

УДК 636.03

Микрокапсулирование и оценка субхронической токсичности пептидов, выделенных из молозива коров, и пептидов экстракта фабрициевой сумки цыплят-бройлеров

С. Л. Тихонов*, Н. В. Тихонова, Н. А. Кольберг, А. С. Ожгихина, С. В. Шихалев

*Уральский государственный экономический университет, г. Екатеринбург, Россия;
e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Информация о статье Реферат

Поступила в редакцию
06.04.2022;

получена
после доработки
18.05.2022

Ключевые слова:

пептиды,
молозиво коров,
микрокапсулирование,
псевдокипящий слой,
лабораторные животные,
субхроническая
токсичность,
гематологические
и биохимические
показатели крови

Пептиды обладают высокой биологической активностью и применяются в составе лекарственных препаратов. Однако широкого использования в технологии пищевой продукции они не получили, так как чувствительны к действию протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта и характеризуются быстрым распадом, что снижает их эффективность. Перспективным источником пептидов с различной функциональной направленностью является молозиво коров. Одним из направлений, способствующих расширению использования пептидов при введении внутрь, является их микрокапсулирование. Цель исследований – разработка технологии и способа микрокапсулирования пептидов, выделенных из молозива коров после отела, и оценка их субхронической токсичности. Разработку установки для микрокапсулирования пептидов проводили с учетом диаметра широкой части конуса рабочей камеры и скорости витания мелких частиц конгломератов пептидов. Для эксперимента по сравнительной оценке субхронической токсичности капсулированных и свободных пептидов сформировали 4 группы нелинейных мышей. 1 группа мышей – контрольная, 2 – опытная – животные получали экстракт фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, содержащий пептиды с различной молекулярной массой дозой 15 000 мг/кг, 3 – свободные пептиды, выделенные из сыворотки молозива коров в количестве 1 500 мг/кг, 4 – капсулированные пептиды в количестве 15 000 мг/кг. Гематологический анализ крови проводили с использованием анализатора PCE-90Vet. Взвешивание мышей проводило на 7, 9, 14, 21 и 28 день эксперимента. Биохимический анализ сывороток крови животных осуществляли с помощью анализатора StatFax 3300. Установлено, что обработка пептидов раствором мальтодекстрина в течение 1,0–1,5 минут образует защитное покрытие толщиной более 2 мкм. Рассчитаны диаметры широкой и узкой частей конуса устройства и скорость фонтанирующих потоков для самых мелких и крупных частиц конгломерата пептидов. Доказано отсутствие токсичности микрокапсулированных пептидов.

Для цитирования

Тихонов С. Л. и др. Микрокапсулирование и оценка субхронической токсичности пептидов, выделенных из молозива коров, и пептидов экстракта фабрициевой сумки цыплят-бройлеров. Вестник МГТУ. 2022. Т. 25, № 3. С. 207–218. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2022-25-3-207-218>.

Microcapsulation and evaluation of subchronic toxicity of peptides extracted from cow colostrum and peptides of Fabricius bursa extract of broiler chickens

Serge L. Tikhonov*, Natalia V. Tikhonova, Natalia A. Kolberg,

Anna S. Ozhgikhina, Sergey V. Shikhalev

*Ural State Economic University, Yekaterinburg, Russia;
e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Article info

Received
06.04.2022;

received
in revised form
18.05.2022

Key words:

peptides,
cow colostrum,
microcapsulation,
pseudo-boiling layer,
laboratory animals,
subchronic toxicity,
hematological and
biochemical parameters
of blood

