3) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, тогда как для полимерного ГПЦД, «сшитого» янтарным ангидридом (ГПЦД-ЯА_{полимер}), она достигает $(3.9 \pm 0.2) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ при 37 °C, то есть увеличивается более чем на три порядка [Skuredina *et al.* 2023]. Более высокое сродство полимерного носителя обусловлено множественными взаимодействиями с функциональными группами полимерной матрицы. Следовательно, при ковалентной иммобилизации ГПЦД или ГПЦД-ЯА_{полимер} на поверхности ЧСА формируются системы с принципиально различной способностью удерживать ЛВ. В частности, полимерный компонент может обеспечивать более прочное связывание антибиотика и изменять его взаимодействие с поверхностью альбумина, что потенциально отражается на скорости высвобождения, продолжительности циркуляции и тканевом распределении препарата. Поэтому сравнительное исследование конъюгатов ЧСА-ГПЦД и ЧСА-ГПЦД-ЯА_{полимер} позволяет оценить вклад силы и мультивалентности циклодекстринового связывания в формирование фармакокинетического и биораспределительного профиля ЛВ.

Целью настоящей работы являлось исследование влияния полимера на основе ГПЦД в составе конъюгатов с ЧСА на фармакокинетические характеристики и особенности тканевого распределения ЛВ в условиях *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Левофлоксацин (ЛВ), гидроксипропил- β -циклодекстрин (ГПЦД) со степенью замещения гидроксипропильными группами 1.0–1.3 на одно D-глюкопиранозное звено, человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), янтарный ангидрид и карбонилдиимидазол (CDI), были приобретены у компании Sigma-Aldrich (Сент-Луис, США) и применялись без дополнительной очистки.

Методы

Синтез полимерного производного ГПЦД. Полимер на основе ГПЦД, сшитого янтарным ангидридом, получали по ранее опубликованной методике [Yakupova et al. 2023b] с незначительными модификациями. Раствор ГПЦД с концентрацией 60 мг/мл в присутствии NaH_2PO_4 нагревали до 100°C , после чего при интенсивном перемешивании постепенно вводили водный раствор янтарного ангидрида концентрацией 3 М. Реакционную смесь выдерживали при той же температуре в течение 1.5 ч, поддерживая мольное соотношение ГПЦД : янтарный ангидрид равное 1 : 15. После завершения реакции полученный полимер очищали методом равновесного диализа с использованием мембраны с молекулярно-массовым пределом отсечения 12 кДа (Serva, Германия) для удаления низкомолекулярных примесей и непрореагировавших реагентов. Затем очищенный образец высушивали при 37°C в течение 24 ч. Концентрацию циклодекстриновых фрагментов в составе синтезированного полимера определяли методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье по интенсивности полосы 1032 см^{-1} , соответствующей валентным колебаниям мостиковых связей $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ глюкопиранозного кольца циклодекстрина. Количественную оценку проводили с использованием предварительно построенной калибровочной зависимости.

Синтез конъюгатов ЧСА с ГПЦД и его полимерным производным. На первом этапе синтеза проводили активацию гидроксильных групп ГПЦД или полимерного производного с использованием карбонилдиимидазола (CDI). Для этого к 4.98 мл фосфатно-солевого буфера (PBS) последовательно добавляли 120 мкл раствора лиганда (ГПЦД с концентрацией 100 мМ или полимера с концентрацией 65 мМ) и 900 мкл раствора CDI (40 мМ). Реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре при постоянном перемешивании в течение 2 ч. После завершения стадии активации в раствор вносили 2 мл раствора ЧСА концентрацией 0.4 мМ и продолжали реакцию при комнатной температуре еще 12 ч. Полученные конъюгаты очищали от непрореагировавших реагентов методом равновесного диализа с использованием мембраны с молекулярно-массовым пределом отсечения 3.5 кДа (Serva, Германия), после чего высушивали.

Получение нековалентных комплексов ЛВ с конъюгатами ЧСА. Комплексы ЛВ с конъюгатами ЧСА–ГПЦД и ЧСА–Полимер получали путем нековалентного комплексообразования. Для этого растворы ЛВ и соответствующего конъюгата смешивали в фосфатно-солевом буфере при мольном соотношении 1:1 относительно количества молекул ЛВ и циклодекстриновых фрагментов. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 40 мин. Полученные системы использовали для последующих исследований кинетики высвобождения, фармакокинетических характеристик и тканевого распределения.

ИК-спектроскопия Фурье. ИК-спектры исследуемых образцов регистрировали с использованием ИК-микроскопа MICRAN-3 (Новосибирск, Россия), атомно-силового микроскопа NTEGRA (NT-MDT, Москва, Россия) и спектрометра Bruker Tensor 27 (Ettlingen, Германия), оснащенного приставкой нарушенного полного внутреннего отражения с однократным кристаллом ZnSe. Спектры записывали в диапазоне волновых чисел $900\text{--}2500\text{ см}^{-1}$ с разрешением 1 см^{-1} . Для каждого образца регистрировали три независимых спектра, каждый из которых представлял собой результат усреднения 70 последовательных сканов. Обработку и анализ полученных спектральных данных выполняли с использованием программного обеспечения OPUS 7.0.

Исследование кинетики высвобождения ЛВ. Кинетику высвобождения ЛВ из исследуемых систем доставки изучали методом равновесного диализа. Для этого 2 мл исследуемого раствора помещали в диализный мешок с молекулярно-массовым пределом отсечения 3.5 кДа (Orange Scientific, Braine-l'Alleud, Бельгия), после чего систему переносили в раствор фосфатного буфера. Диализ проводили при температуре 37°C при постоянном перемешивании со скоростью 150 об/мин. В процессе эксперимента через заданные интервалы времени регистрировали спектры поглощения внешнего раствора и по изменению концентрации ЛВ оценивали степень его высвобождения. За 100% высвобождения принимали состояние равновесия, при котором концентрация ЛВ внутри диализного мешка становилась равной концентрации во внешнем растворе, что соответствовало 50% исходной концентрации препарата в исследуемой системе.

Количественное определение концентрации ЛВ осуществляли методом УФ-спектрофотометрии на спектрофотометре Ultrospec 2100 Pro (Amersham Biosciences, США), при необходимости использовали в качестве дополнительного контроля КД-спектроскопию с использованием J-815 компании «Jasco» (Токио, Япония). Спектры поглощения регистрировали

в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см (Hellma Analytics, Германия) в диапазоне длин волн 200–450 нм. Расчет концентрации ЛВ проводили по предварительно построенной калибровочной зависимости оптической плотности раствора от концентрации вещества при длине волны 287 нм:

$$A_{287} = 14.145 \times C + 0.0005,$$

где A_{287} – оптическая плотность раствора при 287 нм, C – концентрация ЛВ, выраженная в мМ. Полученное уравнение использовали для определения концентрации ЛВ на различных этапах эксперимента и построения кинетических кривых высвобождения.

Определение фармакокинетических характеристик и тканевого распределения ЛВ. Фармакокинетические исследования проводили на крысах линии Wistar массой (400 ± 20) г. Исследуемые препараты вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 5 мг/кг в пересчете на ЛВ. Образцы крови отбирали через заданные промежутки времени после введения препарата. Для исследования тканевого распределения животных подвергали эвтаназии, после чего извлекали печень, почки и легкие.

Для определения содержания левофлоксацина в крови к 50 мкл образца добавляли 450 мкл охлажденного метанола, перемешивали и центрифугировали в течение 10 мин при 10000 об/мин и 4°C для осаждения белков. Для подготовки тканевых образцов навеску ткани массой 100 ± 5 мг гомогенизировали в 300 мкл воды с использованием ультразвукового гомогенизатора, после чего к 50 мкл гомогената добавляли 450 мкл охлажденного метанола. После центрифугирования в аналогичных условиях содержание ЛВ в супернатанте определяли методом флуоресцентной спектроскопии ($\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм, $\lambda_{\text{эм}} = 456$ нм) на планшетном спектрофлуориметре SpectraMax M5 (Molecular Devices, США).

Фармакокинетические параметры, включая максимальную концентрацию препарата в плазме (C_{max}), площадь под кривой «концентрация–время» ($\text{AUC} (0-480 \text{ мин})$), среднее время удерживания препарата в организме ($\text{MRT} (0-480 \text{ мин})$) и период полувыведения ($t_{1/2}$), рассчитывали по экспериментальным кривым изменения концентрации ЛВ во времени с использованием некомпартментного анализа. AUC определяли методом линейных трапеций.

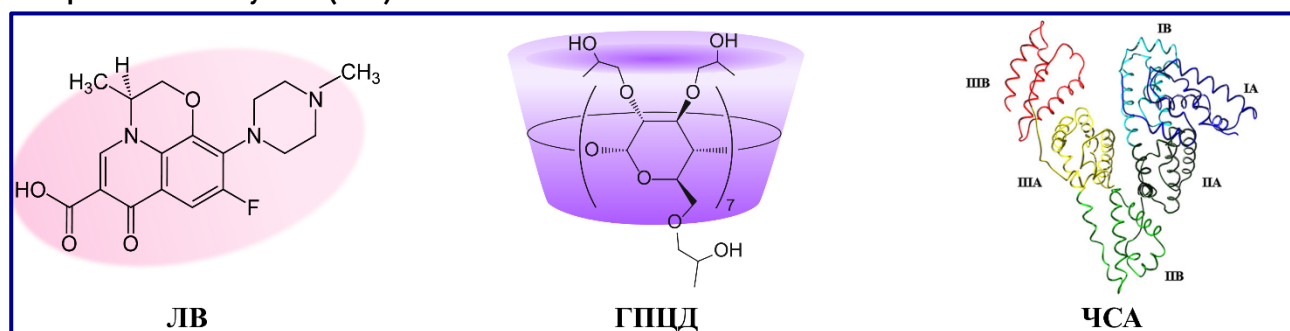
РЕЗУЛЬТАТЫ

Синтез конъюгатов

Ранее нашей научной группой был разработан подход к созданию конъюгатов ЧСА с мономерным ГПЦД и его полимерной формой, подробно исследованы их физико-химические свойства, особенности взаимодействия с ЛВ, а также антибактериальная активность *in vitro* в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [Kopnova et al. 2024]. В настоящей работе основное внимание уделено сравнению конъюгатов ЧСА с мономерным ГПЦД и полимером на основе ГПЦД с точки зрения их влияния на фармакокинетику и тканевое распределение ЛВ *in vivo*. Для этого были использованы конъюгаты ЧСА с ковалентно связанным ГПЦД и полимером на основе ГПЦД, сшитым янтарным ангидридом (ГПЦД–ЯА_{полимер}). Данные конъюгаты после синтеза и очистки формировали нековалентные комплексы с ЛВ. Структуры исходных веществ представлены на рисунке (рис. 1).

Рисунок 1. Структурные формулы левофлоксацина (ЛВ) и гидроксипропил- β -циклодекстрина (ГПЦД), а также доменная организация человеческого сывороточного альбумина (ЧСА).

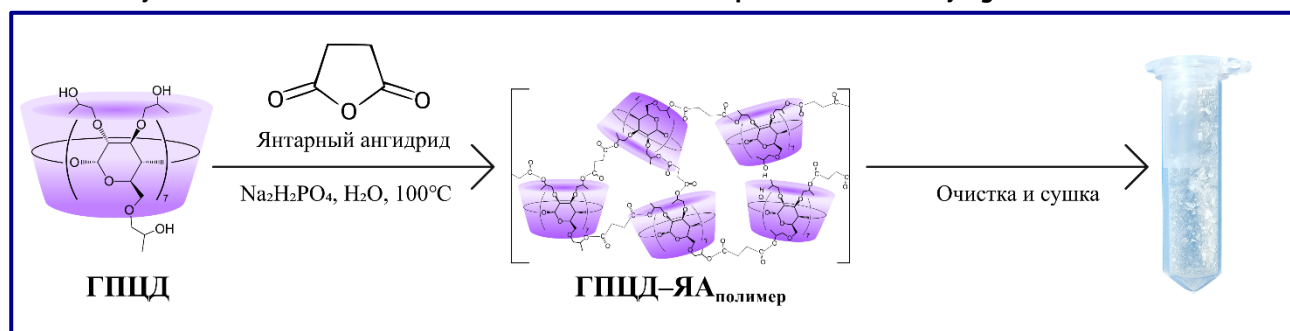
Figure 1. Structural formulas of levofloxacin (LV) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD), as well as the domain organization of human serum albumin (HSA).



Синтез полимерного производного ГПЦД осуществляли по схеме, представленной на рис. 2. В качестве бифункционального сшивающего агента использовали янтарный ангидрид, который благодаря наличию двух реакционноспособных карбоксильных центров обеспечивает образование пространственной полимерной сети за счет взаимодействия с многочисленными гидроксильными группами ГПЦД. В ходе реакции между гидроксильными группами циклодекстрина и янтарным ангидридом формируются ковалентные сложноэфирные связи, обеспечивающие химическую стабильность образующегося полимера. Полученный ГПЦД–ЯА_{полимер} хорошо растворим в воде, а после очистки и сушки представляет собой стеклообразный порошок, удобный для дальнейшего использования в качестве компонента для синтеза конъюгатов с ЧСА.

Рисунок 2. Схема синтеза полимера на основе ГПЦД, сшитого янтарным ангидридом (ГПЦД–ЯА_{полимер}), и фотография высушенного полимера после стадий очистки и сушки.

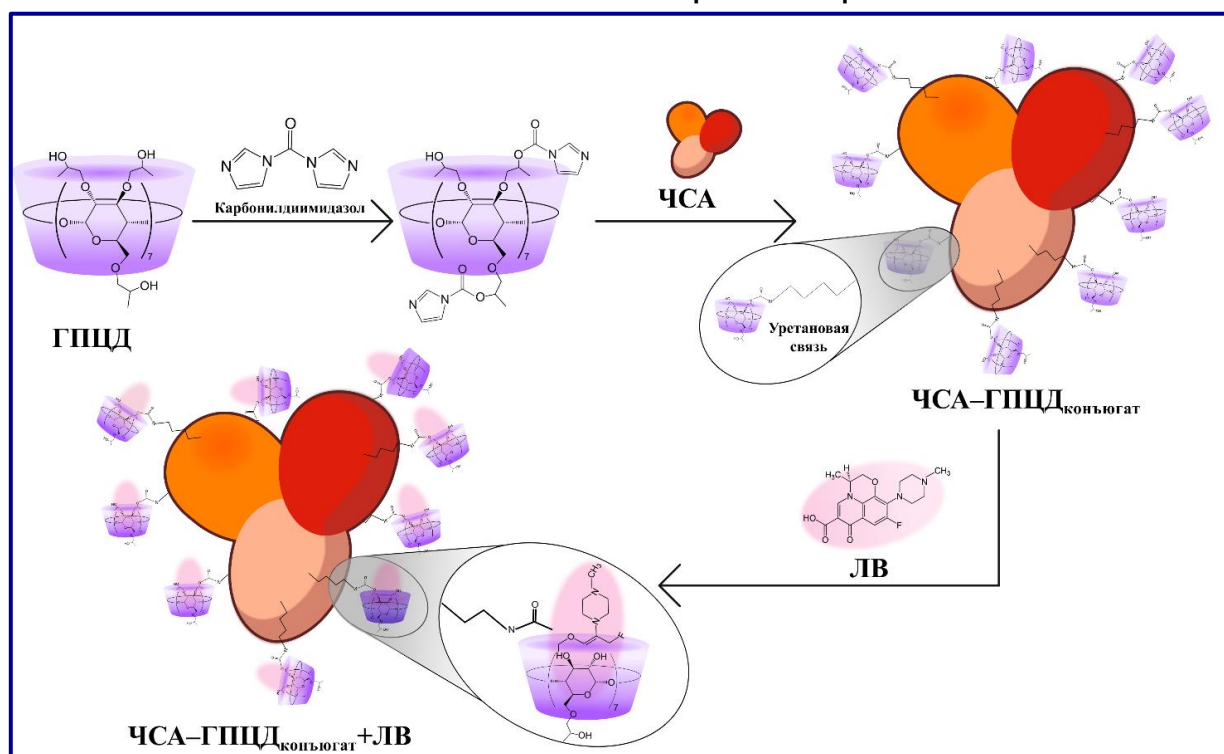
Figure 2. Schematic representation of the synthesis of a succinic anhydride-crosslinked HPCD-based polymer (HPCD–SA_{polymer}) and photograph of the dried polymer after purification and drying.



Синтез конъюгатов осуществляли в несколько последовательных стадий (рис. 3). На первом этапе гидроксильные группы ГПЦД или ГПЦД–ЯА_{полимер} активировали с использованием 1,1-карбонилдиимидазола, что обеспечивало образование реакционноспособных имидазольных производных. На второй стадии активированный ГПЦД или ГПЦД–ЯА_{полимер} ковалентно присоединяли к молекуле ЧСА по аминогруппам остатков лизина с образованием стабильных уретановых связей. После удаления непрореагировавших низкомолекулярных компонентов

Рисунок 3. Схема синтеза конъюгатов ЧСА с ГПЦД и последующая стадия комплексообразования с ЛВ.

Figure 3. Schematic representation of the synthesis of HSA–HPCD conjugates and the subsequent complexation step with LV.



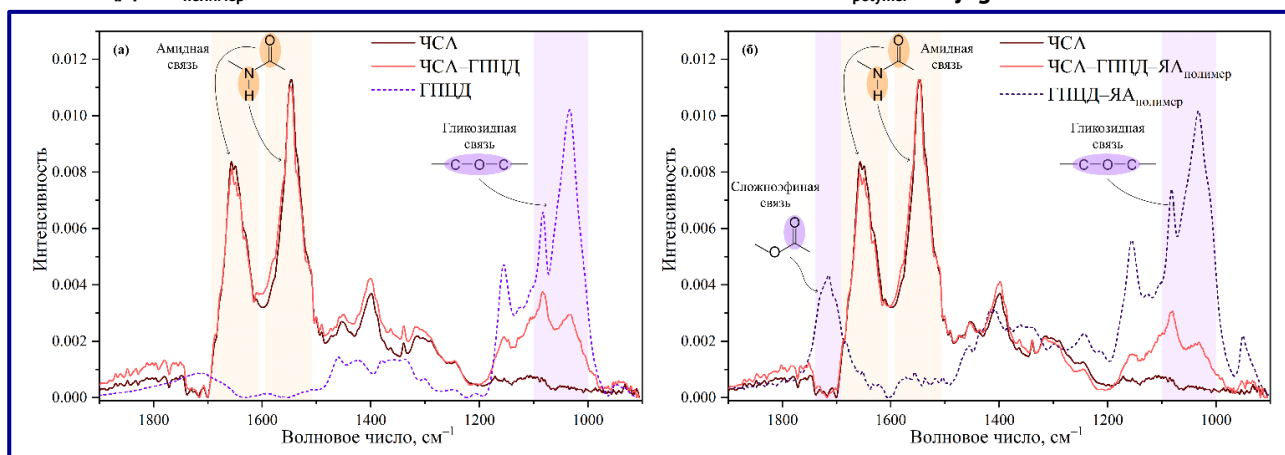
методом диализа полученные конъюгаты инкубировали с ЛВ. При этом связывание антибиотика происходило за счет нековалентных взаимодействий как с гидрофобной полостью ГПЦД с образованием комплекса включения, так и с собственными лекарственно-связывающими сайтами человеческого сывороточного альбумина, что способствовало увеличению общей сорбционной емкости системы по отношению к препарату.

Исследование структуры конъюгатов методом ИК-спектроскопии Фурье

Структура полученных конъюгатов была подтверждена методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье (рис. 4). В спектре конъюгата ЧСА–ГПЦД наблюдаются полосы поглощения, характерные как для альбумина, так и для ГПЦД. Так, интенсивные полосы в области $1000\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям гликозидных связей С–О–С циклодекстрина, тогда как полосы Амид I ($\sim 1650\text{ см}^{-1}$), обусловленная преимущественно валентными колебаниями карбонильной группы $\nu(\text{C}=\text{O})$, и Амид II ($\sim 1550\text{ см}^{-1}$), связанная главным образом с деформационными колебаниями $\delta(\text{N-H})$, характеризуют белковую матрицу ЧСА. При образовании конъюгата между молекулами ГПЦД и ЧСА формируются уретановые связи, однако их характеристические полосы перекрываются высокоинтенсивными полосами белка, что не позволяет провести их однозначную идентификацию. Вместе с тем присутствие в спектре конъюгата полос, характерных для ГПЦД, после проведения очистки методом равновесного диализа, полностью удаляющего несвязанный циклодекстрин, свидетельствует о ковалентной иммобилизации ГПЦД на молекуле альбумина.

Рисунок 4. ИК-спектры (а) ЧСА, ГПЦД и конъюгата ЧСА–ГПЦД; (б) ЧСА, ГПЦД–ЯА_{полимер} и конъюгата ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер}.

Figure 4. FTIR spectra of (a) HSA, HPCD, and the HSA–HPCD conjugate; (b) HSA, the HPCD–SA_{polymer}, and the HSA–HPCD–SA_{polymer} conjugate.



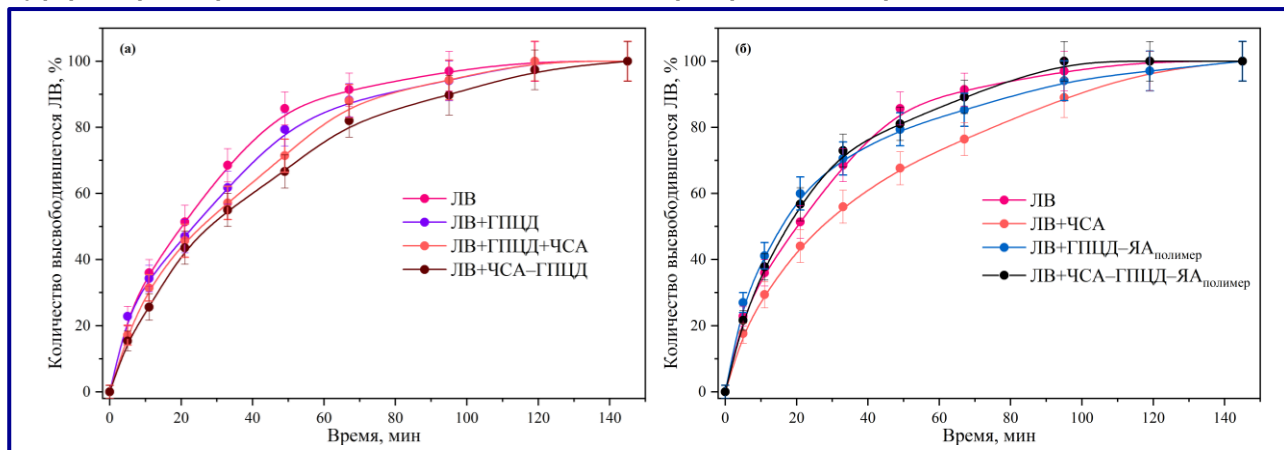
В ИК-спектре ГПЦД–ЯА_{полимер} наблюдается интенсивная полоса при 1720 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям карбонильной группы ($\nu(\text{C}=\text{O})$) сложноэфирных фрагментов, образующихся при взаимодействии гидроксильных групп циклодекстрина с янтарным ангидридом. Появление данной полосы свидетельствует об успешном протекании реакции сшивания и образовании полимерной структуры. Для конъюгата ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер}, аналогично конъюгату ЧСА–ГПЦД, характерны полосы белка Амид I и Амид II. Совокупность полученных данных подтверждает успешное получение обоих конъюгатов и сохранение их структурной целостности после очистки.

Исследование кинетики высвобождения левофлоксацина

Одной из важнейших характеристик любой системы доставки лекарственных препаратов является кинетика высвобождения действующего вещества, определяющая продолжительность поддержания терапевтической концентрации препарата и возможность его контролируемого высвобождения. В связи с этим на следующем этапе была исследована кинетика высвобождения ЛВ из конъюгатов методом равновесного диализа (рис. 5).

Рисунок 5. Кинетические кривые высвобождения (а) свободного ЛВ, ЛВ из нековалентного комплекса с ГПЦД (ЛВ+ГПЦД), ЛВ из трехкомпонентного комплекса (ЛВ+ГПЦД+ЧСА) и из нековалентного комплекса ЛВ с конъюгатом (ЛВ+ЧСА–ГПЦД); (б) свободного ЛВ, ЛВ из нековалентного комплекса с ЧСА (ЛВ+ЧСА), из нековалентного комплекса с ЛВ+ГПЦД–ЯА_{полимер} (ЛВ+ГПЦД–ЯА_{полимер}) и ЛВ из нековалентного комплекса с конъюгатом (ЛВ+ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер}), рН = 7.4 натрий-фосфатный буферный раствор.

Figure 5. Kinetic release profiles of (a) free LV, LV from the noncovalent LV–HPCD complex (LV+HPCD), LV from the ternary complex (LV+HPCD+HSA), and LV from the noncovalent complex with the HSA–HPCD conjugate (LV+HSA–HPCD); (6) free LV, LV from the noncovalent LV–HSA complex (LV+HSA), LV from the noncovalent complex with the LV-loaded HPCD–SA_{polymer} (LV+HPCD–SA_{polymer}), and LV from the noncovalent complex with the HSA–HPCD–SA_{polymer} conjugate (LV+HSA–HPCD–SA_{polymer}), in sodium phosphate buffer, pH 7.4.



Показано, что свободный ЛВ характеризуется наиболее быстрым высвобождением: уже через 50 мин высвобождалось около 85% препарата, а практически полное высвобождение наблюдалось через 120 мин. Комплексообразование с ГПЦД приводило к умеренному замедлению данного процесса: через 50 мин высвобождалось менее 80% ЛВ. Еще более выраженный пролонгирующий эффект наблюдался для системы ЛВ+ГПЦД+ЧСА, в которой за тот же промежуток времени высвобождалось лишь около 70% препарата. Вероятно, это обусловлено совместным вкладом двух механизмов удерживания антибиотика: образованием комплекса включения с ГПЦД и дополнительным связыванием ЛВ с лекарственно-связывающими сайтами молекулы альбумина. Комплексообразование ЛВ с конъюгатом ЧСА–ГПЦД приводит к замедлению кинетики высвобождения препарата по сравнению с трехкомпонентным комплексом ЛВ+ГПЦД+ЧСА. Большее удерживание обеспечивается совместным влиянием матрицы ЧСА и ГПЦД в составе конъюгата ЧСА–ГПЦД (рис. 5а). Взаимодействие ЛВ с ГПЦД–ЯА_{полимер} или конъюгатом ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} не приводит к значимому замедлению. При сравнении с системой ЛВ–ЧСА наблюдалось, что наиболее медленное высвобождение ЛВ происходило непосредственно из комплекса с ЧСА, тогда как присутствие полимерного ЦД не усиливало удерживание препарата. Это может указывать на то, что полимерный ЦД экранирует лекарственно-связывающие участки ЧСА, препятствуя непосредственному взаимодействию ЛВ с альбумином и изменяя характер его связывания с белком (рис. 5б).

Исследование фармакокинетики и биораспределения конъюгатов

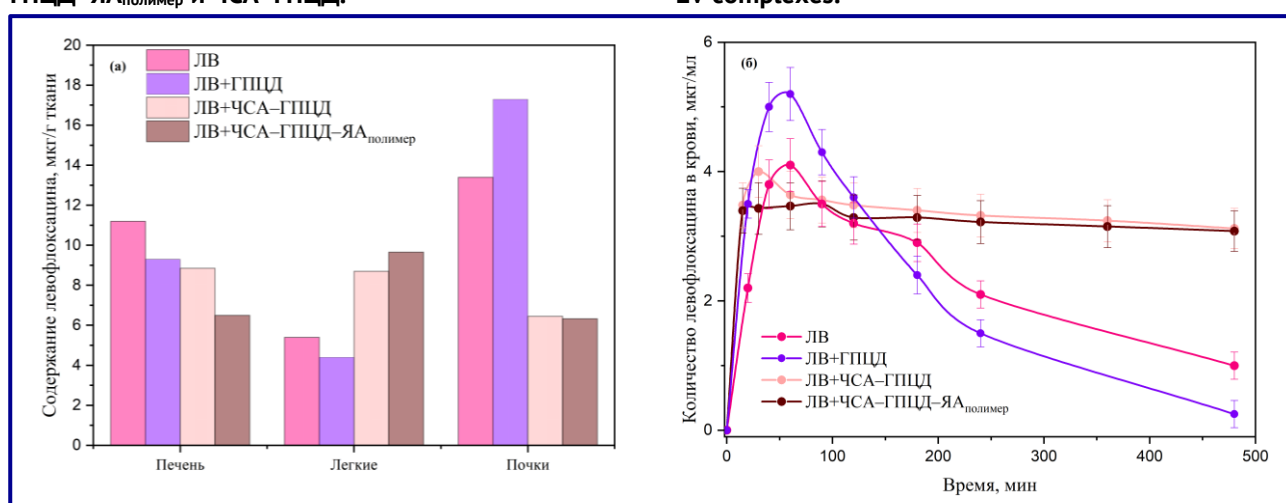
Одной из ключевых задач современных систем доставки лекарственных препаратов является изменение тканевого биораспределения действующего вещества с целью повышения его накопления в целевом органе и одновременного снижения фармакологической нагрузки на здоровые ткани. Для ЛВ данная задача особенно актуальна, поскольку препарат широко применяется при лечении инфекций дыхательных путей, включая туберкулез, тогда как после системного введения он интенсивно распределяется во многие органы, прежде всего в почки и печень, что ограничивает возможность повышения терапевтических доз. В связи с этим в последние годы активно разрабатываются различные подходы к направленной доставке фторхинолонов в легочную ткань, основанные на использовании белковых, липосомальных и полимерных транспортных платформ [Elsadek, Kratz 2012; Al Hagbani *et al.* 2022].

Исследование тканевого распределения подтвердило, что разработанные системы доставки позволяют существенно изменить профиль накопления антибиотика в органах (рис. 6а).

Для свободного ЛВ и комплекса ЛВ+ГПЦД наиболее высокие концентрации наблюдались в почках (13.4 и 17.3 мкг/г ткани соответственно) и печени (11.2 и 9.3 мкг/г ткани соответственно), тогда как содержание препарата в легких составляло лишь 5.4 и 4.4 мкг/г ткани, соответственно. Использование конъюгатов ЧСА с ГПЦД и ГПЦД–ЯА_{полимер} приводило к принципиально иному распределению: концентрация ЛВ в легочной ткани возрастала до 9.7 мкг/г для системы ЛВ+ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} и до 8.7 мкг/г для системы ЛВ+ЧСА–ГПЦД, что соответствует увеличению приблизительно в 1.8 раза соответственно по сравнению со свободным препаратом. Одновременно содержание антибиотика в печени снижалось до 6.5 и 8.9 мкг/г, а в почках – до 6.3 и 6.4 мкг/г для систем ЛВ+ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} и ЛВ+ЧСА–ГПЦД соответственно, то есть практически в 2 раза по сравнению со свободным ЛВ.

Рисунок 6. (а) Распределение ЛВ по органам при введении свободного ЛВ и комплексов ЛВ с ГПЦД и с конъюгатами ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} и ЧСА–ГПЦД; (б) Фармакокинетика ЛВ при введении свободного ЛВ и комплексов ЛВ с ГПЦД и с конъюгатами ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} и ЧСА–ГПЦД.

Figure 6. (a) Organ distribution of LV following administration of free LV and LV complexes with HPCD, the HSA–HPCD–SA_{polymer}, and the HSA–HPCD conjugate; (b) pharmacokinetics of LV following administration of free LV and the corresponding LV complexes.



Результаты исследования фармакокинетики показали, что свободный ЛВ быстро удаляется из системного кровотока: уже через 480 мин его концентрация снижалась приблизительно до 1.0 мкг/мл, что соответствует около 25% от максимального значения (рис. 6б). Комплексообразование с ГПЦД не приводило к увеличению времени циркуляции препарата. Напротив, после достижения максимальной концентрации содержание ЛВ в крови уменьшалось быстрее в сравнении со свободным антибиотиком, и к концу эксперимента составляло лишь 0.25 мкг/мл. Вероятно, это связано с ускоренным распределением комплекса в ткани и отсутствием дополнительных механизмов удерживания препарата в кровотоке. В отличие от этого, обе содержащие ЧСА системы обеспечивали длительное сохранение ЛВ в кровотоке. Для комплексов ЛВ с конъюгатами ЧСА–ГПЦД и ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} концентрация антибиотика после достижения максимума практически не изменялась на протяжении всего периода наблюдения и через 480 мин сохранялась на уровне около 3.1 мкг/мл. Полученные результаты свидетельствуют, что ковалентная иммобилизация производных β -ЦД на молекуле ЧСА существенно увеличивает продолжительность циркуляции ЛВ в кровотоке. При этом природа циклодекстринового фрагмента (мономерный ГПЦД или его полимерное производное) оказывает незначительное влияние на фармакокинетический профиль препарата, что указывает на способность обоих вариантов конъюгатов эффективно экранировать лекарственно-связывающие участки ЧСА, препятствуя непосредственному взаимодействию ЛВ с альбумином и обеспечивая его длительное удержание в системном кровотоке.

Рассчитанные фармакокинетические параметры (табл. 1) подтверждают существенное влияние конъюгатов с ЧСА на поведение ЛВ в организме. Несмотря на несколько более низкие значения C_{max} для конъюгатов по сравнению со свободным ЛВ и комплексом ЛВ+ГПЦД они характеризовались наиболее высокой системной экспозицией: величина AUC (0–480 мин)

увеличивалась до 1540–1590 мкг×мин/мл, что приблизительно в 1.5 раза превышало значение для свободного препарата. Одновременно наблюдалось увеличение среднего времени удерживания (MRT) с 190 до 280 мин, свидетельствующее о более продолжительной циркуляции антибиотика в кровотоке. Напротив, комплексообразование ЛВ с ГПЦД без участия альбумина не только не увеличивало системную экспозицию, но и сопровождалось уменьшением AUC, MRT и периода полувыведения по сравнению со свободным ЛВ.

Таблица 1. Фармакокинетические параметры ЛВ на крысах породы Wistar **Table 1. Pharmacokinetic parameters of LV in Wistar rats**

Форма ЛВ	$C_{\max}$, мкг/мл	AUC (0–480 мин), мкг×мин/мл	MRT (0–480 мин), мин	$t_{1/2}$ период полувыведения, мин
ЛВ	4.1 ± 0.4	1080 ± 80	190 ± 20	200 ± 10
ЛВ+ГПЦД	5.2 ± 0.4	990 ± 70	140 ± 15	90 ± 6
ЛВ+ЧСА–ГПЦД	4.0 ± 0.4	1590 ± 90	280 ± 30	–
ЛВ+ЧСА–ГПЦД–ЯА _{полимер}	3.5 ± 0.3	1540 ± 90	270 ± 30	–

Соответственно, ковалентная иммобилизация ГПЦД на молекуле ЧСА позволяет не только увеличить продолжительность циркуляции препарата в кровотоке, но и существенно изменить его биораспределение в пользу легочной ткани при одновременном снижении накопления в органах, наиболее подверженных высокой лекарственной нагрузке.

Таким образом, полученные данные позволяют связать изменение тканевого распределения ЛВ с характером его взаимодействия с конъюгированным ЧСА. При связывании ЛВ непосредственно с лекарственно-связывающими участками альбумина (сайт I в субдомене IIA и сайт II в субдомене IIIA) препарат преимущественно распределяется в органы с высокой лекарственной нагрузкой (печень, почки), тогда как взаимодействие ЛВ с циклодекстриновым компонентом, конъюгированным на поверхности ЧСА, сопровождается перераспределением препарата в пользу легочной ткани, что вероятно связано с изменением механизма связывания ЛВ с белком и в частности, изменением участка связывания. Это принципиально важно для терапии инфекций органов дыхания, включая туберкулез и пневмонию, поскольку позволяет повысить концентрацию антибиотика в легких при одновременном снижении его накопления в печени и почках. Таким образом, ковалентная иммобилизация ГПЦД и ГПЦД–ЯА_{полимер} на ЧСА может рассматриваться как способ управления взаимодействием антибиотиков с альбумином и, вследствие этого, его фармакокинетикой и тканевым биораспределением.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе получены и охарактеризованы новые системы доставки ЛВ на основе конъюгатов ЧСА с ГПЦД и ГПЦД–ЯА_{полимер}. Методом ИК-Фурье-спектроскопии подтверждено образование ковалентных конъюгатов, а исследования кинетики высвобождения, фармакокинетики и тканевого распределения показали, что иммобилизация производных β -циклодекстрина на молекуле ЧСА существенно изменяет поведение препарата *in vivo*. Наиболее важным результатом является перераспределение ЛВ в пользу легочной ткани: содержание антибиотика в легких возрастало приблизительно в 1.8 раза, тогда как его накопление в печени и почках снижалось примерно в 2 раза. Одновременно разработанные конъюгаты обеспечивали увеличение системной экспозиции препарата (AUC) приблизительно в 1.5 раза и повышение среднего времени удерживания в кровотоке с 190 до 280 мин, что свидетельствует о выраженном пролонгировании циркуляции антибиотика. В литературе [Shah et al. 2020] аналогичные изменения фармакокинетики для ЛВ достигаются преимущественно при использовании ингаляционных PLGA-наночастиц, обеспечивающих увеличение AUC и MRT в 5.46 и 6.64 раза соответственно, однако такие системы требуют локального введения непосредственно в дыхательные пути. В отличие от них предложенные в настоящей работе альбумин-циклодекстриновые конъюгаты обеспечивают кардинальное изменение биораспределения после системного введения, одновременно увеличивая накопление препарата в легких и снижая лекарственную нагрузку на органы, наиболее подверженные развитию дозозависимых нежелательных эффектов. Это открывает перспективы

применения разработанных систем доставки для повышения эффективности терапии респираторных инфекций. Сходные полимерные системы, разработанные нашей научной группой для доставки моксифлоксацина, также обеспечивали выраженное пролонгирование фармакокинетики: AUC увеличивалась до 1100–6500, а MRT возрастало до 14–35 ч [Zlotnikov *et al.* 2023a]. Также в ранее разработанных полимерных мицеллах на основе хитозана и циклодекстрина AUC моксифлоксацина увеличивалась в 1.5–2 раза, а максимальная концентрация в крови – в 2 раза [Zlotnikov *et al.* 2023b]. В маннозилированных системах для направленной доставки к макрофагам период полувыведения антибиотика возрастал в 2–3 раза, при этом также отмечалось повышенное накопление препарата в легких [Zlotnikov *et al.* 2022]. Таким образом, преимущество разработанных ЧСА–ГПЦД и ЧСА–ГПЦД–ЯА_{полимер} систем заключается в том, что они сочетают пролонгированную циркуляцию ЛВ с направленным изменением его тканевого биораспределения в пользу легких после системного введения, одновременно снижая накопление препарата в печени и почках

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена с использованием оборудования по программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова (ИК-спектрометр Фурье Bruker Tensor 27, ИК-микроскоп MICRAN-3, атомно-силовой микроскоп NTEGRA и спектрометр кругового дихроизма Jasco J-815).

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Al Hagbani T., Vishwa B., Abu Lila A.S., Alotaibi H.F., Khafagy E.-S., Moin A., Gowda D. V. (2022) Pulmonary targeting of levofloxacin using microsphere-based dry powder inhalation. *Pharmaceuticals*. **15**(5): 560. <https://doi.org/10.3390/ph15050560> EDN: VUZOKI
- Ashraf S., Qaiser H., Tariq S., Khalid A., Makeen H.A., Alhazmi H.A., Ul-Haq Z. (2023) Unraveling the versatility of human serum albumin – A comprehensive review of its biological significance and therapeutic potential. *Current Research in Structural Biology*. **6**: 100114. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2023.100114> EDN: LBPIMP
- Biwer A., Antranikian G., Heinze E. (2002) Enzymatic production of cyclodextrins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **59**(6): 609–617. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1057-x> EDN: BDZOND
- Cao G., Zhu Y., Xie X., Chen Y., Yu J., Zhang J., Chen Z., Pang L., Zhang Y., Shi Y. (2020) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of levofloxacin in bronchial mucosa and lung tissue of patients undergoing pulmonary operation. *Experimental and Therapeutic Medicine*. **20**(1): 607–616. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8715> EDN: YJEHQE
- Del Valle E.M.M. (2004) Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. **39**(9): 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Dhiman P., Bhatia M. (2020) Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **98**(3–4): 171–186. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-01029-3> EDN: ALQDBK
- Elsadek B., Kratz F. (2012) Impact of albumin on drug delivery – New applications on the horizon. *Journal of Controlled Release*. **157**(1): 4–28. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.069>
- Fanali G., di Masi A., Trezza V., Marino M., Fasano M., Ascenzi P. (2012) Human serum albumin: From bench to bedside. *Molecular Aspects of Medicine*. **33**(3): 209–290. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.12.002> EDN: PHVLDH
- Fish D.N., Chow A.T. (1997) The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. *Clinical Pharmacokinetics*. **32**(2): 101–119. <https://doi.org/10.2165/00003088-199732020-00002> EDN: YRLIJD
- Ghosh S., Paul B.K., Chattopadhyay N. (2014) Interaction of cyclodextrins with human and bovine serum albumins: A combined spectroscopic and computational investigation. *Journal of Chemical Sciences*. **126**(4): 931–944. <https://doi.org/10.1007/s12039-014-0652-6> EDN: UPYEKB
- Kopnova T.Y., Yakupova L.R., Belogurova N.G., Kudryashova E.V. (2024) Human serum albumin grafted by monomeric and polymeric β -cyclodextrin as drug delivery system for levofloxacin with

- improved pharmacological properties. *Future Pharmacology*. **4**(1): 139–162. <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol4010010> EDN: [IYHBFF](#)
- Liu Z., Ye L., Xi J., Wang J., Feng Z. (2021) Cyclodextrin polymers: Structure, synthesis, and use as drug carriers. *Progress in Polymer Science*. **118**: 101408. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2021.101408> EDN: [TJCRUD](#)
- Nafee N., Hirose M., Loretz B., Wenz G., Lehr C.-M. (2015) Cyclodextrin-based star polymers as a versatile platform for nanochemotherapeutics: Enhanced entrapment and uptake of idarubicin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **129**: 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.03.014>
- Oi W., Isobe M., Hashidzume A., Harada A. (2011) Macromolecular recognition: Discrimination between human and bovine serum albumins by cyclodextrins. *Macromolecular Rapid Communications*. **32**(6): 501–505. <https://doi.org/10.1002/marc.201000699> EDN: [OCCEWZ](#)
- Seedher N., Agarwal P. (2010) Complexation of fluoroquinolone antibiotics with human serum albumin: A fluorescence quenching study. *Journal of Luminescence*. **130**(10): 1841–1848. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2010.04.020> EDN: [MYCAPL](#)
- Shah S.R., Prajapati H.R., Sheth D.B., Gondaliya E.M., Vyas A.J., Soniwal M.M., Chavda J.R. (2020) Pharmacokinetics and *in vivo* distribution of optimized PLGA nanoparticles for pulmonary delivery of levofloxacin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **72**(8): 1026–1037. <https://doi.org/10.1111/jphp.13275> EDN: [LEZTZB](#)
- Skuredina A.A., Yakupova L.R., Kopnova T.Yu., Le-Deygen I.M., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2023) Cyclodextrins and their polymers affect human serum albumin's interaction with drugs used in the treatment of pulmonary infections. *Pharmaceutics*. **15**(6): 1598. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061598> EDN: [WBINXO](#)
- Spada A., Emami J., Tuszyński J.A., Lavasanifar A. (2021) The uniqueness of albumin as a carrier in nanodrug delivery. *Molecular Pharmaceutics*. **18**(5): 1862–1894. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00046> EDN: [LWAKVA](#)
- Suárez D.F., Consuegra J., Trajano V.C., Gontijo S.M.L., Guimarães P.P.G., Cortés M.E., Denadai Â.L., Sinisterra R.D. (2014) Structural and thermodynamic characterization of doxycycline/ β -cyclodextrin supramolecular complex and its bacterial membrane interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **118**: 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.028>
- Sułkowska A. (2002) Interaction of drugs with bovine and human serum albumin. *Journal of Molecular Structure*. **614**(1–3): 227–232. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(02\)00256-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(02)00256-9) EDN: [BBDVFN](#)
- van't Bovenind-Vrubleuskaya N., Seuruk T., van Hateren K., van der Laan T., Kosterink J.G.W., van der Werf T.S., van Soolingen D., van den Hof S., Skrahina A., Alffenaar J.-W.C. (2017) Pharmacokinetics of Levofloxacin in Multidrug- and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis Patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **61**(8). <https://doi.org/10.1128/AAC.00343-17> EDN: [XOHVKE](#)
- Yakupova L.R., Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Kudryashova E. V. (2023a) *In vitro* biological properties of cyclodextrin-based polymers: Interaction with human serum albumin, red blood cells and bacteria. *Polysaccharides*. **4**(4): 343–357. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides4040020> EDN: [YMGLVW](#)
- Yakupova L.R., Skuredina A.A., Markov P.O., Le-Deygen I.M., Kudryashova E. V. (2023b) Cyclodextrin polymers as a promising drug carriers for stabilization of meropenem solutions. *Applied Sciences*. **13**(6): 3608. <https://doi.org/10.3390/app13063608> EDN: [DWXULP](#)
- Zlotnikov I.D., Davydova M.P., Danilov M.R., Krylov S.S., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2023a) Covalent conjugates of allylbenzenes and terpenoids as antibiotics enhancers with the function of prolonged action. *Pharmaceutics*. **16**(8): 1102. <https://doi.org/10.3390/ph16081102> EDN: [RDCJFY](#)
- Zlotnikov I.D., Streltsov D.A., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2023b) Chitosan or cyclodextrin grafted with oleic acid self-assemble into stabilized polymeric micelles with potential of drug carriers. *Life*. **13**(2): 446. <https://doi.org/10.3390/life13020446> EDN: [CRITFM](#)
- Zlotnikov I.D., Vigovskiy M.A., Davydova M.P., Danilov M.R., Dyachkova U.D., Grigorieva O.A., Kudryashova E. V. (2022) Mannosylated systems for targeted delivery of antibacterial drugs to activated macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*. **23**(24): 16144. <https://doi.org/10.3390/ijms232416144> EDN: [ROHSWS](#)

Цитировать как

Копнова Л.Р., Копнова Т.Ю., Данилов М.Р., Давыдова М.П., Кудряшова Е.В. (2026). Конъюгаты полимерных β -циклодекстринов с сывороточным альбумином модулируют фармакокинетику и биораспределение антибиотика. *Экобиотех.* 9(3): 384-396. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-29> EDN: <https://www.elibrary.ru/muclwf>

Сведения об авторах

Линара Ринатовна Копнова, м.н.с., Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: yakupova.linara@mail.ru, SPIN: 7417-4220, ORCID: 0000-0002-5883-4687, Scopus Author ID: 57221382377, WoS Research ID: GYE-2316-2022.

Татьяна Юрьевна Копнова, Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия. E-mail: tatiana.kopnowa@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-5196-5863, Scopus Author ID: 57219146669, WoS Research ID: GYJ-0598-2022.

Милан Радиевич Данилов, Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: milan.danilov@yandex.ru.

Мария Павловна Давыдова, к.б.н., Медицинский научно-образовательный институт МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия. E-mail: davydova2015@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6594-4438, Scopus Author ID: 7006472979.

Кудряшова Елена Вадимовна, д.х.н., проф., Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, Scopus Author ID: 35585459100.

Cited as

Kopnova L.R., Kopnova T.Yu., Danilov M.R., Davydova M.P., Kudryashova E.V. (2026). Conjugates of polymeric β -cyclodextrins with serum albumin modulate the pharmacokinetics and biodistribution of the antibiotic. *Ecobiotech.* 9(3): 384-396. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-29> EDN: <https://www.elibrary.ru/muclwf>

Information About the Authors

Linara Rinatovna Kopnova, Junior Researcher, Central University, Moscow, Russia. E-mail: yakupova.linara@mail.ru, SPIN: 7417-4220, ORCID: 0000-0002-5883-4687, Scopus Author ID: 57221382377, WoS Research ID: GYE-2316-2022.

Tatyana Yuryevna Kopnova, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: tatiana.kopnowa@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-5196-5863, Scopus Author ID: 57219146669, WoS Research ID: GYJ-0598-2022.

Milan Radievich Danilov, Central University, Moscow, Russia. E-mail: milan.danilov@yandex.ru.