Abstract

Peptides have high biological activity and are used in the composition of medicines. Peptides are not widely used in food technology as they are sensitive to the action of proteolytic enzymes of the gastrointestinal tract and are characterized by rapid decomposition reducing their effectiveness. Colostrum of cows is a promising source of peptides with different functional orientations. One of the ways contributing to the expansion of using peptides when administered orally is their microcapsulation. The aim of the research is to develop a technology and method for microcapsulating peptides extracted from cow colostrum after calving and to assess their subchronic toxicity. The development of an installation for microencapsulation of peptides was carried out taking into account the diameter of the wide part of the cone of the working chamber and the speed of soaring of small particles of peptide conglomerates. For the experiment on the comparative assessment of the subchronic toxicity of encapsulated and free peptides, 4 groups of nonlinear mice were formed, 10 in each. Group 1 of mice was a control, group 2 (experimental) received an extract of the fabricium bag of broiler chickens containing peptides of various molecular weights at a dose of 15,000 mg/kg, group 3 – free peptides extracted from cow colostrum serum in an amount of 1,500 mg/kg, group 4 – encapsulated peptides in an amount of 15,000 mg/kg. Hematological blood analysis was performed using the analyzer PCE-90Vet. The mice were weighed on the 7th, 9th, 14th, 21st and 28th days of the experiment. Biochemical analysis of animal blood sera was carried out using the analyzer StatFax 3300. During the study, it has been found that the treatment of peptides with maltodextrin solution for 1.0–1.5 minutes forms a protective coating with a thickness of more than 2 microns. The diameters of the wide and narrow parts of the cone of the device and the velocity of the gushing streams for the smallest and largest particles of the peptide conglomerate have been calculated. The absence of toxicity of microcapsulated peptides has been proven.

For citation

Tikhonov, S. L. et al. 2022. Microcapsulation and evaluation of subchronic toxicity of peptides extracted from cow colostrum and peptides of Fabricius bursa extract of broiler chickens. *Vestnik of MSTU*, 25(3), pp. 207–218. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2022-25-3-207-218>.

Введение

За последние десятилетия большое количество исследований продемонстрировало полезность биоактивных пептидов, некоторые из этих продуктов были успешно коммерциализированы. С начала XXI в. во всем мире внедрено в производство 28 неинсулиновых биологически активных добавок к пище и пептидных препаратов, некоторые из которых высококонкурентны на рынке (Henninot et al., 2018). Кроме того, более 150 пептидных биологически активных добавок и препаратов находятся в активной клинической разработке, демонстрируя весьма многообещающие результаты (Lau et al., 2018).

Клеточные проникающие пептиды (CPPs) – также известные как домены белковой трансдукции (PtdS) – являются интенсивно изученным и разнообразным классом пептидов в отношении аминокислотного состава, размера, заряда и структуры. Классификации основаны на физико-химической природе последовательности (первичная, вторичная или неамфифатическая) (Ziegler et al., 2008).

Установлено, что четыре пептида – p61-80, p115-132, p206-225 и p337-353 – могут рассматриваться как иммунодоминантные Т-клеточные эпитопы и могут быть полезны для разработки иммунотерапии на основе пептидов (Keisuke et al., 2009).

Биологическая активность пептидов разнообразна. Так, выделяют антимикробные пептиды (AMPS), которые рассматриваются как альтернативные биологически активные вещества для обычных антибиотиков. Гепсидин, богатый цистеином антимикробный пептид, является важным компонентом врожденного иммунного ответа. В исследованиях (Athira et al., 2022) идентифицирован и охарактеризован ген гепсидина из рыбы *Catla catla* (индийский крупный карп), названный Cc-Нер. Cc-Нер состоит из 261 пары оснований и кодирует 87 аминокислот. Доказана антибактериальная, антиоксидантная и противоопухолевая активность Cc-Нер.

Современные стратегии открытия искусственных биоактивных пептидов можно в широком смысле разделить на два направления: 1) построение и скрининг пептидных библиотек из случайных аминокислотных композиций в пределах определенной макромолекулярной топологии (скрининг пептидных библиотек, подход снизу вверх); 2) выделение биоактивных последовательностей из природных белков на основе их трехмерных (3D) структур (Wang et al., 2018; Marasco et al., 2008; Ruykin et al., 2018).

STAT6 – ингибирующие пептиды (STAT6-IP или IP) и STAT6 – контрольные пептиды (STAT6-CP или CP) были синтезированы Университетом Калгари Integrated Peptide Services (г. Калгари, провинция Альберта, Канада). Пептиды состоят из производного домена трансдукции белка TAT, YARAAARQARA. Эта последовательность представлена 8 аминокислотами, окружающими тирозин 641 в мышине STAT6. В STAT6-IP остаток тирозина фосфорилируется (GRG*YVSTT), а в контрольном пептиде STAT6-CP этот остаток заменяется фенилаланином (GRGFVSTT). Пептиды были амидированы на карбоксильном конце, очищены RP-HPLC и проанализированы пептидными последовательностями MS (Wang et al., 2011).

Что касается механизма поглощения пептидов клетками организма человека, он до сих пор является спорным. Первые пептиды CPP, Tat и penetratin, были описаны уже в конце 1980-х и начале 1990-х годов и являются сейчас одними из наиболее изученных CPP (Madani et al., 2011). Tat получен из аминокислот 48-60 транс-активатора транскрипции ВИЧ-1 (Tat) белка, в то время как пенетратин получен из гомеодомена белка *Drosophila melanogaster* Antennapedia (Antp). Antp является фактором транскрипции, его гомеодомен 60 aa (pAntp) может быть нетрадиционно секретирован без необходимости сигнального пептида (Dupont et al., 2007). Следовательно, он может быть поглощен соседними клетками независимо от рецептора способом. Пенетратин, 16-аминокислотный пептид, соответствует третьей спирали гомеодомена Antp и, как было показано, достаточен для поглощения всего белка. Поглощение пенетратина происходит в результате эндоцитоза, но также может присутствовать прямая транслокация (Jiao et al., 2009). Тем не менее механизм поглощения остается спорным (Madani et al., 2011).

Пептиды выделяют, как правило, из ферментативного гидролизата растительного и животного сырья, содержащего белок, с помощью ультра или гельфильтрации (хроматографии).

Авторами (Hjellnes et al., 2021) изучена функциональность ультрафильтрации как метода промышленной переработки и ее влияние на биологическую активность гидролизатов белка. Белковые гидролизаты были получены ферментативным гидролизом *Pollachius virens*. Ультрафильтрация эффективно концентрировала более крупные пептиды (> 4 кДа) и более мелкие пептиды (< 4 кДа) в отдельных фракциях, с выходом белка 31 % во фракции < 4 кДа. Установлено, что нефильтрованный гидролизат обладает более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с фракцией < 4 кДа. Эти результаты показывают, что ультрафильтрация не увеличивает биоактивность путем концентрации небольших пептидов и биоактивность зависит от нескольких свойств, включая взаимодействие с более крупными пептидами.

Несмотря на высокую биологическую активность и большие достижения в области технологии выделения пептидов, они не используются широко по следующим причинам:

- более низкая аффинность и селективность связывания с мишенью, чем у белков, а также уязвимость к перевариванию протеазы в биологических средах (Weinstock et al., 2018);
- короткий циркулирующий период полураспада, приводящий к необходимости частого введения для поддержания их эффективности (Talmadge et al., 1998).

В этой связи проводятся исследования по разработке системы доставки наночастиц на основе полисахаридов, белков/пептидов, которая может эффективно доставлять молекулы биологически активных веществ и сами пептиды в клетки организма. С помощью метода ионного гелеобразования получены наночастицы, состоящие из хитозана, сывороточного альбумина и пептидов (Yadav et al., 2021). Эти наночастицы были охарактеризованы по размеру, биологическому потенциалу, эффективности инкапсуляции, цитотоксичности клеток, изучению поглощения, профилю высвобождения и распределению по размерам и однородности. Установлено, что эффективность инкапсуляции находилась в диапазоне от $80,73 \pm 6,37\%$ до $92,34 \pm 1,72\%$. Кумулятивное высвобождение пептидов из наночастиц составило $72,56 \pm 6,67\%$ через 2 недели. Инкапсулированные пептиды показали хорошее поглощение, при этом цитотоксичность в клеточной линии A549 полностью отсутствовала. В процессе исследования отмечено, что во время синтеза наночастиц структура и целостность пептидов не нарушаются. Пептиды показали контролируемое и устойчивое высвобождение с первоначальным усиленным высвобождением.

Перспективным источником пептидов с различной функциональной направленностью благодаря своему химическому составу является молозиво коров – молоко, выделяемое коровами в течение первых нескольких дней после отела. Оно содержит много питательных веществ и биоактивных компонентов, включая иммуноглобулины, факторы роста, α -лактальбумин (α -LA) и β -лактоглобулин (β -lg), лизоцим, лактопероксидазу, лактоферрин (LF), нуклеозиды, цитокины, витамины, пептиды и олигосахариды (Pecka-Kielb et al., 2018). За рубежом молозиво используется в качестве биологически активной добавки, поскольку многие исследования показали, что оно может обладать антиатеросклеротическими, противораковыми, антибактериальными и антиоксидантными свойствами (Godhia et al., 2013). Исследования (Champagne et al., 2013) доказали положительное влияние молозива на восстановление состава кишечного микробиома и процесс заживления поврежденной слизистой оболочки.