Maria Pavlovna Davydova, PhD in Biological Sciences, Medical Scientific and Educational Institute of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: davydova2015@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6594-4438, Scopus Author ID: 7006472979.

Elena Vadimovna Kudryashova, Dr in Chemical Sciences, Professor, Central University, Moscow, Russia. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, Scopus Author ID: 35585459100.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 579.67; 604.4



ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ | REVIEW ARTICLE

ИСТОКИ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ В КАЧЕСТВЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ

Романов А.С.

Международная промышленная академия, Москва, Россия

E-mail: romanov@grainfood.ru

THE ORIGINS OF USE OF CYCLODEXTRINS AS A MULTIFUNCTIONAL FOOD ADDITIVE

Romanov A.S.

International Industrial Academy, Moscow, Russia,

E-mail: romanov@grainfood.ru

Аннотация

Циклодекстрины – группа циклических олигосахаридов с уникальной структурой, состоящей из гидрофобной полости, в которую могут встраиваться другие соединения, образуя комплексы включения за счет взаимодействия «хозяин – гость» и изменяя свойства гостевых молекул. Благодаря этой особенности циклодекстрины и их производные имеют широкий спектр практического применения во многих отраслях промышленности, включая фармацевтику, медицину, производство продуктов питания, косметики, хроматографию, катализ, биотехнологию и текстильную промышленность. Первое упоминание о циклодекстринах появилось в 1891 году в работе А. Вильер, и с тех пор эти молекулы продолжают привлекать внимание ученых и промышленников. С середины 1970-х годов циклодекстрины используются в пищевой промышленности, поскольку они способны улучшать и стабилизировать физические свойства и вкус продуктов, а также повышать биодоступность функциональных и нутрицевтических ингредиентов. В обзоре обобщены основные сферы применения ЦД в пищевом производстве и сделан акцент на работы Усанова Николая Глебовича, одного из ведущих российских разработчиков биотехнологии циклодекстринов, посвятившего большую часть своей научной жизни этим циклическим углеводам.

Ключевые слова:

Циклодекстрины, ЦД, комплексы, инкапсуляция, применение, биологически активные соединения, продукты питания

Поступила в редакцию: 22.05.2026

Принята в печать: 11.09.2026

Abstract

Cyclodextrins are a group of cyclic oligosaccharides with a unique hydrophobic cavity structure that may encapsulate other compounds, forming inclusion complexes via host-guest interactions and modifying the properties of the guest molecules. As a result, cyclodextrins and their derivatives are used in a wide range of practical applications in nearly all industrial sectors, including pharmacy, medicine, food, cosmetics, chromatography, catalysis, biotechnology, and textiles. Villiers published the first reference to cyclodextrins in 1891, and since then, and the molecules have remained a great fascination to scientists and industry ever since. Since the mid-1970s, cyclodextrins have been used in the food industry to improve and stabilize the physical properties and taste of products and to enhance the bioavailability of functional and nutritional additives. This review summarizes the main applications of cyclodextrins in food production and highlights the work of Nikolay Glebovich Usanov, one of the leading Russian biotechnology developers of cyclodextrins, who has spent most of his scientific career working with these cyclic carbohydrates.

Keywords:

Cyclodextrins, CD, complexes, encapsulation, application, biologically active compounds, food products

Received: 22.05.2026

Accepted: 11.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-30> EDN: <https://www.elibrary.ru/ohooci>

ВВЕДЕНИЕ

Циклодекстрины (ЦД) – это циклические олигосахариды, получаемые ферментативным путем из крахмала. Наиболее известны альфа- (α -), бета- (β -) и гамма- (γ -)-ЦД, состоящие соответственно из 6, 7 и 8 остатков D-глюкопиранозы, связанных α -1,4-гликозидными связями. Ферментативная обработка крахмала осуществляется микробными ферментами класса циклодекстринглюканотрансфераз (ЦГТаз, КФ.2.4.1.19) [Lim et al. 2021; Rabadiya et al. 2024]. Молекулы ЦД имеют гидрофильную внешнюю поверхность и сквозную гидрофобную полость. Гидрофильная поверхность обуславливает хорошую растворимость циклических олигосахаридов в воде, а полость является своеобразной ловушкой неполярных субстанций [Poulson et al. 2022].

Способность ЦД образовывать комплексы включения («хозяин–гость») с различными неорганическими, органическими соединениями и биологически активными веществами, позволяет увеличивать их растворимость в водных средах, устойчивость к окислению и гидролизу, позволяет создавать пролонгированные формы лекарственных препаратов, обеспечивать более длительный срок их хранения и т.д. Эта характерная особенность открывает широкие возможности для их применения в фармацевтике, косметике, продуктах питания, гигиене и туалетных принадлежностях, биотехнологии, медицине, радиологии, агрохимии, катализе, упаковке, текстильной промышленности, нанотехнологиях и обработке почвы и воды [Fenyvesi *et al.* 2016; Kfoury *et al.* 2019; Astray *et al.* 2020; Dhiman, Bhatia 2020; Gentili 2020; Matencio *et al.* 2020; Morillo *et al.* 2020; Viernstein, Wolschann 2020; Pardhi *et al.* 2023; Musuc 2024; Urooj *et al.* 2024; Saffarionpour 2026].

В этом обзоре обобщены основные сферы применения ЦД в пищевой промышленности, и сделан акцент на работы, идейным вдохновителем и непосредственным участником которых являлся старший научный сотрудник Института биологии УНЦ РАН Николай Глебович Усанов.

Циклодекстрины начали использовать в пищевой промышленности в середине 1970-х годов, после того как первые токсикологические исследования показали, что β -ЦД при пероральном приеме является безвредным веществом. Это привело к впечатляющему прогрессу в данной области. В 1976 году Япония разрешила применение ЦД в качестве пищевой добавки. Продавались порошкообразные ароматизаторы, например, со вкусом яблока и цитрусовых, специи, например, хрен, васаби и горчица, а также травы, такие как мята перечная. Среди других продуктов питания, содержащих ЦД или изготовленных с использованием ЦД, были шоколад (Choco Bar™), жевательная резинка (Flavono™) и порошкообразный зеленый чай (Stick Lemon™). В 1992 году в Бельгии появилось сливочное масло с низким содержанием холестерина, приготовленное путем смешивания ЦД с топленым сливочным маслом, под торговой маркой Balade™. Выпускались и другие молочные продукты с низким содержанием холестерина, такие как сыр (Natuall™ во Франции), сливки и яйца (Simply eggs™ в США). Среди других примеров – пенящийся кофе (Nescafé® от Nestlé), пиво (Flavor Aktiv™ в Великобритании) и пищевые добавки. [Morin-Crini *et al.* 2021].

Научный комитет по пищевым продуктам (SCF, Scientific committee on food) в 1996 году установил допустимую суточную дозу (ADI, Acceptable daily intake) β -ЦД в размере 5 мг/кг массы тела в сутки [Kelanne *et al.* 2024]. В 2000-х годах α -, β - и γ -ЦД были включены в список безопасных пищевых добавок Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) под статусом общепризнанных безопасных (GRAS) (Generally recognized as safe – «общепризнанно безопасным») как E 457, E 459, E 458 соответственно [Morin-Crini *et al.* 2021].

Циклодекстрины находят широкое применение в пищевой промышленности в качестве добавок для микрокапсулирования различных соединений в пищевых продуктах с целью улучшения сенсорных свойств: защита чувствительных к кислороду, свету или температуре соединений от деградации; стабилизация ароматов; предотвращение ферментативного потемнения; подавление неприятных вкусов и запахов, таких как горечь и посторонние привкусы [Astray *et al.* 2009; Matencio *et al.* 2020; Tian *et al.* 2020; Gonzalez Pereira *et al.* 2021; Kelanne *et al.* 2024; Saffarionpour 2026].

Инкапсуляция в ЦД позволяет стабилизировать вещества, чувствительные к свету (ультрафиолету) и теплу, а также нестабильные ингредиенты, которые легко окисляются или гидролизуются. Этот эффект используется для предотвращения улетучивания ароматических веществ, изменения цвета/выцветания пигментов. Например, аллилизотиоцианат, острый компонент васаби и горчичного масла, является летучим веществом и легко вступает в реакцию с некоторыми нуклеофилами, такими как вода, каротиноиды и витамин А. Под воздействием света и воздуха его цвет тускнеет. Витамин D3 нестабилен при высоких температурах, а ненасыщенные жирные кислоты, содержащиеся в рыбьем жире, разрушаются под воздействием тепла и кислорода. ЦД может защитить от этих проблем за счет образования стабильных комплексов включения [Na *et al.* 2011; Bakirova *et al.* 2020; Ghorbanzade *et al.* 2022; Sun *et al.* 2023]. При инкапсуляции витамина А с β -ЦД повышается как растворимость витамина А в водных средах, так и его устойчивость к различным внешним факторам (температуре, свету и кислороду) [Xu *et al.* 2021]. Комплексы включения между ЦД и полифенолами могут предотвращать изменение цвета напитков

посредством ингибирования ферментативного потемнения полифенолоксидазой [Astray *et al.* 2009; Rho *et al.* 2021].

Комплексообразование с ЦД предотвращает попадание влаги в гигроскопичные вещества в твердом состоянии. Нетвердые вещества, такие как газы и масла, также можно превратить в стабильные порошки, инкапсулировав их с помощью ЦД, что упрощает работу с ними. Этот метод применяется, например, при производстве порошкообразных ароматизаторов и сухого меда. Порошкообразный ароматизатор с ЦД позволяет легко контролировать летучесть ароматизатора в зависимости от температуры и влажности [Nguyen, Yoshii 2018].

Нерастворимые в воде ингредиенты вызывают помутнение и осаждение, что может негативно сказаться на качестве пищевых продуктов, особенно напитков. Образование комплекса включения с помощью ЦД может препятствовать агрегации нерастворимых в воде ингредиентов, повышая их растворимость и диспергируемость в воде. Поэтому ЦД используются, например, при производстве цитрусовых продуктов, чайных напитков и супов. ЦД также могут образовывать стабильные эмульсии или взбитые смеси с маслами и некоторыми видами белков, и этот эффект использовался в хлебобулочных и кондитерских изделиях и молочных коктейлях [Astray *et al.* 2020]. Его также можно использовать в заправках, похожих на майонез без яиц. β -ЦД использовался в качестве средства для удаления холестерина из яичного желтка и продуктов повседневного потребления путем образования водонерастворимого комплекса с холестерином [Fenyvesi *et al.* 2016].

Обработка ЦД – эффективный способ уменьшения нежелательных привкусов, таких как горечь, и посторонних привкусов в некоторых пищевых продуктах. α -ЦД использовался для уменьшения горечи гидролизата аминокислот и соевого белка [Linde *et al.* 2009]. β -ЦД – для устранения нежелательных привкусов, таких как бобовый привкус соевого белка и соевого молока [Arora, Damodaran 2011; Lee *et al.* 2020], привкус ненасыщенных альдегидов в арбузе [Yang *et al.* 2020], горечи сока горькой тыквы [Deshaware *et al.* 2018] и «козьего» привкуса некоторых жирных кислот с разветвленной цепью в козьем молоке [Wang *et al.* 2018]. γ -ЦД применялся для уменьшения горького вкуса относительно более крупных соединений, таких как тритерпеноидный сапонин красного женьшеня [Tamamoto *et al.* 2010].

Начало российских исследований ЦД связано с несколькими научными группами, работавших как в области фундаментальных исследований, так и над проблемами эффективного синтеза ЦД, развития сфер их применения. В этой связи в первую очередь следует упомянуть научные коллективы Института биологии УНЦ РАН, Московского государственного университета и Московского технологического института пищевой промышленности (ныне «РОСБИОТЕХ»). Существенный вклад в развитие представлений о функциональных возможностях ЦД внесли многие учёные, в том числе Е.Д. Альперович, И.М. Грачева, Н.Г. Усанов, А.И. Мелентьев, О.Н. Логинов др.

Активные исследования по поиску перспективных направлений применения ЦД для улучшения качества и повышения пищевой ценности продуктов питания начались в СССР еще до того, как ЦД были внесены в европейские регламенты пищевых добавок.

Исследования, проведенные по инициативе Н.Г. Усанова, были посвящены интенсификации производства, повышению пищевой ценности, улучшению качества и стабилизации свойств пищевых продуктов из сырья растительного происхождения, за счёт использования полифункциональных возможностей ЦД и их инклюзионных комплексов. Выявлены ключевые закономерности, определяющие трансформацию структурно-механических, компрессионных и сорбционных характеристик циклодекстриновых продуктов в процессе хранения, а также идентифицированы факторы, оказывающие на эти изменения существенное влияние. Кроме того, было изучено, как ЦД воздействуют на кристаллизацию сахарозы, клейстеризацию крахмала, модификацию состояния воды в пищевых матрицах, а также на формирование и стабилизацию структур полуфабрикатов и готовых пищевых продуктов [Романов 1998a].

Сформулированы теоретические и практические аспекты применения ЦД при производстве хлеба. Разработаны технологии хлебобулочных изделий, способствующие производству продукции с улучшенными потребительскими характеристиками при переработке сырья (муки и дрожжей) неудовлетворительного качества за счет внесения ЦД на различных стадиях тестоприготовления [Романов и др. 1992a, b].

Разработаны технологии, способствующие ускорению производственных процессов при одновременном повышении пищевой ценности хлеба из муки или цельного зерна, за счет внесения

лабильных биологически активных веществ в составе инклюзионных комплексов с ЦД [Романов и др. 1995b; Романов 1997a, 1998b].

Предложены методики изготовления хлеба, предполагающие внесение фермента ЦГТазы на стадии приготовления заварки, что обеспечивает синтез ЦД непосредственно в ходе технологического процесса производства хлеба [Романов и др. 1992c].

Комплексными исследованиями закономерностей процессов, протекающих при хранении многокомпонентных смесей, показана роль ЦД в стабилизации свойств сыпучих концентратов мучных кондитерских изделий. Установлено, что включение в состав полуфабрикатов с длительным сроком хранения биологически-активных и ароматизирующих веществ, инкапсулированных в инклюзионные комплексы с ЦД препятствует развитию посторонней микрофлоры, повышает биологическую ценность и улучшает органолептические свойства готовых изделий. Разработаны технологии производства макаронных изделий из хлебопекарной муки, безбелковых макаронных изделий и экструзионных продуктов [Романов и др. 1994a; Романов 1997b], в которых высокое качество изделий обеспечивается благодаря интенсификации взаимодействия ЦД с компонентами сырья. Инкапсуляция биологически активных и ароматизирующих компонентов в форме циклодекстриновых комплексов обеспечивает их стабильность и предотвращает деградацию на стадиях экструдирования (формования), послеэкструзионной обработки и хранения изделий.

Применение инклюзионных комплексов β -каротина с β -ЦД для приготовления выпеченных и отделочных полуфабрикатов [Романов, Плосконосова 2001], позволяет не только стабилизировать кондитерские пены и эмульсии, но и добиться повышения витаминной ценности мучных кондитерских изделий. Проведена медико-биологическая оценка эффективности применения инклюзионных комплексов ЦД для покрытия дефицита β -каротина. Разработаны нормативные документы, регулирующие производство бисквитного полуфабриката, сливочного крема, печенья и пряников с использованием инновационных циклодекстриновых комплексов.

Выявлена схожесть процессов, инициируемых ЦД в жировых начинках, пралиновых массах и какао продуктах. Установлено, что ЦД в кондитерских массах способны модулировать процессы кристаллизации жиров и демонстрировать поверхностно-активные свойства. Разработаны способы производства шоколадных [Романов и др. 1995a] и ореховых масс [Романов, Усанов 1999], в которых использование ЦД способствует улучшению их реологических характеристик, сокращению расхода сырьевых компонентов и интенсификации производства готовой продукции.

Внесение в состав сухой смеси для шипучего напитка красителей, ароматизаторов и биологически активных веществ в виде инклюзионных комплексов с ЦД позволяет стабилизировать свойства смеси при хранении, повысить биологическую ценность и улучшить органолептические свойства готового напитка [Романов и др. 1996b]. Внесение ЦД в пиво снижает количество потенциальных образований мути, увеличивая тем самым коллоидную стойкость готового напитка [Пермякова и др. 1996].

Разработаны методы повышения эффективности комплексообразования, в которых реакционная смесь концентрируется с последующим соединением с инертным наполнителем [Романов и др. 1993], подвергается экструзионной [Романов и др. 1996a] или ультразвуковой [Романов и др. 1994b] обработке.

В настоящее время продолжают разработки по применению циклодекстринов в пищевых технологиях. Особое внимание уделяется их влиянию на крахмалосодержащие продукты: в частности, способности ЦД воздействовать на процессы ретроградации систем «крахмал/амилоза» [Yang et al. 2022] и улучшать текстурные характеристики хлеба [Zhou et al. 2019b], макаронных изделий [Durante et al. 2019] и теста [Zhou et al. 2019a]. Присутствие определенных циклодекстринов в таких продуктах не только сказывается на их качестве и сроках хранения, но и зачастую повышает их пищевую ценность, влияя на процессы высвобождения и усвоения глюкозы после употребления этих продуктов в пищу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре приведены основные эффекты применения циклодекстринов в пищевой промышленности. Показано, что эти уникальные молекулы не только улучшают и стабилизируют качество продуктов, в том числе их физические свойства и вкус, но и повышают биодоступность ингредиентов. Кроме того, ЦД используются в качестве упаковочного материала для контроля созревания продуктов и антибактериальной обработки. Особое внимание уделено работам Усанова

Н.Г. На основе обобщения его теоретических разработок и анализа результатов исследований, выполненных под его руководством и при его участии, научно обоснованы ключевые векторы и сферы практического использования циклодекстринов и их инклюзионных комплексов в качестве полифункциональных пищевых агентов, открывающие перспективы комплексного решения актуальных задач, направленных на повышения пищевой ценности, улучшения качества, стабилизации свойств и оптимизацию процессов изготовления пищевой продукции.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Автор заявляет отсутствие явных или потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией этой статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Пермякова Л.В., Романов А.С., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1996) Способ стабилизации пива. Патент № RU 2053287 C1. EDN: [JWYOJU](#)
- Романов А.С. (1997a) Способ производства хлеба. Патент № RU 2092057 C1. EDN: [LIDUZZK](#)
- Романов А.С. (1997b) Способ производства экструзионных продуктов. Патент № RU 2086163 C1. EDN: [COXCYO](#)
- Романов А.С. (1998a) Циклодекстрины - полифункциональные пищевые добавки. Издательство Кемеровского технологического института пищевой промышленности. Кемерово: 147.
- Романов А.С. (1998b) Способ производства зернового хлеба. Патент № RU 2102888 C1. EDN: [OFJDDF](#)
- Романов А.С., Ангерсбах А.К., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1993) Способ производства порошкообразного концентрата сока. Патент № SU 1787012. EDN: [STTCX](#)
- Романов А.С., Вандакурова Н.И., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1994a) Способ получения макаронных изделий. Патент № RU 2016525 C1. EDN: [LEAIIO](#)
- Романов А.С., Краус С.В., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1996a) Способ получения пищевой добавки. Патент № RU 2055490 C1. EDN: [SXFUGZ](#)
- Романов А.С., Назимова Г.И., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1995a) Способ получения шоколадной массы. Патент № RU 2039457 C1. EDN: [LETCSE](#)
- Романов А.С., Плосконосова Е.А. (2001) Способ производства бисквита. Патент № RU 2163074 C2. EDN: [ZNAHSX](#)
- Романов А.С., Помозова Н.Г., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1996b) Сухая смесь для получения шипучего безалкогольного напитка. Патент № RU 2059395 C1. EDN: [EMTBHI](#)
- Романов А.С., Савицкий А.К., Фомин О.В. (1995b) Способ производства зернового хлеба. Патент № RU 2043044 C1. EDN: [LYAPML](#)
- Романов А.С., Усанов Н.Г. (1999) Ореховая масса. Патент № RU 2128453 C1. EDN: [PVG BHY](#)
- Романов А.С., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1992a) Способ производства хлеба. Авторское свидетельство № SU 1729358 A1, МКИ A21D 8/02/. EDN: [JMKTFI](#)
- Романов А.С., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1992b) Способ производства пшеничного хлеба. Авторское свидетельство № SU 1734623 A1, МКИ A21D 8/02/. EDN: [GYPZAU](#)
- Романов А.С., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1992c) Способ приготовления теста. Авторское свидетельство № SU 1750571 A1, МКИ A21 D 8/04. EDN: [WTLFOE](#)
- Романов А.С., Усанов Н.Г., Мелентьев А.И., Логинов О.Н. (1994b) Способ производства ароматизатора. Патент № RU 2016526 C1. EDN: [QOODEL](#)
- Arora A., Damodaran S. (2011) Removal of soy protein-bound phospholipids by a combination of sonication, β -cyclodextrin, and phospholipase A2 treatments. *Food Chemistry*. **127**(3): 1007–1013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.073> EDN: [OBZEXR](#)
- Astray G., Gonzalez-Barreiro C., Mejuto J.C., Rial-Otero R., Simal-Gándara J. (2009) A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*. **23**(7): 1631–1640. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.001>
- Astray G., Mejuto J.C., Simal-Gandara J. (2020) Latest developments in the application of cyclodextrin host-guest complexes in beverage technology processes. *Food Hydrocolloids*. **106**: 105882. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105882> EDN: [MYDGRO](#)
- Bakirova R., Nukhuly A., Iskineyeva A., Fazylov S., Burkeyev M., Mustafayeva A., Minayeva Y., Sarsenbekova A. (2020) Obtaining and investigation of the β -cyclodextrin inclusion complex with vitamin D₃ oil solution. *Scientifica*. **2020**: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6148939> EDN: [TVGSWF](#)

- Deshaware S., Gupta S., Singhal R.S., Joshi M., Variyar P.S. (2018) Debittering of bitter gourd juice using β -cyclodextrin: Mechanism and effect on antidiabetic potential. *Food Chemistry*. **262**: 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.077> EDN: YGXCNF
- Dhiman P., Bhatia M. (2020) Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **98**(3–4): 171–186. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-01029-3> EDN: ALQDBK
- Durante M., Lenucci M.S., Gazza L., Taddei F., Nocente F., De Benedetto G.E., De Caroli M., Piro G., Mita G. (2019) Bioactive composition and sensory evaluation of innovative spaghetti supplemented with free or α -cyclodextrin chlated pumpkin oil extracted by supercritical CO₂. *Food Chemistry*. **294**: 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.032>
- Fenyvesi É., Vikmon M., Szenté L. (2016) Cyclodextrins in food technology and human nutrition: Benefits and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **56**(12): 1981–2004. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.809513> EDN: WPXYKZ
- Gentili A. (2020) Cyclodextrin-based sorbents for solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*. **1609**: 460654. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460654> EDN: XEORRX
- Ghorbanzade T., Akhavan-Mahdavi S., Kharazmi M.S., Ibrahim S.A., Jafari S.M. (2022) Loading of fish oil into β -cyclodextrin nanocomplexes for the production of a functional yogurt. *Food Chemistry: X*. **15**: 100406. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100406> EDN: BZVBZN
- Gonzalez Pereira A., Carpena M., García Oliveira P., Mejuto J.C., Prieto M.A., Simal Gandara J. (2021) Main applications of cyclodextrins in the food industry as the compounds of choice to form host–guest complexes. *International Journal of Molecular Sciences*. **22**(3): 1339. <https://doi.org/10.3390/ijms22031339> EDN: ITNRDE
- Kelanne N., Yang B., Laaksonen O. (2024) Potential of cyclodextrins in food processing for improving sensory properties of food. *Food Innovation and Advances*. **3**(1): 1–10. <https://doi.org/10.48130/fia-0024-0001> EDN: ZLWJHU
- Kfoury M., Auezova L., Greige-Gerges H., Fourmentin S. (2019) Encapsulation in cyclodextrins to widen the applications of essential oils. *Environmental Chemistry Letters*. **17**(1): 129–143. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0783-y> EDN: ESZFHU
- Lee E.-J., Kim H., Lee J.-Y., Ramachandraiah K., Hong G.-P. (2020) β -Cyclodextrin-mediated beany flavor masking and textural modification of an isolated soy protein-based yuba film. *Foods*. **9**(6): 818. <https://doi.org/10.3390/foods9060818> EDN: POUXNT
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Linde G.A., Junior A.L., Faria E.V. de, Colauto N.B., Moraes F.F. de, Zanin G.M. (2009) Taste modification of amino acids and protein hydrolysate by α -cyclodextrin. *Food Research International*. **42**(7): 814–818. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.016>
- Matencio A., Navarro-Orcajada S., García-Carmona F., López-Nicolás J.M. (2020) Applications of cyclodextrins in food science. A review. *Trends in Food Science & Technology*. **104**: 132–143. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.009> EDN: ERXRUM
- Morillo E., Madrid F., Lara-Moreno A., Villaverde J. (2020) Soil bioremediation by cyclodextrins. A review. *International Journal of Pharmaceutics*. **591**: 119943. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119943> EDN: CHPVWN
- Morin-Crini N., Fourmentin S., Fenyvesi É., Lichtfouse E., Torri G., Fourmentin M., Crini G. (2021) 130 years of cyclodextrin discovery for health, food, agriculture, and the industry: A review. *Environmental Chemistry Letters*. **19**(3): 2581–2617. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01156-w> EDN: DATSGS
- Musuc A.M. (2024) Cyclodextrins: Advances in chemistry, toxicology, and multifaceted applications. *Molecules*. **29**(22): 5319. <https://doi.org/10.3390/molecules29225319> EDN: IEXIMB
- Na H.-S., Kim J.-N., Kim J.-M., Lee K.-Y. (2011) Encapsulation of fish oil using cyclodextrin and whey protein concentrate. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. **16**(6): 1077–1082. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0099-2> EDN: QZSKTE
- Nguyen T.V.A., Yoshii H. (2018) Release behavior of allyl sulfide from cyclodextrin inclusion complex of allyl sulfide under different storage conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **82**(5): 848–855. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1440173>
- Pardhi D.S., Rabadiya K.J., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Rajput K.N. (2023) Cyclodextrin glucanotransferase: fundamentals and biotechnological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **107**(19): 5899–5907. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12708-9> EDN: GVNFIY

- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfalddin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Rho S.-J., Mun S., Park J., Kim Y.-R. (2021) Retarding oxidative and enzymatic degradation of phenolic compounds using large-ring cycloamylose. *Foods*. **10**(7): 1457. <https://doi.org/10.3390/foods10071457> EDN: QSANUC
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: An overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1–2): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sun N., Zhang M., Zhu W., Song P., Dai T., Huang P., Han Z., Wang D. (2023) Allyl isothiocyanate dry powder inhaler based on cyclodextrin-metal organic frameworks for pulmonary delivery. *iScience*. **26**(1): 105910. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105910> EDN: ZORPHI
- Tamamoto L.C., Schmidt S.J., Lee S. (2010) Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents. *Journal of Food Science*. **75**(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01749.x>
- Tian B., Xiao D., Hei T., Ping R., Hua S., Liu J. (2020) The application and prospects of cyclodextrin inclusion complexes and polymers in the food industry: A review. *Polymer International*. **69**(7): 597–603. <https://doi.org/10.1002/pi.5992> EDN: JGAGOW
- Urooj T., Mishra M., Pandey S. (2024) Unlocking environmental solutions: a review of cyclodextrins in pollutant removal. *Discover Environment*. **2**(1): 65. <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00090-w> EDN: EGSNTP
- Viernstein H., Wolschann P. (2020) Cyclodextrin inclusion complexation and pharmaceutical applications. *ScienceAsia*. **46**(3): 254. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2020.048> EDN: XFELAP
- Wang C., Wang C., Gao F., Xu Y., Guo M. (2018) Effects of polymerized whey protein on goaty flavor and texture properties of fermented goat milk in comparison with β -cyclodextrin. *Journal of Dairy Research*. **85**(4): 465–471. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000742>
- Xu X., Peng S., Bao G., Zhang H., Yin C. (2021) β -cyclodextrin inclusion complexes with vitamin A and its esters: A comparative experimental and molecular modeling study. *Journal of Molecular Structure*. **1223**: 129001. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129001> EDN: YPUQCI
- Yang L., Cai J., Qian H., Li Y., Zhang H., Qi X., Wang L., Cao G. (2022) Effect of cyclodextrin glucosyltransferase extracted from *Bacillus xiaoxiensis* on wheat dough and bread properties. *Frontiers in Nutrition*. **9**. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1026678> EDN: HEVOUS
- Yang X., Yang F., Liu Y., Li J., Song H. (2020) Off-flavor removal from thermal-treated watermelon juice by adsorbent treatment with β -cyclodextrin, xanthan gum, carboxymethyl cellulose sodium, and sugar/acid. *LWT*. **131**: 109775. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109775> EDN: WRAAOD
- Zhou J., Ke Y., Barba F.J., Xiao S., Hu X., Qin X., Ding W., Lyu Q., Wang X., Liu G. (2019a) The addition of α -cyclodextrin and γ -cyclodextrin affect quality of dough and prebaked bread during frozen storage. *Foods*. **8**(5): 174. <https://doi.org/10.3390/foods8050174>
- Zhou J., Yang H., Qin X., Hu X., Liu G., Wang X. (2019b) Effect of β -cyclodextrin on the quality of wheat flour dough and prebaked bread. *Food Biophysics*. **14**(2): 173–181. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09566-2> EDN: WGHQGD

REFERENCES

- Permjakova L.V., Romanov A.S., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1996) Method for stabilizing beer. Patent № RU 2053287 C1. EDN: JWYOJU (in Russian)
- Romanov A.S. (1997a) Method for bread production. Patent № RU 2092057 C1. EDN: LJDUZK (in Russian)
- Romanov A.S. (1997b) Method of manufacturing extrusion products. Patent № RU 2086163 C1. EDN: COXCYO (in Russian)
- Romanov A.S. (1998a) Cyclodextrins – polyfunctional food additives [Tsiklodekstriny - polifunktsionalnye pishchevye dobavki]. Kemerovo Technological Institute of Food Industry Publishing. Kemerovo: 147. (in Russian)
- Romanov A.S. (1998b) Method for preparing cereal bread. Patent № RU 2102888 C1. EDN: OFJDDF (in Russian)

- Romanov A.S., Angersbakh A.K., Usanov N.G., Melentev A.I., Loginov O.N. (1993) Method for production powder concentrate of juice. Patent № SU 1787012. EDN: [STTCEX](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Vandakurova N.I., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1994a) Method of macaroni articles preparing. Patent № RU 2016525 C1. EDN: [LEAIIO](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Kraus S.V., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1996a) Method of food addition preparing. Patent № RU 2055490 C1. EDN: [SXFUGZ](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Nazimova G.I., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1995a) Method for production of chocolate. Patent № RU 2039457 C1. EDN: [LETCSE](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Ploskonosova E.A. (2001) Method of biscuit production. Patent № RU 2163074 C2. EDN: [ZNAHSX](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Pomozova V.A., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1996b) Dry mixture for production of soft nonalcoholic drink. Patent № RU 2059395 C1 EDN: [EMTBHI](#). (in Russian)
- Romanov A.S., Savitskij A.K., Fomin O.V. (1995b) Bread production method. Patent № RU 2043044 C1. EDN: [LYAPML](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Usanov N.G. (1999) Nut mass. Patent № RU 2128453 C1. EDN: [PVGBHY](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Usanov N.G., Melentev A.I., Loginov O.N. (1992a) Method of baking bread. Inventor's Certificate No. SU 1729358 A1, IPC A21D 8/02/. EDN: [JMKTFI](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Usanov N.G., Loginov O.N., Melentev A.I. (1992b) Method for producing wheat bread. Inventor's Certificate No. SU 1734623 A1, IPC A21D 8/02/. EDN: [GYPZAU](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Usanov N.G., Melentev A.I., Loginov O.N. (1992c) Method of dough making. Inventor's Certificate No. SU 1750571 A1, IPC A21 D 8/04. EDN: [WTLFOF](#) (in Russian)
- Romanov A.S., Usanov N.G., Melent'ev A.I., Loginov O.N. (1994b) Method of aromatic principle producing. Patent № RU 2016526 C1. EDN: [QOODFL](#) (in Russian)
- Arora A., Damodaran S. (2011) Removal of soy protein-bound phospholipids by a combination of sonication, β -cyclodextrin, and phospholipase A2 treatments. *Food Chemistry*. **127**(3): 1007–1013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.073> EDN: [OBZEXR](#)
- Astray G., Gonzalez-Barreiro C., Mejuto J.C., Rial-Otero R., Simal-Gándara J. (2009) A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*. **23**(7): 1631–1640. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.001>
- Astray G., Mejuto J.C., Simal-Gandara J. (2020) Latest developments in the application of cyclodextrin host-guest complexes in beverage technology processes. *Food Hydrocolloids*. **106**: 105882. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105882> EDN: [MYDGRO](#)
- Bakirova R., Nukhuly A., Iskinayeva A., Fazylov S., Burkeyev M., Mustafayeva A., Minayeva Y., Sarsenbekova A. (2020) Obtaining and investigation of the β -cyclodextrin inclusion complex with vitamin D₃ oil solution. *Scientifica*. **2020**: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6148939> EDN: [TVGSWE](#)
- Deshaware S., Gupta S., Singhal R.S., Joshi M., Variyar P.S. (2018) Debitting of bitter gourd juice using β -cyclodextrin: Mechanism and effect on antidiabetic potential. *Food Chemistry*. **262**: 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.077> EDN: [YGXCNE](#)
- Dhiman P., Bhatia M. (2020) Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **98**(3–4): 171–186. <https://doi.org/10.1007/s10847-020-01029-3> EDN: [ALQDBK](#)
- Durante M., Lenucci M.S., Gazza L., Taddei F., Nocente F., De Benedetto G.E., De Caroli M., Piro G., Mita G. (2019) Bioactive composition and sensory evaluation of innovative spaghetti supplemented with free or α -cyclodextrin chlated pumpkin oil extracted by supercritical CO₂. *Food Chemistry*. **294**: 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.032>
- Fenyvesi É., Vikmon M., Szenté L. (2016) Cyclodextrins in food technology and human nutrition: Benefits and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **56**(12): 1981–2004. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.809513> EDN: [WPXYKZ](#)
- Gentili A. (2020) Cyclodextrin-based sorbents for solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*. **1609**: 460654. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460654> EDN: [XEORRX](#)
- Ghorbanzade T., Akhavan-Mahdavi S., Kharazmi M.S., Ibrahim S.A., Jafari S.M. (2022) Loading of fish oil into β -cyclodextrin nanocomplexes for the production of a functional yogurt. *Food Chemistry: X*. **15**: 100406. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100406> EDN: [BZVBZN](#)
- Gonzalez Pereira A., Carpena M., García Oliveira P., Mejuto J.C., Prieto M.A., Simal Gandara J. (2021) Main applications of cyclodextrins in the food industry as the compounds of choice to form host-guest complexes. *International Journal of Molecular Sciences*. **22**(3): 1339. <https://doi.org/10.3390/ijms22031339> EDN: [ITNRDE](#)

- Kelanne N., Yang B., Laaksonen O. (2024) Potential of cyclodextrins in food processing for improving sensory properties of food. *Food Innovation and Advances*. **3**(1): 1–10. <https://doi.org/10.48130/fia-0024-0001> EDN: ZLWJHU
- Kfoury M., Auezova L., Greige-Gerges H., Fourmentin S. (2019) Encapsulation in cyclodextrins to widen the applications of essential oils. *Environmental Chemistry Letters*. **17**(1): 129–143. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0783-y> EDN: ESZFHU
- Lee E.-J., Kim H., Lee J.Y., Ramachandraiah K., Hong G.-P. (2020) β -Cyclodextrin-mediated beany flavor masking and textural modification of an isolated soy protein-based yuba film. *Foods*. **9**(6): 818. <https://doi.org/10.3390/foods9060818> EDN: POUXNT
- Lim C.H., Rasti B., Sulistyo J., Hamid M.A. (2021) Comprehensive study on transglycosylation of CGTase from various sources. *Heliyon*. **7**(2): e06305. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06305> EDN: JLVMUZ
- Linde G.A., Junior A.L., Faria E.V. de, Colauto N.B., Moraes F.F. de, Zanin G.M. (2009) Taste modification of amino acids and protein hydrolysate by α -cyclodextrin. *Food Research International*. **42**(7): 814–818. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.016>
- Matencio A., Navarro-Orcajada S., García-Carmona F., López-Nicolás J.M. (2020) Applications of cyclodextrins in food science. A review. *Trends in Food Science & Technology*. **104**: 132–143. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.009> EDN: ERXRUM
- Morillo E., Madrid F., Lara-Moreno A., Villaverde J. (2020) Soil bioremediation by cyclodextrins. A review. *International Journal of Pharmaceutics*. **591**: 119943. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119943> EDN: CHPVWN
- Morin-Crini N., Fourmentin S., Fenyvesi É., Lichtfouse E., Torri G., Fourmentin M., Crini G. (2021) 130 years of cyclodextrin discovery for health, food, agriculture, and the industry: A review. *Environmental Chemistry Letters*. **19**(3): 2581–2617. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01156-w> EDN: DATSGS
- Musuc A.M. (2024) Cyclodextrins: Advances in chemistry, toxicology, and multifaceted applications. *Molecules*. **29**(22): 5319. <https://doi.org/10.3390/molecules29225319> EDN: IEXIMB
- Na H.-S., Kim J.-N., Kim J.-M., Lee K.-Y. (2011) Encapsulation of fish oil using cyclodextrin and whey protein concentrate. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. **16**(6): 1077–1082. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0099-2> EDN: QZSKTF
- Nguyen T.V.A., Yoshii H. (2018) Release behavior of allyl sulfide from cyclodextrin inclusion complex of allyl sulfide under different storage conditions. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **82**(5): 848–855. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1440173>
- Pardhi D.S., Rabadiya K.J., Panchal R.R., Raval V.H., Joshi R.G., Rajput K.N. (2023) Cyclodextrin glucanotransferase: fundamentals and biotechnological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **107**(19): 5899–5907. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12708-9> EDN: GVNIFY
- Poulson B.G., Alsulami Q.A., Sharfaldin A., El Agammy Emam.F., Mouffouk F., Emwas A.-H., Jaremko L., Jaremko M. (2022) Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications. *Polysaccharides*. **3**(1): 1–31. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010001> EDN: DMIZDK
- Rabadiya K., Pardhi D., Thaker K., Patoliya J., Rajput K., Joshi R. (2024) A review on recent upgradation and strategies to enhance cyclodextrin glucanotransferase properties for its applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. **259**: 129315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129315> EDN: JPTDVI
- Rho S.-J., Mun S., Park J., Kim Y.-R. (2021) Retarding oxidative and enzymatic degradation of phenolic compounds using large-ring cycloamylose. *Foods*. **10**(7): 1457. <https://doi.org/10.3390/foods10071457> EDN: QSANUC
- Saffarionpour S. (2026) Cyclodextrins as supramolecular agents for enhancing the separation performance of deep eutectic solvents: An overview of food and pharmaceutical applications. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. **106**(1–2): 65–93. <https://doi.org/10.1007/s10847-025-01323-y> EDN: VLFMNB
- Sun N., Zhang M., Zhu W., Song P., Dai T., Huang P., Han Z., Wang D. (2023) Allyl isothiocyanate dry powder inhaler based on cyclodextrin-metal organic frameworks for pulmonary delivery. *iScience*. **26**(1): 105910. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105910> EDN: ZORPHI
- Tamamoto L.C., Schmidt S.J., Lee S. (2010) Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents. *Journal of Food Science*. **75**(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01749.x>
- Tian B., Xiao D., Hei T., Ping R., Hua S., Liu J. (2020) The application and prospects of cyclodextrin inclusion complexes and polymers in the food industry: A review. *Polymer International*. **69**(7): 597–603. <https://doi.org/10.1002/pi.5992> EDN: JGAGOW

- Urooj T., Mishra M., Pandey S. (2024) Unlocking environmental solutions: a review of cyclodextrins in pollutant removal. *Discover Environment*. 2(1): 65. <https://doi.org/10.1007/s44274-024-00090-w> EDN: EGSNTP
- Viernstein H., Wolschann P. (2020) Cyclodextrin inclusion complexation and pharmaceutical applications. *ScienceAsia*. 46(3): 254. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2020.048> EDN: XFELAP
- Wang C., Wang C., Gao F., Xu Y., Guo M. (2018) Effects of polymerized whey protein on goaty flavor and texture properties of fermented goat milk in comparison with β -cyclodextrin. *Journal of Dairy Research*. 85(4): 465–471. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000742>
- Xu X., Peng S., Bao G., Zhang H., Yin C. (2021) β -cyclodextrin inclusion complexes with vitamin A and its esters: A comparative experimental and molecular modeling study. *Journal of Molecular Structure*. 1223: 129001. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129001> EDN: YPUQCI
- Yang L., Cai J., Qian H., Li Y., Zhang H., Qi X., Wang L., Cao G. (2022) Effect of cyclodextrin glucosyltransferase extracted from *Bacillus xiaoxiensis* on wheat dough and bread properties. *Frontiers in Nutrition*. 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1026678> EDN: HEVOUS
- Yang X., Yang F., Liu Y., Li J., Song H. (2020) Off-flavor removal from thermal-treated watermelon juice by adsorbent treatment with β -cyclodextrin, xanthan gum, carboxymethyl cellulose sodium, and sugar/acid. *LWT*. 131: 109775. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109775> EDN: WRAAOD
- Zhou J., Ke Y., Barba F.J., Xiao S., Hu X., Qin X., Ding W., Lyu Q., Wang X., Liu G. (2019a) The addition of α -cyclodextrin and γ -cyclodextrin affect quality of dough and prebaked bread during frozen storage. *Foods*. 8(5): 174. <https://doi.org/10.3390/foods8050174>
- Zhou J., Yang H., Qin X., Hu X., Liu G., Wang X. (2019b) Effect of β -cyclodextrin on the quality of wheat flour dough and prebaked bread. *Food Biophysics*. 14(2): 173–181. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09566-2> EDN: WGHQGD

Цитировать как

Романов А.С. (2026). Истоки применения циклодекстринов в качестве полифункциональной пищевой добавки. *Экобиотех.* 9(3): 397-406.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-30>
EDN: <https://www.elibrary.ru/ohooci>

Сведения об авторах

Александр Сергеевич Романов, д.т.н., проф., заведующий кафедрой пищевых производств, Международная промышленная академия, Москва, Россия. E mail: romanov@grainfood.ru, SPIN: 9687-5460, ORCID: 0000-0003-3881-0255.

Cited as

Romanov A.S. (2026). The origins of use of cyclodextrins as a multifunctional food additive. *Ecobiotech*. 9(3): 397-406.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-30>
EDN: <https://www.elibrary.ru/ohooci>

Information About the Authors

Alexander S. Romanov, Dr in Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Food Production, International Industrial Academy, Moscow, Russia. E mail: romanov@grainfood.ru, SPIN: 9687-5460, ORCID: 0000-0003-3881-0255.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 577.2



ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ | REVIEW ARTICLE

ХИМЕРЫ И МУТАНТЫ ЦГТАЗ С ПРИЦЕЛОМ НА СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПРОДУКЦИИ γ -ЦИКЛОДЕКСТРИНА

Баймиев Ан.Х., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук,
Уфа, Россия

*E-mail: baymiev@anrb.ru

CHIMERAS AND CGTASES MUTANTS WITH A FOCUS ON THE SPECIFICITY OF γ -CYCLODEXTRIN PRODUCTION

Baymiev An.Kh., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research
Center of Russian Academy of Sciences,
Ufa, Russia

*E-mail: baymiev@anrb.ru

Аннотация

За 135 лет изучения циклодекстринов и всего что с ними связано сделано очень много. Циклодекстрины представляют собой кольцевые молекулы из остатков глюкозы, образующиеся при ферментативной конверсии крахмала и формирующие тороидальные структуры с гидрофобной внутренней полостью и гидрофильной поверхностью, что позволяет им образовывать комплексы включения с целым рядом соединений. Поскольку с циклодекстринами неразрывно связаны бактериальные ферменты их продуцирующие, а именно циклодекстрин глюканотрансферазы (ЦГТазы), то можно считать, что 40 лет назад, когда были клонированы и секвенированы первые гены этих ферментов, начался новый молекулярно-биологический период их изучения. Это позволило выяснить доменную организацию ЦГТаз и выявить на аминокислотном уровне отличия между α -, β - и γ -специфичными ЦГТазами так как эти ферменты обычно продуцируют смесь разных циклодекстринов, состоящих из 6 (CD6), 7 (CD7) и 8 (CD8) остатков глюкопиранозы. При этом большинством ЦГТаз γ -циклодекстрин образуется фактически «по остаточному принципу» и из-за этого в количественном отношении он сильно уступает своим «собратьям». Однако γ -циклодекстрин представляет особый интерес, поскольку имеет внутреннюю полость большего размера и, следовательно может включать более крупные «гостевые» молекулы. С целью увеличить выход γ -циклодекстрина созданы различные химеры и мутанты ЦГТаз, что явилось предметом рассмотрения в данной статье. Также уделено внимание прогнозам мирового производства циклодекстринов, включая γ -циклодекстрин. Упомянуты и циклодекстрины с большим чем 8 числом остатков глюкозы.

Ключевые слова:

Циклодекстрин, γ -циклодекстрин, циклодекстрин
глюканотрансфераза, ЦГТаз, ген, химеры, мутанты

Поступила в редакцию: 05.08.2026

Принято в печать: 14.09.2026

Abstract

Much has been achieved in the 135-year history of cyclodextrin research and all that goes with it. Cyclodextrins are ring-shaped molecules composed of glucose residues produced by the enzymatic transformation of starch and have toroidal structures with a hydrophobic cavity and a hydrophilic surface that allow them to form inclusion complexes with a broad range of compounds. As the bacterial enzymes that produce cyclodextrins, specifically cyclodextrin glucanotransferases (CGTases), are inextricably linked to cyclodextrins, the new molecular biological period of their research began 40 years ago, when the first genes of these enzymes were cloned and sequenced. This allowed the differences between α -, β -, and γ -CGTases at the amino acid level, to be identified, since these enzymes normally produce a mixture of different cyclodextrins composed of 6, 7 and 8 glucosylpyranose residues. Most CGTases produce γ -cyclodextrin in less quantity than their counterparts. However, γ -cyclodextrin has a larger internal cavity and may therefore contain larger "guest" molecules. Various chimeras and mutants of CGTases have been developed to increase the yield of γ -cyclodextrin. The article also focuses at the worldwide production of cyclodextrins. Cyclodextrins with more than 8 glucose residues are also listed.

Keywords:

Cyclodextrin, γ cyclodextrin, cyclodextrin
glucanotransferase, CGT-ase, gene, chimeras, mutants

Received: 05.08.2026

Accepted: 14.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-31> EDN: <https://www.elibrary.ru/ryrtwd>

ВВЕДЕНИЕ

В 2026 г. исполняется 135 лет с момента первого обнаружения уникальных природных соединений в виде кольцевых молекул из небольшого числа остатков глюкозы – циклодекстринов (ЦД), которые, впрочем, получили это свое название только в начале 1960-х гг., а до этого они носили разные обозначения. В весьма подробных обзорах французских авторов, посвященных, в том числе 120-ти и 130-летию открытия циклодекстринов, очень детально изложена история обнаружения и исследования этих природных молекул, включая вклад разных экспериментаторов [Crini 2014; Morin-Crini *et al.* 2021]. При этом теми авторами выделено пять периодов изучения циклодекстринов непосредственно как отдельных молекул из шести, семи и восьми углеводных остатков, получивших обозначения как α - (CD6), β - (CD7) и γ - (CD8) циклодекстрины соответственно. Текущий период изучения ЦД, по их мнению, начался с 1970 г., но после этого произошли важные события в первую очередь в молекулярной биологии, что требует пересмотра последнего периода. Так, ЦД неразрывно связаны с ферментом их продуцирующим, названным как циклодекстринглюканотрансфераза (ЦГТаз), хотя нужно заметить, что это обозначение для него не единственное и существуют иные похожие тривиальные варианты. Но дело не в разных названиях данного фермента, а в том, что, на наш взгляд, необходимо выделить еще один важный период, начавшийся, когда впервые были клонированы и секвенированы гены ЦГТаз из *Bacillus macerans* [Takano *et al.* 1986] и *Klebsiella pneumoniae* [Binder *et al.* 1986]. И эти события случились 40 лет назад, что тоже можно считать некой юбилейной датой.

Вслед за первыми клонированными генами ЦГТаз последовали другие, что дало возможность понять, в том числе доменное устройство этих ферментов, а также в результате секвенирования ДНК вывести их аминокислотные последовательности и сравнить таковые для различных ЦГТаз, характеризующихся разными специфичностями действия при конверсии крахмала, поскольку один и тот же фермент, не обладая строгой специфичностью, продуцирует смесь из α -, β - и γ -ЦД, представленных для разных ЦГТаз в различных пропорциях. Тем не менее, как правило, один из циклодекстринов в итоговой смеси превалирует, что дает основание подразделять эти ферменты на α -, β - и γ -ЦГТазы. И такую неспецифику действия фермента можно считать его серьезным недостатком так как разделять циклодекстрины после окончания реакции на отдельные типы все же не совсем просто и поэтому желательно иметь ЦГТазы с четко выраженной специфичностью образования конкретных типов циклодекстринов. При этом, γ -ЦД для большинства ферментов образуется что называется «по остаточному принципу», приводя к резкому его удорожанию. И это при многих преимуществах данного типа циклодекстрина. Выход видится как в поиске новых микроорганизмов - носителей γ -специфичных ЦГТаз, так и в искусственном создании генно-инженерным путем химерных и мутантных форм этих ферментов, ориентированных на продукцию γ -ЦД. Причем первое не исключает второе и наоборот.

Авторы данной статьи имеют довольно давний интерес к ЦГТазам, возникший благодаря нашему коллеге Н.Г. Усанову, вместе с которым опубликовали серию статей, посвященных клонированию и секвенированию генов α - и β -ЦГТаз из двух видов бацилл, а также анализу как их нуклеотидных последовательностей, так и аминокислотных у кодируемых ими белков [Вахитов *и др.* 1999; Чемерис *и др.* 1999; Бикбулатова *и др.* 2000]. Не так давно нами был подготовлен обзор, в котором основное внимание было уделено генной инженерии ЦГТаз [Баймиев *и др.* 2021]. Нынешняя публикация служит неким продолжением предыдущей, но в ней основной акцент сделан на химерных и мутантных ферментах, обеспечивающих увеличенный выход γ -ЦД, не затрагивая при этом различные способы повышения выхода γ -ЦД путем добавления в реакционную смесь прочих ферментов и/или некоторых прочих компонентов. Остались без внимания публикации, в которых сообщается о произведенных мутациях: а) обеспечивающих оптимизацию кодонов для гетерологичной экспрессии; б) приведших к повышению термостабильности ЦГТаз; в) к увеличенному оптимуму диапазона pH; г) к лучшей секреции фермента в культуральную среду. За небольшим исключением не коснулись циклодекстринов с большим, чем 8 числом углеводных остатков (δ -ЦД, ϵ -ЦД, ξ -ЦД, η -ЦД или CD9, CD10, CD11, CD12), которых в ходе конверсии крахмала под действием любых ЦГТаз образуется ничтожно мало или бывает не образуется совсем.

Родовые названия микроорганизмов приводятся как они указаны в оригинальных статьях.

γ -циклодекстрин

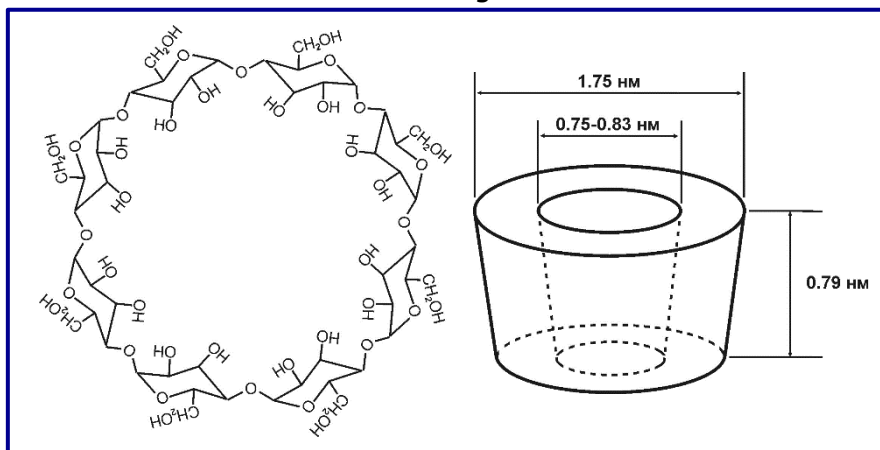
Поскольку основное внимание в данной статье уделено вопросам повышения выхода γ -циклодекстрина, то на нем необходимо остановиться чуть подробнее. Причем для полноты картины это делается в сравнении с α - и β -ЦД.

Итак, γ -ЦД был обнаружен только в 1948 г. [Freudenberg, Cramer, 1948], тогда как его «собратья» в виде α - и β -ЦД были известны уже задолго до этого как декстрины Шардингера, который сам в 1911 г. обозвал их кристаллическими α - и β -декстринами, предположив, что они имеют кольцевую структуру [Schardinger 1911], что нашло экспериментальное подтверждение только спустя более трех десятков лет.

В молекуле циклодекстринов остатки D-(+)-глюкопиранозы соединены между собой α -1,4-связями и находятся в классической конформации в виде кресла, что придает им тороидальную форму обрубленного конуса (рис. 1.).

Рисунок 1. Структурная формула γ -циклодекстрина и его тороидальная форма. Размеры приведены в нм

Figure 1. The structural formula of γ -cyclodextrin and its toroidal shape. The dimensions are given in nm



Внутренняя полость циклодекстриновых молекул выстлана водородными атомами и гликозидными кислородными мостиками и оказывается довольно гидрофобной, тогда как внешняя поверхность является вполне гидрофильной. Благодаря таким особенностям циклодекстрины способны образовывать комплексы включения с различными гидрофобными соединениями, обеспечивая их условную растворимость в воде. Причем чем больше полость – тем крупнее молекулы она может в себя вмещать, и это часто оказывается весьма важным. Так, объем полости γ -ЦД составляет $427 \text{ \AA}^3$, тогда как у β - и α -ЦД они заметно меньше – 262 и 174 кубических Ангстрема соответственно. При этом растворимость γ -ЦД в воде при 25°C (% в/о) равна 23.2, а для α -ЦД она составляет 14.5 и еще меньше для β -ЦД – всего 1.85. Весьма важным моментом является также то, что γ -ЦД гораздо легче разрушается амилазой слюны и панкреатической амилазой человека, что делает его более удобным для применения в медицинских целях в виде комплексов включения с лекарственными препаратами.

Помимо фармацевтики, циклодекстрины, включая γ -ЦД, находят широкое применение и в других отраслях промышленности - косметической, пищевой. В частности, β -ЦД зарегистрирован в качестве пищевой добавки E459. Растет интерес к циклодекстринам и в том числе к γ -ЦД для использования при разделении энантиомеров широкого ряда хиральных соединений. В литературе имеются многочисленные обзоры, посвященные применению циклодекстринов на практике, но укажем лишь некоторые [Buschmann, Schollmeyer 2002; Del Valle 2004; Li et al. 2007; Sonnendecker et al. 2019b; Napiórkowska, Szeleszczuk 2024; Abd Alhussein, Abd Al-Manhel 2025].

Доменная организация ЦГТаз и их ферментативные действия

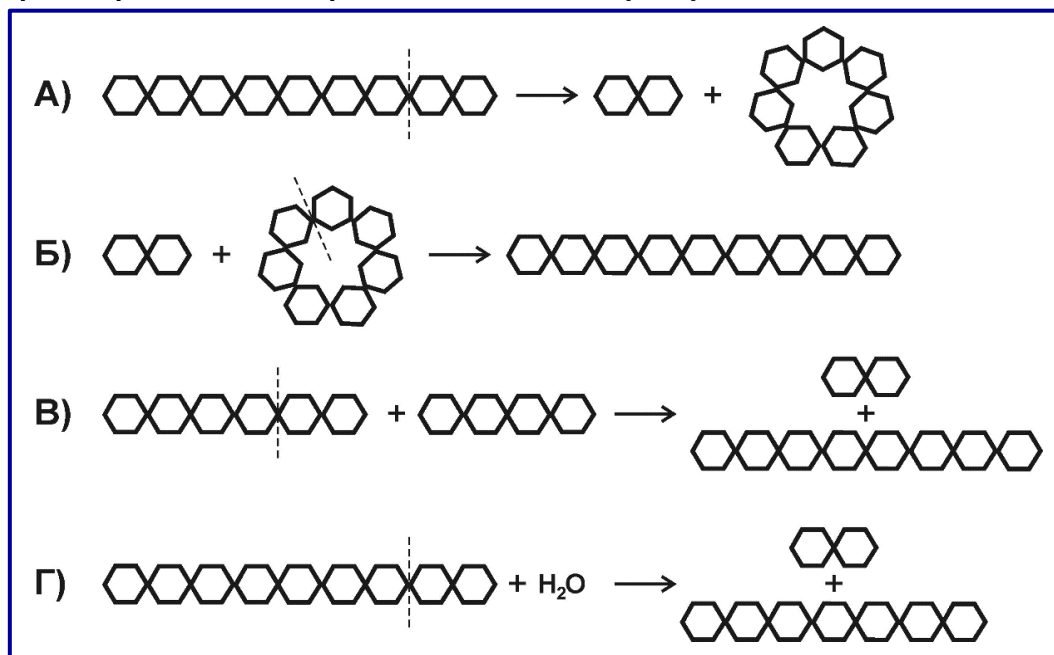
ЦГТаза принадлежит к суперсемейству гликозидгидролаз (GH13), воздействующих на крахмал и на схожие с ним углеводные биополимеры. При этом ЦГТаза относится к трансферазной группе ферментов (EC 2.4.1.19) и является по сути гексозилтрансферазой. Более точным названием этого фермента будет 1,4- α -D-глюкан 4- α -D-(1,4- α -D-глюкано) трансфераза (циклизующая).

ЦГТаза осуществляет три типа трансгликозилазных реакций: а) циклизации (интрамолекулярная); б) присоединения; в) диспропорционирования (обе интермолекулярные). Наиболее важной и уникальной является реакция циклизации, благодаря которой и образуются циклодекстрины. Еще один тип реакции - г) в виде гидролиза крахмала у ЦГТаз выражен крайне слабо. Все эти реакции обратимы и идут одновременно, приводя к наработке как кольцевых, так и

линейных олигосахаридов. Причем с течением времени типы образующихся продуктов несколько меняются в количественном и качественном отношениях.

Рисунок 2. Ферментативные реакции ЦГТаз. А – циклизация, Б – присоединение, В – диспропорционирование, Г – гидролиз

Figure 2. Enzymatic reactions of CGTases. А – cyclization, Б – coupling, В – disproportionation, Г – hydrolysis



Молекулярный вес ЦГТаз варьирует от 33 до 110 кДа. Большинство ЦГТаз состоят из пяти доменов: А, В, С, D и Е, причем А домен доменом В подразделяется на два субдомена А1 и А2 (рис. 3).

Рисунок 3. Доменная организация ЦГТаз

Figure 3. Domain organization of CGTases



Однако ЦГТазы из грамотрицательных бактерий рода *Klebsiella* имеют только четыре домена - у них отсутствует домен D, функция которого в целом для всех имеющих его ЦГТаз остается до сих пор до конца неясной. Домены А и В отвечают за специфичность действия ЦГТаз. Причем нужно заметить, что не так давно стали известны ЦГТазы, имеющие только три домена А, В и С [Centeno-Leija *et al.* 2022], что характерно для других крахмал-гидролизующих ферментов, а именно амилаз.

Что касается протяженности доменов и субдоменов у грамположительных бациллярных ЦГТаз, то они для ферментов из разных штаммов и видов имеют схожие размеры. Так, в частности, секвенированный нами ген β -ЦГТазы штамма *Bacillus sp.* 6.6.3 [Вахитов и др. 1999] содержит кодирующую область протяженностью 2154 п.н., соответствующую 718 аминокислотным остаткам, которые по доменам и субдоменам распределены (без лидерного пептида) следующим образом: А1 - 138 аминокислотных остатков, В - 64, А2 - 204, С - 88, D - 86, Е - 104 аминокислотных остатка.

Особый интерес представляют отличия аминокислотных последовательностей ЦГТаз с различными специфичностями ферментативного действия, чего кратко коснемся ниже.

Химерные формы ЦГТаз

Под химерами ЦГТаз понимаются искусственно созданные ферменты, объединившие в себе участки из разных их генов. Так, впервые 12 химер были получены японскими авторами еще в 1989 г. на основе двух генов ЦГТаз из алкалофильных штаммов путем объединения различных рестрикционных фрагментов [Kaneko *et al.* 1989]. Но в той работе внимания специфичности действия этих химер не уделялось, поскольку авторы акцентировали внимание на термостабильности ферментов и оптимуме pH реакционной среды. Впоследствии создано немало химер как таким же подходом, так и с помощью склонной к ошибкам ПЦР, ПЦР

с мегапраймерами, ДНК-шафплингом, однако приведем лишь публикации, имеющие отношение к теме данной статьи.

В одной из работ на уровне генов с помощью перекрывающей ПЦР было произведено объединение ЦГТазы *Geobacillus* sp. с углевод-связывающим модулем (доменом E) ЦГТазы *B. circulans* штамма 251, создав конструкцию CGTΔE-CBM_{bc251} [Jia et al. 2017]. В итоге по сравнению с α -специфичной ЦГТазой дикого штамма *Geobacillus* sp., нарабатывающей около 10% γ -ЦД, созданная химера увеличила его выход до 19%.

Другими авторами ДНК-шафплингом с помощью мегапраймерного подхода создан ряд химерных ЦГТаз на основе α/β -специфичного фермента *G. stearothermophilus* и γ -специфичной ЦГТазы *Bacillus* sp. штамма G-825-6 [Sonnendecker, Zimmermann 2019]. Для некоторых конструкций наблюдалось полное подавление синтеза α -ЦД, а один вариант был склонен к наработке циклодекстринов с большими размерами колец вплоть до CD9–CD12, увеличив их количества в 1.8–2.3 раза по сравнению с исходными штаммами, где они образовывались в крохотных количествах.

Мутанты ЦГТаз

К настоящему времени с помощью сайт-направленного мутагенеза создано большое количество мутантов ЦГТаз. В 1992 г. впервые был получен ряд мутантов α -специфичной ЦГТазы из *B. stearothermophilus* и показано, что замена F191Y и двойная замена F191Y-F255Y приводят к увеличенной наработке α -ЦД по сравнению с диким типом [Fujiwara et al. 1992]. Однако, как и в случае с химерами здесь коснемся лишь мутантов, повлиявших на продукцию γ -ЦД с соблюдением хронологии.

Итак, в 1994 г. в ЦГТазе из *B. ohbensis* тирозин в 188 положении был заменен на все остальные 19 аминокислот и вариант Y188W обеспечил двукратное увеличение продукции γ -циклодекстрина, достигшее 15% [Sin et al. 1994]. В следующем году в ЦГТазе из *B. circulans* штамма 251 тирозин в 195 положении был заменен либо на фенилаланин, триптофан, лейцин или глицин, что в целом привело к увеличению выхода линейных олигосахаридов [Penninga et al. 1995]. При этом для эффективной циклизации была обнаружена важность присутствия в данной позиции ароматических аминокислот тирозина или фенилаланина. Не менее интересный результат был выявлен с заменой Y195L, обеспечившей наработку хотя и в крайне малых количествах δ -, ϵ -, ξ - и η -ЦД.

Мутация D371R в ЦГТазе из *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* усилила продукцию β - и γ -циклодекстринов [Wind et al. 1998]. В этой же работе был произведен еще ряд мутаций, среди которых замена D197H привела к увеличению количества α -циклодекстрина. В том же году получилось заметно увеличить продукцию γ -циклодекстрина за счет ряда мутаций в ЦГТазе из *B. circulans* штамма 8 [Parsieglä et al. 1998]. Если дикий штамм продуцировал α -, β - и γ -ЦД в пропорции - 10:64:20, то мутант Y195W дал другое соотношение – 5:35:50, а вариант с делецией ряда аминокислот $\Delta(145-153)$ D также показал увеличение наработки γ -ЦД – 6:54:40.

С помощью сайт-направленного мутагенеза в ЦГТазе из термофильной археи *Thermococcus* sp. штамма B1001 произведен ряд замен аминокислот, среди которых вариант Y267W обеспечил продукцию β - и γ -ЦД в большем количестве нежели дикий штамм [Yamamoto et al. 2000]. Хотя авторы не привели конкретных цифр, тем не менее из приведенного рисунка можно видеть, что дикий штамм продуцировал около 85% α -циклодекстрина и приблизительно по 7% β - и γ -ЦД, то данный мутант их доли увеличил раза в два для β - и γ -типов.

Сайт-направленный мутагенез и без того γ -специфичной ЦГТазы из *B. clarkii* штамма 7364 и с полным отсутствием α -ЦД привел к замене аминокислот аланина и глицина в 223 и 255 положениях соответственно на ряд аминокислот и в одном из вариантов A223R еще более увеличился «отрыв» γ -ЦД от β -ЦД.

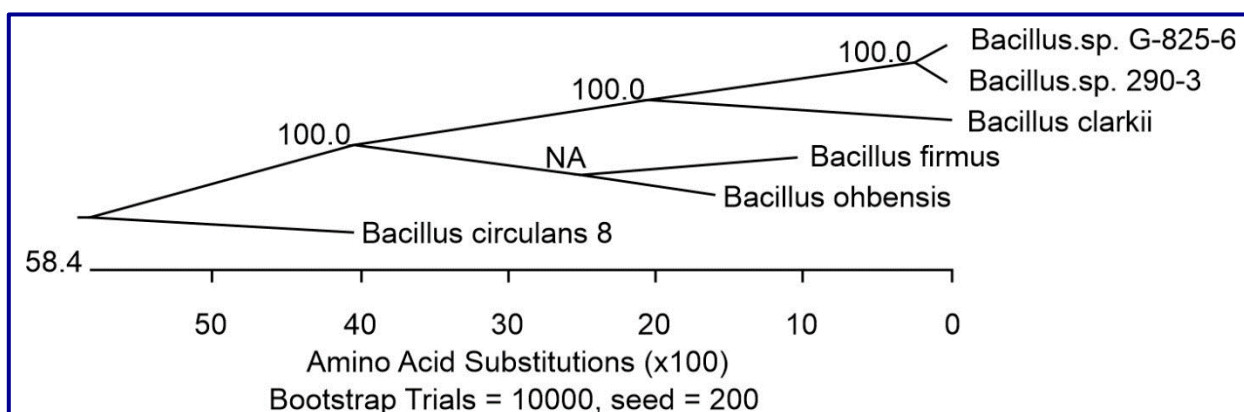
Весьма интересен результат мутагенеза α -специфичной ЦГТазы из *Paenibacillus* sp. штамма 602-1, где благодаря замене Y195R фермент стал продуцировать до 50% γ -ЦД, а на долю α -ЦД пришлось лишь 35% [Xie et al. 2014b]. Теми же авторами был получен до некоторой степени схожий результат, производя в том же положении замену тирозина на изолейцин Y195I и получив увеличение продукции γ -ЦД в 3–4 раза [Xie et al. 2014a; Chen et al. 2015].

Мутагенез ЦГТазы *Bacillus* sp. штамма G-825-6 привел к тому, что мутант Y183W продуцировал преимущественно γ -ЦД, мутант D358R и двойной мутант Y183W/D358R продемонстрировали накопление циклодекстринов CD8–CD12 в довольно ощутимых количествах [Sonnendecker et al. 2019a].

Проведенное нами с помощью программы MegAlign из пакета LaserGene фирмы DNASTar, Inc. (США) выравнивание аминокислотных последовательностей некоторых γ -специфичных ЦГтаз, в том числе подвергнутых мутагенезу и построенное филогенетическое древо (рис. 4) позволяет видеть их определенное родство. В качестве внешней группы была взята β -специфичная ЦГтаза *B. circulans* штамма 8, довольно далеко от других ЦГтаз отстоящая. При этом *B. firmus* и *B. ohlbensis* формируют отдельную кладу, являясь до некоторой степени β/γ -ЦГтазами.

Рисунок 4. Филогенетическое древо γ -ЦГТаз, построенное на основе их аминокислотных последовательностей. *Bacillus* sp. 290-3 (A18991), *Bacillus* G-825-6 (AB201304), *B. clarkii* (AB082929), *B. firmus* (KF270899), *B. ohlbensis* (D90243). β -специфичная ЦГТаза *B. circulans* штамма 8 (X68326) взята в качестве внешнего штама

Figure 4. Phylogenetic tree of γ -CGTases based on their amino acid sequences. *Bacillus* sp. 290-3 (A18991), *Bacillus* G-825-6 (AB201304), *B. clarkii* (AB082929), *Bacillus firmus* (KF270899), *B. ohlbensis* (D90243). β -specific CGTase of *B. circulans* strain 8 (X68326) was taken as an outgroup

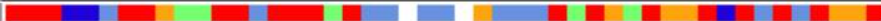


При сравнении аминокислотных последовательностей данных ЦГТаз обращают на себя внимание две делеции аминокислот у ярко выраженных γ -ЦГТаз в то время как у β -ЦГТазы *B. circulans* в этих местах имеются вставки аминокислот GVT и PAMETD, а у занимающих некое промежуточное положение ЦГТаз *B. firmus* и *B. ohbensis* последний участок присутствует, но несколько изменен.

Рисунок 5. Фрагменты аминокислотных последовательностей ряда γ - и β/γ -ЦГТаз в сравнении с β -специфичной ЦГТазой *B. Circulans* 8.

Figure 5. Fragments of amino acid sequences of a number of γ - and β/γ -CGTases in comparison with β -specific CGTase *B. circulans* 8.

Sequence Name	< Pos = 113
 Consensus	
6 Sequences	
<i>B. clarkii</i> .pro	GITALWISQPVENVFALHPPGG---FTSYHGYWARDFKKTNP
<i>B. firmus</i> .pro	GITALWISQPVENVYALHPSG---YTSYHGYWARDYKKTNP
<i>B. ohbensis</i> .pro	GITAIWISQPVENVYALHPSG---YTSYHGYWARDYKRTNP
<i>B. sp.</i> 290-3.pro	GITAIWISPPPIENVMEHLHPPGG---FASYHGYWGRDFKRTNP
<i>Bacillus</i> G-825-6.pro	GITAIWISPPPIENVMEHLHPPGG---FASYHGYWGRDFKRTNP
<i>B. circulans</i> 8.pro	GVTALWISQPVENIFATINYSGVTNTAYHGYWARDFKKTNP

Sequence Name	< Pos = 167
 Consensus	
6 Sequences	
<i>B. clarkii</i> .pro	TAHAHDIKVVIDFVPNHTS-----PVDIEDGALYDNGTLLGHYSTD.
<i>B. firmus</i> .pro	TAHSNGIKVIMDFTPNNHSSPALETNPNYVENGAIYDNGALLGNYSND.
<i>B. ohbensis</i> .pro	TAHSNGIKVIMDFTPNNHSSPALETDPSEAENGAVYNDGVLIGNYSND.
<i>B. sp.</i> 290-3.pro	TAHNHDIKVVIDFVPNHTS-----PVDIENGALYDNGRLVGHYSD.
<i>Bacillus</i> G-825-6.pro	TAHNYDIKVVIDFVPNHTS-----PVDIEDGALYDNGRLVGHYSD.
<i>B. circulans</i> 8.pro	TAHAKGIKIVIDFAPNHTSPAMETDTSFAENGRLYDNGTLVGGYTND.

Данные отличия приходится на А и В домены ЦГТаз, отвечающие за специфичность образования разных типов циклодекстринов при конверсии крахмала. Но чтобы лучше понимать влияние этих и других аминокислот необходимо проводить дальнейший мутагенез и следить за изменением образующихся циклодекстринов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как уже говорилось выше, циклодекстрины имеют широкий спектр применений в различных отраслях промышленности. Ныне их годовое производство оценивается в 15-20 тысяч тонн и оно с каждым годом растет. В этой связи определенный интерес представляют тенденции мирового рынка циклодекстринов и прогнозы его развития. Поскольку на этот счет данные даже прошедшего времени весьма сильно различаются, то стоит привести некие граничные значения. Так, по одним данным мировой рынок циклодекстринов в 2023-2024 гг. оценивался в 289 или 355 млн. долларов и с CAGR 3.1% либо 3.3% он должен вырасти к 2032-2033 гг. до 388 млн. или 453 млн. долларов. При этом, по другим сведениям, размер рынка в 2024 г. был уже 1.5 млрд., а в 2026 г. должен достичь 2.0 млрд. и при CAGR 7.5% в 2033 г. составить 2.5 млрд. долларов. Истина, как известно, всегда лежит где-то посередине и поэтому можно допустить, что нынешний рынок циклодекстринов в мире все же не дотягивает до 1 млрд. долларов, а до сколько он вырастет это будет зависеть от разных причин, одна из которых заключается в сильной конкуренции со стороны альтернативных вариантов инкапсулирования в виде использования полимерных носителей, наноэмульсий, липосом, а также применения других подобных технологий. Авторы того прогноза сделали вывод, что для преодоления этой проблемы необходимы постоянные инновации в производстве циклодекстринов для снижения производственных затрат с чем нельзя не согласиться. И здесь новые ферменты с улучшенной специфичностью по отношению к типу конкретного циклодекстрина могут сыграть важную роль.

Вообще мировой рынок по типу продукта сегментируется на α -ЦД, β -ЦД, γ -ЦД и производные циклодекстринов. Причем именно для последнего сегмента прогнозируется наибольший рост, что вполне ожидаемо так как различные модификации циклодекстринов заметно расширяют спектр их использования. Но при этом такие производные в свою очередь неизбежно подразделяются на α -, β - и γ -ЦД. Считается, что в 2024 г. сегмент β -ЦД занимал 67.2% благодаря своей доступности, экономической эффективности и универсальным возможностям включения. По другим данным сегменты α -, β - и γ -ЦД в 2025 г. составили около 27%, 52% и 21% соответственно. Собственно такое же соотношение ожидается, что будет к 2033 г., но это, если только не произойдет качественный рост в способах получения имеющего неоспоримые преимущества по образованию комплексов включения с широким рядом веществ различной природы γ -ЦД, пока остающимся сильно дорогим. Однако для этого нужно искать новые продуценты γ -ЦГТаз или скорее совершенствовать известные ЦГТазы генно-инженерным путем, досконально разобравшись в механизмах преимущественной выработки γ -ЦД.

Что касается циклодекстринов с еще большим числом глюкopiранозных остатков в кольцевой молекуле вместо тора имеющих эллипсо-подобные формы (CD9, CD10, CD11, CD12), обладающих определенными преимуществами для различных отраслей промышленности, то ввиду дороговизны их выработки, говорить об рынке таких циклодекстринов пока рано, однако не так давно сообщено об удобном способе получения дельта-циклодекстрина CD9 с весьма высоким выходом [Erichsen et al. 2023; Hansen et al. 2025], что можно считать «первыми ласточками» в данном направлении. Но этим вопросам должен быть посвящен отдельный обзор.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баймиев Ан.Х., Гильванова Е.А., Мильман П.Ю., Матниязов Р.Т., Баймиев Ал.Х. (2021) Генно-инженерные цикломальтодекстринглюканотрансферазы. *Biomics*. **13**(2): 138–152. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2021-10> EDN: GOMMXP
- Бикбулатова С.М., Чемерис А.В., Усанов Н.Г., Вахитов В.А. (2000) Установление филогенетического родства различных видов и штаммов микроорганизмов - продуцентов ЦГТаз на основе сравнительного анализа их аминокислотных последовательностей. *Микробиология*. **69**(5): 686–693. EDN: MPGKMT

- Вахитов В.А., Ахметзянов А.А., Бикбулатова С.М., Усанов Н.Г., Чемерис А.В. (1999) Молекулярное клонирование, определение нуклеотидной последовательности гена бета-циклодекстринглюканотрансферазы *Bacillus* sp. штамма 6.6.3 и ее сравнительный анализ. *Биотехнология*. **1**: 3–10.
- Чемерис А.В., Бикбулатова С.М., Усанов Н.Г., Вахитов В.А. (1999) Молекулярное клонирование, определение нуклеотидной последовательности гена циклодекстринглюканотрансферазы *Paenibacillus macerans* штамма ИБ-7 и сравнительный анализ первичной структуры альфа- и бета-ЦГТаз. *Биотехнология*. **6**: 11–18.
- Abd Alhussein H.A., Abd Al-Manhel A.J. (2025) A comprehensive overview of cyclodextrins in terms of production, properties, and applications. *Food systems*. **8**(2): 196–203. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-196-203> EDN: EZIJCX
- Binder F., Huber O., Böck A. (1986) Cyclodextrin-glycosyltransferase from *Klebsiella pneumoniae* M5a1: cloning, nucleotide sequence and expression. *Gene*. **47**(2–3): 269–277. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(86\)90070-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(86)90070-3)
- Buschmann H.-J., Schollmeyer E. (2002) Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review. *Journal of cosmetic science*. **53**(3): 185–191.
- Centeno-Leija S., Espinosa-Barrera L., Velazquez-Cruz B., Cárdenas-Conejo Y., Virgen-Ortíz R., Valencia-Cruz G., Saenz R.A., Marín-Tovar Y., Gómez-Manzo S., Hernández-Ochoa B. et al. (2022) Mining for novel cyclomalto-dextrin glucanotransferases unravels the carbohydrate metabolism pathway via cyclodextrins in Thermoanaerobacterales. *Scientific Reports*. **12**(1): 730. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04569-x> EDN: HVNZPY
- Chen F., Xie T., Yue Y., Qian S., Chao Y., Pei J. (2015) Molecular dynamic analysis of mutant Y195I α -cyclodextrin glycosyltransferase with switched product specificity from α -cyclodextrin to γ -cyclodextrin. *Journal of Molecular Modeling*. **21**(8): 208. <https://doi.org/10.1007/s00894-015-2734-x> EDN: TUKFPC
- Crini G. (2014) Review: A history of cyclodextrins. *Chemical Reviews*. **114**(21): 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p> EDN: UURIYP
- Del Valle E.M.M. (2004) Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. **39**(9): 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Erichsen A., Peters G.H.J., Beeren S.R. (2023) Templated enzymatic synthesis of δ -cyclodextrin. *Journal of the American Chemical Society*. **145**(8): 4882–4891. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c00341> EDN: EYXUYG
- Freudenberg K., Cramer F. (1948) Notizen: Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ . *Zeitschrift für Naturforschung B*, vol. **3**, (11–12): 464–466. <https://doi.org/10.1515/znb-1948-11-1211>
- Fujiwara S., Kakiyama H., Sakaguchi K., Imanaka T. (1992) Analysis of mutations in cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus stearothermophilus* which affect cyclization characteristics and thermostability. *Journal of Bacteriology*. **174**(22): 7478–7481. <https://doi.org/10.1128/jb.174.22.7478-7481.1992>
- Hansen K.H., Erichsen A., Larsen D., Beeren S.R. (2025) Enzyme-Mediated Dynamic Combinatorial Chemistry Enables Large-Scale Synthesis of δ -Cyclodextrin. *J Am Chem Soc*. **147**(16): 13851–13858. <https://doi.org/10.1021/jacs.5c02055>
- Jia X., Guo Y., Lin X., You M., Lin C., Chen L., Chen J. (2017) Fusion of a family 20 carbohydrate-binding module (CBM20) with cyclodextrin glycosyltransferase of *Geobacillus* sp. CHB1 improves catalytic efficiency. *Journal of Basic Microbiology*. **57**(6): 471–480. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600628>
- Kaneko T., Song K.-B., Hamamoto T., Kudo T., Horikoshi K. (1989) Construction of a chimeric series of *Bacillus* cyclomalto-dextrin glucanotransferases and analysis of the thermal stabilities and pH optima of the enzymes. *Microbiology*. **135**(12): 3447–3457. <https://doi.org/10.1099/00221287-135-12-3447>
- Li Z., Wang M., Wang F., Gu Z., Du G., Wu J., Chen J. (2007) γ -Cyclodextrin: A review on enzymatic production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **77**(2): 245–255. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1166-7>
- Morin-Crini N., Fourmentin S., Fenyvesi É., Lichtfouse E., Torri G., Fourmentin M., Crini G. (2021) 130 years of cyclodextrin discovery for health, food, agriculture, and the industry: a review. *Environmental Chemistry Letters*. **19**(3): 2581–2617. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01156-w> EDN: DATSGS
- Napiórkowska E., Szeleszczuk Ł. (2024) Review of applications of β -cyclodextrin as a chiral selector for effective enantioseparation. *International Journal of Molecular Sciences*. **25**(18): 10126. <https://doi.org/10.3390/ijms251810126> EDN: MRFHZY

- Parsieglä G., Schmidt A.K., Schulz G.E. (1998) Substrate binding to a cyclodextrin glycosyltransferase and mutations increasing the γ -cyclodextrin production. *European Journal of Biochemistry*. **255**(3): 710–717. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2550710.x>
- Penninga D., Strokopytov B., Rozeboom H.J., Lawson C.L., Dijkstra B.W., Bergsma J., Dijkhuizen L. (1995) Site-directed mutations in tyrosine 195 of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 affect activity and product specificity. *Biochemistry*. **34**(10): 3368–3376. <https://doi.org/10.1021/bi00010a028>
- Schardinger F. (1911) Bildung kristallisierter polysaccharide (dextrine) aus stärkekleister durch microben. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*. **29**: 188–197.
- Sin K.-A., Nakamura A., Masaki H., Matsuura Y., Uozumi T. (1994) Replacement of an amino acid residue of cyclodextrin glucanotransferase of *Bacillus ohbensis* doubles the production of γ -cyclodextrin. *Journal of Biotechnology*. **32**(3): 283–288. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(94\)90214-3](https://doi.org/10.1016/0168-1656(94)90214-3)
- Sonnendecker C., Melzer S., Zimmermann W. (2019a) Engineered cyclodextrin glucanotransferases from *Bacillus* sp. G-825-6 produce large-ring cyclodextrins with high specificity. *MicrobiologyOpen*. **8**(6). <https://doi.org/10.1002/mbo3.757>
- Sonnendecker C., Thürmann S., Przybylski C., Zitzmann F.D., Heinke N., Krauke Y., Monks K., Robitzki A.A., Belder D., Zimmermann W. (2019b) Large-ring cyclodextrins as chiral selectors for enantiomeric pharmaceuticals. *Angewandte Chemie International Edition*. **58**(19): 6411–6414. <https://doi.org/10.1002/anie.201900911>
- Sonnendecker C., Zimmermann W. (2019) Domain shuffling of cyclodextrin glucanotransferases for tailored product specificity and thermal stability. *FEBS Open Bio*. **9**(2): 384–395. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12588> EDN: RBEQUL
- Takano T., Fukuda M., Monma M., Kobayashi S., Kainuma K., Yamane K. (1986) Molecular cloning, DNA nucleotide sequencing, and expression in *Bacillus subtilis* cells of the *Bacillus macerans* cyclodextrin glucanotransferase gene. *Journal of Bacteriology*. **166**(3): 1118–22. <https://doi.org/10.1128/jb.166.3.1118-1122.1986>
- Wind R.D., Uitdehaag J.C.M., Buitelaar R.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (1998) Engineering of cyclodextrin product specificity and pH optima of the thermostable cyclodextrin glycosyltransferase from *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1. *Journal of Biological Chemistry*. **273**(10): 5771–5779. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.10.5771>
- Xie T., Hou Y., Li D., Yue Y., Qian S., Chao Y. (2014a) Structural basis of a mutant Y195I α -cyclodextrin glycosyltransferase with switched product specificity from α -cyclodextrin to β -/ γ -cyclodextrin. *Journal of Biotechnology*. **182**–**183**: 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.03.014>
- Xie T., Song B., Yue Y., Chao Y., Qian S. (2014b) Site-saturation mutagenesis of central tyrosine 195 leading to diverse product specificities of an α -cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus* sp. 602-1. *Journal of Biotechnology*. **170**: 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.10.032>
- Yamamoto T., Fujiwara S., Tachibana Y., Takagi M., Fukui K., Imanaka T. (2000) Alteration of product specificity of cyclodextrin glucanotransferase from *Thermococcus* sp. B1001 by site-directed mutagenesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **89**(2): 206–209. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)88740-X](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)88740-X)

REFERENCES

- Baymiev An.Kh., Gilvanova E.A., Milman P.Yu., Matniyazov R.T., Baymiev Al.Kh. (2021) Genetic engineering of cyclomaltodextrin glucanotransferases. *Biomics*. **13**(2): 138–152. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2021-10> EDN: GOMMXP (in Russian)
- Bikbulatova S.M., Chemeris A.V., Vakhitov V.A., Usanov N.G. (2000) Establishment of the phylogenetic relationship between the microbial producers of cyclodextrin glucanotransferases using their complete amino acid sequences. *Mikrobiologiya*. **69**(5): 686–693. EDN: MPGKMT (in Russian)
- Vakhitov V.A., Ahmetzjanov A.A., Bikbulatova S.M., Usanov N.G., Chemeris A.V. (1999) Molecular cloning, determination of the nucleotide sequence of the gene - cyclodextringlucanotransferase *Bacillus* sp. strain 6.6.3 and its comparative analysis. *Biotehnologija*. **1**: 3–10. (in Russian)
- Chemeris A.V., Bikbulatova S.M., Usanov N.G., Vakhitov V.A. (1999) Molecular cloning, determination of the nucleotide sequence of the gene alpha-cyclodextringlucanotransferase *Paenibacillus macerans* strain IB-7 and comparative analysis of the primary structure of alpha- and beta-CGTases. *Biotehnologija*. **6**: 11–18. (in Russian)
- Abd Alhussein H.A., Abd Al-Manhel A.J. (2025) A comprehensive overview of cyclodextrins in terms of production, properties, and applications. *Food systems*. **8**(2): 196–203. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-2-196-203> EDN: EZIJCX

- Binder F., Huber O., Böck A. (1986) Cyclodextrin-glycosyltransferase from *Klebsiella pneumoniae* M5a1: cloning, nucleotide sequence and expression. *Gene*. **47**(2–3): 269–277. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(86\)90070-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(86)90070-3)
- Buschmann H.-J., Schollmeyer E. (2002) Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review. *Journal of cosmetic science*. **53**(3): 185–191.
- Centeno-Leija S., Espinosa-Barrera L., Velazquez-Cruz B., Cárdenas-Conejo Y., Virgen-Ortíz R., Valencia-Cruz G., Saenz R.A., Marín-Tovar Y., Gómez-Manzo S., Hernández-Ochoa B. et al. (2022) Mining for novel cyclomaltodextrin glucanotransferases unravels the carbohydrate metabolism pathway via cyclodextrins in Thermoanaerobacterales. *Scientific Reports*. **12**(1): 730. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04569-x> EDN: HVNZPY
- Chen F., Xie T., Yue Y., Qian S., Chao Y., Pei J. (2015) Molecular dynamic analysis of mutant Y195I α -cyclodextrin glycosyltransferase with switched product specificity from α -cyclodextrin to γ -cyclodextrin. *Journal of Molecular Modeling*. **21**(8): 208. <https://doi.org/10.1007/s00894-015-2734-x> EDN: TUKFPC
- Crini G. (2014) Review: A history of cyclodextrins. *Chemical Reviews*. **114**(21): 10940–10975. <https://doi.org/10.1021/cr500081p> EDN: UURIYP
- Del Valle E.M.M. (2004) Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. **39**(9): 1033–1046. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- Erichsen A., Peters G.H.J., Beeren S.R. (2023) Templated enzymatic synthesis of δ -cyclodextrin. *Journal of the American Chemical Society*. **145**(8): 4882–4891. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c00341> EDN: EYXUYG
- Freudenberg K., Cramer F. (1948) Notizen: Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ . *Zeitschrift für Naturforschung B*, vol. **3**, (11–12): 464–466. <https://doi.org/10.1515/znb-1948-11-1211>
- Fujiwara S., Kakihara H., Sakaguchi K., Imanaka T. (1992) Analysis of mutations in cyclodextrin glucanotransferase from *Bacillus stearothermophilus* which affect cyclization characteristics and thermostability. *Journal of Bacteriology*. **174**(22): 7478–7481. <https://doi.org/10.1128/jb.174.22.7478-7481.1992>
- Hansen K.H., Erichsen A., Larsen D., Beeren S.R. (2025) Enzyme-Mediated Dynamic Combinatorial Chemistry Enables Large-Scale Synthesis of δ -Cyclodextrin. *J Am Chem Soc*. **147**(16): 13851–13858. <https://doi.org/10.1021/jacs.5c02055>
- Jia X., Guo Y., Lin X., You M., Lin C., Chen L., Chen J. (2017) Fusion of a family 20 carbohydrate-binding module (CBM20) with cyclodextrin glycosyltransferase of *Geobacillus* sp. CHB1 improves catalytic efficiency. *Journal of Basic Microbiology*. **57**(6): 471–480. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600628>
- Kaneko T., Song K.-B., Hamamoto T., Kudo T., Horikoshi K. (1989) Construction of a chimeric series of *Bacillus* cyclomaltodextrin glucanotransferases and analysis of the thermal stabilities and pH optima of the enzymes. *Microbiology*. **135**(12): 3447–3457. <https://doi.org/10.1099/00221287-135-12-3447>
- Li Z., Wang M., Wang F., Gu Z., Du G., Wu J., Chen J. (2007) γ -Cyclodextrin: A review on enzymatic production and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **77**(2): 245–255. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1166-7>
- Morin-Crini N., Fourmentin S., Fenyvesi É., Lichtfouse E., Torri G., Fourmentin M., Crini G. (2021) 130 years of cyclodextrin discovery for health, food, agriculture, and the industry: a review. *Environmental Chemistry Letters*. **19**(3): 2581–2617. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01156-w> EDN: DATSGS
- Napiórkowska E., Szeleszczuk Ł. (2024) Review of applications of β -cyclodextrin as a chiral selector for effective enantioseparation. *International Journal of Molecular Sciences*. **25**(18): 10126. <https://doi.org/10.3390/ijms251810126> EDN: MRFHZY
- Parsiegla G., Schmidt A.K., Schulz G.E. (1998) Substrate binding to a cyclodextrin glycosyltransferase and mutations increasing the γ -cyclodextrin production. *European Journal of Biochemistry*. **255**(3): 710–717. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2550710.x>
- Penninga D., Strokopytov B., Rozeboom H.J., Lawson C.L., Dijkstra B.W., Bergsma J., Dijkhuizen L. (1995) Site-directed mutations in tyrosine 195 of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 affect activity and product specificity. *Biochemistry*. **34**(10): 3368–3376. <https://doi.org/10.1021/bi00010a028>
- Schardinger F. (1911) Bildung kristallisierter polysaccharide (dextrine) aus stärkekleister durch microben. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*. **29**: 188–197.

- Sin K.-A., Nakamura A., Masaki H., Matsuura Y., Uozumi T. (1994) Replacement of an amino acid residue of cyclodextrin glucanotransferase of *Bacillus ohbensis* doubles the production of γ-cyclodextrin. *Journal of Biotechnology*. **32**(3): 283–288. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(94\)90214-3](https://doi.org/10.1016/0168-1656(94)90214-3)
- Sonnendecker C., Melzer S., Zimmermann W. (2019a) Engineered cyclodextrin glucanotransferases from *Bacillus* sp. G-825-6 produce large-ring cyclodextrins with high specificity. *MicrobiologyOpen*. **8**(6). <https://doi.org/10.1002/mbo3.757>
- Sonnendecker C., Thürmann S., Przybylski C., Zitzmann F.D., Heinke N., Krauke Y., Monks K., Robitzki A.A., Belder D., Zimmermann W. (2019b) Large-ring cyclodextrins as chiral selectors for enantiomeric pharmaceuticals. *Angewandte Chemie International Edition*. **58**(19): 6411–6414. <https://doi.org/10.1002/anie.201900911>
- Sonnendecker C., Zimmermann W. (2019) Domain shuffling of cyclodextrin glucanotransferases for tailored product specificity and thermal stability. *FEBS Open Bio*. **9**(2): 384–395. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12588> EDN: [RBEQUL](https://doi.org/10.1002/2211-5463.12588)
- Takano T., Fukuda M., Monma M., Kobayashi S., Kainuma K., Yamane K. (1986) Molecular cloning, DNA nucleotide sequencing, and expression in *Bacillus subtilis* cells of the *Bacillus macerans* cyclodextrin glucanotransferase gene. *Journal of Bacteriology*. **166**(3): 1118–22. <https://doi.org/10.1128/jb.166.3.1118-1122.1986>
- Wind R.D., Uitdehaag J.C.M., Buitelaar R.M., Dijkstra B.W., Dijkhuizen L. (1998) Engineering of cyclodextrin product specificity and pH optima of the thermostable cyclodextrin glycosyltransferase from *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM₁. *Journal of Biological Chemistry*. **273**(10): 5771–5779. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.10.5771>
- Xie T., Hou Y., Li D., Yue Y., Qian S., Chao Y. (2014a) Structural basis of a mutant Y195I α-cyclodextrin glycosyltransferase with switched product specificity from α-cyclodextrin to β-/γ-cyclodextrin. *Journal of Biotechnology*. **182**–**183**: 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.03.014>
- Xie T., Song B., Yue Y., Chao Y., Qian S. (2014b) Site-saturation mutagenesis of central tyrosine 195 leading to diverse product specificities of an α-cyclodextrin glycosyltransferase from *Paenibacillus* sp. 602-1. *Journal of Biotechnology*. **170**: 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.10.032>
- Yamamoto T., Fujiwara S., Tachibana Y., Takagi M., Fukui K., Imanaka T. (2000) Alteration of product specificity of cyclodextrin glucanotransferase from *Thermococcus* sp. B1001 by site-directed mutagenesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **89**(2): 206–209. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)88740-X](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)88740-X)

Цитировать как

Баймиев Ан.Х., Гарафутдинов Р.Р., Чемерис А.В. (2026). Химеры и мутанты ЦГТаз с прицелом на специфичность продукции γ-циклодекстрина. *Экобиотех*. **9**(3): 407–417. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-31> EDN: <https://www.elibrary.ru/ryrtwd>

Cited as

Baymiev An.Kh., Garafutdinov R.R., Chemeris A.V. (2026). Chimeras and CGTases mutants with a focus on the specificity of γ-cyclodextrin production. *Ecobiotech*. **9**(3): 407–417. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-31> EDN: <https://www.elibrary.ru/ryrtwd>

Сведения об авторах

Андрей Ханифович Баймиев, д.б.н., Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: baymiev@anrb.ru, SPIN: 1919-5236, ORCID: 0000-0001-6637-9365.

Равиль Ринатович Гарафутдинов, д.х.н., Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: garafutdinovr@mail.ru, SPIN: 3434-2630, ORCID: 0000-0001-9087-7364.

Алексей Викторович Чемерис, д.б.н., Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: chemeris@anrb.ru, SPIN: 1248-2582, ORCID: 0000-0002-8917-0449.

Information About the Authors

Andrei Kh. Baymiev, Dr in Biological Sciences, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, RAS, Ufa, Russian Federation. E-mail: baymiev@anrb.ru, SPIN: 1919-5236, ORCID: 0000-0001-6637-9365.

Ravil R. Garafutdinov, Dr in Chemical Sciences, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, RAS, Ufa, Russian Federation. E-mail: garafutdinovr@mail.ru, SPIN: 3434-2630, ORCID: 0000-0001-9087-7364.