Автором (Korhonen, 1977) определено содержание определенных антимикробных белков в молозиве пяти коров Айршира в течение первых 9 доек и в молоке через 14 дней после отела. Проанализированы следующие показатели: общий сывороточный белок (WP), общие иммуноглобулины (Ig), лактоферрин (LF), лактопероксидаза (LP), лизоцим (LZM) и титр антител *Salmonella typhimurium* к соматическим (04,12) и жгутиковым (H1.5, H1) антигенам. Установлено, что все исследуемые показатели значительно варьировались при первом доении различных коров, но разница в содержании для всех, кроме LP и LZM, уменьшалась вместе с количеством доек. Концентрации WP, Ig и LF были самыми высокими в первом доении и заметно снизились в следующих дойках. С другой стороны, концентрация ЛП была в среднем наибольшей во время 3-го и 4-го доений, а концентрация LZM – во время 7-го и 8-го доений. Молозивная сыворотка от первого доения имела следующие концентрации (в среднем): WP – 69,2 мг/мл, Ig – 52,0, LF – 1,53, LP – 22,8 и LZM – 0,40 мкг/мл. В молочной сыворотке концентрации были следующими: WP – 12,2 мг/мл, Ig – 0,95, LF – 0,09, LP – 20,1 и LZM – 0,37 мкг/мл. В молозиве всех коров обнаружены агглютинирующие антитела к патогенному штамму *S. typhimurium* человека против O- и H-антигенов. Одно животное, которое было вакцинировано *S. typhimurium* до родов, имело значительно более высокие титры, чем невакцинированные животные. У последних были обнаружены антитела только в первых двух или трех дойках после отела, в то время как у вакцинированной коровы антитела в молоке были через 14 дней после отела. Полученные результаты позволяют предположить, что в дополнение к антителам неспецифические антибактериальные факторы (LF, LP и LZM) могут способствовать проявлению антимикробной активности молозива.

Целью исследований является разработка технологии и способа микрокапсулирования пептидов, выделенных из молозива коров после отела, и оценка субхронической токсичности.

Материалы и методы

В качестве материала для исследования использовали пептиды, выделенные из сыворотки молозива коров, экстракт фабрициевой сумки цыплят-бройлеров с известным содержанием пептидов и нелинейных мышей.

Пептиды получали из обезжиренной сыворотки молозива коров следующим образом: центрифугирование обезжиренной сыворотки молозива коров в течение 10 минут при 11 000 об./мин; гидролиз пепсином из расчета 50 мг/л в течение 6 часов при температуре 36 °C и pH 5,0; температурная инактивация фермента (75 °C, 90 сек), гельфилтрация на жидкостном высокоэффективном хроматографе Agilent 1260 Infinity II с применением сорбентов Sefadex G-10, 25 и 75; определение молекулярной массы методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия. Молекулярное распределение фракций пептидов в полученном продукте из обезжиренного молозива коров следующее: менее 10 кДа – 18 %, 10–25 кДа – 37, 25–75 кДа – 32, более 75 кДа – 13 %.

Для получения экстракта фабрициевой сумки замороженные бурсы цыплят-бройлеров измельчали при помощи ножа до размера частей сырья 1 мм. Измельченное сырье переносили в плоскодонную колбу,

заливали экстрагентом в соотношении 3 : 10 (на 30 г замороженного измельченного сырья приходилось 100 мл экстрагента). Для экстрагирования использовали экстрагент с pH 7,0, приготовленный на фосфатном буфере по ГОСТ 4919.2-2016¹. Экстракцию проводили на холоде при температуре 6–8 °С. Колбы с измельченным сырьем, залитым экстрагентом, устанавливали в шуттель-аппарат. Истинная концентрация белка в экстракте составила 21,53 мг/мл. Затем протеолитическую активность белков определяли в супернатанте, полученном в ходе экстракции на холоде.

Определение протеолитической активности проводили в разведениях в 10, 20, 50 и 100 раз следующим образом. В две пробирки – испытуемую и контрольную – вносили по 2 мл 1%-го раствора казеина, помещали их в водяную баню при температуре воды 30 °С на 10 минут. По окончании выдержки в испытуемую пробирку вносили 0,5 мл разведенного супернатанта, а в контрольную – 0,5 мл воды очищенной. Содержимое пробирок перемешивали стеклянной палочкой и ставили на повторную выдержку на 10 минут при той же температуре.

По истечении времени в обе пробирки добавляли по 2,5 мл 5%-го раствора трихлоруксусной кислоты для прекращения действия ферментов, содержимое пробирок перемешивали. Выделившийся осадок отфильтровывали самотеком на плотной фильтровальной бумаге. Для полученного фильтрата измеряли оптическую плотность при длине волны $\lambda = 280$ нм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную.

Количество протеолитических единиц в 1 мл исследуемого раствора А (ПЕ/мл) рассчитывали по формуле

$$A = (D_{\text{оп}} - D_{\text{к}}) \times P \times 2, \quad (1)$$

где $D_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытного раствора; $D_{\text{к}}$ – оптическая плотность контрольного раствора; P – разведение раствора; 2 – коэффициент пересчета протеолитической активности фермента на 1 мл исследуемого раствора.

Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты исследования протеолитической активности экстракта фабрициевой сумки цыплят-бройлеров

Table 1. Results of studying the proteolytic activity of the extract of the broiler chickens' fabricius bursa

Разведение	Протеолитическая активность, ПЕ/мл
10	4,68
20	4,32
50	5,4
100	4,8
Среднее значение	4,8

Затем экстракт дополнительно ферментировали трипсином из расчета 50 мг/л в течение 6 часов при температуре 36 °С и pH 7,8, проводили гельфильтрацию на жидкостном высокоэффективном хроматографе Agilent 1260 Infinity II с применением сорбентов Sefadex G-10 и Sefadex G-25. Молекулярное распределение фракций пептидов в экстракте фабрициевой сумки, установленное методом гельфильтрации, следующее: менее 18 кДа – 7 %, 18–27 кДа – 82, более 27 кДа – 11 %.

Микрокапсулирование пептидов проводили на опытной установке, основой которой являлся аппарат с псевдооживленным слоем, путем нанесения на поверхность пептидов 10%-го раствора мальтодекстрина МД 6 (ГОСТ 34275-2017², производитель ООО "НьюБио") (рис. 1).

Опытная установка для проведения микрокапсулирования пептидов представляет стеклянный корпус модельного аппарата конической формы 2, в нижнюю часть которого подавался воздух вентилятором 6. Протеолитические пептиды 1 засыпали в корпус аппарата на пористую перегородку 5. Путем изменения напряжения (автотрансформатором) питания вентилятора устанавливали скорость воздуха, обеспечивающую образование псевдооживленного слоя в виде фонтанирующих потоков. Размеры конуса корпуса аппарата позволяют наносить покрытия разных по размеру частиц и исключить их унос. После установления фонтанирующего режима включался компрессор 4 диспергатора жидкого компонента 3 (рис. 1).

¹ ГОСТ 4919.2-2016. Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов. М., 2018.

² ГОСТ 34275-2017. Сетки из стекловолокна щелочестойкие армирующие фасадные. Метод определения механических свойств. М., 2019.

Расчет параметров установки для микрокапсулирования пептидов: диаметр широкой части конуса рабочей камеры, а также скорость витания мелких частиц конгломератов пептидов высчитывали с помощью уравнения неразрывности потока

$$d_{\text{ш}} = d_{\text{уз}} \cdot \sqrt{\frac{v_{\text{уз}}}{v_{\text{ш}}}}, \quad (2)$$

где $d_{\text{уз}}$ – диаметр отверстия в узкой части рабочей камеры; $d_{\text{ш}}$ – диаметр широкой части конуса рабочей камеры; $v_{\text{уз}}$ – скорость воздушного потока в узком сечении конуса рабочей камеры, равная скорости витания крупных частиц материала; $v_{\text{ш}}$ – скорость воздушного потока в широком сечении конуса рабочей камеры, равная скорости витания мелких частиц материала.