Aleksei V. Chemeris, Dr in Biological Sciences, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, RAS, Ufa, Russian Federation. E-mail: chemeris@anrb.ru, SPIN: 1248-2582, ORCID: 0000-0002-8917-0449.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 615.33:639.3



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ | RESEARCH ARTICLE

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ФТОРХИНОЛОНОВ С ПРОИЗВОДНЫМИ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ И ПОЛИМЕРНЫМИ НОСИТЕЛЯМИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Копнова Т.Ю.^{1*}, Злотников И.Д.^{1,2}, Копнова Л.Р.^{1,2},
Белогурова Н.Г.¹, Кудряшова Е.В.^{1,2}

¹Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Центральный университет, Москва, Россия

*E-mail: kopnovataty@gmail.com

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FLUOROQUINOLONE COMPLEXES WITH CYCLODEXTRIN DERIVATIVES AND POLYMERIC CARRIERS FOR AQUACULTURE APPLICATIONS

Kopnova T.Yu.^{1*}, Zlotnikov I.D.^{1,2}, Kopnova L.R.^{1,2},
Belogurova N.G.¹, Kudryashova E.V.^{1,2}

¹Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

²Central university, Moscow, Russia

*E-mail: kopnovataty@gmail.com

Аннотация

Фторхинолоны (ципрофлоксацин и левофлоксацин) — антибиотики широкого спектра, однако их применение ограничено низкой растворимостью, токсичностью и риском резистентности. Использование циклодекстринов и полимерных носителей — перспективный подход для преодоления этих ограничений. В работе систематически изучено комплексообразование ципрофлоксацина (ЦФ) с производными β-циклодекстрина — 2-гидроксипропил-β-ЦД (ГП-β-ЦД), метил-β-ЦД (М-β-ЦД) и сульфобутиловым эфиром β-ЦД (СБЭ-β-ЦД) — методами ИК- и УФ-спектроскопии, равновесного диализа и оценки растворимости. Наиболее стабильный комплекс образуется с ГП-β-ЦД ($K_{dis} = 1.7 \times 10^{-4}$ М), что увеличивает растворимость ЦФ на 20% (рН 4.0) и 64% (рН 7.4) и обеспечивает пролонгированное высвобождение. На основе полученных данных разработаны два типа полимерных комплексов левофлоксацина (ЛФ) с энтеросгелем и силикагелем/ГП-β-ЦД для аквакультуры. Изучено влияние дигидрокверцетина на физико-химические характеристики комплексов. Комплексы показали высокую эффективность загрузки (85–95%) и сорбционную ёмкость до 1.0 мг/мг. Растворимость комплексов ЛФ снижена до 6 раз по сравнению со свободным препаратом, высвобождение пролонгировано до 3 суток. Антимикробная активность полученных комплексов против *E. coli* и *B. subtilis* выше, чем у коммерческого препарата «Антибак» на основе ЦФ. Разработанные комплексы — перспективная экологически безопасная стратегия для аквакультуры.

Ключевые слова:

фторхинолоны, ципрофлоксацин, левофлоксацин, циклодекстрины, полимерные носители, пролонгированное высвобождение, антимикробная активность, аквакультура

Поступила в редакцию: 23.08.2026

Принято в печать: 21.09.2026

Abstract

Fluoroquinolones (ciprofloxacin and levofloxacin) are broad-spectrum antibiotics, but their use is limited by low solubility, toxicity, and the risk of resistance. The use of cyclodextrins and polymeric carriers is a promising approach to overcome these limitations. In this work, we systematically studied the complexation of ciprofloxacin (CF) with β-cyclodextrin derivatives — 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD), methyl-β-cyclodextrin (M-β-CD), and sulfobutyl ether β-cyclodextrin (SBE-β-CD) — using IR and UV spectroscopy, equilibrium dialysis, and solubility assays. The most stable complex is formed with HP-β-CD ($K_{dis} = 1.7 \times 10^{-4}$ M), which increases the solubility of CF by 20% (pH 4.0) and 64% (pH 7.4) and provides sustained release. Based on these data, two types of polymeric complexes of levofloxacin (LF) with enterosgel, and silica gel/HP-β-CD were developed for aquaculture. Influence of dihydroquercetin on physicochemical parameters of complexes has been studied. The complexes showed high loading efficiency (85–95%) and sorption capacity up to 1.0 mg/mg. The solubility of LF complexes was reduced by 6 times compared to the free drug, and release was prolonged up to 3 days. The synthesized complexes antimicrobial activity against *E. coli* and *B. subtilis* was higher than that of the commercial drug "Antibak". The developed complexes represent a promising environmentally safe strategy for aquaculture.

Keywords:

fluoroquinolones, ciprofloxacin, levofloxacin, cyclodextrins, polymeric carriers, sustained release, antimicrobial activity, aquaculture

Received: 23.08.2026

Accepted: 21.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-32> EDN: <https://www.elibrary.ru/ukbtsy>

ВВЕДЕНИЕ

Аквакультура является одной из наиболее динамично развивающихся отраслей сельского хозяйства, обеспечивающей население планеты высококачественной рыбной продукцией. Согласно данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединённых Наций, около 17% животного белка и около 7% белка в целом, употребляемого населением в пищу, человек получает из рыбы [Samanta *et al.* 2022]. Однако интенсивное развитие аквакультуры сопровождается рядом вызовов, среди которых особое место занимают бактериальные инфекции, наносящие значительный экономический ущерб – потери продуктивности могут достигать 25% [Nasr-Eldahan *et al.* 2021; Ortega *et al.* 2021]. Микробные патогены не только ухудшают состояние здоровья рыб, вызывая поражения кожи, гниение плавников и хвостов, системные инфекции, но и отрицательно влияют на продуктивность: замедляют рост, снижают выживаемость, устойчивость к зимним условиям, а также уменьшают выход и качество рыбной продукции [Nasr-Eldahan *et al.* 2021; Ortega *et al.* 2021].

Для борьбы с бактериальными инфекциями в аквакультуре активно применяют антибиотики. Так, в Норвегии на фермах по выращиванию лосося ежегодно используется порядка 48 тонн антибиотиков, что в среднем составляет 1.26 курса лечения на каждую рыбу [Grave *et al.* 1990; Hektoen *et al.* 1995; Kümmerer 2009]. Однако столь широкое и бесконтрольное применение химиотерапевтических средств породило ряд серьезных проблем, актуальных до сих пор: загрязнение окружающей среды остатками препаратов, накопление антибиотиков в донных отложениях, остаточные количества в продукции, а также формирование антибиотикорезистентности [Grave *et al.* 1990; Hektoen *et al.* 1995; Shao 2001; Kümmerer 2009; Schar *et al.* 2020]. На сегодняшний день в Российской Федерации зарегистрировано всего 9 лекарственных препаратов для аквакультуры, что существенно ограничивает выбор эффективных и безопасных средств для лечения рыб.

В этой связи особое внимание уделяется разработке и применению инновационных систем доставки лекарственных средств, нутриентов и энтеросорбентов [Samanta *et al.* 2022]. Современные подходы к созданию носителей основаны на использовании биосовместимых материалов, способных эффективно защищать лекарственные и пищевые компоненты от разрушения, улучшать их всасывание и контролировать высвобождение. Энтеросорбенты, в свою очередь, играют важную роль в детоксикации организма рыб и улучшении состояния кишечной микрофлоры, что способствует укреплению иммунитета и улучшению общего здоровья [Sergina *et al.* 2022; Zhandalgarova, Grozesku 2024; Килякова *и др.* 2024].

Циклодекстрины представляют собой семейство циклических олигосахаридов, которые получили широкое распространение в фармацевтической промышленности благодаря способности образовывать нековалентные комплексы включения типа «гость-хозяин» с гидрофобными молекулами лекарств [Szejtli 1998; Davis, Brewster 2004; Raut *et al.* 2019]. Благодаря форме усечённого тора с гидрофильной наружной поверхностью и гидрофобной полостью, ЦД способны образовывать нековалентные комплексы включения типа «гость-хозяин» с широким спектром гидрофобных молекул, включая лекарственные вещества [Szente 1999; Davis, Brewster 2004]. Это свойство лежит в основе их многочисленных фармацевтических применений: увеличение растворимости и биодоступности препаратов, повышение их стабильности, маскировка неприятного вкуса и запаха, снижение токсичности и побочных эффектов, а также возможность контролировать скорость высвобождения активного вещества [Le-Deygen *et al.* 2017]. Особый практический интерес представляют производные β -циклодекстрина – 2-гидроксипропил- β -ЦД (ГП- β -ЦД), метил- β -ЦД (М- β -ЦД) и сульфобутиловый эфир β -ЦД (СБЭ- β -ЦД), которые отличаются высокой водорастворимостью, биосовместимостью и нетоксичностью даже в больших дозах, что особенно важно при длительной терапии в аквакультуре [Loftsson *et al.* 2005].

Фторхинолоны, включая ципрофлоксацин (ЦФ) и левофлоксацин (ЛФ), являются одними из наиболее эффективных антибактериальных препаратов широкого спектра действия, широко применяемых как в медицине, так и в ветеринарии. Их механизм действия основан на избирательном ингибировании бактериальной ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, что блокирует репликацию ДНК и приводит к гибели патогенных микроорганизмов [Campoli-Richards *et al.* 1988; Wolfson, Hooper 1989; Davis, Bryson 1994; Davis *et al.* 1996]. Однако применение фторхинолонов

в аквакультуре сопряжено с рядом ограничений: низкая растворимость при физиологических значениях pH (особенно в диапазоне 7–8), риск развития антибиотикорезистентности, а также возможные побочные эффекты при длительной терапии [Schacht *et al.* 1989; Committee on Infectious Diseases 2006]. В этой связи создание систем доставки на основе циклодекстринов и полимерных носителей представляет собой перспективную стратегию, позволяющую преодолеть указанные недостатки.

Ранее нами было проведено систематическое исследование комплексообразования ципрофлоксацина с производными β -циклодекстрина – ГП- β -ЦД, М- β -ЦД и СБЭ- β -ЦД [Skuredina *et al.* 2020a]. С использованием высокоинформативных методов ИК- и УФ-спектроскопии, а также равновесного диализа было показано, что наиболее стабильный комплекс образуется с ГП- β -ЦД ($K_{dis} = 1.7 \times 10^{-4}$ М), что значительно ниже, чем для М- β -ЦД (7.7×10^{-4} М) и СБЭ- β -ЦД (1.6×10^{-3} М). Анализ ИК-спектров выявил, что комплексообразование сопровождается изменением микроокружения ароматического скелета фторхинолона (область 1540–1415 см⁻¹), карбоксильной (1710 см⁻¹) и карбонильной (1630 см⁻¹) групп, причём наиболее выраженные изменения наблюдаются для комплекса с ГП- β -ЦД. Это свидетельствует о более глубоком проникновении ароматического фрагмента ЦФ в гидрофобную полость ЦД и образовании дополнительных водородных связей между гидроксильными группами заместителя и функциональными группами антибиотика [Skuredina *et al.* 2020a]. Образование комплекса с ГП- β -ЦД увеличивает растворимость ципрофлоксацина на 20% при pH 4.0 и на 64% при pH 7.4, а также обеспечивает пролонгированное высвобождение препарата, причём степень замедления высвобождения коррелирует с величиной константы диссоциации: чем стабильнее комплекс, тем медленнее высвобождается антибиотик [Skuredina *et al.* 2020a]. Полученные результаты позволили установить чёткие закономерности влияния природы заместителя в β -циклодекстрине на физико-химические свойства комплексов с фторхинолонами и определить ГП- β -ЦД как оптимальный носитель для создания пролонгированных лекарственных форм.

В продолжение этих исследований мы разработали композитные полимерные комплексы левофлоксацина с использованием в качестве носителей энтеросгеля (ЭГ) и силикагеля (СГ) с ГП- β -ЦД. Выбор данных носителей обусловлен их биосовместимостью, стабильностью в водных средах и способностью обеспечивать контролируемое высвобождение лекарственных веществ. Каждый из носителей вносит уникальный вклад в свойства конечной композиции, что позволяет достичь синергетического эффекта при их комбинировании.

ЭГ (полиметилсилоксана полигидрат) представляет собой гидрогель кремнийорганической природы с высокой сорбционной ёмкостью, что обусловлено его развитой пористой структурой и гидрофобно-гидрофильными свойствами поверхности. ЭГ выполняет не только функцию носителя, но и выступает в роли энтеросорбента, связывая токсины, продукты метаболизма патогенов и избыточные ионы тяжёлых металлов в кишечнике рыб [Blanco 2018; Ariati *et al.* 2021]. Это свойство особенно важно в условиях интенсивного рыбоводства, где корма часто содержат микотоксины и другие загрязнители. Применение энтеросгеля в составе кормовых добавок для осетровых, карпа и тиляпии показало улучшение гематологических показателей, снижение содержания токсичных металлов в мышцах и повышение продуктивности [Килякова и др. 2024; Копнова, Кудряшова 2025].

СГ с ГП- β -ЦД представляет собой гибридную систему, сочетающую высокую удельную поверхность неорганического носителя (до 1000 м²/г) с молекулярным распознаванием и контролируемым высвобождением, обеспечиваемым циклодекстрином. ГП- β -ЦД, иммобилизованный на поверхности силикагеля, выполняет двойную функцию: (1) образование комплексов включения с ЛФ, что защищает антибиотик от деградации и обеспечивает его пролонгированное высвобождение; (2) увеличение растворимости лекарственного вещества за счёт гидрофильной внешней поверхности циклодекстрина [Davis, Brewster 2004; Loftsson *et al.* 2005]. СГ, в свою очередь, выступает в роли устойчивого в водных средах каркаса, предотвращающего агрегацию циклодекстринов и обеспечивающего постепенное высвобождение антибиотика из мезопор [Skuredina *et al.* 2018; Morin-Crini *et al.* 2019]. Такая архитектура «наногубки» позволяет минимизировать потери препарата в воду при пероральном введении, что особенно актуально для аквакультуры, где традиционные лекарственные корма характеризуются низкой эффективностью из-за вымывания антибиотика.

Для усиления стабильности и эффективности комплексов дополнительно использован дигидрокверцетин (ДГК) — природный биофлавоноид с антиоксидантной активностью, предотвращающий окислительную деградацию ЛФ. Таким образом, в рамках настоящей работы синтезированы четыре типа препаратов, различающихся по составу и ожидаемым механизмам контролируемого высвобождения: ЭГ + ЛФ; и СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ.

Цель настоящей работы — синтез и физико-химическая характеристика полимерных комплексов левофлоксацина на основе энтеросгеля и силикагеля/гидроксипропил-β-циклодекстрина, а также оценка их антимикробной активности в сравнении с коммерческим препаратом «Антибак», основанном на ЦФ. Полученные результаты рассматриваются как логическое развитие фундаментальных исследований комплексов фторхинолонов с циклодекстринами и как шаг к созданию экологически безопасных и эффективных лекарственных форм для аквакультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали следующие *реагенты*: левофлоксацин, цiproфлоксацин, 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин — Sigma-Aldrich (США). Энтеросгель (полиметилсилоксана полигидрат) — ООО «Силикс» (Россия). Тетраэтоксисилан (TEOS) (98% «AcrosOrganics», Бельгия). Дигидрокверцетин — ООО «Фарм-Актив» (Россия). Фосфатный буферный раствор (PBS, pH 7,4) — «Экосервис» (Россия). Соляная кислота, мочеви́на — «Реахим» (Россия). В качестве препарата сравнения использовали коммерческий препарат «Антибак» (ООО «Агроветзащита», Россия), содержащий цiproфлоксацина гидрохлорид (500 мг/г). *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633 получены из ВКПМ Курчатковского института (Москва, Россия). Эти штаммы являются стандартными для тестирования антибактериальных свойств веществ и чувствительности к антибиотикам.

Синтез полимерных комплексов ЛФ+ЭГ. Сухой энтеросгель (1000 мг) суспендировали в 10 мл PBS (pH 7.4) и инкубировали при 25°C в течение 2 ч до полного набухания. Затем добавляли раствор ЛФ в PBS (10 мг/мл) в соотношении энтеросгель : ЛФ = 1 : 1 (масс./масс.) и инкубировали при 25°C на орбитальном шейкере (150 об/мин) в течение 24 ч. Несвязанный ЛФ удаляли центрифугированием при 10 000 g в течение 10 мин и трёхкратной промывкой PBS. Комплекс лиофилизировали и хранили при 4°C до использования.

Синтез полимерных комплексов ЛФ+ЭГ+ДГК. Готовили аналогично, но к суспензии энтеросгеля добавляли раствор ДГК в этаноле (1 мг/мл) в соотношении энтеросгель : ДГК = 50 : 1 (масс./масс.) перед добавлением ЛФ. Этанол удаляли в вакуумном эксикаторе.

Синтез полимерных комплексов СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ. Для синтеза силикагеля использовали методику, описанную у [Skuredina et al. 2018; Копнова, Кудряшова 2025]. В основе синтеза лежит золь-гель метод, вводя смесь ГП-β-ЦД с мочевиной. СГ (1000 мг) активировали при 150°C в течение 4 ч. Затем добавляли раствор ГП-β-ЦД в PBS (10 мг/мл) в соотношении СГ : ГП-β-ЦД = 5 : 1 (масс./масс.) и инкубировали при 25°C в течение 24 ч. После этого вносили ЛФ (10 мг/мл) в соотношении СГ : ЛФ = 1 : 1 и продолжали инкубацию 24 ч. Комплекс отделяли центрифугированием, промывали PBS и лиофилизировали.

Синтез полимерных комплексов СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК. Готовили аналогично, но после внесения ГП-β-ЦД добавляли ДГК в соотношении СГ : ДГК = 50 : 1.

Определение сорбционной ёмкости и эффективности загрузки. Сорбционную ёмкость (Q , мг ЛФ на 1 мг носителя) и эффективность загрузки (ЕЕ, %) определяли флуориметрическим методом. Навеску комплекса (10 мг) растворяли в 1 мл PBS (pH 7.4) и интенсивно перемешивали в течение 24 ч для полного высвобождения ЛФ. Концентрацию ЛФ определяли на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Agilent, США) при $\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм и $\lambda_{\text{эмис}} = 350$ нм. Калибровочную кривую строили по растворам ЛФ с концентрацией 0.1–10 мкг/мл ($R^2 \geq 0.995$). Расчёт проводили по формулам:

$$Q = \frac{m_{\text{ЛФ связанного}}}{m_{\text{носителя}}}$$

$$EE = \frac{m_{\text{ЛФ связанного}}}{m_{\text{ЛФ исходного}}} \times 100\%$$

Все измерения выполнены в трёх повторностях.

Растворимость комплексов определяли в PBS (pH 7.4) и солянокислом буфере (pH 4.0) при 25°C. Навеску комплекса, содержащую 10 мг ЛФ, помещали в 100 мкл соответствующего буфера и инкубировали при 25°C на орбитальном шейкере (100 об/мин) в течение 24 ч. Затем центрифугировали при 10 000 g в течение 15 мин, концентрацию ЛФ в надосадочной жидкости определяли флуориметрически ($\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм, $\lambda_{\text{эмис}} = 350$ нм). Растворимость выражали в мг ЛФ на 1 мл раствора. Контроль — свободный ЛФ и «Антибак» в тех же условиях.

Кинетику высвобождения ЛФ изучали методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану с молекулярно-массовым отсечением 3.5 кДа (Orange Scientific). Навеску комплекса, содержащую 1 мг ЛФ, помещали в диализный мешок с 2 мл PBS (pH 7.4). Мешок погружали в 2 мл PBS (pH 7.4) при 25°C и постоянном перемешивании (100 об/мин). Аликвоты по 10 мкл отбирали через определенные промежутки времени, заменяя на свежий PBS. Концентрацию высвободившегося ЛФ определяли флуориметрически ($\lambda_{\text{возб}} = 345$ нм, $\lambda_{\text{эмис}} = 455$ нм), разбавляя раствор в 50 раз. Количество высвободившегося ЛФ (в %) рассчитывали по формуле:

$$\text{Высвобождение} = \frac{C_t \times V_{\text{среды}}}{m_{\text{ЛФ загруженного}}} \times 100\%$$

где C_t — концентрация ЛФ во внешнем растворе в момент времени t (мг/мл), $V_{\text{среды}}$ — объём внешней среды (2 мл), $m_{\text{ЛФ загруженного}}$ — масса ЛФ, загруженная в диализный мешок (мг). Кривые высвобождения строили по экспериментальным значениям степени высвобождения ЛФ в зависимости от времени. Точки, нанесенные на график, представляют собой среднее арифметическое между тремя измерениями, бары погрешности представляют собой величину стандартного отклонения (SD). Точки на графике соединялись с помощью функции B-spline в OriginPro. Начальную скорость высвобождения ($tg\alpha$) оценивали по угловому коэффициенту линейной аппроксимации методом наименьших квадратов (проводилась с помощью OriginPro) начального участка кривой (первые 5 мин). Время полувысвобождения (T_{50}) определяли как время, соответствующее достижению 50% высвобождения ЛФ. Параметры рассчитывали для каждой экспериментальной повторности, после чего представляли среднее значение.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли методом диффузии в агар. Суточные культуры *E. coli* и *B. subtilis* разводили PBS до концентрации 1×10^6 КОЕ/мл (по стандарту McFarland 0,1). На чашки Петри со средой LB с агаром наносили 100 мкл суспензии и распределяли стерильным шпателем. В агаре делали лунки диаметром 6 мм, вносили по 50 мкл серийных двукратных разведений препаратов (диапазон 0.01–100 мкг/мл по ЛФ). Чашки инкубировали при 37°C в течение 24 ч. МИК определяли как наименьшую концентрацию, при которой наблюдалось полное подавление роста. Эксперимент проводили в трёх повторностях.

Кинетику роста бактерий изучали в жидкой питательной среде LB при 37°C. В стерильные эппендорфы с 1 мл LB вносили бактериальную культуру до начальной оптической плотности $OD_{600} \approx 0.1$ ($\approx 10^7$ КОЕ/мл). Добавляли исследуемые комплексы в концентрации, соответствующей 0,2 МИК (определённой на твёрдых средах). Контроли: положительный (бактерии без препарата), отрицательный (стерильная среда), а также образцы со свободным ЛФ, «Антибаком» и носителями без антибиотика. Инкубировали при 37°C в течение 4 суток с периодическим перемешиванием. Каждый эксперимент проведён в трёх повторностях. Рост оценивали по OD_{600} дважды в сутки, при необходимости бактериальная суспензия разбавлялась раствором PBS, чтобы значения OD_{600} не превышали 0.8. На графики наносились точки с учетом этого разбавления ($OD_{600 \text{ разбавленные}} \times \text{кратность разбавления}$). Точки, нанесенные на график, представляют собой среднее арифметическое между тремя измерениями, бары погрешности представляют собой величину стандартного отклонения (SD). Точки на графике соединялись с помощью функции B-spline в OriginPro.

Математическая обработка кинетических кривых роста. Для количественной характеристики кинетики роста экспериментальные зависимости OD_{600} от времени аппроксимировали модифицированной моделью Гомперца:

$$OD_{600} = A \exp\left(-\exp\left[\frac{\mu_{\max}}{A} e(\lambda - t) + 1\right]\right)$$

где A — асимптотическое значение OD_{600} , характеризующее максимальный прирост, $\mu_{\max}$ — максимальная удельная скорость роста, λ — время достижения точки перегиба, характеризующее

длительность лаг-фазы, t — время. Качество аппроксимации оценивали по коэффициенту детерминации R^2 .

Аппроксимацию и оценку погрешностей проводили методом нелинейного регрессионного анализа Growth/Sigmoidal fitting SGompertz в программном пакете OriginPro 2023.

Статистическая обработка данных. Все эксперименты выполнены в трёх независимых повторностях ($n = 3$). Данные представлены как среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$). Обработку данных проводили в программе OriginPro 2023.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основе результатов, полученных для комплексов ЦФ с производными β -циклодекстрина, синтезированы четыре типа полимерных комплексов левофлоксацина (ЛФ). Сорбционную ёмкость (мг ЛФ на 1 мг носителя) и эффективность загрузки (%) определяли флуориметрическим методом ($\lambda_{\text{возб}} = 290$ нм, $\lambda_{\text{эмис}} = 350$ нм). Результаты сорбционных исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1. Сорбционная ёмкость и эффективность загрузки полимерных комплексов левофлоксацина

Table 1. Sorption capacity and loading efficiency of levofloxacin polymer complexes

Состав	Сорбционная ёмкость, мг/мг	Эффективность загрузки, %	Ключевые особенности
ЭГ + ЛФ	до 1.0	85–95	Высокая сорбционная ёмкость + детоксикация
СГ + ГП- β -ЦД + ЛФ	до 0.7	85–95	Молекулярное включение + пролонгированное высвобождение

Высокая сорбционная ёмкость наблюдается для ЭГ (до 1.0 мг/мг) и СГ с ГП- β -ЦД (до 0.7 мг/мг), что объясняется их высокой пористостью и развитой удельной поверхностью. Для ЭГ гидрогелевая природа обеспечивает высокую аффинность к фторхинолонам за счёт гидрофобно-гидрофильных взаимодействий. Для силикагеля, чья удельная поверхность достигает 1000 м²/г, эффективное включение ЛФ в мезопоры (диаметром 2–50 нм) дополняется образованием комплексов включения с ГП- β -ЦД, иммобилизованным на поверхности носителя [Blanco 2018; Skuredina et al. 2018].

Эффективность загрузки для всех типов комплексов составляет 85–95%, что свидетельствует о высокой степени связывания ЛФ с носителями и подтверждает перспективность выбранных систем для создания лекарственных формуляций. Столь высокая эффективность загрузки достигается благодаря оптимальному подбору условий синтеза (рН, соотношение компонентов, время инкубации) и согласуется с данными для аналогичных полимерных систем доставки фторхинолонов [Skuredina et al. 2018; Копнова, Кудряшова 2025]. Ключевое различие между энтеросгелем (ЭГ) и силикагелем (СГ) определяется их химической природой и, как следствие, гидрофильно-липофильным балансом. ЭГ представляет собой полиметилсилоксана полигидрат, содержащий метильные (гидрофобные) и гидроксильные (гидрофильные) группы, причём гидрофобные группы преобладают, что придаёт ЭГ преимущественно гидрофобный характер. Это обеспечивает высокую аффинность к гидрофобным молекулам, включая ЛФ, и объясняет высокую сорбционную ёмкость ЭГ (до 1,0 мг/мг). В отличие от ЭГ, СГ получают из тетраэтоксисилана, и его поверхность несёт силанольные группы (Si–OH), что делает его более гидрофильным. Введение ГП- β -ЦД, обладающего гидрофильной внешней поверхностью, дополнительно увеличивает сольватацию комплекса в водной среде. Таким образом, различия в химической природе ЭГ и СГ (гидрофобный versus гидрофильный) и их ГЛБ определяют как сорбционную ёмкость, позволяя целенаправленно регулировать свойства системы.

Растворимость полученных полимерных комплексов левофлоксацина определяли в фосфатном буферном растворе (PBS, рН 7.4) и в солянокислом буфере (рН 4.0) при 25 °С. Выбор данных значений рН обусловлен необходимостью моделирования условий желудочно-кишечного тракта рыб: рН 4.0 соответствует кислой среде желудка, тогда как рН 7.4 имитирует среду кишечника, где происходит основное всасывание лекарственных веществ [Shao 2001; Uryadova et al. 2024]. Результаты измерений представлены в табл. 2.

Таблица 2. Растворимость полимерных комплексов левофлоксацина в солянокислом буфере (pH 4.0) и PBS (pH 7.4), мг/мл**Table 2. Solubility of polymer complexes of levofloxacin in hydrochloric acid buffer (pH 4.0) and PBS (pH 7.4), mg/ml**

Образец	Растворимость* мг/мл	
	pH 4.0	pH 7.4
Антибак	33.4 ± 1.7	14.0 ± 0.7
ЛФ	19.6 ± 0.9	26.9 ± 0.9
ЛФ + ГПЦД	31.2 ± 0.9	37.1 ± 0.9
Энтеросгель + ЛФ	24.1 ± 1.2	48.0 ± 2.4
Энтеросгель + ЛФ + ДГК	8.1 ± 0.4	40.9 ± 2.0
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ	10.1 ± 0.5	21.5 ± 1.1
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК	5.6 ± 0.3	10.7 ± 0.5

*фторхинолона в составе комплекса

Для коммерческого препарата «Антибак» (свободный ЦФ) растворимость при pH 4.0 составляет 33.4 ± 1.7 мг/мл, что согласуется с литературными данными для фторхинолонов в кислой среде [Skuredina et al. 2020a]. При pH 7.4 растворимость препарата «Антибак» снижается до 14.0 ± 0.7 мг/мл, что обусловлено переходом ЦФ в цвиттер-ионную форму, характеризующуюся минимальной растворимостью в нейтральной и слабощелочной среде [Schacht et al. 1989; Wolfson, Hooper 1989].

Для синтезированных полимерных комплексов ЛФ при pH 4.0 растворимость существенно ниже, чем у «Антибака», причём характер и степень этого снижения определяются как природой носителя, так и присутствием адъювантов. Снижение растворимости по сравнению с «Антибаком» достигает от 1.4 до 6 раз в зависимости от типа комплекса.

Комплексов на основе ЭГ и СГ при pH 7.4 демонстрируют более высокую растворимость, чем «Антибак». Это связано с гидрогелевой природой этих носителей. Для комплекса ЭГ + ЛФ растворимость при pH 4.0 составляет 24.1 ± 1.2 мг/мл, что лишь в 1.2 раза выше, чем у свободного ЛФ (табл. 2). Однако при pH 7.4 растворимость возрастает до 48.0 ± 2.4 мг/мл, что в 1.8 раза выше, чем у свободного ЛФ (табл. 2). Такое anomalous поведение, по-видимому, связано с гидрогелевой природой ЭГ: при нейтральном pH полиметилсилоксановая матрица набухает, увеличивая доступность гидрофильных участков для воды и способствуя выходу ЛФ в раствор [León-Rodríguez et al. 2013; Blanco 2018]. Добавление ДГК снижает растворимость ЭГ комплекса до 8.1 ± 0.4 мг/мл при pH 4.0 (снижение в 3.0 раза по сравнению с комплексом без ДГК) и до 40.9 ± 2.0 мг/мл при pH 7.4 (снижение на 14.8%), что подтверждает гидрофобизирующее действие флавоноида. Для СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ растворимость при pH 4.0 составляет 10.1 ± 0.5 мг/мл (в 2 раза ниже, чем у свободного ЛФ), а при pH 7.4 – 21.5 ± 1.1 мг/мл (что близко к растворимости свободного ЛФ и в 1.5 раза выше, чем у «Антибака»). Добавление ДГК снижает эти значения до 5.6 ± 0.3 мг/мл и 10.7 ± 0.5 мг/мл соответственно. Таким образом, ЭГ и СГ, не обеспечивают снижения растворимости, однако они выполняют другие важные функции: ЭГ выступает в роли энтеросорбента, связывающего токсины, а силикагель с ГП-β-ЦД обеспечивает молекулярное включение и защиту антибиотика от деградации и могут быть полезны для быстрого достижения терапевтической концентрации при острых инфекциях, однако требует более тщательного контроля времени контакта корма с водой во избежание потерь [Davis, Brewster 2004; Raut et al. 2019].

Существенное влияние на растворимость ЛФ и его комплексов оказывает pH среды, причём характер этой зависимости определяется природой носителя, что открывает возможности для целенаправленного регулирования профиля высвобождения. Для свободного ЛФ отношение растворимостей при pH 4.0 и pH 7.4 составляет 1.37, тогда как для свободного ЦФ («Антибак») это отношение равно 2.4, что отражает различия в кислотно-основных свойствах этих фторхинолонов [Skuredina et al. 2020a; Yakupova et al. 2022]. Для энтеросгелевых и силикагелевых композитов с ГП-β-ЦД наблюдается противоположная тенденция: растворимость при pH 7.4 значительно превышает растворимость при pH 4.0. Для комплекса ЭГ + ЛФ отношение pH 7.4 / pH 4.0 составляет 2.0 (48.0 ± 2.4 мг/мл против 24.1 ± 1.2 мг/мл); для СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ это отношение равно 2.1 (21.5 ± 1.1 мг/мл против 10.1 ± 0.5 мг/мл). Добавление ДГК частично нивелирует этот

эффект: для энтеросгель + ЛФ + ДГК отношение снижается до 5.0 (40.9 ± 2.0 мг/мл против 8.1 ± 0.4 мг/мл), что указывает на усиление гидрофобных взаимодействий при нейтральном pH (табл. 2)

С практической точки зрения pH-зависимость растворимости разработанных комплексов имеет важное значение для аквакультуры, поскольку позволяет адаптировать систему доставки под конкретные условия применения. В желудке рыб pH составляет 2.0–4.0 в зависимости от вида и режима кормления, тогда как в кишечнике pH повышается до 7.0–8.0 [Shao 2001; Nasr-Eldahan et al. 2021]. Для энтеросгелевых и силикагелевых комплексов, более высокая растворимость при pH 7.4 означает ускоренное высвобождение в кишечнике, что может быть полезно для быстрого достижения терапевтической концентрации при острых инфекциях, однако требует дополнительной защиты от вымывания в воду, особенно при pH воды, близком к нейтральному. pH водной среды в аквакультуре – ещё один критический фактор, который необходимо учитывать при выборе типа комплекса. Вода в рыбоводных хозяйствах может иметь pH от 6.5 до 9.0 в зависимости от типа водоёма, сезона и интенсивности кормления [Ortega et al. 2021]. Относительно высокая растворимость свободного ЛФ при нейтральном pH (19.6 ± 0.9 мг/мл) и «Антибака» (14.0 ± 0.7 мг/мл) приводит к их быстрому вымыванию из корма в воду. Энтеросгелевые и силикагелевые комплексы, обладающие более высокой растворимостью при pH 7.4 ($21.5–48.0$ мг/мл), могут быть менее устойчивыми к вымыванию, однако их применение может быть оправдано в случаях, когда требуется быстрый терапевтический эффект или когда pH воды в хозяйстве стабильно находится в кислом диапазоне.

Таким образом, снижение растворимости полимерных комплексов ЛФ, достигаемое за счёт использования гидрофобных носителей и адъювантов, а также регулируемое pH среды, является целенаправленно созданным преимуществом, позволяющим решить ключевые проблемы аквакультуры: потери препарата в воду, деградацию антибиотика, токсичность и необходимость частого введения. pH-зависимость высвобождения обеспечивает дополнительный уровень контроля: быстрый старт в кислой среде желудка и пролонгация в нейтральной среде кишечника, что открывает перспективы для создания экологически безопасных, экономически эффективных и удобных в применении лекарственных форм для рыбоводства.

Полученные данные по растворимости позволяют прогнозировать кинетику высвобождения ЛФ из полимерных комплексов, поскольку именно растворимость определяет концентрационный градиент, движущий диффузию лекарственной молекулы из матрицы в раствор. Однако оценка растворимости даёт лишь статическую характеристику системы, тогда как для создания эффективных лекарственных формуляций с пролонгированным действием необходимо исследование кинетики высвобождения *in vitro*, которое позволяет количественно оценить скорость выхода препарата и длительность поддержания терапевтической концентрации, что в конечном счёте определяет терапевтический потенциал комплексов и их применимость в аквакультуре.

Начальная скорость высвобождения является критическим параметром для оценки риска «взрывного» высвобождения (burst release), которое может привести к токсическим эффектам и быстрому выведению препарата из кормовой добавки. Анализ тангенсов угла наклона показывает, что все полимерные комплексы характеризуются значительно более низкой начальной скоростью высвобождения по сравнению контрольным препаратом «Антибаком» (табл. 3). Для «Антибака» наблюдается быстрое высвобождение препарата на начальном этапе, связанное с отсутствием диффузионных барьеров [Almasi et al. 2021], время полувысвобождения из модельной диализной мембраны (T_{50}) составляет около 45 мин, а $\text{tg}\alpha=0,047$ (рис. 1). Свободный ЛФ высвобождается почти с той же скоростью, что и «Антибак», комплексообразование ЛФ с ГПЦД приводит к незначительному снижению скорости высвобождения ЛФ (рис. 1).

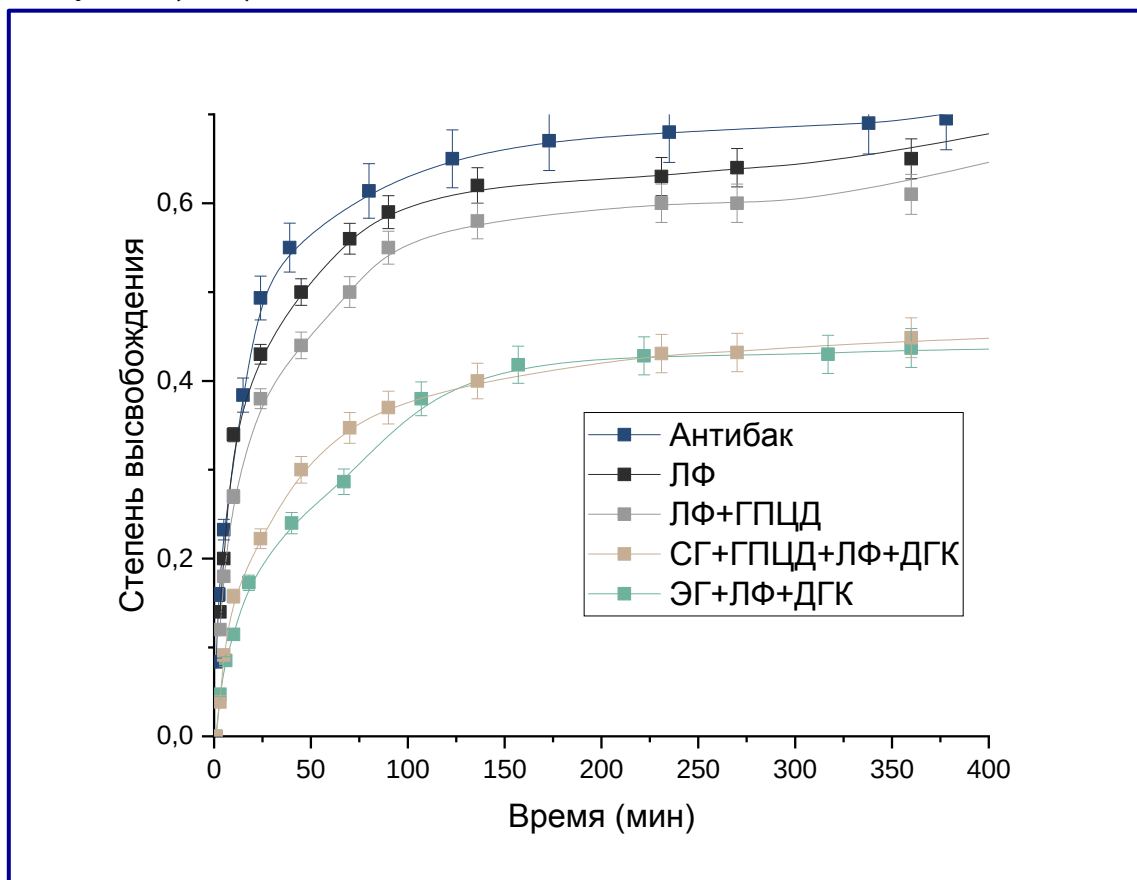
Таблица 3. Тангенс угла наклона кривых высвобождения ($\text{tg}\alpha$) и время полувысвобождения (T_{50}) левофлоксацина

Table 3. The tangent of the angle of the release curves ($\text{tg}\alpha$) and the half-release time (T_{50}) of levofloxacin

Образец	$\text{tg}\alpha$ (%/мин)	T_{50}
Антибак (свободный ЦФ)	0.047	~45 мин
Энтеросгель + ЛФ + ДГК	0.014	~3 суток
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК	0.018	~2 суток

Рисунок 1. Зависимость степени высвобождения левофлоксацина из модельной диализной мембраны от времени (MWCO 3.5 кДа), PBS pH 7.4. Точки представлены как среднее значение трех независимых повторностей; планки погрешности соответствуют SD (n = 3)

Figure 1. The dependence of the degree of levofloxacin release from the model dialysis membrane on time (MWCO 3.5 kDa), PBS pH 7.4. Points are presented as the average of three independent repeats; the error bars correspond to SD (n = 3)



Для комплекса энтеросгель + ЛФ + ДГК $\text{tg}\alpha=0.014$, что в 3.3 раза ниже, чем у «Антибака», а $T_{50} \approx 3$ суток, что свидетельствует о существенном замедлении высвобождения благодаря гидрогелевой матрице энтеросгеля, создающей диффузионный барьер для молекул ЛФ, и гидрофобным взаимодействиям с ДГК, дополнительно стабилизирующим комплекс [Blanco 2018; Samanta et al. 2022]. Для комплекса силикагель + ГП- β -ЦД + ЛФ + ДГК $\text{tg}\alpha=0.018$, что в 2.5 раза ниже, чем у свободного «Антибака», а $T_{50} \approx 2$ суток. Несколько более высокая начальная скорость по сравнению с энтеросгелевым комплексом объясняется пористой структурой силикагеля, обеспечивающей более быструю диффузию воды и растворённого ЛФ через мезопоры носителя, а также присутствием ГП- β -ЦД, увеличивающего растворимость ЛФ в 1.4–2.3 раза за счёт гидрофильной внешней поверхности циклодекстрина [Skuredina et al. 2020b]. Однако, несмотря на более высокую начальную скорость, силикагелевый комплекс всё же обеспечивает пролонгированное высвобождение ($T_{50} \approx 2$ суток), что значительно превышает таковое для «Антибака».

Сравнение полученных данных по кинетике высвобождения с результатами по растворимости (табл. 2) не показывает прямую корреляцию: чем выше растворимость комплекса, тем больше начальная скорость высвобождения. Для комплекса энтеросгель + ЛФ + ДГК растворимость при pH 7.4 составляет 40.9 ± 2.0 мг/мл, $\text{tg}\alpha=0.014$; для силикагель + ГП- β -ЦД + ЛФ + ДГК растворимость ниже (10.7 ± 0.5 мг/мл), но $\text{tg}\alpha$ выше (0.018). Это кажущееся противоречие объясняется тем, что начальная скорость высвобождения определяется не только растворимостью, но и структурой носителя: гидрогелевая матрица энтеросгеля создаёт более эффективный диффузионный барьер, чем пористая структура силикагеля, несмотря на более высокую растворимость ЛФ в энтеросгелевом комплексе [Samanta et al. 2022]. Таким образом, архитектура

носителя вносит дополнительный вклад в замедление высвобождения наряду с растворимостью. При этом оба комплекса демонстрируют профиль контролируемого высвобождения без выраженного «взрывного» эффекта в первые часы, что важно для поддержания терапевтической концентрации антибиотика в крови и тканях рыб в течение длительного времени.

Полученные результаты имеют важное практическое значение для аквакультуры. Снижение начальной скорости высвобождения в 2.5–3.3 раза по сравнению со «Антибаком» позволяет минимизировать потери препарата при пероральном введении с кормом: низкая скорость выхода ЛФ из комплексов в водную среду обеспечивает его доставку непосредственно в желудочно-кишечный тракт рыбы, предотвращая загрязнение воды и снижая риск селекции антибиотикорезистентных штаммов [Shao 2001; Kümmerer 2009; Okeke et al. 2022]. Пролонгированное высвобождение ($T_{50} \approx 2-3$ суток) позволяет сократить частоту введения препарата до одного раза в 2–3 дня, что снижает стресс-фактор для рыб и трудозатраты персонала рыбоводческих хозяйств. Таким образом, разработанные полимерные комплексы левофлоксацина на основе энтеросгеля и силикагеля с ГП-β-ЦД обеспечивают контролируемое высвобождение с начальной скоростью в 2.5–3.3 раза ниже, чем у свободного антибиотика, и временем полувысвобождения от 2 до 3 суток. Оба комплекса характеризуются отсутствием «взрывного» высвобождения и демонстрируют пролонгированный профиль, что делает их перспективными для создания экологически безопасных и эффективных лекарственных форм для аквакультуры. Различия в кинетике высвобождения между комплексами обусловлены как растворимостью ЛФ, так и архитектурой носителя: гидрогелевая матрица энтеросгеля обеспечивает более эффективную диффузионную задержку, чем пористая структура силикагеля.

Также терапевтический потенциал разработанных комплексов определяется их антимикробной активностью, которая зависит не только от концентрации антибиотика, но и от его доступности для бактериальной клетки. Поэтому следующим этапом работы стала оценка минимальной ингибирующей концентрации (МИК) синтезированных комплексов в сравнении с коммерческим препаратом «Антибак» на тест-культурах грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* (штамм 3084) и грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* (штамм 3090).

Анализ данных, представленных в табл. 4, показывает, что все синтезированные полимерные комплексы левофлоксацина, характеризуются более низкими значениями МИК по сравнению с коммерческим препаратом «Антибак» как в отношении *B. subtilis*, так и в отношении *E. coli*. Для *B. subtilis* МИК «Антибака» составляет 7.5 мкг/мл, тогда как для разработанных комплексов значения варьируют от 0.6 до 4.4 мкг/мл. Наиболее выраженное снижение МИК против *B. subtilis* наблюдается для комплекса силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ (0.6 мкг/мл), что в 12.5 раз ниже, чем у «Антибака», и в 3.3 раза ниже, чем у свободного ЛФ (2.0 мкг/мл). Для *E. coli* МИК «Антибака» составляет 0.75 мкг/мл, тогда как для разработанных комплексов значения варьируют от 0.1 до 0.9 мкг/мл. Наименьшее значение МИК против *E. coli* зафиксировано для комплекса энтеросгель + ЛФ (0.1 мкг/мл) что в 7.5 раз ниже, чем у «Антибака», и в 2.5 раза ниже, чем у свободного ЛФ (0.25 мкг/мл). Таким образом, разработанные комплексы обеспечивают снижение МИК в 1.2–12.5 раз по сравнению с коммерческим препаратом и в 1.2–3.3 раза по сравнению со свободным ЛФ в зависимости от типа комплекса и тест-культуры.

Таблица 4. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) полимерных комплексов левофлоксацина против тест-культур

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) of levofloxacin polymer complexes against test cultures

Образец	МИК против <i>B. subtilis</i> , мкг/мл	МИК против <i>E. coli</i> , мкг/мл
Антибак (коммерческий препарат)	7.5 ± 0.3	0.75 ± 0.05
Свободный ЛФ	2.0 ± 0.1	0.25 ± 0.02
Энтеросгель + ЛФ	3.0 ± 0.2	0.10 ± 0.05
Энтеросгель + ЛФ + ДГК	4.4 ± 0.3	0.22 ± 0.01
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ	0.6 ± 0.1	0.45 ± 0.02
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК	2.0 ± 0.1	0.30 ± 0.02

Важно отметить, что все комплексы демонстрируют более высокую активность против *E. coli* (грамотрицательная бактерия) по сравнению с *B. subtilis* (грамположительная бактерия), что соответствует литературным данным о высокой чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к фторхинолонам, особенно к левофлоксацину [Wolfson, Hooper 1989; Davis et al. 1996]. Для грамположительных бактерий, лишённых внешней мембраны, проникновение фторхинолонов происходит через цитоплазматическую мембрану, однако они также проявляют высокую активность, хотя и несколько более низкую, что согласуется с полученными данными.

Антибактериальная активность полученных комплексов зависит не только от выбранной матрицы, но и от добавленных адъювантов. Наиболее активным против *E. coli* является комплекс ЭГ + ЛФ (0.1 мкг/мл), что коррелирует с его высокой растворимостью при pH 7.4 (48.0 ± 2.4 мг/мл, табл. 2) и, следовательно, наибольшей доступностью антибиотика в жидкой среде. Добавление ДГК к ЭГ + ЛФ приводит к увеличению МИК против *E. coli* с 0.1 до 0.22 мкг/мл, что, вероятно, связано со снижением растворимости комплекса (с 48.0 до 40.9 мг/мл, табл. 2) и замедлением начального высвобождения. Для силикагелевых комплексов наименьшее значение МИК против *B. subtilis* зафиксировано для комплекса СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ (0.6 мкг/мл), тогда как добавление ДГК увеличивает МИК до 2.0 мкг/мл. Этот эффект может быть объяснён тем, что ДГК, обладая гидрофобными свойствами, замедляет высвобождение ЛФ из пористой структуры силикагеля, что в условиях метода диффузии в агар (ограниченная диффузия) приводит к снижению локальной концентрации антибиотика в зоне ингибирования. Для энтеросгелевых комплексов добавление ДГК приводит к увеличению МИК (с 3.0 до 4.4 мкг/мл против *B. subtilis* и с 0.1 до 0.22 мкг/мл против *E. coli*), что может быть связано с гидрофобизацией поверхности энтеросгеля, замедляющей выход ЛФ, что согласуется с данными по растворимости (табл. 2), где добавление ДГК снижает растворимость энтеросгелевых комплексов на 14.8–197% в зависимости от pH.

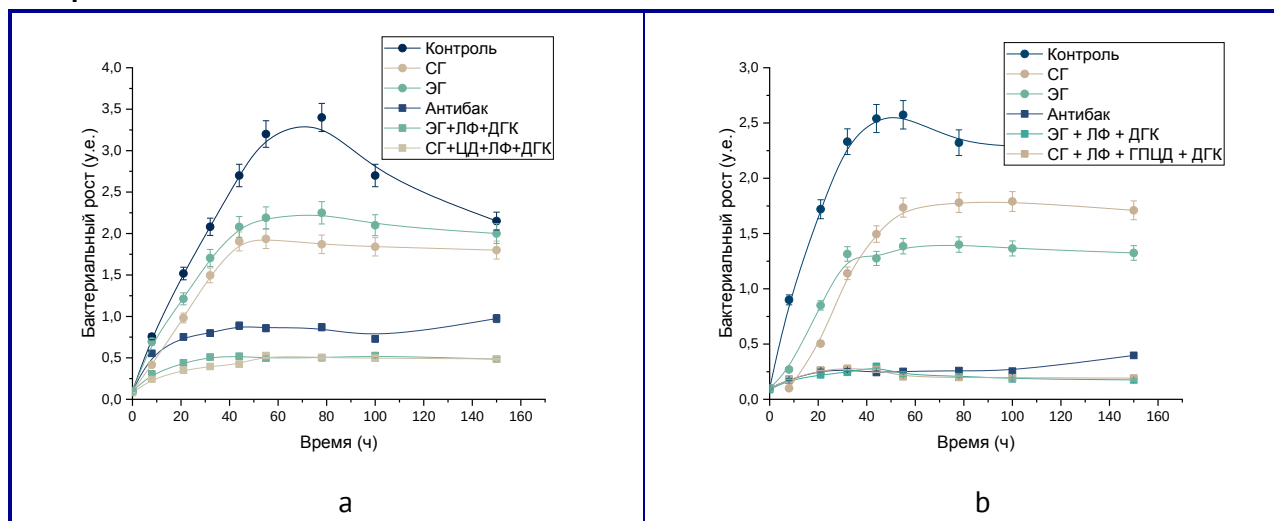
Особого внимания заслуживает сравнение МИК разработанных комплексов с МИК свободного левофлоксацина (2.0 мкг/мл против *B. subtilis* и 0.25 мкг/мл против *E. coli*). Для *B. subtilis* комплексы силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ превосходят свободный ЛФ в 3.3 раза. Для *E. coli* комплексы ЭГ + ЛФ, ЭГ + ЛФ + ДГК, СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК, превосходят свободный ЛФ в 1.1–2.5 раза. Однако важно отметить, что часть комплексов (ЭГ + ЛФ + ДГК, СГ + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК для *B. subtilis*) имеют МИК, сопоставимый или превышающий МИК свободного ЛФ. Этот факт свидетельствует о том, что инкапсуляция левофлоксацина в полимерные носители не всегда приводит к немедленному улучшению антибактериальной активности по сравнению со свободным антибиотиком на твёрдых средах, где высвобождение лимитировано диффузией через агар. Однако в условиях реального применения в аквакультуре, где препарат вводится перорально с кормом, низкая растворимость комплексов обеспечивает защиту от вымывания в воду и доставку антибиотика непосредственно в желудочно-кишечный тракт рыбы, что в конечном счёте повышает терапевтическую эффективность [Shao 2001; Skuredina et al. 2023; Uryadova et al. 2024]. Таким образом, данные МИК на твёрдых средах отражают скорее диффузионные характеристики комплексов, чем их истинный терапевтический потенциал.

Полученные результаты на твёрдых средах показывают, что все синтезированные полимерные комплексы левофлоксацина превосходят коммерческий препарат «Антибак» по антибактериальной активности, однако степень этого превосходства варьирует в широких пределах. Наиболее активными являются комплексы на основе силикагеля с ГП-β-ЦД (против *B. subtilis*) и энтеросгеля (против *E. coli*). Важно подчеркнуть, что антибактериальная активность на твёрдых средах не является единственным критерием оценки эффективности разработанных комплексов для аквакультуры, поскольку в реальных условиях перорального введения ключевую роль играют устойчивость к вымыванию в воду, мукоадгезия и пролонгированное высвобождение в желудочно-кишечном тракте, что было подтверждено в предыдущих разделах.

Для оценки динамики антибактериального действия разработанных комплексов проведено исследование их влияния на кинетику роста тест-культур *E. coli* и *B. subtilis* в жидкой питательной среде LB (рис. 2). В отличие от метода диффузии в агар, при котором антибактериальная активность оценивается по конечному показателю зоны ингибирования, исследование кинетики роста позволяет отслеживать изменение оптической плотности бактериальной культуры во времени и оценивать динамику действия исследуемых образцов.

Рисунок 2. а) Кинетика роста *Bacillus subtilis* (штамм 3090) в присутствии контрольных образцов, носителей без антибиотика и носителей, содержащих левофлоксацин; б) кинетика роста *Escherichia coli* (штамм 3084) в присутствии контрольных образцов, носителей без антибиотика и носителей, содержащих левофлоксацин

Figure 2. а) Growth kinetics of *Bacillus subtilis* (strain 3090) in the presence of control samples, carriers without antibiotic and carriers containing levofloxacin; б) growth kinetics of *Escherichia coli* (strain 3084) in the presence of control samples, carriers without antibiotic and carriers containing levofloxacin



Для количественной характеристики кинетических кривых зависимости OD_{600} от времени была проведена нелинейная регрессионная аппроксимация модифицированной моделью Гомперца. В качестве основных параметров модели использовали асимптотическое значение оптической плотности (OD_{600}) и максимальную удельную скорость роста (μ_{max}). Качество соответствия модели экспериментальным данным оценивали по коэффициенту детерминации R^2 . Полученные параметры представлены в табл. 5 [Skuredina et al. 2022].

Таблица 5. Параметры аппроксимации кинетических кривых роста *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* моделью Гомперца

Table 5. Parameters of approximation of kinetic growth curves of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* by Gompertz model

Тест-культура	<i>B. subtilis</i>			<i>E. coli</i>		
Образец	A	μ_{max}	R^2	A	μ_{max}	R^2
Контроль	2.34 ± 0.09	0.12 ± 0.01	0.993	2.2 ± 0.1	0.38 ± 0.1	0.945
Антибак	0.27 ± 0.02	0.0117 ± 0.005	0.912	0.83 ± 0.03	0.062 ± 0.007	0.990
Энтеросгель + ЛФ + ДГК	0.21 ± 0.01	0.0155 ± 0.008	0.863	0.43 ± 0.06	0.015 ± 0.006	0.924
Силикагель + ГП-β-ЦД + ЛФ + ДГК	0.22 ± 0.02	0.0157 ± 0.006	0.922	0.48 ± 0.03	0.017 ± 0.002	0.985
Энтеросгель	1.42 ± 0.07	0.038 ± 0.004	0.988	1.89 ± 0.06	0.054 ± 0.003	0.996
Силикагель	1.83 ± 0.07	0.046 ± 0.003	0.995	2.06 ± 0.12	0.076 ± 0.008	0.985

Для *B. subtilis* в положительном контроле наблюдалась классическая динамика роста бактериальной культуры с последовательной сменой фаз роста. В присутствии носителей без антибиотика также отмечалось снижение параметров роста относительно контроля. Согласно результатам аппроксимации, значение μ_{max} снизилось с 0.12 в контрольной культуре до 0.038 для ЭГ и 0.046 для СГ, что соответствует снижению максимальной удельной скорости роста на 68.2 и 61.3% соответственно. Возможно, этот эффект обусловлен собственными антибактериальными свойствами носителей: для силикагеля и энтеросгеля – адсорбцией бактериальных клеток на поверхности и нарушением их метаболизма [Blanco 2018; Skuredina et al. 2018; Morin-Crini et al. 2019]. В условиях аквакультуры, где патогены часто присутствуют в виде биоплёнок, адсорбция

бактерий на поверхности энтеросгеля или силикагеля может способствовать их удалению из кишечника рыбы, что снижает нагрузку на иммунную систему и уменьшает потребность в высоких дозах антибиотика.

Более выраженное снижение $\mu_{\max}$ наблюдалось в присутствии ЛФ-содержащих систем. Для комплекса ЭГ+ЛФ+ДГК значение $\mu_{\max}$ составило 0.0155, а для СГ+ЛФ – 0.0157, что соответствует снижению относительно контроля на 87.1 и 86.9% соответственно. Для коммерческого препарата «Антибак» $\mu_{\max}$ составила 0.0117, то есть была ниже контрольного значения на 90.2%. Одновременно с изменением скорости роста наблюдалось снижение асимптотического параметра A (максимального прироста): с 2.34 в контроле до 0.27 для «Антибака», 0.21 для ЭГ+ЛФ и 0.22 для СГ+ЛФ. Таким образом, для *B. subtilis* присутствие ЛФ-содержащих систем сопровождалось выраженным снижением как максимальной скорости роста, так и максимального уровня оптической плотности культуры.

Для *E. coli* в контрольной культуре значение $\mu_{\max}$ составило 0.38. В присутствии «Антибака» данный показатель снизился до 0.062, что соответствует снижению на 83.7% относительно контроля. Для комплексов ЭГ+ЛФ и СГ+ЛФ значения $\mu_{\max}$ составили 0.015 и 0.017 соответственно, что соответствует снижению максимальной удельной скорости роста на 96.0 и 95.4% относительно контрольной культуры. В присутствии носителей без антибиотика $\mu_{\max}$ составляла 0,054 для ЭГ и 0.076 для СГ, что соответствует снижению на 85.3 и 79.5% соответственно.

Для *E. coli* снижение параметра A также было наиболее выражено в присутствии ЛФ-содержащих систем: его значения составили 0.43 для ЭГ+ЛФ и 0.48 для СГ+ЛФ против 2.2 в контроле. Для «Антибака» значение A составило 0.83, тогда как для ЭГ и СГ – 1.89 и 2.06 соответственно. Таким образом, в отношении *E. coli* системы, содержащие левофлоксацин, характеризовались наиболее выраженным снижением параметров, характеризующих кинетику роста бактериальной культуры.

Сопоставление результатов для двух тест-культур показывает, что характер действия исследуемых систем имеет определённые различия. Для *B. subtilis* снижение $\mu_{\max}$ относительно соответствующего контроля составляло 86.9–90.2% для ЛФ-содержащих систем и «Антибака», тогда как для *E. coli* снижение $\mu_{\max}$ достигало 95.4–96.0% для систем ЭГ+ЛФ и СГ+ЛФ. Это свидетельствует о выраженном подавлении кинетики роста обеих тест-культур, при этом относительное снижение максимальной удельной скорости роста при использовании ЛФ-содержащих систем было более выраженным для *E. coli*, что, возможно, связано с более высокой чувствительностью грамотрицательных бактерий к фторхинолонам по сравнению с грамположительными [Campoli-Richards et al. 1988].

Полученные значения R^2 свидетельствуют о хорошем соответствии модели Гомперца экспериментальным данным. Для *B. subtilis* коэффициент детерминации находился в диапазоне 0.863–0.995, а для *E. coli* – 0.920–0.996. Наименьшее значение R^2 наблюдалось для системы ЭГ+ЛФ в отношении *B. subtilis* ($R^2 = 0.863$), однако и в этом случае модель позволяла удовлетворительно описать экспериментальную кривую.

Следует отметить, что носители без антибиотика также оказывали влияние на кинетику роста бактериальных культур, что необходимо учитывать при оценке вклада левофлоксацина в общий антибактериальный эффект. Наблюдаемое дополнительное снижение параметров роста в присутствии ЛФ-содержащих систем указывает на выраженный вклад антибиотика, однако непосредственные механизмы взаимодействия бактериальных клеток с носителями в настоящем исследовании не устанавливались.

В целом результаты кинетического анализа в жидкой питательной среде подтверждают выраженное влияние исследуемых полимерных систем на рост *B. subtilis* и *E. coli*. Использование модели Гомперца позволило дополнить визуальную оценку кривых роста количественной характеристикой максимальной удельной скорости роста и асимптотического уровня OD_{600} , что обеспечивает более объективное сравнение действия исследуемых образцов.

Важно отметить, что в присутствии полимерных комплексов не наблюдается реверсии роста в поздние сроки (3–4 сутки), в отличие от свободного ЛФ и «Антибака», где после 2–3 суток отмечается возобновление роста бактерий, связанное с деградацией антибиотика или селекцией устойчивых вариантов [Kümmerer 2009; Okeke et al. 2022]. Это подтверждает, что инкапсуляция ЛФ в полимерную матрицу обеспечивает защиту антибиотика от деградации и его постепенное высвобождение, поддерживающее бактериостатическую концентрацию в течение длительного времени. Данный эффект особенно важен для аквакультуры, где требуется длительное подавление патогенов при минимальном количестве введений препарата.

Таким образом, исследование кинетики роста бактериальных культур в жидких средах подтверждает, что разработанные полимерные комплексы левофлоксацина способны обеспечивать длительное и эффективное подавление роста как грамположительных (*B. subtilis*), так и грамотрицательных (*E. coli*) бактерий. Собственная антибактериальная активность носителей вносит дополнительный вклад в общий эффект, что особенно важно для снижения необходимых доз антибиотика. Данные по кинетике роста коррелируют с результатами МИК на твёрдых средах, однако различия в диффузионных условиях приводят к некоторым расхождениям, подчёркивающим важность комплексной оценки антибактериальной активности как в твёрдых, так и в жидких средах для объективной характеристики разработанных систем доставки.

В настоящей работе проведено комплексное исследование физико-химических свойств и антимикробной активности полимерных комплексов фторхинолонов с производными циклодекстринов и полимерными носителями для применения в аквакультуре. Работа построена на основе фундаментальных данных по комплексообразованию ципрофлоксацина с β -циклодекстринами, полученных ранее, и их экстраполяции на разработку полимерных комплексов левофлоксацина с энтеросгелем и силикагелем/гидроксипропил- β -циклодекстрином.

Синтезированы несколько типов полимерных комплексов левофлоксацина (ЭГ + ЛФ; СГ + ГП- β -ЦД + ЛФ), характеризующихся высокой эффективностью загрузки (85–95%) и сорбционной ёмкостью до 1,0 мг/мг для ЭГ и 0,7 мг/мг для СГ+ГП- β -ЦД. Все комплексы демонстрируют снижение растворимости по сравнению со свободным ЛФ в 1,4–6 раз в зависимости от типа носителя, состава адъювантов и pH среды. Добавление ДГК снижает растворимость на 19,4–19,7%. Исследование кинетики высвобождения методом равновесного диализа показало, что все полимерные комплексы обеспечивают пролонгированное высвобождение ЛФ с временем полувыведения от 2 ч до 3 суток, при этом начальная скорость высвобождения в 2,5–3 раза ниже, чем у «Антибака».

Ключевое различие между энтеросгелем (ЭГ) и силикагелем (СГ) определяется их химической природой, структурой пор и гидрофильно-липофильным балансом (ГЛБ). ЭГ представляет собой полиметилсилоксана полигидрат – гидрофобную кремнийорганическую матрицу с селективными порами (сорбция соединений 70–1000 Да), что обуславливает его высокую аффинность к левофлоксацину, замедленное высвобождение ($T_{50} \approx 3$ суток) и высокую активность против *E. Coli* (МИК 0.1 мкг/мл). СГ, напротив, является неорганическим полимером с гидрофильной поверхностью (силанольные группы Si–OH); введение ГП- β -ЦД увеличивает сольватацию комплекса и способствует более быстрому высвобождению ЛФ из мезопор ($T_{50} \approx 2$ суток), обеспечивая высокую активность против *B. subtilis* (МИК 0.6 мкг/мл). Таким образом, различия в химической природе ЭГ (гидрофобный) и СГ (гидрофильный с ГП- β -ЦД) определяют их ГЛБ, сорбционную ёмкость и кинетику высвобождения.

По сравнению с коммерческим препаратом «Антибак» - снижение МИК достигает до 12.5 раз (СГ + ГП- β -ЦД + ЛФ против *B. subtilis*) и 7.5 раз (ЭГ + ЛФ против *E. coli*). Наиболее активными являются комплексы на основе силикагеля с ГП- β -ЦД (против *B. subtilis*) и энтеросгеля (против *E. coli*). Исследование кинетики роста бактериальных культур в жидких средах показало, что сами носители (СГ, ЭГ) проявляют собственную антибактериальную активность, замедляя рост бактерий, что вносит дополнительный вклад в общий терапевтический эффект комплексов. Важно отметить, что в присутствии полимерных комплексов не наблюдается реверсии роста в поздние сроки (3–4 сутки), в отличие от «Антибака», что подтверждает защиту антибиотика от деградации и снижение риска селекции устойчивых штаммов. Перспективным направлением дальнейших исследований является оценка антимикробной активности разработанных комплексов в отношении бактериальных возбудителей инфекционных заболеваний рыб, а также определение МИК методом серийных разведений в жидкой питательной среде.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена с использованием оборудования: ИК-микроскоп MICRAN-3 (Simex, Новосибирск, Россия), КД спектрометр Jasco J-815 (JASCO, Токио, Япония) и атомно-силовой микроскоп NTEGRA II (NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия) по программе развития МГУ.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Килякова Ю.В., Мирошникова Е.П., Аринжанов А.Е., Мингазова М.С. (2024) Использование кормовых добавок с сорбционными свойствами в рыбоводстве: Обзор научной литературы. *Ветеринарная патология*. **23**(4): 52–66. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2024-23-4-52-66> EDN: AYPMOP
- Копнова Т.Ю., Кудряшова Е.В. (2025) Биоматериалы и энтеросорбенты как носители лекарств в аквакультуре: Современные подходы и исследования. *Научный спектр*. (3): 26–39. EDN: LKJQUP
- Almasi H., Jahanbakhsh Oskouie M., Saleh A. (2021) A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **61**(15): 2601–2621. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1783199> EDN: RXXXVM
- Ariati R., Sales F., Souza A., Lima R.A., Ribeiro J. (2021) Polydimethylsiloxane composites characterization and its applications: A review. *Polymers*. **13**(23): 4258. <https://doi.org/10.3390/polym13234258> EDN: STQZIZ
- Blanco I. (2018) Polysiloxanes in theranostics and drug delivery: A review. *Polymers*. **10**(7): 755. <https://doi.org/10.3390/polym10070755> EDN: VIRSBO
- Campoli-Richards D.M., Monk J.P., Price A., Benfield P., Todd P.A., Ward A. (1988) Ciprofloxacin. *Drugs*. **35**(4): 373–447. <https://doi.org/10.2165/00003495-198835040-00003> EDN: IDLGDS
- Committee on Infectious Diseases (2006) The use of systemic fluoroquinolones. *Pediatrics*. **118**(3): 1287–1292. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1722>
- Davis M.E., Brewster M.E. (2004) Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*. **3**(12): 1023–1035. <https://doi.org/10.1038/nrd1576>
- Davis R., Bryson H.M. (1994) Levofloxacin. *Drugs*. **47**(4): 677–700. <https://doi.org/10.2165/00003495-199447040-00008> EDN: EPDXPW
- Davis R., Markham A., Balfour J.A. (1996) Ciprofloxacin. *Drugs*. **51**(6): 1019–1074. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651060-00010> EDN: AIPEMR
- Grave K., Engelstad M., Søli N.E., Håstein T. (1990) Utilization of antibacterial drugs in salmonid farming in Norway during 1980–1988. *Aquaculture*. **86**(4): 347–358. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90323-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90323-F)
- Hektoen H., Berge J.A., Hormazabal V., Yndestad M. (1995) Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*. **133**(3–4): 175–184. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00310-K](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00310-K) EDN: AOZFGI
- Kümmerer K. (2009) Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*. **75**(4): 417–434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086> EDN: KPNALP
- Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Kudryashova E. V. (2017) Drug delivery systems for fluoroquinolones: New prospects in tuberculosis treatment. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **43**(5): 487–501. <https://doi.org/10.1134/S1068162017050077> EDN: XNUIOB
- León-Rodríguez L., Luzardo-Álvarez A., Blanco-Méndez J., Lamas J., Leiro J. (2013) Biodegradable microparticles covalently linked to surface antigens of the scuticociliate parasite *P. dicentrarchi* promote innate immune responses *in vitro*. *Fish & Shellfish Immunology*. **34**(1): 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.10.029> EDN: POSYRS
- Loftsson T., Jarho P., Másson M., Järvinen T. (2005) Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. **2**(2): 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>
- Morin-Crini N., Fourmentin M., Fourmentin S., Torri G., Crini G. (2019) Synthesis of silica materials containing cyclodextrin and their applications in wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*. **17**(2): 683–696. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00818-0> EDN: IYKMHM
- Nasr-Eldahan S., Nabil-Adam A., Shreadah M.A., Maher A.M., El-Sayed Ali T. (2021) A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. *Aquaculture International*. **29**(4): 1459–1480. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00677-7> EDN: RXMMCZ
- Okeke E.S., Chukwudozie K.I., Nyaruaba R., Ita R.E., Oladipo A., Ejeromedoghene O., Atakpa E.O., Agu C.V., Okoye C.O. (2022) Antibiotic resistance in aquaculture and aquatic organisms: a review of current nanotechnology applications for sustainable management. *Environmental Science and Pollution Research*. **29**(46): 69241–69274. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22319-y> EDN: CKOFWO
- Ortega V.A., Boyle D., Hodgkinson J.W., Simmons D.B.D., Belosevic M., Stafford J.L., Goss G.G. (2021) Polymer-coated TiO₂ nanoparticles bioaccumulate, immunoactivate and

- suppress pathogenic *Mycobacterium chelonae* clearance when intravenously injected into goldfish (*Carassius auratus* L.). *Environmental Science: Nano*. **8**(7): 1910–1926. <https://doi.org/10.1039/D1EN00039J> EDN: OMOUAB
- Raut S.Y., Manne A.S.N., Kalthur G., Jain S., Mutalik S. (2019) Cyclodextrins as carriers in targeted delivery of therapeutic agents: Focused review on traditional and inimitable applications. *Current Pharmaceutical Design*. **25**(4): 444–454. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190306163602>
- Samanta P., Dey S., Ghosh A.R., Kim J.K. (2022) Nanoparticle nutraceuticals in aquaculture: A recent advances. *Aquaculture*. **560**: 738494. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738494> EDN: YCPGSY
- Schacht P., Arcieri G., Hullmann R. (1989) Safety of oral ciprofloxacin. *The American Journal of Medicine*. **87**(5): S98–S102. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(89\)90033-8](https://doi.org/10.1016/0002-9343(89)90033-8)
- Schar D., Klein E.Y., Laxminarayan R., Gilbert M., Van Boeckel T.P. (2020) Global trends in antimicrobial use in aquaculture. *Scientific Reports*. **10**(1): 21878. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78849-3> EDN: SNVOAK
- Sergina Yu.A., Zhandalgarova A.D., Bakhareva A.A., Grozesku Yu.N., Fedorovykh Yu. V., Nevalennyi A.N. (2022) The effect of modern probiotic preparations on enterosorbents on the piscicultural and microbiological parameters of sturgeon fish. In: Arkhipov A.G. (ed.) *Sustainable Fisheries and Aquaculture: Challenges and Prospects for the Blue Bioeconomy*. Springer International Publishing. Cham: 11–19. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08284-9_2
- Shao Z.J. (2001) Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: Current perspectives and future possibilities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **50**(3): 229–243. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00159-4) EDN: KJCFIF
- Skuredina A.A., Danilov M.R., Le-Deygen I.M., Kudryashova E. V. (2018) Adsorption properties of mesoporous silica gel with β -cyclodextrin as a pore-forming agent relative to moxifloxacin. *Moscow University Chemistry Bulletin*. **73**(4): 192–198. <https://doi.org/10.3103/S0027131418040107> EDN: YBWCEH
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2023) Encapsulation of ciprofloxacin into a cyclodextrin polymer matrix: The complex formation with human serum albumin and *in vitro* studies. *Chemistry*. **5**(3): 1942–1960. <https://doi.org/10.3390/chemistry5030132> EDN: LFBAAN
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Le-Deygen I.M., Kudryashova E. V. (2020a) Physical and chemical properties of the guest–host inclusion complexes of ciprofloxacin with β -cyclodextrin derivatives. *Moscow University Chemistry Bulletin*. **75**(4): 218–224. <https://doi.org/10.3103/S0027131420040069> EDN: NNMDEN
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Tychinina A.S., Golyshev S.A., Le-Deygen I.M., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2022) The new strategy for studying drug-delivery systems with prolonged release: Seven-day *in vitro* antibacterial action. *Molecules*. **27**(22): 8026. <https://doi.org/10.3390/molecules27228026> EDN: FZOSAL
- Skuredina A.A., Le-Deygen I.M., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2020b) Effect of cross-linking on the inclusion complex formation of derivatized β -cyclodextrins with small-molecule drug moxifloxacin. *Carbohydrate Research*. **498**: 108183. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108183> EDN: SOPNWO
- Szejtli J. (1998) Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*. **98**(5): 1743–1754. <https://doi.org/10.1021/cr970022c>
- Szente L. (1999) Highly soluble cyclodextrin derivatives: Chemistry, properties, and trends in development. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **36**(1): 17–28. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(98\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(98)00092-1)
- Uryadova G., Fokina N., Poddubnaya I., Karpunina L., Gurkina O.A., Rudneva O.N., Kudryashova E., Zlotnikov I. (2024) Study of the effect of β -cyclodextrin complexes with levofloxacin on some microbiological parameters of wounds and large intestine in sturgeons. *Bulletin of KSAU*. **0**(4): 131–136. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2023-4-131-136> EDN: MBMLRM
- Wolfson J.S., Hooper D.C. (1989) Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **2**(4): 378–424. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.4.378>
- Yakupova L.R., Kopnova T.Yu., Skuredina A.A., Kudryashova E. V. (2022) Effect of methyl- β -cyclodextrin on the interaction of fluoroquinolones with human serum albumin. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **48**(1): 163–172. <https://doi.org/10.1134/S1068162022010149> EDN: TXLUJF

Zhandalgarova A., Grozesku Y. (2024) Evaluation of the effect of the sorbed probiotic preparation "Ecoflor" on the cellular immunity factors of the Russian-Lena sturgeon. *E3S Web of Conferences*. **494**: 01020. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202449401020> EDN: ROYFWP

REFERENCES

- Kilyakova Yu.V., Miroshnikova E.P., Arinzhanov A.E., Mingazova M.S. (2024) Use of feed additives with sorption properties in fish farming: Literature review. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. **23**(4): 52–66. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2024-23-4-52-66> EDN: AYPMQP (in Russian)
- Kopnova T.Yu., Kudryashova E.V. (2025) Biomaterials and enterosorbents as drug carriers in aquaculture: Modern approaches and research. *Science Spectrum [Nauchnyi spektr]*. (3): 26–39. EDN: LKJQUP (in Russian)
- Almasi H., Jahanbakhsh Oskouie M., Saleh A. (2021) A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **61**(15): 2601–2621. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1783199> EDN: RXXXVM
- Ariati R., Sales F., Souza A., Lima R.A., Ribeiro J. (2021) Polydimethylsiloxane composites characterization and its applications: A review. *Polymers*. **13**(23): 4258. <https://doi.org/10.3390/polym13234258> EDN: STQZIZ
- Blanco I. (2018) Polysiloxanes in theranostics and drug delivery: A review. *Polymers*. **10**(7): 755. <https://doi.org/10.3390/polym10070755> EDN: VIRSBO
- Campoli-Richards D.M., Monk J.P., Price A., Benfield P., Todd P.A., Ward A. (1988) Ciprofloxacin. *Drugs*. **35**(4): 373–447. <https://doi.org/10.2165/00003495-198835040-00003> EDN: IDLGDS
- Committee on Infectious Diseases (2006) The use of systemic fluoroquinolones. *Pediatrics*. **118**(3): 1287–1292. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1722>
- Davis M.E., Brewster M.E. (2004) Cyclodextrin-based pharmaceuticals: Past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*. **3**(12): 1023–1035. <https://doi.org/10.1038/nrd1576>
- Davis R., Bryson H.M. (1994) Levofloxacin. *Drugs*. **47**(4): 677–700. <https://doi.org/10.2165/00003495-199447040-00008> EDN: EPDXPW
- Davis R., Markham A., Balfour J.A. (1996) Ciprofloxacin. *Drugs*. **51**(6): 1019–1074. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651060-00010> EDN: AIPEMR
- Grave K., Engelstad M., Sølvi N.E., Håstein T. (1990) Utilization of antibacterial drugs in salmonid farming in Norway during 1980–1988. *Aquaculture*. **86**(4): 347–358. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90323-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90323-F)
- Hektoen H., Berge J.A., Hormazabal V., Yndestad M. (1995) Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*. **133**(3–4): 175–184. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00310-K](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00310-K) EDN: AOZFGI
- Kümmerer K. (2009) Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*. **75**(4): 417–434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086> EDN: KPNALP
- Le-Deygen I.M., Skuredina A.A., Kudryashova E. V. (2017) Drug delivery systems for fluoroquinolones: New prospects in tuberculosis treatment. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **43**(5): 487–501. <https://doi.org/10.1134/S1068162017050077> EDN: XNUIOB
- León-Rodríguez L., Luzardo-Álvarez A., Blanco-Méndez J., Lamas J., Leiro J. (2013) Biodegradable microparticles covalently linked to surface antigens of the scuticociliate parasite *P. dicentrarchi* promote innate immune responses *in vitro*. *Fish & Shellfish Immunology*. **34**(1): 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.10.029> EDN: POSYRS
- Loftsson T., Jarho P., Måsson M., Järvinen T. (2005) Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. **2**(2): 335–351. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.1.335>
- Morin-Crini N., Fourmentin M., Fourmentin S., Torri G., Crini G. (2019) Synthesis of silica materials containing cyclodextrin and their applications in wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*. **17**(2): 683–696. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00818-0> EDN: IYKMHM
- Nasr-Eldahan S., Nabil-Adam A., Shreadah M.A., Maher A.M., El-Sayed Ali T. (2021) A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. *Aquaculture International*. **29**(4): 1459–1480. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00677-7> EDN: RXMMCZ
- Okeke E.S., Chukwudozie K.I., Nyaruaba R., Ita R.E., Oladipo A., Ejeromedoghene O., Atakpa E.O., Agu C.V., Okoye C.O. (2022) Antibiotic resistance in aquaculture and aquatic organisms: a review of current nanotechnology applications for sustainable management.

- Environmental Science and Pollution Research*. **29**(46): 69241–69274. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22319-y> EDN: CKQFWO
- Ortega V.A., Boyle D., Hodgkinson J.W., Simmons D.B.D., Belosevic M., Stafford J.L., Goss G.G. (2021) Polymer-coated TiO₂ nanoparticles bioaccumulate, immunoactivate and suppress pathogenic *Mycobacterium chelonae* clearance when intravenously injected into goldfish (*Carassius auratus* L.). *Environmental Science: Nano*. **8**(7): 1910–1926. <https://doi.org/10.1039/D1EN00039J> EDN: OMOUAB
- Raut S.Y., Manne A.S.N., Kalthur G., Jain S., Mutalik S. (2019) Cyclodextrins as carriers in targeted delivery of therapeutic agents: Focused review on traditional and inimitable applications. *Current Pharmaceutical Design*. **25**(4): 444–454. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190306163602>
- Samanta P., Dey S., Ghosh A.R., Kim J.K. (2022) Nanoparticle nutraceuticals in aquaculture: A recent advances. *Aquaculture*. **560**: 738494. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738494> EDN: YCPGSY
- Schacht P., Arcieri G., Hullmann R. (1989) Safety of oral ciprofloxacin. *The American Journal of Medicine*. **87**(5): S98–S102. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(89\)90033-8](https://doi.org/10.1016/0002-9343(89)90033-8)
- Schar D., Klein E.Y., Laxminarayan R., Gilbert M., Van Boeckel T.P. (2020) Global trends in antimicrobial use in aquaculture. *Scientific Reports*. **10**(1): 21878. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78849-3> EDN: SNVOAK
- Sergina Yu.A., Zhandalgarova A.D., Bakhareva A.A., Grozesku Yu.N., Fedorovykh Yu. V., Nevalennyi A.N. (2022) The effect of modern probiotic preparations on enterosorbents on the piscicultural and microbiological parameters of sturgeon fish. In: Arkhipov A.G. (ed.) *Sustainable Fisheries and Aquaculture: Challenges and Prospects for the Blue Bioeconomy*. Springer International Publishing. Cham: 11–19. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08284-9_2
- Shao Z.J. (2001) Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: Current perspectives and future possibilities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **50**(3): 229–243. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00159-4) EDN: KJCFIF
- Skuredina A.A., Danilov M.R., Le-Deygen I.M., Kudryashova E. V. (2018) Adsorption properties of mesoporous silica gel with β -cyclodextrin as a pore-forming agent relative to moxifloxacin. *Moscow University Chemistry Bulletin*. **73**(4): 192–198. <https://doi.org/10.3103/S0027131418040107> EDN: YBWCEH
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2023) Encapsulation of ciprofloxacin into a cyclodextrin polymer matrix: The complex formation with human serum albumin and *in vitro* studies. *Chemistry*. **5**(3): 1942–1960. <https://doi.org/10.3390/chemistry5030132> EDN: LFBAAN
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Le-Deygen I.M., Kudryashova E. V. (2020a) Physical and chemical properties of the guest–host inclusion complexes of ciprofloxacin with β -cyclodextrin derivatives. *Moscow University Chemistry Bulletin*. **75**(4): 218–224. <https://doi.org/10.3103/S0027131420040069> EDN: NNMDEN
- Skuredina A.A., Kopnova T.Yu., Tychinina A.S., Golyshev S.A., Le-Deygen I.M., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2022) The new strategy for studying drug-delivery systems with prolonged release: Seven-day *in vitro* antibacterial action. *Molecules*. **27**(22): 8026. <https://doi.org/10.3390/molecules27228026> EDN: FZOSAL
- Skuredina A.A., Le-Deygen I.M., Belogurova N.G., Kudryashova E. V. (2020b) Effect of cross-linking on the inclusion complex formation of derivatized β -cyclodextrins with small-molecule drug moxifloxacin. *Carbohydrate Research*. **498**: 108183. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108183> EDN: SOPNWO
- Szejtli J. (1998) Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews*. **98**(5): 1743–1754. <https://doi.org/10.1021/cr970022c>
- Szente L. (1999) Highly soluble cyclodextrin derivatives: Chemistry, properties, and trends in development. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **36**(1): 17–28. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(98\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(98)00092-1)
- Uryadova G., Fokina N., Poddubnaya I., Karpunina L., Gurkina O.A., Rudneva O.N., Kudryashova E., Zlotnikov I. (2024) Study of the effect of β -cyclodextrin complexes with levofloxacin on some microbiological parameters of wounds and large intestine in sturgeons. *Bulletin of KSAU*. **0**(4): 131–136. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2023-4-131-136> EDN: MBMLRM
- Wolfson J.S., Hooper D.C. (1989) Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **2**(4): 378–424. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.4.378>

- Yakupova L.R., Kopnova T.Yu., Skuredina A.A., Kudryashova E. V. (2022) Effect of methyl- β -cyclodextrin on the interaction of fluoroquinolones with human serum albumin. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **48**(1): 163–172. <https://doi.org/10.1134/S1068162022010149> EDN: TXLUJF
- Zhandalgarova A., Grozesku Y. (2024) Evaluation of the effect of the sorbed probiotic preparation “Ecoflor” on the cellular immunity factors of the Russian-Lena sturgeon. *E3S Web of Conferences*. **494**: 01020. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202449401020> EDN: ROYFWP

Цитировать как

Копнова Т.Ю., Злотников И.Д., Копнова Л.Р., Белогурова Н.Г., Кудряшова Е.В. (2026). Физико-химические свойства и антимикробная активность комплексов фторхинолонов с производными циклодекстринов и полимерными носителями для применения в аквакультуре. *Экобиотех.* **9**(3): 418-436. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-32> EDN: <https://www.elibrary.ru/ukbtsy>

Сведения об авторах

Татьяна Юрьевна Копнова, аспирант, Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия. E-mail: kopnovataty@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5196-5863, Scopus Author ID: 57219146669, WoS Research ID: GYJ-0598-2022.

Игорь Дмитриевич Злотников, аспирант, Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, м.н.с. Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: izlotnikov2003@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2497-0859, Scopus Author ID: 57364413300.

Линара Ринатовна Копнова, аспирант, Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, м.н.с., Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: yakupova.linara@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5883-4687, Scopus Author ID: 57221382377, WoS Research ID: GYE-2316-2022.

Наталья Георгиевна Белогурова, к.х.н., доц. Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия. E-mail: nbelog@mail.ru, SPIN: 4150-9290.

Елена Вадимовна Кудряшова, д.х.н., проф., Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; зав. лаб. Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, SPIN: 5483-4291, ORCID: 0000-0002-9761-7757, Scopus Author ID: 35585459100, WoS Research ID: AAD-1171-2022.

Cited as

Kopnova T.Yu., Zlotnikov I.D., Kopnova L.R., Belogurova N.G., Kudryashova E.V. (2026). Physicochemical properties and antimicrobial activity of fluoroquinolone complexes with cyclodextrin derivatives and polymeric carriers for aquaculture applications. *Ecobiotech.* **9**(3): 418-436. DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-32> EDN: <https://www.elibrary.ru/ukbtsy>

Information About the Authors

Tatyana Yu. Kopnova, PhD Student, Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: kopnovataty@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5196-5863, Scopus Author ID: 57219146669, WoS Research ID: GYJ-0598-2022.

Igor D. Zlotnikov, PhD student, Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University; Junior Researcher, Central University, Moscow, Russia. E-mail: izlotnikov2003@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2497-0859, Scopus Author ID: 57364413300.

Linara R. Kopnova, PhD student, Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University; Junior Researcher, Central University, Moscow, Russia. E-mail: yakupova.linara@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5883-4687, Scopus Author ID: 57221382377, WoS Research ID: GYE-2316-2022.

Natalia G. Belogurova, PhD (Chemistry), Associate Professor, Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: nbelog@mail.ru, SPIN: 4150-9290.

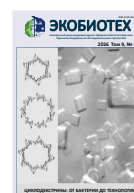
Elena V. Kudryashova, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University; Head of Laboratory, Central University, Moscow, Russia. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, SPIN: 5483-4291, ORCID: 0000-0002-9761-7757, Scopus Author ID: 35585459100, WoS Research ID: AAD-1171-2022.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>



УДК 541.64:539.2+620.22:54:6



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ | RESEARCH ARTICLE

КОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ ВОДРАСТВОРИМОГО ПОЛИУРЕТАНА, БРИЛЛИАНТОВОГО ЗЕЛЁНОГО И ПРОИЗВОДНЫХ β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА

Лобова Н.А.^{1,2*}, Александрова А.В.¹,
Святославская Т.А.¹, Святославский Н.Л.¹,
Венидиктова О.В.¹

¹ НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия

² Московский Физико-технический Институт (Национальный
исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

*E-mail: lobova_n_a@mail.ru

A COMPOSITE MATERIAL BASED ON WATER SOLUBLE POLYURETHANE, BRILLIANT GREEN AND β -CYCLODEXTRIN DERIVATIVES

Lobova N.A.^{1,2*}, Aleksandrova A.V.¹,
Svyatoslavskaya T.A.¹, Svyatoslavskiy N.L.¹,
Venidiktova O.V.¹

¹ NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia

² Moscow Institute of Physics and Technology,
Dolgoprudny, Russia

*E-mail: lobova_n_a@mail.ru

Аннотация

Одним из направлений современной медицины является разработка местно применяемых (топических) композитных материалов, содержащих в своём составе соединения различной химической природы, обладающие ранозаживляющими свойствами или способные проникать в глубокие слои кожи. В этой парадигме впервые исследован композитный материал на основе водорастворимого полиуретана и производных циклодекстринов как потенциально перспективный материал для трансдермальной доставки, представляющий собой смешанный макро-микро-пористый носитель, содержащий краситель бриллиантовый зелёный. Методом спектрофотометрического титрования оценены константы комплексообразования краситель-циклодекстрин (lgK 1:1 до 5.0). Методом электронной спектроскопии оценена кинетика накопления красителя и его супрамолекулярных комплексов в материале. Методом атомно-силовой микроскопии оценена пористость материала. Показано, что введение в полимерную матрицу водорастворимого полиуретана гидроксипропил- β -циклодекстрина, имеющего сродство к полимеру, увеличивает относительную сорбционную ёмкость композитного материала в 1.4 раза. Смешанные макро-микро-пористые носители могут оказаться перспективными для допирования их наноразмерными объектами.

Ключевые слова:

водорастворимый полиуретан, биологически-активные вещества, кавитанды, супрамолекулярный комплекс, спектрофотометрия, АСМ, пористость

Abstract

One of the areas of modern medicine is the development of locally applied (topical) composite materials containing compounds of various chemical nature that have healing or penetrating properties in deep layers of the skin. In this paradigm, a composite material based on water-soluble polyurethane and derivatives of cyclodextrin were first investigated for transdermal application. This material is a mixed macro-microporous carrier containing brilliant green dye. Spectrophotometric titration was used to estimate the dye-cyclodextrin complexation constants (lgK 1:1 up to 5.0). Electron spectroscopy was used to evaluate the kinetics of the dye and the accumulation of the supramolecular complex in the material. Atomic force microscopy was used to evaluate the porosity of the material. Introducing hydroxypropyl- β -cyclodextrin, a water-soluble polyurethane with polymer affinity, into the polymer matrix increases the relative sorption capacity of the composite material by 1.4-fold. Mixed macro-microporous carriers may be of promise for doping with nanoscale objects.

Keywords:

water-soluble polyurethane, biologically active substances, cavitands, supramolecular complex, spectrophotometry, AFM, porosity

Поступила в редакцию: 16.08.2026

Принято в печать: 22.09.2026

Received: 16.08.2026

Accepted: 22.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-33> EDN: <https://www.elibrary.ru/xkcebm>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных направлений в современной медицине является создание «умных» материалов для трансдермальной доставки лекарственных препаратов. Подобные системы позволяют избежать последовательных кислотного и щелочного катализа, характерных для превращений в желудочно-кишечном тракте, а также метаболизма в печени или почках, несущих риски токсического воздействия на организм [He *et al.* 2023]. В последнее время рынок медицинских изделий завоёвывают различные виды пластырей, носимых на поверхности кожного покрова или закрывающих поверхность раны в виде скаффолда [Lebedeva *et al.* 2024]. Считается, что нательный пластырь может обеспечить дозовый, временной и пространственный контроль доставки терапевтических агентов, в связи с этим разработка новых покрытий для носимых пластырей является актуальной задачей.

Для пластырей активно применяются полимерные материалы, в частности, полиуретаны, которые способны включать в себя фото- и термочувствительные соединения, сохраняя их свойства [Venkatraman *et al.* 2003; Грачёв *и др.* 2022]. Такие материалы отвечают требованиям, предъявляемым к биомедицинским материалам по безопасности [Karpov *et al.* 2026], инертности и утилизации [Fan *et al.* 2023]. В нашем случае в качестве перспективной основы был выбран водорастворимый полиуретан (WSPU), обладающий хорошей адгезией к покрытиям различных типов [Грачёв *и др.* 2022].

В качестве биологически-активного вещества – лекарственного «наполнителя» WSPU использовали краситель бриллиантовый зелёный (BG), обладающий подтверждённой бактериостатической активностью, способный быть извлечённым из растворов при помощи модифицированных полиуретанов [Kong *et al.* 2016] и разрешённый к использованию в качестве лекарственного средства [Министерство здравоохранения РФ 2023]. BG также хорош тем, что обладает люминесценцией, попадающей в так называемое «окно прозрачности биотканей» от 650 до 1000 нм (излучение данного диапазона обладает большей проникающей способностью в биоткани, чем излучение видимого спектра). В медицинских источниках описаны случаи местной лекарственной аллергии на бриллиантовый зелёный, проявляющиеся в виде аллергического контактного дерматита, вызванного индивидуальной гиперчувствительностью к анилиновым красителям. Мы предположили, что дозированное извлечение красителя из полимерного материала может уменьшить топоческую нагрузку и снизить проявления воспалительных процессов [Хлудова *и др.* 2019].

В качестве агентов, увеличивающих растворимость биологически-активных веществ и, следовательно, трансдермальное проникновение [Nicolaiescu *et al.* 2025], могут быть использованы производные циклодекстринов, применяющиеся также для обратного процесса - извлечения органических компонентов из водных сред [Syeda *et al.* 2022]. Целью нашей работы было воспользоваться супрамолекулярной методологией и создать новый композитный материал на основе WSPU с использованием β -циклодекстрина (β -CD) и гидроксипропил- β -циклодекстрина (HP- β -CD) [Jessie Lue, Peng 2003] в качестве моделей пор заранее известного объёма [Wang *et al.* 2019], а также комплексы с циклодекстринами как отдельные лекарственные субъединицы, способные проникать из материала-носителя в биологические объекты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы: β -циклодекстрин (Sigma-Aldrich), гидроксипропил- β -циклодекстрин (Sigma-Aldrich), бриллиантовый зелёный (Sigma-Aldrich) и растворители: этанол (Merck), H_2O (Honeywell) были использованы без дополнительной очистки.

Образцы полимера WSPU (25 мг сухого вещества на 100 мг водной дисперсии) были предоставлены ФИЦ ПХФ и МХ РАН. Представленные образцы WSPU являются изофорондиизоцианат-замещёнными, что улучшает физико-механические свойства полимерного материала и его светостойкость.

Стеклянные подложки для нанесения WSPU очищались и гидрофилизировались воздействием холодной высокочастотной плазмы на установке плазменной очистки PDC-001-HP (Harrick Plasma) при натекании воздуха в течение 30 минут.

Нанесение алиquot 5% водного раствора WSPU объёмом 200 мкл на стеклянные подложки производилось методом полива с последующим высушиванием на горизонтальной поверхности в обеспыленном боксе.

Получение композитного материала проводилось путём сорбции красителя в слой полимера при комнатной температуре последовательным выдерживанием подложек с нанесённым WSPU в растворах с концентрацией 2×10^{-4} М (для BG), и 4×10^{-4} М (для циклодекстринов) в течение определённого временного интервала.

Исследования методами электронной спектроскопии и спектрофотометрическое титрование проводили с использованием спектрофотометра Cary 4000 (Agilent) в кварцевых кюветках ($l = 1$ см) в смесях H_2O (Honeywell) и этанола (Merck) при комнатной температуре с шагом 1 нм. Концентрацию BG поддерживали постоянной на уровне 2×10^{-5} М, концентрацию CD изменяли от 0 до 4×10^{-4} М. Последовательное наращивание концентрации титранта производили градиентным добавлением алиquot титрующей смеси (раствор CD + BG) к раствору титруемого красителя. Запись спектров поглощения производили после каждой добавки.

АСМ-исследования проводили в полуконтактном режиме на приборе «Solver P47» (ЗАО «NT-MDT», г. Зеленоград, Россия) на воздухе с использованием отечественных Si кантилеверов (ЗАО «NT-MDT»). В качестве подложек использовали поверхности свежего скола слюды. Исследуемыми образцами служили плёнки WSPU, допированные BG, циклодекстринами или их супрамолекулярными комплексами.

Статистическая обработка данных (вычисление значений констант и погрешностей определения) использовалась как встроенная опция программы HypSpec расчётного пакета HyperQuad [Gans *et al.* 1996]. Достоверность результатов и устойчивость расчётных алгоритмов подтверждались сходимостью рядов при выполнении вычислений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно [Ben Jannet *et al.* 2026], что каркасные молекулы – производные циклодекстринов – способны образовывать с молекулами-«гостями» комплексы инклюзионного или эксклюзионного типа. Мы предположили, что вследствие стерически-разветвлённой геометрии BG он также будет образовывать комплексы преимущественно эксклюзионного типа (такие, в которых молекула-«гость» скоординирована по порталу или погружена в полость молекулы-«хозяина» только частично).

Комплексообразование между BG и производными циклодекстринов изучали с помощью спектрофотометрии (рис. 2) в смеси вода–этанол (1:1, по объёму), которая обеспечивает наилучшую растворимость компонентов. BG демонстрирует интенсивную полосу поглощения в видимой области спектра: $\lambda_{\max} = 633$ нм, $\varepsilon_{\max} = 25000$ М⁻¹·см⁻¹.

Рисунок 1. Структуры молекул: красителя BG (а) и производных циклодекстринов на примере каркаса β -CD (b).