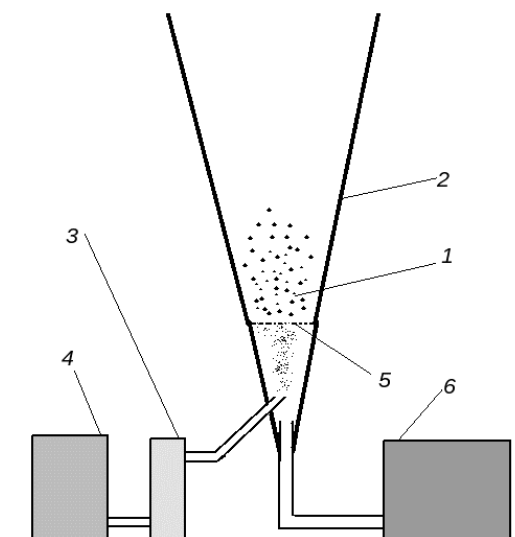


Рис. 1. Принципиальная схема установки для микрокапсулирования в псевдокипящем слое:
 1 – протеолитические пептиды; 2 – корпус аппарата конической формы; 3 – диспергатор жидкого компонента; 4 – компрессор для диспергатора; 5 – пористая перегородка; 6 – вентилятор
 Fig. 1. Schematic diagram of the installation for microcapsulation in a pseudo-boiling layer:
 1 – proteolytic peptides; 2 – the body of the apparatus with a conical shape; 3 – the liquid component disperser; 4 – the compressor for the dispersant; 5 – the porous partition; 6 – the fan

Скорость витания мелких частиц конгломератов пептидов ($d = 10$ мкм) в широком сечении аппарата определяли согласно уравнению для определения критических скоростей витания частиц сыпучего материала по полуэмпирической зависимости Аэрова – Тодеса (Тодес, 1981)

$$v = \frac{Ar \cdot \nu / d}{18 + 0,61 \cdot \sqrt{Ar}}, \quad (3)$$

где $Ar = \frac{g \cdot d^3 \cdot (\rho_ч - \rho)}{\nu^2 \cdot \rho}$ – критерий Архимеда; ν – коэффициент кинематической вязкости воздушной смеси;

d – размер частиц материала; $\rho_ч$ – плотность частиц сыпучего материала; ρ – плотность воздушной смеси; g – ускорение свободного падения.

Пептиды, выделенные из сыворотки молозива коров, микрокапсулировали в псевдокипящем слое 10%-го раствора мальтодекстрина.

Эксперимент по оценке субхронической токсичности капсулированных и свободных пептидов в сравнении с токсичностью пептидов в составе экстракта фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, не обладающих острой, субхронической и хронической токсичностью, проводили на нелинейных мышах. Для эксперимента сформировали 4 группы беспородных мышей по 10 в каждой (5 самцов и 5 самок). 1 группа мышей с массой тела $20,8 \pm 1,6$ г – контрольная; 2 – опытная: животные с массой тела $20,0 \pm 1,4$ г получали экстракт фабрициевой сумки цыплят-бройлеров, содержащий пептиды различной молекулярной массы с дозой 15 000 мг/кг; 3 группа (нелинейные мыши с массой тела $21,0 \pm 1,4$ г) получала свободные пептиды, выделенные из сыворотки молозива коров, в количестве 1 500 мг/кг; 4 группа мышей с массой тела $20,8 \pm 1,6$ г – капсулированные пептиды в количестве 15 000 мг/кг. При микрокапсулировании соотношение твердых пептидов к жидкому раствору мальтодекстрина выдерживали в пределах 10/1÷11/1. Лабораторно-экспериментальное изучение субхронической токсичности проводили на базе Государственного

научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Срок наблюдения за животными составил 37 дней с начала эксперимента. Ежедневно регистрировали вес животных, наличие или отсутствие клинических симптомов интоксикации, факт гибели. Взвешивание мышей происходило на 7, 9, 14, 21 и 28 день эксперимента. Индивидуальные образцы крови отбирали у животных через сутки после окончания курса введения пептидов (31 сутки). Гематологический анализ крови проводили с использованием автоматического гематологического анализатора PCE-90Vet (High Technology, США). Биохимический анализ сывороток крови животных – с помощью полуавтоматического анализатора StatFax 3300 (Awareness Technology, США).

Статистическую обработку полученных данных проводили на компьютере Pentium IV с использованием программ Microsoft Excel и Primer Biostatistic 4.03. for Windows методом однофакторного дисперсионного анализа, двухстороннего и парного критериев Стьюдента. Различия между показателями считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Жидкий компонент (10%-й раствор мальтодекстрина) подавали через воздухопровод в виде тумана, который образовывал защитное покрытие на пептидах.

В качестве контроля был взят чистый некапсулированный пептид (свободный пептид).