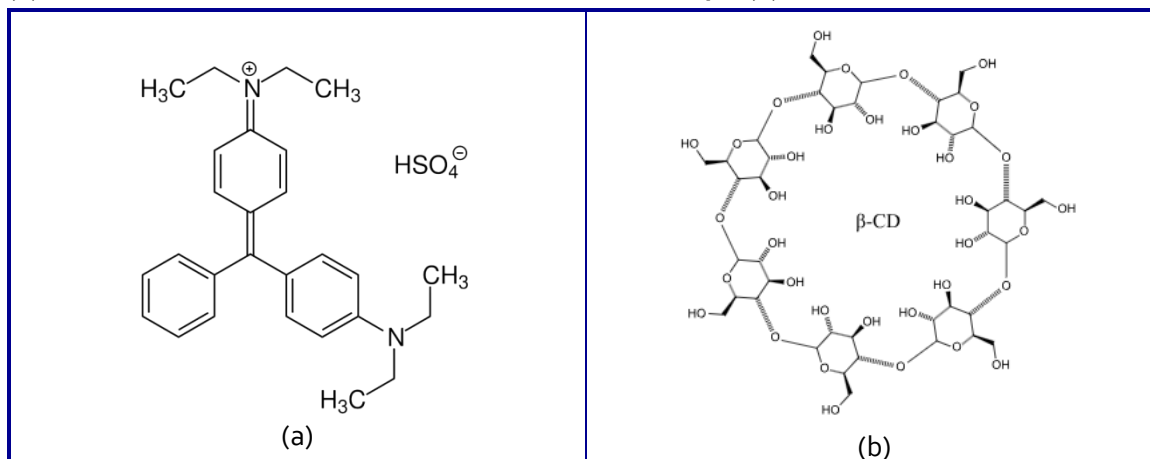
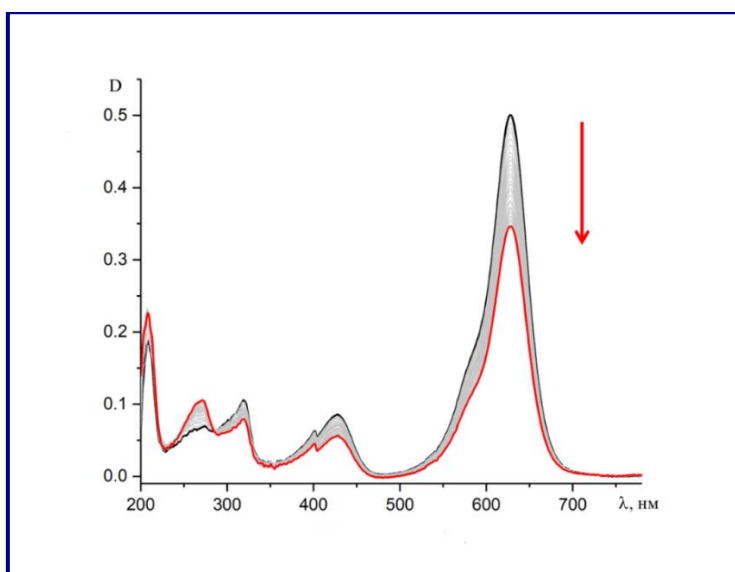


Figure 1. Structures of molecules: BG dye (a) and cyclodextrin derivatives using the β -CD framework as an example (b).

Константы комплексообразования были определены методом спектрофотометрического титрования, расчёт значений констант проводили с помощью программы Hupsres из пакета HyperQuad [Gans *et al.* 1996].

Рисунок 2. Спектрофотометрическое титрование BG ($C_{\text{BG}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$) раствором β -CD ($C_{\beta\text{-CD}}$ варьировали от 0 до $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) в смеси вода-этанол (1:1, по объёму).

Figure 2. Spectrophotometric titration of BG ($C_{\text{BG}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$) with a solution of β -CD ($C_{\beta\text{-CD}}$ varied from 0 to $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) in a water-ethanol mixture (1:1, v/v).



Константы комплексообразования были определены методом спектрофотометрического титрования, расчёт значений констант проводили с помощью программы Hupsres из пакета HyperQuad [Gans *et al.* 1996].

Зависимость изменений в спектрах поглощения BG от изменения концентрации кавитанда хорошо описывается реакционной моделью, учитывающей одно равновесие (1):



где CAV = β -CD или HP- β -CD. Константы измерены с точностью $\pm 30\%$.

Значения логарифмов констант устойчивости составили $\lg K_{\text{BG} \cdot \beta\text{-CD}} = 4.9$, $\lg K_{\text{BG} \cdot \text{HP-}\beta\text{-CD}} = 5.0$.

Введение BG в полимерную матрицу осуществляли помещением образцов WSPU в водно-этанольные растворы BG с контролем кинетики процесса сорбции. Динамику накопления BG в полимерной матрице WSPU как без циклодекстринов, так и в присутствии молекул-кавитандов

контролировали методом электронной спектроскопии (рис. 3). Изменения имеют выраженное увеличение поглощения в области ДПП, что можно объяснить накоплением красителя и увеличением жёсткости микроокружения красителя.

Рисунок 3. Кинетика накопления бриллиантового зелёного в матрице WSPU по данным спектров поглощения исследуемых плёнок: без циклодекстрина (а); в присутствии HP-β-CD (b).

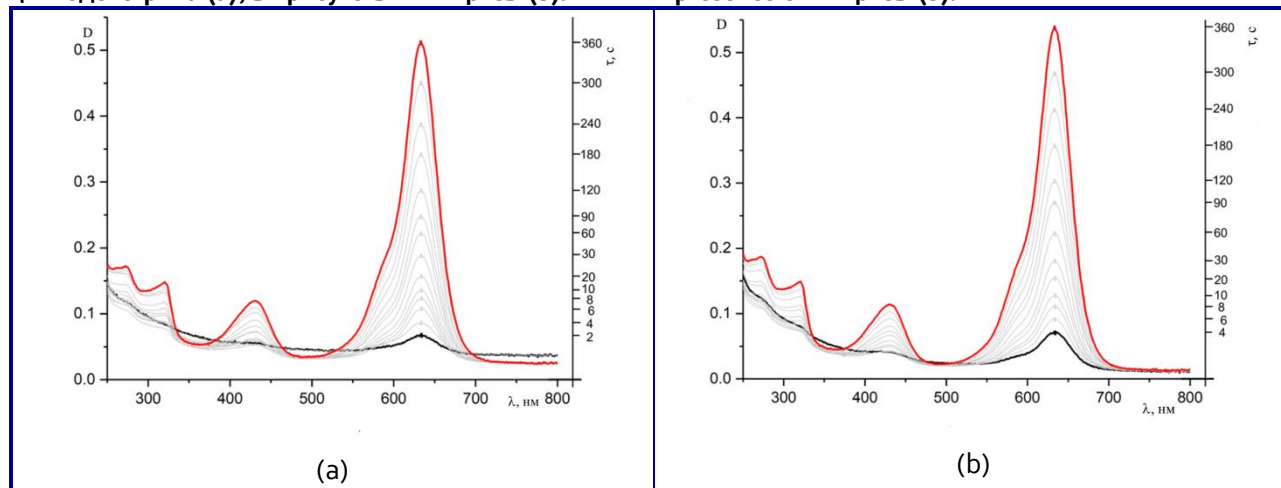


Figure 3. Kinetics of brilliant green accumulation in the WSPU matrix according to the absorption spectra of the studied films: without cyclodextrin (a); in the presence of HP-β-CD (b).

Наилучшая кинетика (рис. 4а) накопления BG в матрице водорастворимого полиуретана наблюдалась для системы WSPU-HP-β-CD-BG в виду большей растворимости HP-β-CD в воде и его большего сродства к полимерной матрице, отмечалось увеличение сорбционной ёмкости материала в 1.4 раза по сравнению с чистым BG. Снижение ёмкости слоя в присутствии β-CD можно отнести на меньшее сродство этого макроцикла и, соответственно, егосупрамолекулярного комплекса с красителем к полимеру. Мы предполагаем, что наблюдаемый для WSPU эффект может быть связан с двумя явлениями: 1) необходимостью локальной перестройки полимера в случае диффузии кавитанда (производного CD) в слой полимера и 2) более «мягкой, ветвистой», гибкой структурой порталов гидроксипропил-замещённого, улучшающих взаимодействие с полимером и образование водородных связей.

Рисунок 4. Кинетика накопления в матрице WSPU бриллиантового зелёного и его комплексов с кавитандами (а); образец с сорбированным BG (b).

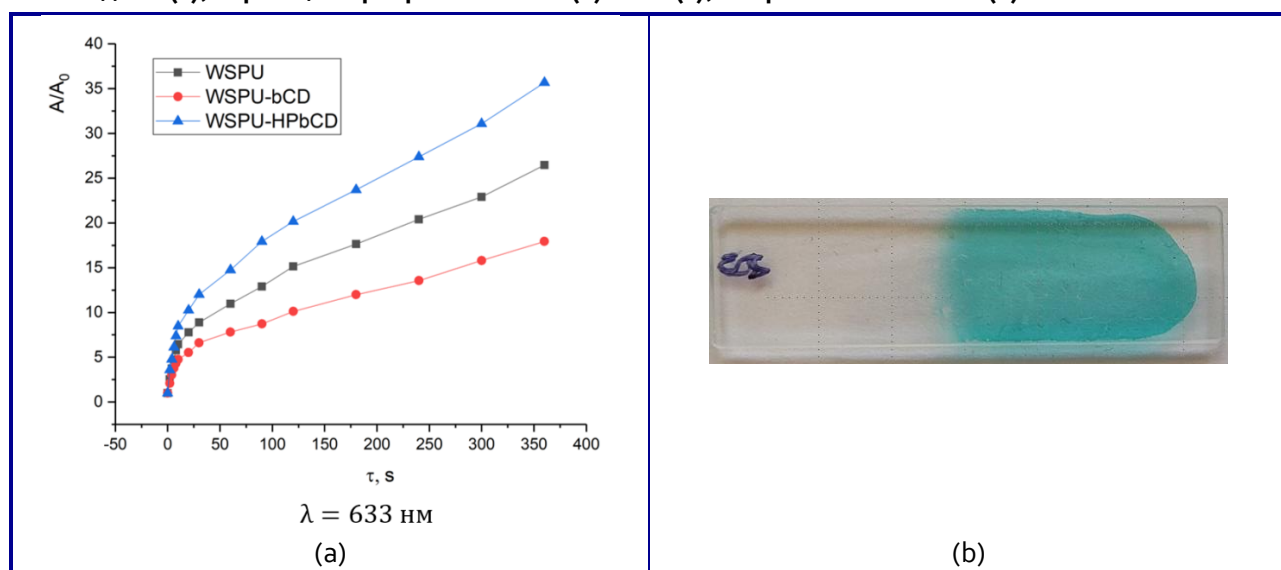


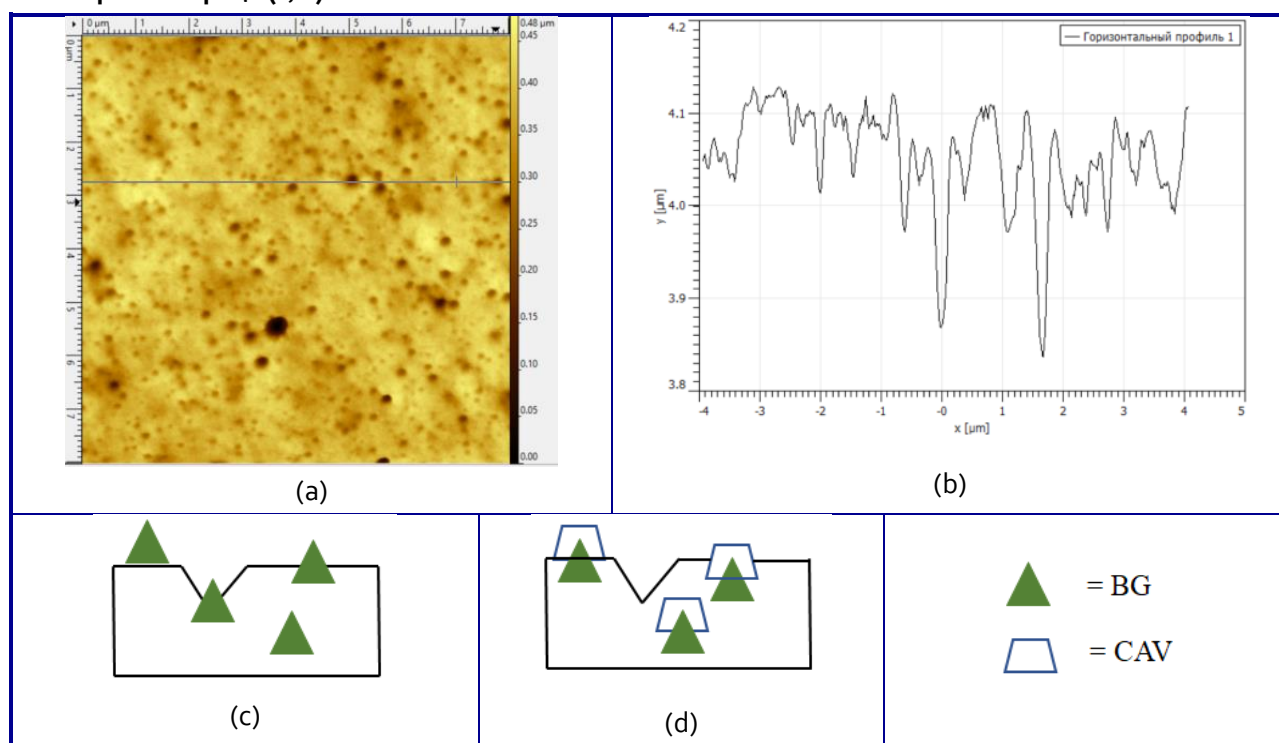
Figure 4. Kinetics of accumulation of brilliant green and its complexes with cavitands in the WSPU matrix (a); sample with sorbed BG (b).

Выдерживание в растворах проводили до 360 с, поскольку при времени экспозиции полимерных плёнок в водных растворах дольше 360 с плёнка WSPU начинала мутнеть, что усложняло спектрофотометрическое измерение сорбированных компонентов. Кинетические кривые накопления красителя и комплексов красителя в полимерной матрице WSPU характерны для сорбции, присущей макропористым адсорбентам.

Структура поверхности плёнок WSPU была оценена методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Было установлено (рис. 5 а,б), что средняя глубина пор полимерной матрицы составляет от 200 до 300 нм с диаметром от 100 до 300 нм. Поверхность плёнок полиуретана является хорошо развитой, что позволяет предложить схему возможной локализации молекул красителя и его комплексов с кавитандами (рис. 5 с,д).

Рисунок 5. Плёнки WSPU, исследованные методом АСМ: структура поверхности (а); профиль поверхности в указанном направлении (б); схематичное изображение возможной локализации молекул BG и комплексов с кавитандами в полимерной матрице (с, д).

Figure 5. WSPU films studied by AFM: surface structure (a); surface profile in the indicated direction (b); schematic representation of the possible localization of BG molecules and complexes with cavitands in the polymer matrix (c, d).



Сорбция красителя и его комплексов с β -CD или HP- β -CD может протекать как на поверхности, так и в объёме водорастворимой полимерной матрицы, поскольку в процессе сорбции из водно-спиртовых растворов может происходить частичное набухание приповерхностных слоёв полимерного носителя и допант (краситель или его комплекс) может продвигаться вглубь слоя. Мы предполагаем, что комплексы BG·CAV сорбируются единым кластером, поскольку, как было показано нами ранее [Novitskii *et al.* 2024], афинность полости циклодекстрина обладает более высоким сродством к sp^2 -гибридизованным молекулярным фрагментам, чем развитая поверхность полимерного материала.

Таким образом, был исследован композитный материал на основе красителя BG, производных циклодекстринов и WSPU. Было показано, что введение в полимерную матрицу HP- β -CD в составе комплекса с красителем увеличивает относительную сорбционную ёмкость

композитного материала, что может быть перспективным для создания трансдермальных терапевтических систем на основе водорастворимого полиуретана.

ВЫВОДЫ

Получен и исследован композитный материал на основе водорастворимого полиуретана и производных циклодекстринов для трансдермальной доставки, представляющий собой смешанный макро-микро-пористый носитель, содержащий краситель бриллиантовый зелёный. Предложена модель расположения допанта в полимерном материале. Методом спектрофотометрического титрования оценены значения констант комплексообразования ($\lg K_{\text{BG-}\beta\text{-CD}} = 4.9$, $\lg K_{\text{BG-HP-}\beta\text{-CD}} = 5.0$). Максимальный размер макропор полимерного материала (по результатам АСМ) составляет порядка 300 нм, что открывает возможности для создания композитных материалов, допированных наночастицами. Показано, что введение в полимерную матрицу водорастворимого полиуретана гидроксипропил- β -циклодекстрина за счёт придания структуре полимера микропористости увеличивает его относительную сорбционную ёмкость в 1.4 раза.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Государственного задания НИЦ Курчатовский институт.

БЛАГОДАРНОСТИ

Коллектив авторов выражает благодарность В.П. Грачёву и А.С. Джалмухановой за предоставленные образцы водорастворимого полиуретана.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Авторский вклад | Author Contributions

Лобовой Н.А. осуществлялось руководство работой и её администрирование, разработка методологии исследования, написание и правка текста. А.В. Александровой и О.В. Венидиктовой выполнялся основной пул экспериментальных исследований. Измерения на АСМ, расчёты констант комплексообразования и первичное описание оригинальных результатов работы были выполнены Александровой А.В. Т.А. Святославской и Н.Л. Святославским осуществлялись подготовка подложек, поддержка работы программным обеспечением (софт), а также настройка и поддержание в рабочем состоянии приборной базы. N.A. Lobova supervised and administered the work, developed the research methodology, wrote and edited the text. A.V. Alexandrova and O.V. Venidiktova carried out the main pool of experimental research. AFM measurements, calculations of complexation constants and a primary description of the original results of the work were performed by A.V. Alexandrova. T.A. Svyatoslavskaya and N.L. Svyatoslavsky carried out the preparation of the substrates, software support, as well as the configuration and maintenance of the instrument base.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грачёв В.П., Джалмуханова А.С., Бубнова М.Л., Венидиктова О.В., Барачевский В.А., Павлова А.В., Курочкин С.А. (2022) Полиуретаны – как перспективные матрицы для фотохромных материалов. В: *Технологии и материалы для экстремальных условий: Материалы XVII Всероссийской научной конференции. 11 ноября 2022.* Москва: 137–143.
- Министерство здравоохранения РФ (2023) Бриллиантовый зеленый (ФС.2.1.0008.15). В: *Государственная фармакопея РФ (15 изд.), Т.3.* Министерство здравоохранения РФ. Москва: 3488–3490.
- Хлудова Л.Г., Латышева Т.В., Романова Т.С., Мясникова Т.Н. (2019) Кожные проявления лекарственной аллергии. *Астма и аллергия.* (2): 12–16. EDN: HSEILW
- Ben Jannet D., Kallel J., Chevalier Y., Hbaieb S. (2026) Efficient adsorption of brilliant green using polyaniline pseudopolyrotaxanes included in per-amino- β -cyclodextrin. *Polymer.* **354**: 129976. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2026.129976> EDN: GMPJIWJ
- Fan Y., Song X., Liu L., Zhou C., Wu G. (2023) Dual network interpenetrating degradable waterborne polyurethanes with hydrogen bonded cross-linked modified β -cyclodextrin hydrophobic cavities. *Journal of Applied Polymer Science.* **140**(33): e54298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.54298> EDN: XHLMTL
- Gans P., Sabatini A., Vacca A. (1996) Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta.* **43**(10): 1739–1753. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(96\)01958-3](https://doi.org/10.1016/0039-9140(96)01958-3) EDN: XNFVBL
- He J., Zhang Y., Yu X., Xu C. (2023) Wearable patches for transdermal drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* **13**(6): 2298–2309. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.05.009> EDN: DTHJGN
- Jessie Lue S., Peng S.H. (2003) Polyurethane (PU) membrane preparation with and without hydroxypropyl- β -cyclodextrin and their pervaporation characteristics. *Journal of Membrane Science.* **222**(1–2): 203–217. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00291-6](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00291-6) EDN: KKIUYH
- Karpov S. V., Polyakova E.A., Tumanov V.A., Dzhal mukhanova A.S., Panin E.O., Mishchenko D. V., Klimanova E.N., Sashenkova T.E., Allayarova U.Yu., Perepelitsina E.O. et al. (2026) Waterborne polyurethanes incorporating trimethyl-beta-cyclodextrin as potential delivery systems for bioactive compounds. *Macromolecular Chemistry and Physics.* **227**(5): e70221. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/macp.70221> EDN: RKCOZK
- Kong L., Qiu F., Zhao Z., Zhang X., Zhang T., Pan J., Yang D. (2016) Removal of brilliant green from aqueous solutions based on polyurethane foam adsorbent modified with coal. *Journal of Cleaner Production.* **137**: 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.067> EDN: XZMOYB
- Lebedeva K., Cherkashina A., Masikevych Y., Masikevych A., Voronkin A.A., Lebedev V. (2024) Modeling of smart bio-medical active polymeric hydrogel transdermal materials. *Journal of Engineering Sciences.* **11**(1): C1–C7. [https://doi.org/10.21272/jes.2024.11\(1\).c1](https://doi.org/10.21272/jes.2024.11(1).c1) EDN: VOUZAT
- Nicolaescu O.E., Belu I., Mocanu A.G., Manda V.C., Rău G., Pîrvu A.S., Ionescu C., Ciulu-Costinescu F., Popescu M., Ciocîlteu M.V. (2025) Cyclodextrins: Enhancing drug delivery, solubility and bioavailability for modern therapeutics. *Pharmaceutics.* **17**(3): 288. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030288> EDN: EDJZNQ
- Novitskii G.O., Medvedeva A.A., Koshkin A. V., Vedernikov A.I., Lobova N.A. (2024) Spectral properties of tolane and its supramolecular complexes in solution and silicate hydrogel. *Russian Journal of Inorganic Chemistry.* **69**(4): 512–519. <https://doi.org/10.1134/S0036023624600291> EDN: NSOTFC
- Syeda S.E.Z., Nowacka D., Khan M.S., Skwierawska A.M. (2022) Recent advancements in cyclodextrin-based adsorbents for the removal of hazardous pollutants from waters. *Polymers.* **14**(12): 2341. <https://doi.org/10.3390/polym14122341> EDN: OFRRUO
- Venkatraman S.S., Stein T.M., Snider J., Hamlin R.D. (2003) Transdermal drug delivery devices comprising a polyurethane drug reservoir. Patent № EP 1169025 B1.
- Wang Z., Zhang B., Fang C., Liu Z., Fang J., Zhu L. (2019) Macroporous membranes doped with micro-mesoporous β -cyclodextrin polymers for ultrafast removal of organic micropollutants from water. *Carbohydrate Polymers.* **222**: 114970. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114970>

REFERENCES

- Grachev V.P., Dzhalmukhanova A.S., Bubnova M.L., Venidiktova O.V., Barachevsky V.A., Pavlova A.V., Kurochkin S.A. (2022) Polyurethanes as promising matrices for photochromic materials [Poliuretany – kak perspektivnye matritsy dlya fotokhromnykh materialov]. In: *Technologies and materials for extreme conditions: proceedings of the XVII All-Russian scientific conference*. 11 November 2022. Moscow: 137–143. (in Russian)
- Ministry of Health of the Russian Federation (2023) Brilliant green (FS.2.1.0008.15) [Brilliantovyy zelenyy (FS.2.1.0008.15)]. In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation (15th ed.)*, Vol. 3. Ministry of Health of the Russian Federation Publishing. Moscow: 3488–3490. (in Russian)
- Khludova L.G., Latysheva T.V., Romanova T.S., Myasnikova T.N. (2019) Skin manifestations of drug allergy [Kozhnye proyavleniya lekarstvennoy allergii]. *Asthma and Allergy [Astma i allergiya]*. (2): 12–16. EDN: HSEILW (in Russian)
- Ben Jannet D., Kallel J., Chevalier Y., Hbaieb S. (2026) Efficient adsorption of brilliant green using polyaniline pseudopolyrotaxanes included in per-amino- β -cyclodextrin. *Polymer*. **354**: 129976. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2026.129976> EDN: GMPWJ
- Fan Y., Song X., Liu L., Zhou C., Wu G. (2023) Dual network interpenetrating degradable waterborne polyurethanes with hydrogen bonded cross-linked modified β -cyclodextrin hydrophobic cavities. *Journal of Applied Polymer Science*. **140**(33): e54298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.54298> EDN: XHLMTL
- Gans P., Sabatini A., Vacca A. (1996) Investigation of equilibria in solution. Determination of equilibrium constants with the HYPERQUAD suite of programs. *Talanta*. **43**(10): 1739–1753. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(96\)01958-3](https://doi.org/10.1016/0039-9140(96)01958-3) EDN: XNFVBL
- He J., Zhang Y., Yu X., Xu C. (2023) Wearable patches for transdermal drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. **13**(6): 2298–2309. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.05.009> EDN: DTHJGN
- Jessie Lue S., Peng S.H. (2003) Polyurethane (PU) membrane preparation with and without hydroxypropyl- β -cyclodextrin and their pervaporation characteristics. *Journal of Membrane Science*. **222**(1–2): 203–217. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00291-6](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00291-6) EDN: KKIUYH
- Karpov S. V., Polyakova E.A., Tumanov V.A., Dzhalmukhanova A.S., Panin E.O., Mishchenko D. V., Klimanova E.N., Sashenkova T.E., Allayarova U.Yu., Perepelitsina E.O. et al. (2026) Waterborne polyurethanes incorporating trimethyl-beta-cyclodextrin as potential delivery systems for bioactive compounds. *Macromolecular Chemistry and Physics*. **227**(5): e70221. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/macp.70221> EDN: RKCOZK
- Kong L., Qiu F., Zhao Z., Zhang X., Zhang T., Pan J., Yang D. (2016) Removal of brilliant green from aqueous solutions based on polyurethane foam adsorbent modified with coal. *Journal of Cleaner Production*. **137**: 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.067> EDN: XZMOYB
- Lebedeva K., Cherkashina A., Masikevych Y., Masikevych A., Voronkin A.A., Lebedev V. (2024) Modeling of smart bio-medical active polymeric hydrogel transdermal materials. *Journal of Engineering Sciences*. **11**(1): C1–C7. [https://doi.org/10.21272/jes.2024.11\(1\).c1](https://doi.org/10.21272/jes.2024.11(1).c1) EDN: VOUZAT
- Nicolaescu O.E., Belu I., Mocanu A.G., Manda V.C., Rău G., Pîrvu A.S., Ionescu C., Ciulu-Costinescu F., Popescu M., Ciocîlteu M.V. (2025) Cyclodextrins: Enhancing drug delivery, solubility and bioavailability for modern therapeutics. *Pharmaceutics*. **17**(3): 288. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17030288> EDN: EDJZNO
- Novitskii G.O., Medvedeva A.A., Koshkin A. V., Vedernikov A.I., Lobova N.A. (2024) Spectral properties of tolane and its supramolecular complexes in solution and silicate hydrogel. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. **69**(4): 512–519. <https://doi.org/10.1134/S0036023624600291> EDN: NSOTFC
- Syeda S.E.Z., Nowacka D., Khan M.S., Skwierawska A.M. (2022) Recent advancements in cyclodextrin-based adsorbents for the removal of hazardous pollutants from waters. *Polymers*. **14**(12): 2341. <https://doi.org/10.3390/polym14122341> EDN: OFRRUO
- Venkatraman S.S., Stein T.M., Snider J., Hamlin R.D. (2003) Transdermal drug delivery devices comprising a polyurethane drug reservoir. Patent № EP 1169025 B1.
- Wang Z., Zhang B., Fang C., Liu Z., Fang J., Zhu L. (2019) Macroporous membranes doped with micro-mesoporous β -cyclodextrin polymers for ultrafast removal of organic micropollutants from water. *Carbohydrate Polymers*. **222**: 114970. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114970>

Цитировать как

Лобова Н.А., Александрова А.В., Святославская Т.А., Святославский Н.Л., Венидиктова О.В. (2026). Композитный материал на основе водорастворимого полиуретана, бриллиантового зелёного и производных β -циклодекстрина. *Экобиотех.* 9(3): 437-446.

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-33>

EDN: <https://www.elibrary.ru/xkcebm>

Сведения об авторе/ах

Наталья Анатольевна Лобова, к.х.н. НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия. E-mail: lobova_n_a@mail.ru, SPIN: 6459-2147, ORCID: 0000-0002-6347-7258, Scopus Author ID: 7003682729, WoS Research ID: L-3531-2013.

Анастасия Владимировна Александрова (Павлова), аспирант. НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия. E-mail: pavlova0anast@gmail.com, SPIN: 3070-5618, ORCID: 0000-0002-5179-7828, Scopus Author ID: 57221470041, WoS Research ID: AAJ-6826-2021.

Татьяна Александровна Святославская, НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия. E-mail: tasvyat@gmail.com, AuthorID: 117295, Scopus Author ID: 57208917387.

Никита Леасович Святославский, НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия. E-mail: niksvyat@gmail.com, AuthorID: 156027, Scopus Author ID: 57217100981, WoS Research ID: AAG-7346-2021.

Ольга Владимировна Венидиктова, НИЦ Курчатовский институт, Москва, Россия. E-mail: wolga.photonics@inbox.ru, SPIN: 4723-7831, ORCID: 0000-0002-2289-0863, Scopus Author ID: 12769325700, WoS Research ID: J-6169-2018.

Cited as

Lobova N.A., Aleksandrova A.V., Svyatoslavskaya T.A., Svyatoslavskiy N.L., Venidiktova O.V. (2026). A composite material based on water soluble polyurethane, brilliant green and β -cyclodextrin derivatives. *Ecobiotech.* 9(3): 437-446.

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-33>

EDN: <https://www.elibrary.ru/xkcebm>

Information About the Author(s)

Natalia A. Lobova, PhD in Chemical Sciences, NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia. E-mail: lobova_n_a@mail.ru, SPIN: 6459-2147, ORCID: 0000-0002-6347-7258, Scopus Author ID: 7003682729, WoS Research ID: L-3531-2013.

Anastasia V. Aleksandrova (Pavlova), PhD student in Chemical Sciences, NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia. E-mail: pavlova0anast@gmail.com, SPIN: 3070-5618, ORCID: 0000-0002-5179-7828, Scopus Author ID: 57221470041, WoS Research ID: AAJ-6826-2021.

Tatiana A. Svyatoslavskaya, NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia. E-mail: tasvyat@gmail.com, AuthorID: 117295, Scopus Author ID: 57208917387.

Nikita L. Svyatoslavskiy, NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia. E-mail: niksvyat@gmail.com, AuthorID: 156027, Scopus Author ID: 57217100981, WoS Research ID: AAG-7346-2021.

Olga V. Venidiktova NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia. E-mail: wolga.photonics@inbox.ru, SPIN: 4723-7831, ORCID: 0000-0002-2289-0863, Scopus Author ID: 12769325700, WoS Research ID: J-6169-2018.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

УДК 616.98:579.852.11



Научная статья | RESEARCH ARTICLE

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ *IN VITRO* СКРИНИНГА НЕРАСТВОРИМЫХ ИНГИБИТОРОВ МЕДИЦИНСКИ ЗНАЧИМЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ПРИМЕРЕ L-ГАЛАКТОНО-1,4-ЛАКТОНДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Чудин А.А.¹, Кудряшова Е.В.^{1,2*}¹ Центральный университет, Москва, Россия² Химический факультет Московского Государственного
Университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru

APPLICATION OF CYCLODEXTRINS DERIVATIVES TO *IN VITRO* SCREENING OF INSOLUBLE INHIBITORS OF CLINICALLY RELEVANT ENZYMES USING L-GALACTONO- 1,4-LACTONE DEHYDROGENASE FROM *ARABIDOPSIS* *THALIANA* AS EXAMPLE

Chudin A.A.¹, Kudryashova E.V.^{1,2*}¹ Central University, Moscow, Russia² Chemistry department, Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia*E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru

Аннотация

Низкая растворимость малых органических молекул ограничивает их применение в качестве ингибиторов лекарственных ферментов-мишеней и затрудняет ингибиторный анализ этих соединений. Для преодоления этой проблемы предложен подход, основанный на использовании комплексов включения «гость-хозяин», образуемых между метилциклодекстрином (МЦД) и целевыми молекулами, что значительно повышает растворимость последних. На примере L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* (AtGALDH) показана эффективность данного подхода для улучшения ингибирующего эффекта: синтезированы комплексы МЦД с природными биоактивными соединениями терпеноидного и флавоноидного ряда (аллилполиалкоксибензолы, АПАБ), являющимися ингибиторами AtGALDH, и установлено, что комплексы АПАБ-МЦД до 12 раз сильнее ингибируют AtGALDH по сравнению с исходными АПАБ. Образование комплексов включения АПАБ с МЦД приводит к значительному усилению их ингибирующей активности, что связано с повышением растворимости этих соединений и создаёт основу для целенаправленной разработки лекарственных форм против трипаносомоза и других инфекционных заболеваний, а также позволяет проводить скрининг ингибиторов с использованием разработанного подхода на основе получения комплексов с МЦД.

Ключевые слова:

метилциклодекстрин, растворимость, терпеноиды, флавоноиды, ингибиторы, L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназа, лекарства, ингибиторный анализ

Abstract

The low solubility of small organic molecules limits their use as inhibitors of medically relevant target enzymes and makes the analysis of their inhibition difficult. To overcome this problem, an approach based on the use of host-guest inclusion complexes formed between methylcyclodextrin (MCD) and target molecules is proposed, which greatly increases the solubility of the latter. The effectiveness of this approach in increasing inhibition has been demonstrated by the use of L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* (AtGALDH) as an example. MCD complexes were synthesized with natural, biologically active terpenoid and flavonoid compounds (allylpolyalkoxybenzenes, APABs) that are inhibitors of AtGALDH, and the APAB-MCD complexes were found to inhibit AtGALDH up to 12-fold more effectively than the native APABs. The formation of inclusion complexes of APABs with MCD results in a significant increase in their inhibitory activity, which is related to their increased solubility, and allows for the targeted development of drugs against trypanosomiasis and other infectious diseases, as well as enables screening of inhibitors using the developed approach based on the formation of complexes with MCD.

Keywords:

methylcyclodextrin, solubility, terpenoids, flavonoids, inhibitors, L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase, drugs, inhibitor analysis

Поступила в редакцию: 14.08.2026

Принято в печать: 23.09.2026

Received: 14.08.2026

Accepted: 23.09.2026

Цитировать | Cite as

DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-34> EDN: <https://www.elibrary.ru/xzlyqb>

ВВЕДЕНИЕ

Проблема растворимости органических лекарственных ароматических молекул в водных буферных растворах, подходящих для определения активности ферментов, ограничивает и затрудняет ингибиторный анализ лекарственных ферментов-мишеней, и, как следствие, усложняет разработку новых лекарств и терапевтических подходов. Так, *in vitro* оценка эффективности противораковых препаратов, ингибирующих киназы, часто лимитируется их плохой растворимостью в воде. Например, палбоциклиб и рибоциклиб, которые нацелены на CDK4/6 (ключевой регулятор клеточного цикла), уже используются для лечения рака молочной железы, но характеризуются плохой растворимостью в водной среде, что ограничивает их эффективность при пероральном введении [Spiewok *et al.* 2025]. Другим интересным случаем являются ингибиторы одного из важнейших ферментов клеточной стенки – декапренилфосфорил- β -D-рибозы 2'-оксидазы (DprE1). Так, соединение PBTZ169, относящееся к классу бензотиазинонов (BTZ) и построенное на их структурном каркасе, уничтожает *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) посредством ингибирования DprE1 и демонстрирует высокую эффективность в экспериментах на животных и в пилотных клинических испытаниях. Однако, несмотря на доказанный эффект, ингибиторы DprE1 типа BTZ в целом отличаются крайне низкой растворимостью в воде, что ограничивает их терапевтическую эффективность и потенциал в качестве лекарств [Fan *et al.* 2023].

При этом традиционные подходы к солюбилизации, такие как добавление органических соразтворителей (ДМСО, метанол и др.), часто приводят к инаktivации фермента [Doukyu, Ogino 2010] и токсическому эффекту при испытаниях на клетках, что приводит к искажению результатов в *in vitro* исследованиях для таких соединений [Asiri *et al.* 2025].

Одним из эффективных подходов к повышению растворимости органических соединений в водных буферных системах состоит в применении производных циклодекстринов (ЦД) – циклических олигосахаридов, способных к образованию комплексов включения «гость–хозяин». Благодаря гидрофобной внутренней полости и гидрофильной внешней поверхности, незамещенные и химически модифицированные ЦД, такие как метилциклодекстрин (МЦД), амино-ЦД, глюко-ЦД и др. способны взаимодействовать с молекулами самой разной структуры, повышая их растворимость без использования инактивирующих органических соразтворителей [Kfoury, Fourmentin 2024].

В данной работе мы рассматриваем проблему растворимости органических молекул-ингибиторов на примере подавления активности флавин-зависимой L-галактон-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* (AtGALDH) – митохондриального мембранного фермента растительного происхождения, использующегося в качестве модели для изучения действия эффекторов (ингибиторов, электроноакцепторов) в отношении флавин-зависимых дегидрогеназ. Как показано в наших недавних исследованиях, AtGALDH может применяться как модельный фермент для поиска ингибиторов водонерастворимой галактонолактонооксидазы из *Trypanosoma cruzi* (TcGAL), вызывающей болезнь Шагаса [Chudin, Kudryashova 2022, 2023; Чудин, Кудряшова 2023, 2026].

TcGAL является облигаторно мембранным ферментом, катализирующим финальную стадию биосинтеза витамина С – антиоксиданта, который жизненно необходим микропаразиту. Однако *T. cruzi* не может поглощать этот витамин извне и поэтому синтезирует его самостоятельно. При этом фермент TcGAL отсутствует в организме человека и рассматривается нами как перспективная селективная лекарственная мишень. Как показано нами ранее, перспективной основной для лекарственных препаратов против трипаносомной инфекции являются натуральные терпеноиды и флавоноиды (аллилполиалкоксибензолы, АПАБ). Эти соединения представляют собой

природные компоненты экстрактов растительного сырья (например, *Petroselinum sativum Hoffm.* и *Anethum graveolens L.*) и обладают биологической активностью, в том числе противомикробной, противовоспалительной и др. [Tsyganov et al. 2022; Zlotnikov et al. 2022]. Например, диллапиол (главный компонент экстракта листьев *Piper aduncum*) демонстрирует антилейшманиозную активность с $IC_{50} = 60$ мкМ [Parise-Filho et al. 2012]. Можно предположить, что диллапиол и, возможно, другие АПАБ будут проявлять антитрипаносомную активность. Это согласуется с нашими исследованиями, согласно которым TcGAL эффективно ингибируется соединениями класса аллилполиалкоксибензолов (АПАБ) в относительно низких концентрациях (10-100 мкМ) [Чудин и др. 2023].

С применением методов компьютерного моделирования мы установили механизм ингибирования, показав, что крупные молекулы-ингибиторы, такие как ликорин, связываются с TcGAL вне активного центра, в то время как небольшие молекулы типа апиола могут связываться как внутри, так и вне активного центра [Shegolev et al. 2025]. Однако низкая растворимость АПАБ является фактором, ограничивающим ингибиторный анализ в экспериментальном исполнении.

Таким образом, целью данной работы являлась разработка подхода, основанного на применении комплексов включения ароматических молекул с МЦД, обеспечивающего повышение растворимости целевых соединений, для проведения ингибиторного анализа медицински значимых ферментов при изучении плохо растворимых ароматических соединений на примере AtGALDH. Это позволит установить их истинный ингибирующий эффект и оценить перспективы использования в качестве основы для антитрипаносомных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты. МЦД, ацетонитрил, компоненты фосфатных буферных растворов, 2,6-дихлорфенолиндофенол, L-галактоно-1,4-лактон – все производства Sigma-Aldrich (США), феназинметосульфат (Merck, Германия).

Методы. Рекombинантную экспрессию L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* в *E. coli* проводили согласно методике, описанной ранее в работах [Leferink et al. 2008; Kudryashova et al. 2011]. АПАБ были получены согласно методикам, описанным в работе [Чудин и др. 2023].

Комплексы включения с МЦД (в мольном соотношении 1 : 10) готовили при смешивании 2 – 3 мг АПАБ и 10–30 мг МЦД с последующим суспендированием в 100–200 мкл ацетонитрила для смачивания (не растворения) и инкубировали в течение 1 ч при 37°C, после чего комплексы высушивали в потоке сухого воздуха или методом лиофилизации [Zlotnikov et al. 2024].

Изучение влияния АПАБ и их комплексов с МЦД на активность AtGALDH в водной среде (25 мМ фосфатный буфер с pH 8.8) проводили на спектрофотометре Ultrospec-2100 Amersham biosciences (США) с термостатируемым кюветным отделением (при 25°C), используя в качестве электроноакцептора феназинметосульфат (ФМС) в комбинации с 120 мкМ красителем 2,6-дихлорфенолиндофенолом (ДХФИФ) [Chudin, Kudryashova 2022] или отдельно 50 мкМ цитохрома с [Leferink et al. 2008]. Регистрацию активности проводили в кинетическом режиме в течение 1 минуты при длине волны 600 нм (характеристичная длина поглощения красителя ДХФИФ) в трёх повторях для каждого эксперимента.

Концентрация субстрата (L-галактоно-1,4-лактон) составляла 1 мМ, концентрация AtGALDH 6 нМ. Структуру частиц МЦД-АПАБ оценивали с помощью спектрофотометра Ultrospec-2100 pro («Amersham biosciences», США), ИК-микроскопа MICRAN-3 (Simex, Новосибирск, Россия) и атомно-

силового микроскопа NTEGRA II (NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия), концентрацию AtGALDH уточняли с помощью КД спектрометра Jasco J-815 (JASCO, Токио, Япония).

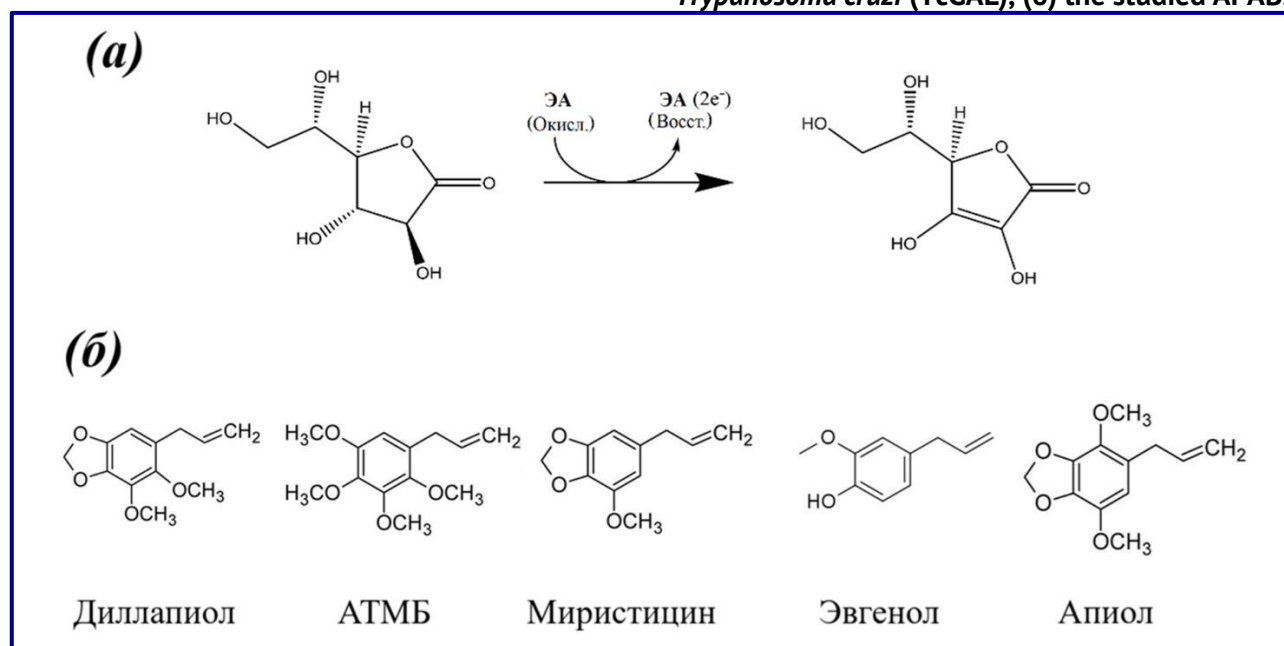
Регистрацию и обработку данных проводили при помощи программы Datalyse 3.70 (Carl Hemmingsen, Дания). Для статистической обработки данных использовали программу OriginPro (8, OriginLab Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

AtGALDH катализирует реакцию, аналогичную TcGAL, а именно: синтез витамина С из L-галактоно-1,4-лактона (рис. 1 (а)).

Рисунок 1. (а) – схема реакции, катализируемой AtGALDH и TcGAL, (б) – исследуемые АПАБ

Figure 1. (a) the scheme of the reaction catalyzed by AtGALDH and galactolactone oxidase from *Trypanosoma cruzi* (TcGAL), (б) the studied APABs



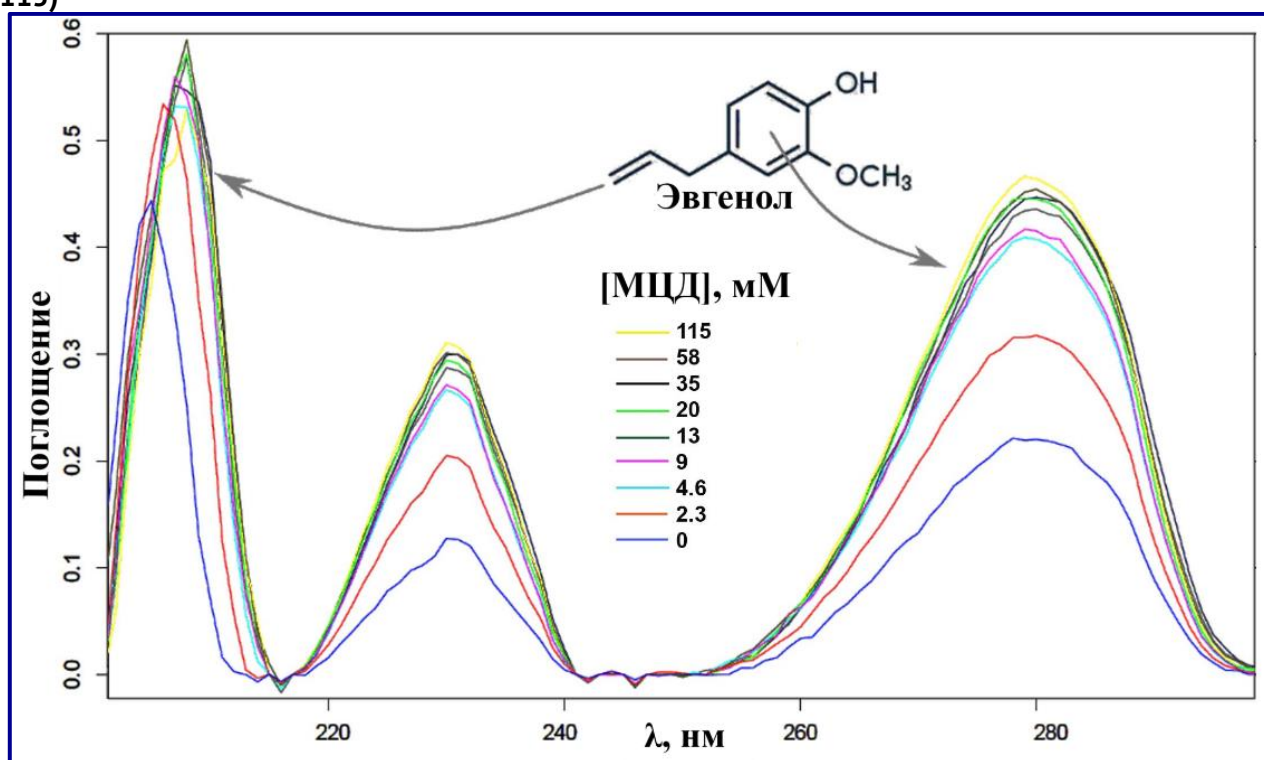
В настоящей работе мы проводили ингибиторный анализ AtGALDH, однако низкая растворимость исследуемых ингибиторов (АПАБ, рис. 1 (б)) затрудняет определение истинных значений определяемых их параметров (IC_{50} , максимальную степень ингибирования и др.). Ранее мы проводили ингибиторный анализ AtGALDH и TcGAL в системах обращённых мицелл, являющихся моделью мембран, где ароматические соединения, в том числе АПАБ, хорошо растворимы [Чудин и др. 2023]. Однако использование мицелл, несмотря на целесообразность такого подхода для мембранного TcGAL, усложняет схему ингибиторного анализа. Поэтому в случае водорастворимого AtGALDH предпочтительно проводить анализ в водной среде, а для улучшения растворимости АПАБ использовать подход, основанный на образовании комплексов с производными циклодекстринов (МЦД).

Согласно нашим исследованиям, АПАБ способны формировать комплексы включения типа «гость-хозяин» с МЦД при смешивании в молярном соотношении 1 : 10 с последующим суспендированием в ацетонитриле, инкубацией в течение 1 ч при 37°C и сушки в потоке сухого воздуха или методом лиофилизации [Zlotnikov et al. 2022]. При этом растворимость комплексов АПАБ-МЦД по сравнению с исходными АПАБ возрастает до 200-500 раз [Zlotnikov et al. 2022]. Формирование самих комплексов было подтверждено методом ИК-спектроскопии: значения констант диссоциации K_D комплексов АПАБ с МЦД лежат в диапазоне 10^{-3} – 10^{-4} М [Zlotnikov et al.

2023, 2024]. В данной работе в качестве контроля образования комплексов использовали метод УФ-спектроскопии: на рис. 2 показан пример для эвгенола, где наблюдается увеличение интенсивности максимума поглощения при длине волны 280 нм и батохромный сдвиг максимума поглощения эвгенола (относительно 205 нм) в длинноволновую область, обусловленный снижением энергии электронных переходов (типа $\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$) аллильной группы при ее попадании в гидрофобную полость циклодекстрина по сравнению с водным раствором.

Рисунок 2. УФ-спектры эвгенола (нижний спектр тёмно-синего цвета) и эвгенола с МЦД с различным молярным соотношением (от 2.3 до 115)

Figure 2. UV spectra of eugenol (dark blue, lower spectrum) and of eugenol in the presence of MCD at different molar ratios (from 2.3 to 115)

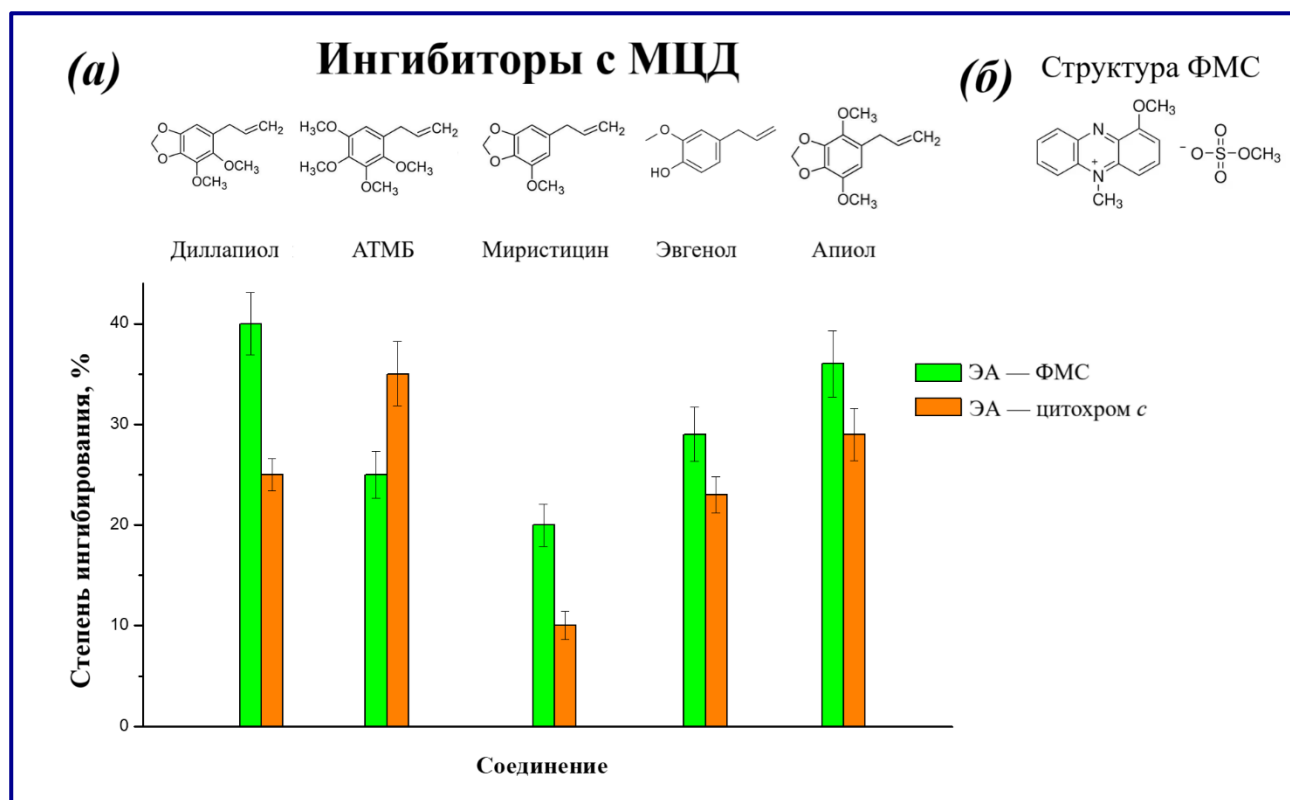


Аналогичные изменения в УФ-спектрах наблюдали и для остальных АПАБ при взаимодействии с МЦД. Описанные выше изменения соответствуют таковым для комплекса 2-гидроксипропил-циклодекстрина с терпеноидами, описанные ранее в нашей работе [Zlotnikov *et al.* 2022], что подтверждает образование комплекса.

Для определения влияния МЦД на растворимость АПАБ и их ингибирующие свойства в отношении AtGALDH проводили две серии экспериментов: для АПАБ и для комплексов АПАБ с МЦД. Дополнительно для оценки влияния природы используемого электроноакцептора (ЭА, второго субстрата в реакции) на эффективность ингибирования проводили ингибиторный анализ с двумя видами ЭА: природным белковым ЭА (цитохром *c*) и синтетическим низкомолекулярным ЭА (ФМС, рис. 3 (б)). Тип ЭА (природный белок или синтетическое низкомолекулярное соединение) играет важную роль, поскольку цитохром *c* – специфический ЭА, который образует переходный комплекс с ферментом перед этапом переноса электронов [Hervás *et al.* 2013]. В отличие от него, ФМС представляет собой синтетическое низкомолекулярное соединение, используемое в качестве искусственного акцептора электронов. ФМС не требует формирования специфического белок-белкового комплекса с ферментом и поэтому может быть удобен для проведения стандартизированного ферментного анализа. Кроме того, ФМС более устойчив в различных средах. Результаты по ингибированию AtGALDH комплексами АПАБ с МЦД представлены на рис. 3 (а).

Рисунок 3. (а) – Степень ингибирования (%) AtGALDH комплексами АПАБ с МЦД, (б) – структурная формула ФМС

Figure 3. (a) AtGALDH inhibition (%) by APAB-MCD complexes; (b) structural formula of phenazine methosulfate (PMS)



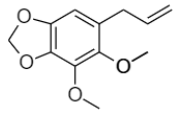
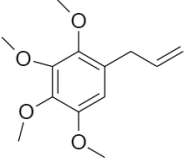
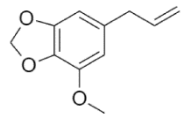
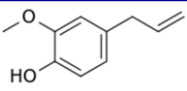
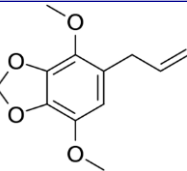
Примечание. (а) – слева направо: диллапиол, аллилтетраметоксибензол (АТМБ), миристицин, эвгенол и апиол ($M \pm SD$, $n=3$). Зелёным цветом выделены эксперименты с использованием искусственного ЭА (ФМС), оранжевым цветом – с использованием природного ЭА (цитохром с) в водном растворе (0.25 мМ натрий-фосфатный буфер, pH 8.8). Концентрации: субстрат – 1 мМ, ФМС – 120 мкМ, ДХФИФ – 120 мкМ, цитохром с – 50 мкМ, комплексы АПАБ-МЦД (диллапиол-МЦД, АТМБ-МЦД, миристицин-МЦД, эвгенол-МЦД, апиол-МЦД) – каждый комплекс по 500 мкМ, AtGALDH – 6 нМ соответственно, (б) – структурная формула ФМС

Note. (a) – from left to right: dillapiol, allyltetramethoxybenzene (ATMB), myristicin, eugenol and apiole ($M \pm SD$, $n=3$). Experiments using artificial EA (PMS) are highlighted in green, and experiments using natural EA (cytochrome c) in an aqueous solution (0.25 mM sodium phosphate buffer, pH 8.8) are highlighted in orange. Concentrations: substrate = 1 mM, PMS = 120 μ M, DCPIP = 120 μ M, cytochrome c = 50 μ M, APAB-MCD complexes (dillapiol-MCD, ATMB-MCD, myristicin-MCD, eugenol-MCD, apiole-MCD) – each complex at 500 μ M, AtGALDH = 6 nM, respectively, (b) – structural formula of PMS

В каждом эксперименте с АПАБ (без МЦД) исходную концентрацию каждого соединения устанавливали на уровне 0.5 мМ, независимо от индивидуальной растворимости веществ. Для расчёта истинных концентраций используемых АПАБ (без МЦД) мы использовали данные о растворимости АПАБ из нашей работы [Zlotnikov *et al.* 2022] (табл. 1).

Соединения АПАБ без МЦД фактически не ингибируют AtGALDH даже при максимально возможных концентрациях (истинные концентрации и растворимости указаны в подписи к рис. 3 (а) и в табл. 1). При этом в мицеллярной среде эффективность этих ингибиторов была гораздо выше (ингибирование до 85-90%) [Чудин и др. 2023], что, по всей видимости, связано с их более высокой растворимостью в мицеллярной среде по сравнению с водной тест-системой.

Таблица 1. Растворимость АПАБ и их комплексов с МЦД в водной среде (фосфатный буфер, pH 6.2) согласно данным [Zlotnikov et al. 2022]**Table 1. Solubility of APABs and their complexes with MCD in an aqueous medium (phosphate buffer, pH 6.2) according to [Zlotnikov et al. 2022]**

Соединение	Структура	Растворимость в водной среде, мМ	Растворимость комплекса с МЦД в водной среде, мМ
Диллапиол		0.24 ± 0.05	4.5 ± 0.07
АТМБ		0.16 ± 0.02	2.8 ± 0.4
Миристицин		0.030 ± 0.007	15 ± 1
Эвгенол		0.82 ± 0.2	11 ± 1
Апиол		0.13 ± 0.01	2.6 ± 0.3

В случае же комплексов АПАБ с МЦД, повышающим растворимость АПАБ в 200-500 раз, эффективность ингибирования в водной среде увеличилась до 35–40% (рис. 3 (а)). Повышение ингибирующего эффекта коррелирует с увеличением растворимости АПАБ при использовании комплексов с МЦД. Это объясняется солюбилизирующим действием МЦД в отношении АПАБ [Zlotnikov et al. 2022].

Таким образом, обнаружено, что ингибирующий эффект возрастает у всех без исключения исследуемых АПАБ при использовании комплексов АПАБ-МЦД, что связано с гораздо более высокой растворимостью последних (до 200-500 раз выше, чем у исходных АПАБ [Zlotnikov et al. 2022]). При этом сам МЦД в концентрации 0.5 мМ не оказывает влияние на активность AtGALDH.

Установив истинные параметры ингибирования для соединений АПАБ (с учётом реальных концентраций АПАБ, рассчитанных согласно таблице 1), следует отдельно обсудить влияние структур этих ингибиторов на их эффективность. Так, миристицин и эвгенол, содержащие только одну метокси-группу, ингибируют AtGALDH в меньшей степени по сравнению с соединениями, обладающими несколькими ОСН₃-группами: диллапиолом, апиолом (содержат по 2 метокси-группы) и АТМБ (4 метокси-группы). При этом у АТМБ, обладающего 4-мя ОСН₃-группами, нет существенного преимущества по сравнению с «диметокси»-соединениями (апиолом и диллапиолом). По-видимому, метокси-группы, их число и пространственное расположение вносят значимый вклад в ингибирование, проявляя синергию в количестве двух и более.

Кроме того, отметим, что каких-либо закономерностей в плане эффективности ингибирования в зависимости от природы используемого ЭА (белковый цитохром с или искусственный ФМС) не наблюдается – для некоторых АПАБ ингибирование немного больше при использовании природного ЭА, для других – при использовании искусственного ЭА, однако отличия не являются статистически значимыми (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе мы продемонстрировали улучшение ингибирующей способности (в отношении AtGALDH) ряда соединений АПАБ за счёт повышения их растворимости при образовании комплексов включения с МЦД. Полученные результаты согласуются с приведёнными в литературе данными по повышению растворимости и, как следствие, эффективности ингибиторов в отношении самой *T. cruzi*, вызывающей болезнь Шагаса, и для изучаемого модельного фермента-мишени AtGALDH. Так, комплекс О-аллил-лавсон с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином обладает $IC_{50} = 0.5$ мкМ, в то время как исходный О-аллил-лавсон имеет $IC_{50} = 97$ мкМ, то есть комплекс в *in vitro* исследовании эффективнее чем исходный ингибитор более, чем в 190 раз [Nicoletti et al. 2023]. По величине IC_{50} комплекс также превосходил традиционный антитрипаносомный препарат бензнидазол, для которого в сопоставимых условиях было получено значение 105 мкМ. Учитывая, что некоторые из рассматриваемых нами АПАБ обладают антитрипаносомной активностью (например, эвгенол [Carvalho et al. 2023]), можно предположить, что комплексообразование с МЦД усилит ингибирующей эффект АПАБ не только в отношении модельного AtGALDH, но и самой *T. cruzi*.

Другим интересным примером является 3a,10b-дигидро-1H-циклопента[b]нафто[2,3-d]фуран-5,10-дион (IVS320) – нафтохинон, обладающий противогрибковой и противотрипаносомной активностями, но характеризующийся низкой растворимостью в воде. Используя комплексы данного соединения с циклодекстрином и МЦД, авторы продемонстрировали значительное усиление эффективности IVS320 *in vitro*, в том числе его противотрипаносомной активности (с 48 до 72%), которой обладают и некоторые из изучаемых АПАБ.

Следует отметить, что комплексы многих ингибиторов с ЦД и его производными не только имеют лучшую растворимость, но и обладают повышенной мембранной проницаемостью. Так, комплексообразование флавоноида кемпферола (компонент БАДов и лекарств) с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином приводит к увеличению водорастворимости исходного флавоноида в 5.45 раза и улучшению кажущейся проницаемости в 2.5 раза по сравнению с чистым кемпферолом [Sahani et al. 2026]. Другим интересным примером являются комплексы гесперидина и куркумина с МЦД и гидроксипропил- β -циклодекстрином – авторы не только демонстрируют, что комплексообразование с производным циклодекстрина повышает проникновение флавоноидов в мембраны, но и предлагают свой подход к прогнозированию проницаемости *in vivo* на основе экспериментов *in vitro* [Sguizzato et al. 2025]. Отметим, что эффективная мембранная проницаемость важна для оценки активности в отношении внутриклеточных мишеней (в том числе AtGALDH и целевого TcGAL), где эффективная концентрация вещества внутри клетки зависит не только от его растворимости во внешней среде, но и от способности преодолевать мембранные барьеры.

Согласно нашим данным, АПАБ ингибируют TcGAL, гомологичный AtGALDH (общие остатки в активном центре и высокая гомология вблизи него), в мицеллярной среде с той же эффективностью (процент ингибирования 85–95%) [Чудин и др. 2023], что и комплексы АПАБ-МЦД в отношении изучаемого AtGALDH в водной среде в настоящей работе.

В целом, полученные результаты демонстрируют, что представленный подход (формирование комплексов с МЦД) является перспективным и действенным приёмом для проведения скрининга нерастворимых в водных тест-системах ингибиторов медицински значимых ферментов.

ВЫВОДЫ

Разработан подход к проведению ингибиторного анализа плохо растворимых ароматических соединений на основе их комплексов включения с метил- β -циклодекстрином.

На примере аллилполиалкоксибензолов (терпеноидов и флавоноидов) показано, что комплексообразование с МЦД повышает их доступность в водной реакционной среде и сопровождается увеличением ингибирующей активности в отношении AtGALDH.

При комплексообразовании с МЦД относительное соотношение ингибирующей активности исследованных АПАБ практически не изменялось, что позволяет использовать данный подход для их сравнительного анализа.

Комплексы АПАБ–МЦД могут применяться для скрининга гидрофобных ингибиторов в водных ферментных тест-системах, в которых непосредственное исследование свободных соединений ограничено их низкой растворимостью.

Полученные результаты подтверждают перспективность использования комплексов включения с МЦД для целенаправленного поиска лекарственной основы против трипаносомной и других инфекций. При этом подтверждение противопаразитарной активности соединений требует дополнительных исследований в клеточных и доклинических моделях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования: ИК-микроскоп MICRAN-3 (Simex, Новосибирск, Россия), КД-спектрометр Jasco J-815 (JASCO, Токио, Япония) и атомно-силовой микроскоп NTEGRA II (NT-MDT Spectrum Instruments, Москва, Россия) по программе развития МГУ.

Конфликт интересов | Conflicts of Interest

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Чудин А.А., Злотников И.Д., Крылов С.С., Семенов В.В., Кудряшова Е.В. (2023) Ингибиторы галактонолактонооксидазы из *Trypanosoma cruzi* на основе аллилполиалкоксибензолов. *Биохимия*. **88**(1): 97–109. <https://doi.org/10.31857/S0320972523010074> EDN: PCFZWJ
- Чудин А.А., Кудряшова Е.В. (2023) Влияние состава липидной матрицы на активность мембранотропных ферментов галактонолактонооксидазы из *Trypanosoma cruzi* и L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* в системе обращённых мицелл. *Биохимия*. **88**(12): 2457–2468. <https://doi.org/10.31857/S0320972523120096> EDN: NLBOGA
- Чудин А.А., Кудряшова Е.В. (2026) Медицински значимые флавин-зависимые оксидазы и дегидрогеназы и новые возможности их исследования с использованием алгоритмов искусственного интеллекта. *Биоорганическая химия*. **52**. (в печати)
- Asiri A., Tasleem M., Al Said M., Asiri A., Al Qarni A.A., Bakillah A. (2025) Optimizing cell density and unveiling cytotoxic profiles of DMSO and ethanol in six cancer cell lines: Experimental and *in silico* insights. *Methods and Protocols*. **8**(4): 93. <https://doi.org/10.3390/mps8040093> EDN: WLZTOF
- Carvalho D.T., Teixeira M., Luelmo S., Santarém N., Pinto E., Cordeiro-da-Silva A., Sousa E. (2023) Synthesis and evaluation of marine-inspired compounds result in hybrids with antitrypanosomal and antileishmanial activities. *Marine Drugs*. **21**(11): 551. <https://doi.org/10.3390/md21110551> EDN: UGSGLF
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2022) Improved enzymatic assay and inhibition analysis of redox membranotropic enzymes, AtGALDH and TcGAL, using a reversed micellar system. *Analytica*. **3**(1): 36–53. <https://doi.org/10.3390/analytica3010004> EDN: NHZKPG
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2023) Flavin-dependent dehydrogenases and oxidases: Comparison of structural functional properties (a review). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **49**(6): 1229–1242. <https://doi.org/10.1134/S1068162023060055> EDN: VLJSWO

- Doukyu N., Ogino H. (2010) Organic solvent-tolerant enzymes. *Biochemical Engineering Journal*. **48**(3): 270–282. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.09.009> EDN: XXFSIV
- Fan D., Wang B., Stelitano G., Savková K., Riabova O., Shi R., Wu X., Chiarelli L.R., Mikušová K., Makarov V. *et al.* (2023) Side chain-modified benzothiazinone derivatives with anti-mycobacterial activity. *Biomedicines*. **11**(7): 1975. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071975> EDN: APHFXM
- Hervás M., Bashir Q., Leferink N.G.H., Ferreira P., Moreno-Beltrán B., Westphal A.H., Díaz-Moreno I., Medina M., de la Rosa M.A., Ubbink M. *et al.* (2013) Communication between L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase and cytochrome c. *The FEBS Journal*. **280**(8): 1830–1840. <https://doi.org/10.1111/febs.12207>
- Kfoury M., Fourmentin S. (2024) State of the art in cyclodextrin solubility enhancement. Are green solvents the solution? *Journal of Molecular Liquids*. **410**: 125599. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.125599> EDN: RLNGUD
- Kudryashova E. V., Leferink N.G.H., Slot I.G.M., van Berkel W.J.H. (2011) Galactonolactone oxidoreductase from *Trypanosoma cruzi* employs a FAD cofactor for the synthesis of vitamin C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. **1814**(5): 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2011.03.001> EDN: OHYXUV
- Leferink N.G.H., van den Berg W.A.M., van Berkel W.J.H. (2008) L-Galactono-γ-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*, a flavoprotein involved in vitamin C biosynthesis. *The FEBS Journal*. **275**(4): 713–726. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06233.x>
- Nicoletti C.D., dos Santos Galvão R.M., de Sá Haddad Queiroz M., Barbocher L., Faria A.F.M., Teixeira G.P., Souza A.L.A., de Carvalho da Silva F., Ferreira V.F., da Silva Lima C.H. *et al.* (2023) Inclusion complex of O-allyl-lawsone with 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin: Preparation, physical characterization, antiparasitic and antifungal activity. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. **55**(3): 233–248. <https://doi.org/10.1007/s10863-023-09970-x> EDN: PXDDTR
- Parise-Filho R., Pasqualoto K.F.M., Magri F.M.M., Ferreira A.K., da Silva B.A.V.G., Damião M.C.F.C.B., Tavares M.T., Azevedo R.A., Auada A.V.V., Polli M.C. *et al.* (2012) Dillapiol as antileishmanial agent: Discovery, cytotoxic activity and preliminary SAR studies of dillapiol analogues. *Archiv der Pharmazie*. **345**(12): 934–944. <https://doi.org/10.1002/ardp.201200212>
- Sahani V., Patil S., Mahato A., Kumar M., Shanthi C.N. (2026) Molecular docking and physicochemical characterisation of kaempferol-hydroxy propyl-β-cyclodextrin-Inclusion complex. *Chemical Physics Impact*. **12**: 101017. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2026.101017> EDN: QTFSVD
- Squizzato M., Agosta F., Ciancetta A., Grassi M., Cortesi R., di Cagno M.P. (2025) Supramolecular delivery systems for polyphenols: A green approach to predict *in vivo* permeability through an *in vitro* setup. *International Journal of Pharmaceutics*. **670**: 125170. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125170> EDN: BOHWYS
- Shegolev V.O., Veselovsky A.V., Kudryashova E.V. (2025) Structural modeling of L-galactonolactone dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*. *Mendeleev Communications*. **35**(2): 133–135. <https://doi.org/10.71267/mencom.7590> EDN: MAJUNS
- Spiewok S., Schaefer M., Lamla M., Jaritz Y., Kuehne A.J.C. (2025) Oligoethylene phosphoramidate-based kinase inhibitor prodrugs—solubility, enzyme inhibition, and hydrolysis. *Chemistry – A European Journal*. **31**(12). <https://doi.org/10.1002/chem.202404618> EDN: RYXNTG
- Tsyganov D. V., Samet A. V., Silyanova E.A., Ushkarov V.I., Varakutin A.E., Chernysheva N.B., Chuprov-Netochin R.N., Khomutov A.A., Volkova A.S., Leonov S. V. *et al.* (2022) Synthesis and antiproliferative activity of triphenylphosphonium derivatives of natural allylpolyalkoxybenzenes. *ACS Omega*. **7**(4): 3369–3383. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05515> EDN: MXFPTU
- Zlotnikov I.D., Belogurova N.G., Krylov S.S., Semenova M.N., Semenov V.V., Kudryashova E.V. (2022) Plant alkylbenzenes and terpenoids in the form of cyclodextrin inclusion complexes as antibacterial agents and levofloxacin synergists. *Pharmaceutics*. **15**(7): 861. <https://doi.org/10.3390/ph15070861> EDN: ROIXOF
- Zlotnikov I.D., Davydova M.P., Danilov M.R., Krylov S.S., Belogurova N.G., Kudryashova E.V. (2023) Covalent conjugates of allylbenzenes and terpenoids as antibiotics enhancers with the function of prolonged action. *Pharmaceutics*. **16**(8): 1102. <https://doi.org/10.3390/ph16081102> EDN: RDCIFY
- Zlotnikov I.D., Krylov S.S., Belogurova N.G., Blinnikov A.N., Kalugin V.E., Kudryashova E.V. (2024) New derivatives of chalcones, chromenes, and stilbenoids, complexed with methyl-β-cyclodextrin with antioxidant properties and antibacterial synergism with antibiotics. *Biophysica*. **4**(4): 667–694. <https://doi.org/10.3390/biophysica4040044> EDN: MSNUKG

REFERENCES

- Chudin A.A., Zlotnikov I.D., Krylov S.S., Semenov V.V., Kudryashova E.V. (2023) Inhibitors of galactonolactone oxidase from *Trypanosoma cruzi* based on allylpolyalkoxybenzenes. *Biochemistry*. **88**(1): 97–109. <https://doi.org/10.31857/S0320972523010074> EDN: PCFZWJ (in Russian)
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2023) Impact of lipid matrix composition on the activity of membranotropic enzymes galactonolactone oxidase from *Trypanosoma cruzi* and L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* in the system of reverse micelles. *Biochemistry*. **88**(12): 2457–2468. <https://doi.org/10.31857/S0320972523120096> EDN: NLBOGA (in Russian)
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2026) Flavin-dependent oxidases and dehydrogenases of medical importance and new opportunities for their research using artificial intelligence algorithms. *Bioorganic chemistry*. **52** (in press) (in Russian)
- Asiri A., Tasleem M., Al Said M., Asiri A., Al Qarni A.A., Bakillah A. (2025) Optimizing cell density and unveiling cytotoxic profiles of DMSO and ethanol in six cancer cell lines: Experimental and *in silico* insights. *Methods and Protocols*. **8**(4): 93. <https://doi.org/10.3390/mps8040093> EDN: WLZTOF
- Carvalho D.T., Teixeira M., Luelmo S., Santarém N., Pinto E., Cordeiro-da-Silva A., Sousa E. (2023) Synthesis and evaluation of marine-inspired compounds result in hybrids with antitrypanosomal and antileishmanial activities. *Marine Drugs*. **21**(11): 551. <https://doi.org/10.3390/md21110551> EDN: UGSGLF
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2022) Improved enzymatic assay and inhibition analysis of redox membranotropic enzymes, AtGALDH and TcGAL, using a reversed micellar system. *Analytica*. **3**(1): 36–53. <https://doi.org/10.3390/analytica3010004> EDN: NHZKPG
- Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2023) Flavin-dependent dehydrogenases and oxidases: Comparison of structural functional properties (a review). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. **49**(6): 1229–1242. <https://doi.org/10.1134/S1068162023060055> EDN: VLJSWO
- Doukyu N., Ogino H. (2010) Organic solvent-tolerant enzymes. *Biochemical Engineering Journal*. **48**(3): 270–282. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.09.009> EDN: XXFSIV
- Fan D., Wang B., Stelitano G., Savková K., Riabova O., Shi R., Wu X., Chiarelli L.R., Mikušová K., Makarov V. *et al.* (2023) Side chain-modified benzothiazinone derivatives with anti-mycobacterial activity. *Biomedicines*. **11**(7): 1975. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071975> EDN: APHFXM
- Hervás M., Bashir Q., Leferink N.G.H., Ferreira P., Moreno-Beltrán B., Westphal A.H., Díaz-Moreno I., Medina M., de la Rosa M.A., Ubbink M. *et al.* (2013) Communication between L–galactono–1,4–lactone dehydrogenase and cytochrome *c*. *The FEBS Journal*. **280**(8): 1830–1840. <https://doi.org/10.1111/febs.12207>
- Kfoury M., Fourmentin S. (2024) State of the art in cyclodextrin solubility enhancement. Are green solvents the solution? *Journal of Molecular Liquids*. **410**: 125599. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.125599> EDN: RLNGUD
- Kudryashova E. V., Leferink N.G.H., Slot I.G.M., van Berkel W.J.H. (2011) Galactonolactone oxidoreductase from *Trypanosoma cruzi* employs a FAD cofactor for the synthesis of vitamin C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. **1814**(5): 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2011.03.001> EDN: OHYXUV
- Leferink N.G.H., van den Berg W.A.M., van Berkel W.J.H. (2008) L-Galactono-γ-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*, a flavoprotein involved in vitamin C biosynthesis. *The FEBS Journal*. **275**(4): 713–726. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06233.x>
- Nicoletti C.D., dos Santos Galvão R.M., de Sá Haddad Queiroz M., Barbocher L., Faria A.F.M., Teixeira G.P., Souza A.L.A., de Carvalho da Silva F., Ferreira V.F., da Silva Lima C.H. *et al.* (2023) Inclusion complex of O-allyl-lawsone with 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin: Preparation, physical characterization, antiparasitic and antifungal activity. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. **55**(3): 233–248. <https://doi.org/10.1007/s10863-023-09970-x> EDN: PXDDTR
- Parise-Filho R., Pasqualoto K.F.M., Magri F.M.M., Ferreira A.K., da Silva B.A.V.G., Damião M.C.F.C.B., Tavares M.T., Azevedo R.A., Auada A.V.V., Polli M.C. *et al.* (2012) Dillapiole as antileishmanial agent: Discovery, cytotoxic activity and preliminary SAR studies of dillapiole analogues. *Archiv der Pharmazie*. **345**(12): 934–944. <https://doi.org/10.1002/ardp.201200212>
- Sahani V., Patil S., Mahato A., Kumar M., Shanthi C.N. (2026) Molecular docking and physicochemical characterisation of kaempferol-hydroxy propyl-β-cyclodextrin–Inclusion complex. *Chemical Physics Impact*. **12**: 101017. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2026.101017> EDN: QTFSVD

- Sguizzato M., Agosta F., Ciancetta A., Grassi M., Cortesi R., di Cagno M.P. (2025) Supramolecular delivery systems for polyphenols: A green approach to predict *in vivo* permeability through an *in vitro* setup. *International Journal of Pharmaceutics*. **670**: 125170. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125170> EDN: BOHWYS
- Shegolev V.O., Veselovsky A.V., Kudryashova E.V. (2025) Structural modeling of L-galactonolactone dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*. *Mendeleev Communications*. **35**(2): 133–135. <https://doi.org/10.71267/mencom.7590> EDN: MAJUNS
- Spiewok S., Schaefer M., Lamla M., Jaritz Y., Kuehne A.J.C. (2025) Oligoethylene phosphoramidate-based kinase inhibitor prodrugs—solubility, enzyme inhibition, and hydrolysis. *Chemistry – A European Journal*. **31**(12). <https://doi.org/10.1002/chem.202404618> EDN: RYXNTG
- Tsyganov D. V., Samet A. V., Silyanova E.A., Ushkarov V.I., Varakutin A.E., Chernysheva N.B., Chuprov-Netochin R.N., Khomutov A.A., Volkova A.S., Leonov S. V. *et al.* (2022) Synthesis and antiproliferative activity of triphenylphosphonium derivatives of natural allylpolyalkoxybenzenes. *ACS Omega*. **7**(4): 3369–3383. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05515> EDN: MXFPTU
- Zlotnikov I.D., Belogurova N.G., Krylov S.S., Semenova M.N., Semenov V.V., Kudryashova E.V. (2022) Plant alkylbenzenes and terpenoids in the form of cyclodextrin inclusion complexes as antibacterial agents and levofloxacin synergists. *Pharmaceutics*. **15**(7): 861. <https://doi.org/10.3390/ph15070861> EDN: ROIXOF
- Zlotnikov I.D., Davydova M.P., Danilov M.R., Krylov S.S., Belogurova N.G., Kudryashova E.V. (2023) Covalent conjugates of alkylbenzenes and terpenoids as antibiotics enhancers with the function of prolonged action. *Pharmaceutics*. **16**(8): 1102. <https://doi.org/10.3390/ph16081102> EDN: RDCIFY
- Zlotnikov I.D., Krylov S.S., Belogurova N.G., Blinnikov A.N., Kalugin V.E., Kudryashova E.V. (2024) New derivatives of chalcones, chromenes, and stilbenoids, complexed with methyl- β -cyclodextrin with antioxidant properties and antibacterial synergism with antibiotics. *Biophysica*. **4**(4): 667–694. <https://doi.org/10.3390/biophysica4040044> EDN: MSNUKG

Цитировать как

Чудин А.А., Кудряшова Е.В. (2026). Применение производных циклодекстринов для проведения скрининга нерастворимых ингибиторов медицински значимых ферментов на примере L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana*. *Экобиотех.* **9**(3): 447–458.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-34>
EDN: <https://www.elibrary.ru/xzlyqb>

Cited as

Chudin A.A., Kudryashova E.V. (2026). Application of cyclodextrins derivatives to *in vitro* screening of insoluble inhibitors of clinically relevant enzymes using L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* as example. *Ecobiotech*. **9**(3): 447–458.
DOI: <http://doi.org/10.31163/2618-964X/2026-34>
EDN: <https://www.elibrary.ru/xzlyqb>

Сведения об авторах

Андрей Алексеевич Чудин, к.х.н., Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: andrew_18@inbox.ru, SPIN-код: 6537-3709, ORCID: 0009-0000-9271-5772, Scopus Author ID: 58107720900, WoS Research ID: KVB-4320-2024.

Елена Вадимовна Кудряшова, д.х.н., проф. Центральный университет, Москва, Россия. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, SPIN-код: 5483-4291, ORCID: 0000-0002-9761-7757, Scopus Author ID: 35585459100, WoS Research ID: AAD-1171-2022.

Information About the Author(s)

Andrei Alekseevich Chudin, PhD in Chemical Science, Central University, Moscow, Russia. E-mail: andrew_18@inbox.ru, SPIN-код: 6537-3709, ORCID: 0009-0000-9271-5772, Scopus Author ID: 58107720900, WoS Research ID: KVB-4320-2024.

Elena Vadimovna Kudryashova, Doctor in Chemical Science, Professor Central University, Moscow, Russia. E-mail: helenakoudriachova@yandex.ru, SPIN-код: 5483-4291, ORCID: 0000-0002-9761-7757, Scopus Author ID: 35585459100, WoS Research ID: AAD-1171-2022.



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

СОБЫТИЯ И ЛЮДИ | EVENTS AND PERSONALITIES

ПАМЯТИ НИКОЛАЯ ГЛЕБОВИЧА УСАНОВА

Малинецкий Г.Г., Халитов Г.Г., Терехова Е.Я.,
Чемерис А.В., Гильванова Е.А., Мильман П.Ю.

IN MEMORY OF NIKOLAY GLEBOVICH USANOV

Malinetsky G.G., Khalitov G.G., Terekhova E.Ya.,
Chemeris A.V., Gilvanova E.A., Milman P.Yu.

Специальный выпуск журнала «Циклодестрины: от бактерии до технологии» посвящен ученому, исследователю, изобретателю и автору патентов к.б.н. Усанову Николаю Глебовичу в честь 70-й годовщины со дня его рождения.

Усанов Н.Г. являлся одним из ведущих российских разработчиков биотехнологии циклодекстринов, отдавший большую часть своей научной жизни этим циклическим углеводам.

Поступила в редакцию: 23.09.2026

Принято в печать: 28.09.2026



A special issue of the journal "Cyclodextrins: from Bacteria to Technology" is dedicated to scientist, researcher, inventor and patent author Nikolai Glebovich Usanov, PhD, in honor of the 70th anniversary of his birth.

N.G. Usanov was one of the leading Russian developers of cyclodextrin biotechnology, who devoted most of his scientific life to these cyclic carbohydrates.

Received: 23.09.2026

Accepted: 28.09.2026

EDN: <https://www.elibrary.ru/slwgra>

Воспоминания зав. отделом математического моделирования нелинейных процессов Института прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, д.ф.-м.н., проф. Георгия Геннадьевича Малинецкого

Мы живем, точно в сне неразгаданном,
На одной из удобных планет...
Много есть, чего вовсе не надо нам,
А того, что нам хочется, нет...
И. Северянин

Никогда не думалось, что придется писать о Николае Глебовиче Усанове, о Николае, который около полувека был моим другом. В детстве и юности кажется, что жизнь бесконечна, а позже ощущаешь, что надо разобраться с мелкой суетой и неожиданными препятствиями, прежде чем взяться за главные дела. Но время нас не балует, и серия фильма нашей жизни, связанная с подведением итогов, кажется неожиданной... Интересно, что Николаю хотелось бы рассказать о прошедшем в его реальности в прожитых им сериях. Он был удивительным рассказчиком – и волнующие сюжеты, и удивительные детали, и умение парадоксально воспринимать происходящее.

Школа

Мы с Николаем с первого класса до десятого учились в Черниковке, в 62-й школе. Он учился в классе «Б», а я в «Г». Самыми интересными и замечательными ребятами из «Б» были Коля Усанов и Костя Монкевич, которые почти всегда ходили вдвоём. Их учительницей была Людмила

Николаевна Казаченко, невысокая полная женщина с шишкой волос на голове. Человек она была суровый и бестолковых она вызывала к доске и тыкала их лбом в доску, очевидно, чтобы полученные знания лучше уложились в голове. Николаяс с Костиком с большим юмором рассказывали о своей «классной реальности».

И Николаяс, и Костик отличались умением придумывать, своеобразным оптимизмом и умением очень многое делать руками. В целом у нас в школе было весело. Нашим директором был Сергей Никанорович Костиков, который мог вести любой предмет – от физкультуры до химии. Сильной стороной директора были вопросы на экзаменах, которые он задавал: на геометрии «Что такое точка?», на литературе «Какие 7 писателей стали Героями Социалистического труда?».

Николаяс был очень самостоятелен. Его папа – Глеб Иванович – был заместителем главного металлурга Уфимского моторостроительного завода. По сути, он жил не дома, а на своей сложной и ответственной работе. После аварии на самолетах технологам присылали фотографии того, что осталось после самолета, и, по-моему, фотографии погибших летчиков. Мама – Мария Степановна – была преподавателем химии и говорила, что Коля очень умный. Николаяс оправдывал эту оценку, считал, что химия достаточно простая наука, многое знал, любил всякие экзотические реакции и был, «реакционером» в лучшем смысле этого слова.

Коля и Костя были очень музыкальны, собирали всякие электронные гитары, усилители и прочие прибабасы в этой области. Конечно, Битлы, их песни «Yellow Submarine», «Hey Jude» и прочее. Оба учились в музыкальной школе, время от времени сдавали экзамены, и, конечно, волновались. И Николаюсу пришла в голову гениальная мысль – перед экзаменом выпить успокаивающих средств из арсенала родителей. Результат не оправдал ожидания. «Ерунда получилась», – говорил Николаяс, не упоминая грустных деталей.

С одноклассниками. Слева направо: Усанов Н.Г., Малинецкий Г.Г., Монкевич К. (Уфа, 1989 г.)



Мы удивительно много разговаривали с Николаюсом в школе. И по телефону, и, гуляя по Уфе. Думаю, что, по сути, мы конструировали свои будущие жизни. В 4-м классе мы были в пионерском лагере, недалеко от города. К сожалению, в разных отрядах. Новые группы, новые отношения, имитация будущего, моделирование многого из того, что произойдет дальше. В лагере был киноаппарат, но удивительным образом единственный фильм был про то, как угрозыск ловил Ленюку Пантелеева из банды «Живые покойники». Мы к концу смены знали этот фильм наизусть.

Была и библиотека. В ней я прочитал лучшую книгу в своей жизни, которую прочитал и Николаяс. Конечно, она была про пиратов, про прекрасных девушек. Да и пели мы: «И тут же вдруг блеснули два ножа. Пираты притаили все дыханье. Все знали, что дерутся два вождя, два мастера по делу фехтованья...» Беда одна, – из книги было выдрано первые 150 страниц из начала и 100 страниц из конца. С тех пор я перечитал много книг и искал этот шедевр. Но всё не то...

В 8-м классе началась «настоящая химия», её вела у нас Алевтина Степановна Симакова, которую мы называли «Олифа». Она настойчиво звала Николая в свою компанию, в химический кружок, но Николаяс отвечал: «Наверно, я вам не подойду. Я хочу делать взрывчатые вещества». – «Ну что же делать? Приходи попробуем сделать взрывчатку». Николаяс сделал. Потом попробовал взорвать, но ничего не получилось... Николаяс был очень огорчен, Олифа его успокаивала и объясняла, что не всегда всё получается... Прошли годы, и как-то Николаяс сказал: «У нас была нормальная школа. Олифа молодец. Она дала мне не концентрированную, а разбавленную азотную кислоту. Если бы дала концентрированную кислоту, то у меня сейчас не было бы рук».

У нас был блестящий учитель литературы и русского языка Розалия Зиновьевна Шемагонова. Одно из заданий, когда мы проходили Гоголя, было дописать гоголевского «Ревизора». Лучшие работы потом зачитывались. Лучшим «хвостом» великого произведения был вариант Кости, а на второй позиции было сочинение Николая.

Наша реальность определяется последовательностью выборов, которые мы делаем, или которые делают за нас. Один из них произошёл в 8-м классе. Родители Кости Монкевича переехали в Тюмень, наша троица распалась, а письма и звонки, это совсем не то... Родители Кости были замечательными врачами, но они не ладили друг с другом. Костя очень огорчился, и как-то сбежал из дому, чтобы начать новую жизнь или «перевернуть доску», как он говорил. И тогда их классная руководительница с пристрастием расспрашивала нас с Николаем, что, как, почему. Тогда всё обошлось. Костя стал блестящим детским хирургом и работал в Ноябрьске. Весы по знаку, принципиальность, желание добиться справедливости, решительность. Всё это нелегко обходится. Плюс к этому большие способности и ясное понимание того, что и как следовало делать. Николаяс рассказывал, что на похоронах у Кости было тысяч пять человек. Он очень много сделал для очень многих.

Пожалуй, из школьной жизни стоит упомянуть только две сущности. Первая – олимпиады. На одной из них по математике Николаяс нашел удивительное дополнительное построение. Их математичка стала задумываться о том, что Николаяс, может быть, умный, но к такому выводу она так и не пришла. И, конечно, олимпиады по химии. Тогда Всесоюзная олимпиада была в Уфе (1972 г.), Николаяс занял достойное место и как один из победителей поехал в пионерлагерь «Орленок» в Крыму. И, конечно, дальнейший курс понятен – химфак МГУ. Но точка бифуркации была пройдена иначе. Школьная любовь, одноклассница, которую звали Люда. Чтобы быть вместе с Людой Николаяс поехал не на химфак в Москву, а поступил в Уфимский Нефтяной институт.

Институт

В школьное время и Коля, и Костя очаровывали мою маму. Костя вежливостью, обаянием и тем, что сам шил себе брюки. Коля – толковостью, неожиданными суждениями и четким пониманием того, что и как практически можно сделать. Мама работала в Институте, была высокого мнения о многих его сотрудниках и настойчиво советовала Николаю идти на биотехнологию, поскольку «это наука завтрашнего дня». Я возражал и объяснял, что не завтрашнего, а послезавтрашнего. Но мамины аргументы действовали.

Астрология тогда была не в моде, но, конечно, Николаяс был Лев из Львов. Николаяс удивительно быстро формировал вокруг себя свой мир, разбирался, что в нем можно сделать, и делал это, конечно, занимая ведущее положение.

Рассказы Николяса об институте напоминали один огромный захватывающий анекдот. Очень важную роль тогда в жизни Николяса сыграл Александр Иванович Мелентьев. Думаю, что психологически они очень дополняли друг друга. Да и на кафедре биотехнологии должно было быть хотя бы несколько человек, которые понимают в биотехнологиях.

На рабочем месте в институте биологии БНЦ УрО АН РАН СССР (Уфа, 1988 г.)



К Институту я бы отнес и аспирантуру в Технологическом институте пищевой промышленности в Москве. По-моему, она очень много дала Николясу и в профессиональном отношении, и в знакомстве и осмыслении того мира, которого не было в Нефтяном институте.

Усанов Н.Г. и Мелентьев А.И (Уфа, 1991 г.)



Его руководителем был Алексей Михайлович Безбородов, и Николяс шутил: «Всё как-то в моей реальности связано то с усами, то с бородой». По-моему, у них с шефом были странные отношения – тот направлял свои замечания о статьях и делах Николяса в виде магнитофонных записей. По-моему, именно здесь сформировался образ Николяса-ученого.

Во-первых, огромная увлеченность. Он мог говорить о задачах, которыми занимается, вечно. Как правило, это было удивительно интересно и очень неожиданно.

Во-вторых, огромная уверенность в себе и ясное понимание, что делать надо то и так, как он считает.

В конце аспирантуры у Николяса произошла ещё одна бифуркация, которая определила все дальнейшее. На этом рубеже свою роль сыграла случайность. В метро я встретил Николяса и его знакомую Лену. Они обменивались удивительными взглядами, которые бывают у людей, шагнувших в другую реальность, которая существует только для них двоих. Потом мы встретились с Колей, и я объяснял, что именно сейчас ему надо решать, каким будет его будущее, что ему надо посмотреть на много лет вперед. И Николяс решил. Потом надо было выбирать, где жить – в Москве или Уфе, в холодном непривычном мире или в привычной уфимской реальности, которую он сформировал вокруг себя. Одна страница перевернута, и началась следующая глава.

Работа

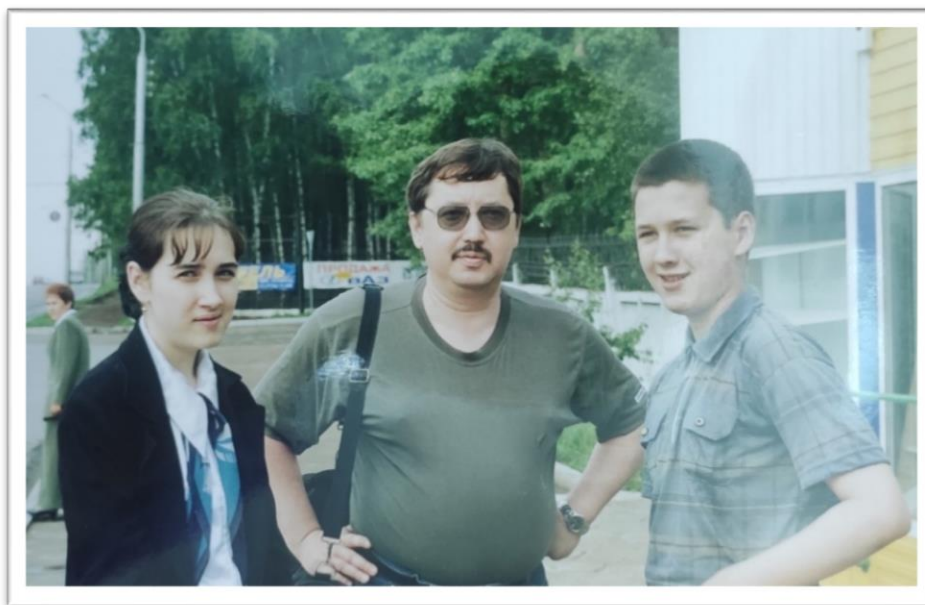
У меня много лет было ощущение, что Николяс это своеобразный Левша, который, если попросить, сорвет звезду с неба. Но Левшу то блоху просили подковать, то в Англию посылали ума набираться, а здесь и этого нет.

Николяс мог быть блестящим, вдохновенным преподавателем. Он как-то пересказывал одну из своих лекций – заслушаешься. Он очень много рисовал на доске, и студенты за глаза его называли «Пикассо». На мой взгляд таких преподавателей многие институты должны были бы хватать с руками и ногами. Но таких институтов не нашлось...

Я видел в нем душу лаборатории биотехнологий! Помню, как мы праздновали, а он нам звонил из Финляндии, посылал нам стихи. Создал музей лаборатории. Там хранился первый рубль, вложенный в её процветание.

Николяс был удивительным родителем. Он приходил к нам на улицу Калинина с дочкой «Жанулеттой» на руках. И мама объясняла, что никогда не видела таких чудесных отцов.

С дочерью Жанной и сыном Николаем (Уфа, 2001 г.)