Соотношение твердых пептидов к жидкому раствору мальтодекстрина выдерживали в пределах $10/1 \div 11/1$. Для создания кипящего слоя в фонтанирующих потоках использовали воздух комнатной температуры.

Опытным путем была получена зависимость ($p \leq 0,05$) средней толщины нанесения раствора мальтодекстрина на конгломерат пептида в зависимости от продолжительности нанесения (рис. 2).

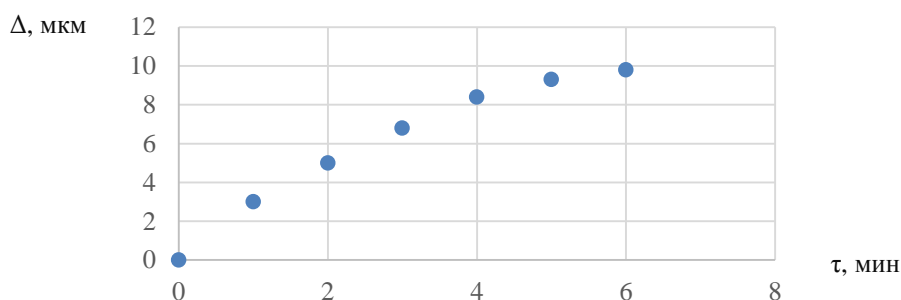


Рис. 2. Зависимость толщины поверхностного слоя мальтодекстрина от продолжительности нанесения на конгломерат пептидов

Fig. 2. Dependence of the thickness of the maltodextrin surface layer on the duration of application to the peptide conglomerate

Размер конгломератов из пептидов в результате микрокапсулирования составлял от 5 до 30 мкм при толщине поверхностного слоя от 2 до 10 мкм, которая определялась продолжительностью проведения процесса псевдооживления. Через 1–1,5 минуты обработки раствором мальтодекстрина на конгломерате пептидов активно образуется защитный поверхностный слой толщиной более 2 мкм от его среднего значения. С течением времени интенсивность образования защитного слоя снижается при достижении конечной толщины слоя до 10 мкм.

Для определения геометрических параметров установки с кипящим слоем, в частности размеров широкой и узкой частей конической рабочей камеры, использовали уравнения (2) и (3).

Правильный подбор скоростей для образования фонтанирующих потоков в зависимости от свойств и размеров частиц обеспечивали необходимым диаметром проходного отверстия в узкой части и размером рабочей камеры широкой части аппарата. Благодаря этому исключался вынос из аппарата наименьших конгломератов с покрытием и размерами до 10 мкм.

С этой целью критерий Архимеда вычисляли с использованием уравнения (3)

$$Ar = \frac{9,81 \cdot (10 \cdot 10^{-6})^3 \cdot (1450 - 1,205)}{(15,06 \cdot 10^{-6})^2 \cdot 1,205} = 0,052.$$

Скорость витания частиц продукта в широкой части аппарата определяли по уравнению (3)

$$v_{ш} = \frac{0,052 \cdot (15,06 \cdot 10^{-6}) / (10 \cdot 10^{-6})}{18 + 0,61 \cdot \sqrt{0,052}} = 0,0042 \text{ м/с.}$$

Аналогично находили скорость витания крупных частиц конгломератов ($d = 50$ мкм) в узком сечении аппарата.

Критерий Архимеда определяли как

$$Ar = \frac{9,81 \cdot (50 \cdot 10^{-6})^3 \cdot (1450 - 1,205)}{(15,06 \cdot 10^{-6})^2 \cdot 1,205} = 25.$$

Скорость витания частиц материала в узкой части аппарата вычисляли согласно уравнению (3)

$$v_{y3} = \frac{25 \cdot (15,06 \cdot 10^{-6}) / (100 \cdot 10^{-6})}{18 + 0,61 \cdot \sqrt{0,052}} = 0,17 \text{ м/с.}$$

В результате расчета по уравнению неразрывности потока (2) соотношение размеров широкой части конуса и узкой части аппарата при капсулировании составило

$$d_{ш} = d_{y3} \cdot \sqrt{\frac{0,34}{0,0042}} = 6,3 \cdot d_{y3}.$$

Полученное соотношение позволяет подбирать оптимальные геометрические параметры рабочей камеры аппаратов с кипящим слоем для проведения процесса микрокапсулирования пептидов.