Вспоминаю, как он рассказывал и о поступлении, и о дипломе сына – Николая Николаевича Усанова. Обрадованный и вдохновленный Николяс рассказывал мне об умных и понимающих людях с химфака, среди которых учился его сын, осваивая молекулярную биологию. Николяс видел в нем своё продолжение и воплощение того, что у него не сложилось. Они с сыном исследовали молекулу ДНК и нашли в ней удивительную симметрию. Мы опубликовали их работу в виде препринта Института прикладной математики [Усанов и др 2008], а также послушали авторов на конференции «Будущее прикладной математики». Впечатляющий, вдохновенный доклад. Очевидно, в этом направлении можно было двигаться дальше и дальше. Тем более сын закончил

аспирантуру Института молекулярной биологии РАН. Но у авторов были другие планы. Николяс активно поддерживал усилия сына – Николая Николаевича – в компьютерной реальности. Результат налицо – Николай Николаевич много лет работал в фирме Касперского и помогал людям со всего мира бороться с компьютерными вирусами.

Вспоминаю, с какой гордостью Николяс говорил о своей дочке Софии и гулял с ней, водил в лабораторию, заглядывал в будущее своих детей. Жаль, что расклад в жизни не всегда оказывается таким, как хотелось бы...

Вспоминаю наш первый разговор с Николясом о циклодекстринах. Фантастика! Микроорганизмы, в конце концов, занимаются тем, что меняют топологию молекул. Блестящие глаза, вдохновение, слова о новой химии и биологии. «У нас будет молекулярный конструктор», – восклицал Николяс.

После наших бесед с Николясом я написал в своем учебнике синергетики: «Процесс изменения топологии молекул может играть весьма большую роль и для более сложных органических веществ, которые участвуют в биохимических процессах. Сотрудник Уфимского Института биологии РАН Н.Г. Усанов обратил мое внимание на штаммы микроорганизмов, занимающихся изменением топологии. Оказалось, что существуют бактерии, превращающие обычные линейные молекулы крахмала в своеобразные «клубки», состоящие из нескольких сотен атомов – циклодекстрины.

В них также можно «упаковывать» различные молекулы, заставляя растворяться вещества, которые нерастворимы без этой процедуры. С их помощью можно придавать различным объектам желаемые запахи. За последние годы в мире было получено более 4000 патентов, связанных с различными технологиями, использующими циклодекстрин. Исследования Н.Г. Усанова показали, что участие циклодекстрина в обычных реакциях «из школьного учебника» может кардинально повлиять на их ход. В последние годы появились также веские основания считать, что циклодекстрины и их аналоги не являются столь уж большой экзотикой и природа использует их во многих своих конструкциях.

Прямой органический синтез циклодекстрина является сложным и дорогим. Поэтому ищут и отбирают микроорганизмы, которые могут превращать обычный крахмал в циклодекстрин. Для чего же самим бактериям заниматься изменением топологии, производя циклодекстрины? Обсуждаются две гипотезы. В соответствии с первой, это нужно определенным штаммам, чтобы запасти питание, создав своеобразные «консервы», которые непригодны для конкурентов. В соответствии с другой, это нужно, чтобы с помощью циклодекстринов изменить растворимость ряда веществ, участвующих в жизненном цикле бактерий» [Малинецкий 2019].

Но если они нужны и полезны, не «научить» ли этому бактерии? В пользу этого говорит несколько обстоятельств.

Во-первых, способов научить микроорганизмы делать то, что нам надо, стало гораздо больше, чем раньше.

Во-вторых, пакеты современных компьютерных программ позволяют выяснить, нужна ли нам молекула, которую мы можем создать. Компьютеры уже сейчас могут сказать, как она будет вести себя в разных ситуациях. При этом речь может идти не только о катенанах, но и о других молекулах с необычной топологией.

В-третьих, существенна структура белков, их форма. Модель искусственного интеллекта AlphaFold [Jumper *et al.* 2021] позволила предсказать структуру почти 200 млн белков, которые идентифицировали исследователи, используя искусственный интеллект. За эту работу Демис Хассабис и Джон Джампер получили Нобелевскую премию по химии 2024 года. При этом удалось

решить не только прямую, но и обратную задачу – выяснить, какой белок имеет ту структуру, которую мы хотим.

Наверно, Николясу такая перспектива понравилась бы. Конечно, путь это не близкий. Но время идет. Ричард Филлипс Фейнман 60 лет назад грезил, что будут машины молекулярных размеров [Фейнман 2002]. Но в конце концов группа Бернарда Феринга показала такую машину, мотор которой обеспечивает скорость вращения 12 млн оборотов в секунду [Курамшин 2016]. В начале XX века многие выдающиеся физики и химики не верили в существование атомов, а сейчас атомы можно увидеть на поверхности твердого тела в школе, имеющей не слишком дорогое оборудование...

Достоинством Николяса было то, что он жил «подробно», делая многое неспешно и с удовольствием. От приготовления в течение часа яичницы «Золотая лошадь» (которую мы с ним ели в эпоху нашего безденежья) до прогулок на лодке с «боевым разворотом» в середине реки Уфимки, в конце и в начале которой надо было отпереть и запереть 17 замков, на которые лодка была заперта. Николяс подробно объяснял мне, что в этом есть своя прелесть.

Я как-то прочитал Николясу стихи Эдмона Ростана, и они ему понравились.

И, чтобы обо мне потомки не забыли,
Я надпись сочинил на собственной могиле:
«Прохожий стой! Здесь похоронен тот,
Кто прожил жизнь вне всех житейских правил.
Он музыкантом был, но не оставил нот.
Он был философом, но книг он не оставил,
Он астрономом был, но где-то в небе звездном
Затерян навсегда его ученый след.
Он был поэтом, но поэм не создал.
Но жизнь свою зато он прожил, как поэт!»

Нам, родным, близким, многим коллегам, да и биотехнологии очень повезло, что в наших реальностях был Усанов Николай Глебович и очень многое нам оставил.

Курамшин А.И. (2016) Молекулярные машины. *Химия и жизнь*. **11**: 10-12.

Малинецкий Г.Г. (2019) Математические основы синергетики: Хаос, структуры, вычислительный эксперимент. Книжный дом «ЛИБРОКОМ», Москва: 310.

Усанов Н.Н., Усанов Н.Г. (2008) Симметричные структуры в комплементарных цепях геномных ДНК и возможные алгоритмы их организации. Ин-т прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, Москва: 28.

Фейнман Р.Ф. (2002) Внизу полным-полно места: приглашение в новый мир физики. *Российский химический журнал*. **5**: 4-6.

Jumper J., Evans R., Pritzel A. et al. (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* **596**: 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

**Воспоминания зав. лабораторией физико-химических методов анализа
АО «Опытный завод Нефтехим», к.х.н. Галинура Гайнулловича Халитова**

С одноклассником Николаем Усановым я познакомился 1 сентября 1973 г., когда мы приехали в райцентр Новобелокатай Белокатайского района – нас, сборную группу только что поступивших на первый курс технологического факультета Уфимского нефтяного института студентов, отправили в колхоз, помочь с уборкой урожая. С Николаем мы подружились практически сразу, т.к. у нас было много схожего: оба были спокойные, относились ко всем равно, девочек не обижали, у обоих были одинаковые увлечения – фотографирование, любовь к музыке; к тому же у обоих были девушки, не поступившие в этом году в институт, и с которыми мы переписывались.

Скажу немного о быте. Нас, девушек и ребят, поселили в один сельский дом, каждому сразу же выдали матраасы и наволочки, и показали на стог соломы в поле: идите, набивайте их плотно более-менее сухой соломой. И мы спали на полу, пока были в колхозе почти полтора месяца вместо одного, как обычно. Городские ребята часто бывают изнеженными, в отличие от деревенских, и некоторые ребята действительно возмущались таким отношением к нам, но Коля отнёсся к этому философски, я бы даже сказал, несколько флегматично.

В нашей компании был парень, который играл на гитаре и пел, а Коля вначале только слушал. Как-то вечером он взял гитару, вышел во двор и сел играть. Он не афишировал своё умение игры на гитаре, категорично признавал музыку только Битлз и исполнял исключительно их песни, причём, когда я слушал советскую музыку, он мне говорил: «Как ты можешь это слушать!» Я слушал его песни, кроме этого, он много рассказывал об этой группе. Тем не менее, уже в 2000-е годы, когда я с удивлением узнал, что он стал слушать советскую музыку, даже ВИА «Самоцветы» (раньше Николай вообще не переваривал этот ансамбль) и спросил у него, почему так, то он мне ответил: «Знаешь, оказывается, советская музыка тоже хорошая, просто я её тогда не понимал и потому не слушал.»

Первый набор студентов группы НТБ-73-1 новой кафедры «Биохимии и технологии микробиологических производств» (БТП) технологического факультета Уфимского нефтяного института (Уфа, 1973 г.). Нижний ряд в центре Усанов Н.Г., Халитов Г.Г.



После колхоза мы начали учёбу с большим опозданием, после 15 октября, но объём учебного материала не уменьшили. Было трудно, лекции почти каждый день заканчивались в

полдевятого вечера. На лекциях я обычно сидел рядом с одноклассниками Абдрахмановым Наилем и Динуровым Ринатом, т.к. мы жили в общежитии в соседних комнатах, а на практических занятиях – часто с Николаем Усановым. Ему учёба давалась легко, в отличие от меня, особенно по математике. Видя мои мучения, Коля как-то сказал: «Ты почему каждый раз выводíš формулы дифференциалов, их же надо просто заучить, как таблицу умножения». Я так и сделал, и дело пошло на лад, я успешно сдал сессию.

К окончанию первого курса мы окончательно сдружились с Николаем, вместе печатали фотографии, я много раз бывал у них дома, он переписывал для меня на магнитофонную плёнку зарубежную музыку: Битлз, Элис Купер и др. А я уговорил его поехать после первого курса в стройотряд, подзаработать денег.

Питание в стройотряде было однообразное, даже плохое, каждый день слипшиеся макароны и свинина, постоянно хотелось хоть раз поесть нормальной еды. Мы почти каждый день после ужина, а также днём в единственный выходной день воскресенье, ходили купаться за 4 километра на реку Нугуш, т.к. работали с цементом, было пыльно. И как-то утром в воскресенье, идя уже домой после купания, не как обычно через пшеничное поле, а далеко в стороне, я увидел доярок, которые сидели у фляг с только что надоенным парным молоком, готовых к отправке. Я попросил у них парного молока, мы с Колей выпили его более чем по литру, после чего Николай некоторое время молчал, а потом сказал: «Я никогда не пил парного молока, теперь я понимаю, что магазинное совсем не то!» Мы потом ещё несколько раз ходили пить парное молоко.

Другой случай. Недалеко от нашего привычного места купания в Нугуше плавали гуси и утки из соседней деревни, вечером они или сами уходили домой, или их уводили хозяева. Мы с Колей заметили, что 2 утки никогда не уходят, всегда ночуют у реки, никто за ними не приходил, утят у них не было. В одно из воскресений мы рано утром пришли на реку, поймали одну утку и зажарили её, предварительно общипав, выпотрошив и обмазав глиной, т.к. у нас не было посуды, где можно было бы её сварить. Жаль, соль мы забыли, но хоть немного утолили голод.

После второго курса Николай не поехал в стройотряд, видимо, ему хватило одного голодного лета – и правильно сделал!

После окончания института я уехал по распределению в г. Кстово Горьковской области на первый в СССР опытно-промышленный завод БВК, работал начальником установки сушки и упаковки БВК, экстракции микробного жира.

В конце 1978 г. на Кстовском ОПЗ БВК в промышленных масштабах была получена первая в мире партия микробного жира.

Усанов приезжал на Кстовский ОПЗ БВК по делам, он в это время уже учился в аспирантуре, показывал мне первый опубликованный тезис доклада. После трёхлетней отработки я вернулся в Уфу, мы с Колей встречались реже: у каждого была своя жизнь. Мой друг учился в аспирантуре; я же после отработки в г. Кстово ушёл из микробиологии в химию и далее в нефтехимию, работал на Уфимском витаминном заводе (УВЗ) начальником установки получения витаминов U и B-15 химическим способом (кстати, эти витамины в СССР выпускал только УВЗ, притом они были очень высокой степени чистоты, мы их отправляли на экспорт даже в Канаду и другие капстраны, не говоря уже про соцстраны). Когда я начал работать в Институте химии, а Николай уже работал в Институте биологии, мы опять стали общаться чаще.

Он очень любил своих родителей, всегда заботился о них, тяжело переживал их смерть. Он очень гордился своими детьми, радовался их успехам, и был доволен, что его сын Николай пошёл по его стопам.

Николай Усанов был разносторонне развитой личностью, он живо интересовался очень многими вещами. На младших курсах он занимался велосипедным спортом, неоднократно ездил

на соревнования вместе с одноклассником Динуриным Ринатом. У него был широкий кругозор, предвидение определённых событий, неожиданный взгляд на происходящее в стране с парадоксальными выводами – это середина-конец 90-х годов прошлого века. Коля в эти годы 2 раза выезжал на работу в Финляндию, и приехал оттуда с негативным отношением к Западу: он с болью рассказывал, что выполнял работу доктора наук, а платили ему как технику. И справедливо заключил: «Никому мы на Западе как учёные не нужны, а только как инициаторы идей и исполнители, меня в публикации не включали».

Он рассказывал мне о последних компьютерных программах, щедро делился знаниями, показывал новинки – например, только что появившиеся флешки с огромным объёмом памяти и др.

Я смог хоть немного отблагодарить его, когда стал заведующим химико-аналитической лабораторией: иногда делал анализы (он несколько раз предлагал мне стать соавтором его статей, но у нас на работе это бы не одобрили, поэтому я отказался), или помогал по медицинским вопросам. Он не говорил, что у него высокое давление, лишь изредка жаловался на боли в суставах, говоря, что это из-за большого веса. Даже на одной из последних наших посиделок – из Кстово в отпуск приехал Сапиев Айрат, мы вчетвером Усанов Николай, Сапиев Айрат, Абдрахманов Наиль и я – собрались у Николая, вспоминали студенческие годы, Коля пел под гитару, и он только вскользь упомянул о здоровье, в очередной раз попросив меня достать ему какое-то лекарство. Я спросил у него: что-нибудь серьёзное? Он отмахнулся – да так, ерунда.

Я мог бы долго рассказывать о Николае Усанове, т.к. в последние годы перед его уходом мы много общались, обменивались информацией и мнением по многим вопросам – начиная с науки и кончая политикой наших властей, всегда приходя после этого к нерадостным выводам – но, думаю, это уже лишнее.

У меня и сейчас есть несколько хороших, преданных и умных друзей, но скажу откровенно: такого друга, как Николай, в котором совмещались бы не только ум, но и умение играть на гитаре, рисовать, писать стихи; глубокое понимание общественно-политической жизни страны, знание множества оригинальных анекдотов и умение рассказывать их к месту и многое другое – у меня теперь нет. Я его буду помнить всегда.

***Воспоминания генерального директора ЗАО «СТК-нефтепродукт»,
к.т.н. Елены Яковлевны Тереховой***

Мы рождены, чтоб сказку сделать былью...

П.Д. Герман

Что наша жизнь? Игра!

М.И. Чайковский

О моём научном руководителе Николае Глебовиче Усанове на основе личных бесед с ним и другими специалистами, вспоминая проводимые научные исследования и геополитические события того времени. С ним мы жили по соседству и учились в одной группе Уфимского нефтяного института НТБ-73-1. В детстве и юности сказки реально становились былью, при нас взлетел в космос Ю.А. Гагарин, прорыв земного существования человека позволил нашему поколению дерзко мечтать. В 1971 г. в политической газете «Правда» появилась большая статья «Белок из парафинов нефти» и ещё школьницей я заинтересовалась публикацией. Этот же материал изучил доцент Уфимского нефтяного института Хлесткин Рудольф Николаевич и загорелся идеей открыть

такую специальность. Он поехал в Министерство просвещения СССР, получил финансирование для подготовки двух групп студентов общей численностью пятьдесят человек. На НПЗ в Уфе с 1968 г. уже работала первая в мире опытно-промышленная установка по производству белка из парафинов нефти. По решению Правительства в 70-е годы в СССР интенсивно проектировались и строились крупнотоннажные биохимические комбинаты по производству белково-витаминных концентратов (БВК) для решения Продовольственной программы страны, что позволяло утилизировать отходы нефтепереработки в кормовую добавку для скота и птицы. Таких предприятий, мощностью до 100 000 т БВК в год стране насчитывалось с десятков от городов Кириши в Ленинградской области и Грозного на Кавказе до Ангарска на Дальнем Востоке. Возникла потребность в инженерных кадрах, готовых к высокой геомобильности. На дне открытых дверей нас школьников озаботили проблемами голодающих в Африке, что было суперактуальным для советских граждан. На эту специальность первого набора с самым высоким конкурсом на место подали документы романтики, не имевшие возможности даже пообщаться с сотрудниками предприятий, не интересовавшиеся отраслевым уровнем заработной платы. При зачислении у меня был максимально возможный балл, Николай Усанов прошёл вне конкурса, как победитель Республиканской олимпиады по химии.

Учились мы с энтузиазмом, хотя по нашей будущей специальности библиотека института не располагала даже учебниками. Все первокурсники института обеспечивались комплексными обедами с 50%-ной профсоюзной скидкой, успешно обучающиеся получали стипендию. Проживавшим в общежитии её хватало на однократное ежемесячное посещение ресторана «Нефтяник». Студентами мы все общались больше мимоходом, на лабораторных, в библиотеке, на физкультуре, на танцевальных вечерах. По натуре Николай был лидером и перфекционистом, позже он вдруг вспомнил моё выступление на семинаре по научному коммунизму о роли женщины в обществе, сокрушившее его позицию, о котором я давно забыла. В этом деле никаких компромиссов с обеих сторон быть не могло, т.к. моей любимой книгой в юности был томик «Женщина и социализм» Августа Бебеля. Николай увлекался фотографией и творчеством Битлз, по доброте душевной записал мне на магнитофон их песни. Самым ярким и красивым термином из органической химии мне запомнились декстрины. На пятом курсе к нам на неделю приехал десант из Москвы с курсом лекций по биотехнологии. Студентки особенно впечатлились выступлениями молодого аспиранта Александра Ивановича Мелентьева, который впоследствии тоже стал моим научным руководителем.

После окончания института я распределилась в БашНИПИнефть, в лабораторию прикладной микробиологии. Почему-то мне, молодому специалисту инженеру-технологу, поручили самостоятельно с нуля вести тему микробиологических методов повышения нефтеотдачи пластов. При этом основная часть сотрудников успешно занималась испытанием бактерицидов, подавляющих рост сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ) в призабойной зоне нефтяных пластов. В самой лаборатории из оборудования для микроорганизмов был только термостат, даже питательные среды для СВБ в пенициллиновых пузырьках заказывались в Институте им. Мечникова. Я поехала на нашу кафедру, посоветоваться с Усановым, где он остался работать преподавателем. Николай крайне критично отнёсся к этой теме, публикаций в СССР не было, а западные не вызывали у него никакого доверия. Отчёт лаборатории ежегодно защищался в Башнефти, тогда только нефтедобывающей компании. Видимо, от невозможности наработки хоть каких-то микробных культур, мне пришлось заключить договор с Благовещенским биохимическим комбинатом по использованию их микроорганизмов. С отложениями парафинов на нефтепромысловом оборудовании в институте боролся отдел новых методов повышения нефтеотдачи пластов. Я понимала в экстремальных условиях факультативные аэробы долго не протянут, но предположила, что дрожжи смогут начать утилизировать парафины в призабойной зоне и

выделяют органические растворители. Однако, на деле воздействие на скважину активного ила оказалось ещё более весомым. Через пару лет из ангольской командировки вернулся кандидат геолого-минералогических наук Юлбарисов Эрнест Мирсаяфович. С ним мы обработали активным илом Благовещенского биохимкомбината скважину в НГДУ. Проблема обводнённых нефтяных месторождений обусловлена тем, что в процессе извлечения нарастают бесполезные эксплуатационные затраты, а наш активный ил как биополимер, позволил увеличить приток нефти из дренажной зоны. Всё было подтверждено актами промысловых испытаний и геофизических исследований. Но на все поданные заявки на получение авторских свидетельств на изобретения нам сразу же дали отрицательное экспертное заключение.

Самыми запоминающимися моментами от нефтедобычи в моей памяти остались поездки и полёты по самым отдалённым районам Башкирии всеми видами легкомоторной авиации. В городе Янаул на лётном поле кукурузник встретил печальный водитель кобылы и довёз на телеге до здания аэропорта. Но самым ярким было возвращение домой при почти пятидесятиградусном морозе по пустынному шоссе накануне Нового года, а вдоль дороги косяками стояли замёрзшие автомобили. Спустя годы, обучаясь в аспирантуре Института биологии УНЦ РАН, я получила первое в СССР авторское свидетельство с красным уголком на микробиологический метод повышения нефтеотдачи пластов, хотя денежный бонус в размере цены хорошего цветного телевизора за внедрение изобретения и полученную прибыль пришёл на несколько лет раньше.

Коллектив лаборатории прикладной микробиологии. Слева направо: Мелентьев А.И., Халикова Э.Ф., Гильванова Е.А., Усанов Н.Г., Терехова Е.Я., Галимзянова Н.Ф., Кузьмина Л.Ю., Актуганов Г.Э. (Уфа, 1997 г.)



В 1989 году мы случайно встретились с Николаем в троллейбусе, поздравили друг друга с рождением сыновей. Он сразу же стал мне увлечённо рассказывать об интереснейшей теме – получении циклодекстринов (ЦД), пригласил заглянуть к нему в лабораторию и поработать. Единственным аргументом тогда для смены моей сферы деятельности стали планы по созданию

советско-болгарского предприятия по производству ЦД. В лаборатории под его руководством изучался широкий спектр микроорганизмов. При мне он активно занимался с Глебом Актугановым хитиназами, продуцентом которых оказалась первая ЦГТ-активная культура лаборатории №739, она как универсал-многостаночник синтезировала кучу гидролитических ферментов и экзополисахаридов. Диссертация Глеба была посвящена схеме и технологии очистке хитиназы IB-739 штамма. Эльвира Халикова защитила диссертацию по выделению продуцентов декстраназы, очистке наиболее активного штамма 101Д, занималась скринингом микроорганизмов, синтезирующих фитазы для гидролиза фитиновой кислоты, повышая тем самым доступность фосфора. У Елены Гильвановой диссертация была защищена по выделению экстремофильных микроорганизмов, в частности, галоалкалофилов, денитрификаторов бактерий рода *Halomonas*, деструкторов различных поллютантов, имеющих большие перспективы применения в очистке промышленных стоков и т.д. Гильванова также занималась поиском продуцентов целлюлаз, пулланаз и ксиланаз и экзополисахаридов, ею была создана коллекция щелочных ксиланаз бактерий рода *Paenibacillus* и *Bacillus*.

Николай был весь погружён в научную работу, отдавал ей всё свободное время, не слушал радио, не смотрел телевизор, но любил устраивать розыгрыши. Поэтому утром 20 августа 1991 года долго не мог поверить, что в стране происходит государственный переворот. Эта геополитическая катастрофа похоронила планы лаборатории по промышленному производству ЦД, коренным образом изменила систему финансирования научных исследований. Из библиотеки УНЦ РАН, в которой я работала с момента окончания института, исчезли журналы Chemical Abstracts, поступавшие с 1942 г., по ним я и составила полную картотеку мировых публикаций по ЦД. Как-то Николай очень расстроенный сказал, что какой-то научный фонд предложил лаборатории продать дублёрки, чтобы дополнительно профинансировать проводимые исследования. Увы, это стало новой реальностью.

Когда-то штамм-продуцент для производства БВК в СССР был выделен из почвы сосновых лесов Италии. На момент начала моей работы в УНЦ РАН в мире были описаны менее десятка штаммов, ферменты которых конвертировали крахмал в ЦД. В лаборатории уже выделили несколько продуцентов альфа-ЦД. Но важен был скрининг продуцентов бета- и гамма-циклодекстринглюканотрансфераз (ЦГТаз), циклодекстрины которых обладали самой большой гидрофобной полостью. Продуцентов необходимо было не только обнаружить в почве, но и определить среди них промышленно пригодные штаммы. Сама работа была настолько увлекательной, что забывалось о событиях, происходящих в стране и мире. Каждый год колонии ЦГТ-активных микроорганизмов, выросшие в тёмном термостате, флуоресцировали в ультрафиолете, напоминая о растаявших сугробах и наступлении весны. Кристаллы альфа-ЦД с йодом переливались под микроскопом всеми цветами радуги, как в детском калейдоскопе.

В октябре месяце 1993 г. сразу после расстрела Парламента я сдала кандидатский экзамен в Пищевом институте Москвы. Была откровенно разочарована диссертационной работой по исследованию моих микробных культур, ферменты которых они рассмотрели по стандартной схеме. Лучом света стало знакомство с женой Николая, Еленой, акварельной, доброжелательной и интеллектуальной. Из её рассказа я узнала и поняла почему Усанов своим появлением в Москве вызвал изумление в Пищевом институте, на него смотрели как на метеорит. Елене и Николаю, обладающими идентичными научными специализациями, было суждено встретиться. Она выросла в семье крупного учёного, её отец в ВАСХНИЛе работал в бывшем кабинете академика Т.Д. Лысенко. У них родился прекрасный способный мальчик, тоже Николай, который на отлично обучался по химическому профилю в лицее при МГУ, а потом и в Университете. Усанов как-то с гордостью мне показал статью Николеньки, со словами, что это готовая докторская. Но младший

повзрослев, видимо, попал в псевдонаучные жернова, жизненный цейтнот, поэтому и перешёл в IT-сферу. Усанову предлагали остаться работать в столице, но это было не изучение ЦД, не совсем то, чем бы он хотел заниматься. Николай часто вспоминал своё обучение в аспирантуре среди представителей разных стран и континентов. Его сосед по комнате исследовал свойства сытных какао-бобов со своей родины, мешок которых стоял между кроватями. Но сегодня я с особым теплом вспоминаю рассказы о добровольном кураторстве над аспирантом из Северной Кореи, и горжусь тем, что мой однокурсник внёс личную лепту в дружбу между нашими странами.

С сыном Николаем (Уфа, 2000 г.)



В крупнотоннажной микробиологической промышленности не железо, а микроб является основным производственным звеном. Именно физиологические качества штамма-продуцента упрощают дальнейшую технологическую цепочку, при этом микробные ферменты работают эффективнее химического синтеза, а конечные продукты имеют качества природных. Если разведением домашних животных человечество занималось с добиблейских времён, то микроорганизмы Пастер открыл только в 70-х годах XIX века по хоздоговору с французскими виноделами, у которых прокисало вино. С микробами же невозможно договориться, чтобы они, как коровы давали необходимые вещества в нужных количествах. По методике, разработанной мной под руководством Н.Г. Усанова, любой микробиолог может выделить штаммы с бета- и гамма-ЦГТ-активностью из почвы городского парка, работа была внедрена на Приволжском заводе ферментных препаратов с наработкой гамма-специфичной ЦГТаза, где главным инженером работал наш однокурсник, к.т.н., Анатолий Морозов. На защите диссертации в УГНТУ присутствовал финский биохимик с мировым именем Тимо Корпела, совместные работы с которым проводил Николай. Тимо, как бизнесмен, высоко ценил научные результаты Николая среди других приглашённых иностранных специалистов. Думаю, он и в Уфу приехал посмотреть, в каком городе России появляются столь незаурядные исследователи. У Усанова неоднократно была реальная возможность уехать на постоянную работу за границу, и не только к финнам, но он предпочёл остаться в России. Он говорил мне, что в Финляндии ему реально не хватало драйва, удивлялся инертному гендерному поведению финской молодёжи.

**В лаборатории JBL (Joint Biotechnology Laboratory) (г. Турку).
На прогулке по городу Хельсинки (Финляндия, 1998 г.)**



Когда-то я написала стихотворение в честь дня рождения Николая, назвав его Наполеоном бацилл, ведь с полководцем они родились в один день. Усанов действительно создавал новые технологии, используя микроорганизмы для получения инновационных продуктов во благо общества. Эпохальные научные открытия неразрывно связаны с запросами промышленности, а реализация энергоёмких биотехнологических проектов с государственным финансированием. Когда я поступала в аспирантуру, стоимость гамма-ЦД на мировом рынке была выше стоимости золота. Grimасы современной экономики не вывели золотодобывающие компании России в суперприбыльные предприятия, хотя стоимость золота на мировом рынке выросла за последние три года более чем в четыре раза. Сегодня в нашей стране лидируют финансовый капитал, банковский сектор. Я уверена, что разработки Николая Глебовича Усанова были бы в топ-листе Министерства микробиологической и медицинской промышленности, но оно ликвидировано, вслед за банкротством биохимкомбинатов. Для меня до сих пор является загадкой, почему был закрыт Благовещенский биохимический комбинат, валютные поступления от которого в бюджет Башкирии в нулевых превышали нефтяные доходы, ведь перепрофилировать его на другую продукцию было вполне реально. В годы горбачёвской антиалкогольной компании ходила легенда, что сырьём для дрожжей в Благовещенске служил армянский коньяк. Сегодня такие предприятия вполне могли бы производить питание для веганов, которые уже едят дрожжи. Кстовский завод был закрыт после отказа птицеводов закупать БВК, думаю кур не просто так перевели на растительный белок соевого шрота, который хуже усваивается организмом птиц.

Во Владивостоке есть Стекланный пляж, покрытый разноцветными, словно бы хрустальными и фарфоровыми камнями всех цветов радуги, отполированными морским прибоем. Наша юность совпала со временем интенсивного развития промышленности в стране, когда можно было выбирать любые приглянувшиеся сюжеты из океана жизни для изучения бесконечных возможностей мироздания. Сегодня ЦД для пищевиков задёшево производит Китай с использованием токсичных реактивов, а не наших продуцентов. Внедрение в реальное производство даже части разработок Николая безусловно способствовало бы его творческому

долголетию. Своё детство он проводил у бабушки в Челябинской области купаясь в озере, куда сбрасывал отходы комбинат «Маяк». В 1957 г. там произошла авария с выбросом радиоактивных веществ, о которой в стране узнали только после Чернобыля. До настоящего времени неизвестны подлинные масштабы и последствия этой катастрофы. Возможно, что с этими событиями тоже были связаны как преждевременный уход из жизни родителей, так и самого Николая. Для Усанова исследовательская работа была вдохновенным сочинением композитором-виртуозом своего очередного шедевра, он не мог не препарировать невидимый мир микробов на уровне какого-то научного волшебства, и именно этому занятию он посвятил всю свою жизнь. На Дне открытых дверей в нефтяном институте нам когда-то сказали, что задача кафедры будет выполнена, если хотя бы один из студентов любой специальности сможет создать нечто принципиально новое. С моей точки зрения таким выпускником в области биотехнологии стал мой однокурсник и научный руководитель Николай Глебович Усанов, доказавший, что в Уфе можно проводить исследования выше мирового уровня.

***Воспоминания главного научного сотрудника Института биохимии и генетики
УФИЦ РАН, д.б.н. Алексея Викторовича Чемериса***

С Николаем Глебовичем Усановым я познакомился в 1988 г., когда он пришел на работу в тогдашний Отдел биохимии и цитохимии БНЦ УрО АН СССР. Он оказался в группе А.И. Мелентьева, которая тогда формально входила в лабораторию, возглавляемую В.А. Вахитовым, и таким образом мы с Колей в течение ряда лет работали даже в одной лаборатории. Усанов сразу обратил на себя внимание как высококласный специалист. После перехода группы Мелентьева в Институт биологии наше взаимодействие не ослабло, благо мы продолжали находиться в одном лабораторном корпусе. Его интерес к циклодекстринам передался и мне, и как следствие нам с коллегами удалось клонировать и секвенировать гены циклодекстринглюканотрансфераз из двух видов бацилл с α - и β - специфичностями, штаммы которых были предоставлены Усановым. В 1999 и в 2000 гг. по этим результатам нами были совместно опубликованы три статьи в ведущих отечественных журналах. Спустя некоторое время, ко мне в аспирантуру поступила С.Р. Мингазетдинова и со руководителем ее диссертационной работы абсолютно обосновано стал Николай Глебович. Тема диссертации была «Искусственная эволюция циклодекстринглюканотрансфераз и их продуцентов *in vitro*», в ходе выполнения которой были получены интересные результаты, но работа, к сожалению, продолжения не имела, ввиду того, что после защиты диссертации в декабре 2004 г. Мингазетдиновой было предложено иное место работы за пределами Уфы и она его выбрала. Но мы продолжали с Усановым сотрудничать и по другим интересующим нас направлениям. Я, в свою очередь, обратил внимание Усанова на биоинформатический анализ геномов бактерий, чем Коля так увлекся, что как-то поздно вечером позвонил мне и сказал, что «оказывается так здорово, просто бряцая по клавишам, получать важную информацию». И это притом, что Усанов был микробиологом, что называется «от бога». Помнится, на его юбилей я подарил ему значок «Отличник микробиологической промышленности СССР», который по случаю удалось раздобыть. Сопроводив словами, что вовремя дать не успели.

Помимо науки, нас с Колей сближал еще интерес к знаменитому музыкальному трио, выступавшему в стиле арт-рок «Emerson, Lake & Palmer», фанатами которого мы оба были.

На защите кандидатской диссертации Маркосяна А.А. Слева направо: Усанов Н.Г., Чемерис А.В., Маркосян А.А., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Бойко Т.Ф. (2008 г.)



Специально посмотрев сейчас свою электронную почту, лишний раз убедился в том, что на протяжении многих лет, пожалуй, наиболее активная моя переписка шла именно с Усановым – неоднократно бывало, что мы в один день обменивались несколькими письмами, которых набралось в общей сложности более тысячи. И это помимо телефонных звонков и личных встреч. Последнее письмо от Коли я получил 8 июня 2011 г., на которое я тут же ответил и послал затем ему еще два письма 10 июня, не требующих ответа. Менее чем через месяц пришло трагическое известие. Я очень остро ощутил неожиданный уход своего хорошего друга – талантливого исследователя! Разом рухнули наши многочисленные планы...

Воспоминания старшего научного сотрудника Уфимского института биологии УФИЦ РАН, к.б.н. Елены Альбертовны Гильвановой

Впервые Николая Глебовича я увидела на втором курсе, он читал нам лекции по БОБу (биохимические основы биосинтеза) и вел лабораторные занятия. Запомнился тем, что лихо рисовал витиеватые схемы на доске, легко ориентировался в них, тем самым демонстрировал недюжинные знания, которые пытался запихнуть в нас, студентов. Прозвали мы его Пикассо за художественные способности. В то время я и предположить не могла, что судьба сведет нас на долгие годы. В дальнейшем, Николай Глебович стал руководителем экспериментальной части моего дипломного проекта, посвящённого разработке получения ферментного препарата ЦГТаза. Уже тогда Николай Глебович был увлечен идеей получить и изучить циклодекстрины – эти диковинные вещества микробного происхождения. Его идеи поддерживали и помогали воплощать ближайшие соратники, по совместительству сотрудники молодой лаборатории прикладной микробиологии, и, конечно же, в первую очередь Олег Николаевич Логинов и Александр Иванович Мелентьев. Были выделены первые продуценты ЦГГаз, пошли наработки бета-циклодекстрина в промышленном масштабе, образцы которого у нас до сих пор хранятся в лаборатории. Надо

отметить, что получить готовый продукт в те лихие 90-е годы, годы разрухи, когда вокруг все рушится, но не создается, дорогого стоит, для этого нужно быть очень цельным организатором, и конечно, иметь отличную команду. Время конца девяностых начало нулевых было переломным временем для науки, когда сотрудники активно сотрудничали со сторонними организациями для того чтобы быть на плаву и закупать хоть что-то для нужд лаборатории. В любом деле, неважно, руководство это аспирантской работы, или хоздоговор по совершенно не касающейся его основной темы, как это было с нефтяниками, Николай Глебович ответственно подходил к выполнению задачи, не допускал снижения уровня своей личной планки качества, публиковал результаты, которые не были научным шумом, как он называл основной вал научных публикаций.

Николай Глебович был и остается примером того, как нужно не бояться идти вперед, экспериментировать, браться за любые сложные темы, проекты. Он удивительным образом, мог прокрутить в своей голове весь эксперимент, любой процесс, как он любил говорить – найти реперные точки и предвидеть результаты, которые подтверждались на практике. Любил возиться со студентами, которые приходили к нам на практику или в аспирантуру. Помогал с защитами кандидатских диссертаций, не будучи руководителем, просто помогал.

В лаборатории «Омутнинской научно-промышленной базы» (Омутнинск, 1991 г.)



Помнится, когда, войдя в комнату 102, я увидела его увлеченно клацкающим по клавиатуре, то можно быть уверенным, что его посетила очередная идея, и в тот момент это выглядело как будто он играет на фортепиано, исполняя свой новый шедевр. Высококвалифицированный специалист в биохимии, химии, энзимологии, микробиологии, микробной геномике, биотехнологии и т.д. Николай Глебович поражал своим восторженным отношением к компьютеру и технике, любил сам что-то мастерить, постоянно изобретал, собирал схемы для ферментализации крахмала,

для ферментации микроорганизмов, разрабатывал схемы для выделения микроорганизмов продуцентов ЦГТаз и ферментов, схемы разделения и очистки циклодестринов, методы для получения комплексов включения и т.д. Под его руководством впервые в России была разработана технология получения ЦД, как говорится с нуля, от поиска продуцента ЦГТаз до получения спектра циклических продуктов, включая ступени очистки ЦД. Николай Глебович является автором алгоритмов частотного анализа нуклеотидного состава геномной ДНК, позволивших объяснить этимологический парадокс лингвистической симметрии протяженных цепей ДНК геномов бактерий, архей и эукариот. В этом направлении он работал со своим сыном Николаем, который разрабатывал соответствующие программы для обработки геномных данных.

Его, как высококвалифицированного исследователя звали не просто поработать за рубежом, а остаться жить и работать в Финляндии и Малайзии, что считалось в 90-е и начале нулевых круто и престижно, но он отказался. Его профессиональные качества, такие как широкая эрудиция, творческий подход, интерес к решению разноплановых научных проблем, как фундаментального, прикладного так и методического характера, дополненные прекрасными чертами человеческого человека сформировали его, и сделали из него гуру в науке.

Слева: Посещение культурно-исторических мест во время экспедиции по Южному Уралу (1998 г.).

Справа: На II Международной конференции «Микробное разнообразие: состояние, стратегия сохранения, биотехнологический потенциал» (ICOMID 2005)» (Пермь, 2005 г.)



Николай Глебович всегда поддерживал, особенно молодых, щедро дарил свои знания, находил нужные слова, проявлял человеческое участие. Разносторонние интересы, притягивают и разных людей, и они уже не случайны в его жизни, как друзья и близкие по духу люди. Любил свою семью, детей Жанну и Николая, сестру Ирину и Мишу, очень гордился успехами сына Николая. Николай Глебович был очень талантливым, но в тоже время очень ранимым, как все художественные натуры. Не приемлил, не принимал в своей жизни подлости, сам никогда

не участвовал в закулисных играх, был честным и открытым. Такое могут позволить далеко не все, а только сильные, талантливые, преданные науке, и посвятившие свою жизнь служению в храме познания мира, всего мира, в том числе и микробного.

Глебыч, как часто его называли, мог спрогнозировать ход событий, имел активную гражданскую позицию, вёл свой блог, где комментировал происходящее в мире, что его очень тревожило, не мог смириться с развалом Союза, сокрушался по тем процессам, творившимся в науке, которые не имели никакого отношения к науке, писал письма-протесты к руководству РАН. Нам очень не хватает его, его гениальных идей и находок, его умения видеть главное среди частного, его шуток, его профессионализма, да просто общения с очень умным, харизматичным, искренним и добрым человеком.

Для меня, Николай Глебович, был не просто супругом, подарившим мне замечательную дочь, он был самым близким другом, соратником и наставником. И я благодарна ему за то, что он был в моей жизни и продолжает незримо быть рядом с нами. Хотя многим нашим-совместным планам уже не осуществиться, мы стараемся распоряжаться его наследием так, что он одобрил бы наши дела... Светлая память.

***Воспоминания старшего научного сотрудника Уфимского института биологии
УФИЦ РАН, к.б.н. Полины Юрьевны Мильман***

С Николаем Глебовичем я познакомилась в июле 2008 года, когда планировала поступать в аспирантуру. Меня поразило при нашей первой встречи, с каким блеском в глазах он рассказывал о циклодекстринах, об их уникальных свойствах изменять состояния веществ. Я была искренне восхищена его самоотдачей научной работе и стремлению к новым открытиям. Его увлечение и энтузиазм оказались настолько заразительны, и я поняла, что с ним действительно интересно заниматься научными исследованиями. Особенно ценны те моменты, когда Николай Глебович делился своим опытом и знаниями. Его профессионализм и поддержка всегда были примером для подражания. К сожалению, судьба распорядилась так, что Николай Глебович не смог присутствовать на защите моей диссертации, но память о нем всегда будет жить в моем сердце.

* * * * *

**Редколлегия выражает искреннюю благодарность
всем авторам и рецензентам
за подготовку и экспертизу рукописей статей,
вошедших в состав тематического номера
«Циклодекстрины: от бактерии до технологии».**

Будем рады продолжить наше плодотворное сотрудничество!



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>



УДК 06.091.5



СОБЫТИЯ И ЛЮДИ | EVENTS AND PERSONALITIES

**75-ЛЕТИЕ УФИМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН
И УФИМСКОГО ИНСТИТУТА БИОЛОГИИ
УФИЦ РАН**

Зайцев Г.А.

Главный редактор
E-mail: forestry@mail.ru

**75TH ANNIVERSARY OF THE UFA FEDERAL RESEARCH
CENTER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
AND THE UFA INSTITUTE OF BIOLOGY
OF THE UFRC RAS**

Zaitsev G.A.

Chief Editor
E-mail: forestry@mail.ru

Аннотация

2026 год – важный год для уфимской фундаментальной науки. 75 лет назад были созданы Башкирский филиал Академии наук (БФАН) СССР (сейчас – Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, УФИЦ РАН) и Агробиологический институт Башкирского филиала АН СССР (Уфимский институт биологии УФИЦ РАН (УИБ УФИЦ РАН)). В статье приводятся краткие исторические сведения об УФИЦ РАН и УИБ УФИЦ РАН и информация о юбилейных мероприятиях, посвященных 75-летию этих научных организаций.

Ключевые слова:

75-летие, исторические очерки, юбилейные события, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфимский институт биологии УФИЦ РАН

Поступила в редакцию: 27.09.2026

Принято в печать: 28.09.2026

Abstract

2026 is an important year for Ufa fundamental science. Seventy-five years ago, the Bashkir Branch of the USSR Academy of Sciences (currently – Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, UFRC RAS) and the Agrobiological Institute of the Bashkir branch of the USSR Academy of Sciences (Ufa Institute of Biology, UFRC RAS) were founded. This article provides a short history of the UFRC RAS and UIB UFRC RAS and information on the 75th anniversary celebrations of these scientific organisations.

Keywords:

75th anniversary, historical essays, anniversary events, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa Institute of Biology UFRC RAS

Received: 27.09.2026

Accepted: 28.09.2026

EDN: <https://www.elibrary.ru/tgowfw>

В 1951 году с целью развития фундаментальной и прикладной науки в Башкирской АССР (в настоящее время – Республика Башкортостан), а также для помощи местной промышленности, сельскому хозяйству и культуре постановлением Совета Министров СССР № 1591 от 12.05.1951 г. был создан Башкирский филиал АН СССР, в настоящее время – Уфимский федеральный исследовательский центр РАН. В тот же год, на основании постановления Совета Министров СССР № 1591 от 12.05.51 г. и распоряжения Президиума АН СССР № 310 от 11.05.51 г. был создан Агробиологический институт Башкирского филиала АН СССР, в настоящее время – Уфимский институт биологии УФИЦ РАН. Первоначально, кроме Агробиологического института, в состав Башкирского филиала АН СССР вошли Институт истории, языка и литературы, Горно-геологический институт, сектор экономических исследований и сектор химии.

За свой 75-летний период, в стенах научных учреждений УФИЦ РАН были получены выдающиеся научные результаты и сделан целый ряд научных открытий в области математики, химии, механики и материаловедении, биологии, археологии, геологии. В разные годы в УФИЦ РАН работали такие знаменитые ученые как: академик Генрих Александрович Толстиков (1933-2013), академик Юрий Борисович Монаков (1942-2011), академик Арлен Михайлович Ильин (1932-2013), член-корреспондент АН СССР Алексей Фёдорович Леонтьев (1917-1987), член-корреспондент РАН Раиль Гумерович Кузеев (1929-2005), член-корреспондент РАН Казаков Валерий Петрович (1934-2010), член-корреспондент РАН Хамид Нурисламович Гизатуллин (1932-2026) и другие.

В Уфимском институте биологии за годы существования сформировались, работают и динамично развиваются известные научные школы: школа почвоведов (основатели: д.с.-х.н. С.Н.Тайчинов, д.с.-х.н. М.Н.Бурангулова), школа экологов-лесоведов (д.б.н. Ю.З.Кулагин), школа фитоценологов (чл.-корр. АН РБ, д.б.н. Б.М.Миркин), школа физиологов растений (д.б.н. В.К.Трапезников и д.б.н. Г.Р.Кудоярова), школа математической и молекулярной генетики (д.б.н. Р.Н.Чураев), школа микробиологов (д.б.н. А.И.Мелентьев), школа экологии растительных ресурсов (д.б.н. Н.И.Федоров) и другие.

Юбилейные мероприятия, посвященные 75-летию созданию Уфимского федерального исследовательского центра РАН, проходили с 21 по 29 сентября 2026 года. 21-24 сентября проходила Всероссийская конференция «Химия и новые материалы: фундаментальные исследования и технологии». 22-24 сентября проходила Международная научно-практическая конференция «Перспективы развития современного агропромышленного комплекса». 24 сентября проходила Всероссийская конференция «Биологические науки в современном мире: истоки, наследие и перспективы». 23-29 сентября проходила Международная научно-практическая конференция «Геология, полезные ископаемые и проблемы геоэкологии Башкортостана, Урала и сопредельных территорий». 23-29 сентября проходила Всероссийская молодежная школа-конференция «Геология, геоэкология и ресурсный потенциал Урала и сопредельных территорий».

Торжественные мероприятия, посвященные 75-летию созданию Центра, проходили 23 сентября 2026 г. в Конгресс-холле «Торатау». В праздничных мероприятиях приняли участие Глава Республики Башкортостан Радий Фаритович Хабиров, председатель Комитета Совета Федерации по науке, образованию и культуре Лилия Салаватовна Гумерова, заместитель министра науки и высшего образования России Денис Сергеевич Секиринский, вице-президент РАН Сергей Михайлович Алдошин, и Председателя Госсовета – Курултая РБ Илшат Азаматович Тажитдинов, заместитель президента РАН Петр Александрович Чекмарев и многие другие почётные гости.

Торжественные мероприятия, посвященные 75-летию созданию Уфимского института биологии УФИЦ РАН, проходили 24 сентября 2026 года в стенах Института. Во Всероссийской конференции «Биологические науки в современном мире: истоки, наследие и перспективы», посвященной 75-летию юбилею, приняли участие известные ученые России и Института биологии: Михаил Михайлович Черосов (Якутский НИИ сельского хозяйства ФИЦ ЯНЦ СО РАН, г. Якутск), Денис Васильевич Веселкин (Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН, Екатеринбург), Халил Масгутович Сафин (Академия наук РБ, Уфа), Зиннур Хайдарович Шигапов (Южно-Уральский ботанический сад-институт УФИЦ РАН, Уфа) и другие.

Торжественные мероприятия, посвященные 75-летию созданию Уфимского института биологии УФИЦ РАН: а) выступление директора Института, д.б.н. Д.С. Веселова, б) выступление директора Якутского НИИ сельского хозяйства ФИЦ ЯНЦ СО РАН, д.б.н. М.М. Черосова



а)



б)

Выступления: а) заместителя директора ИЭРиЖ УрО РАН, д.б.н. Д.В. Веселкина, б) академик-секретаря Академии наук РБ, чл.-корр. АН РБ, д.с.-х.н. Х.М. Сафина



а)



б)

Поздравление ветеранов Уфимского института биологии УФИЦ РАН: а) к.с.-х.н. А.А. Баталов (лаборатория лесоведения), б) к.б.н. А.Х. Галеева (лаборатория геоботаники и растительных ресурсов)



а)



б)

Несмотря на свой уже большой возраст, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН и Уфимский институт биологии УФИЦ РАН динамично развиваются и с уверенностью смотрят в будущее.