В результате исследования субхронической токсичности установлено, что ежедневное (в течение 30 суток) внутрижелудочное введение мышам экстракта фабрициевой сумки, а также микрокапсулированных и свободных пептидов в максимальной дозе, не приводило к гибели животных и не влияло на общее состояние организма как у самцов, так и самок. Поведенческие реакции и внешний вид мышей из экспериментальных и контрольной групп не отличались. Кривые динамики массы тела контрольных (интактных) животных и получавших экстракт фабрициевой сумки, содержащий пептиды и свободные и микрокапсулированные пептиды, выделенные из молозива коров, не имели статистически достоверных различий (рис. 3).

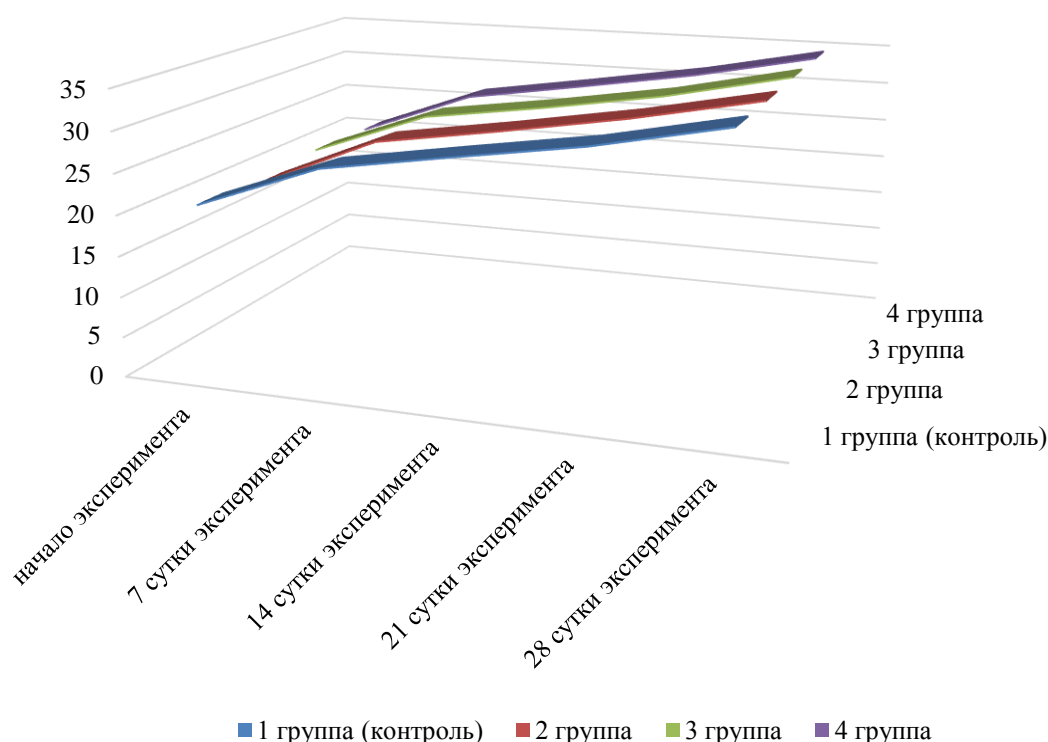


Рис. 3. Динамика массы тела нелинейных мышей контрольных (интактных) животных и получавших внутрь экстракт фабрициевой сумки, содержащий пептиды, свободные и микрокапсулированные пептиды, выделенные из молозива коров

Fig. 3. Body mass dynamics of nonlinear mice of control (intact) animals and ingested fabricium bag extract containing peptides, free and microcapsulated peptides extracted from cow colostrum

Исследования показали, что испытуемые пептиды при ежедневном внутрижелудочном введении мышам в течение 30 дней не оказывали достоверного влияния на содержание гемоглобина и форменных

элементов крови, что сопоставимо с данными, полученными в группе биоконтроля, которые находятся в пределах нормальных физиологических значений для этого вида животных. Показатели крови мышей представлены в табл. 2.

Таблица 2. Гематологические показатели крови мышей, получавших внутрижелудочно исследуемые пептиды в течение 30 суток
Table 2. Hematological blood parameters of mice treated with intragastric peptides for 30 days

Показатели крови	Ед. измерения	Норма	1 группа (контроль)	2 группа	3 группа	4 группа
Лейкоциты	$\times 10^9/\text{л}$	3,0–14,2	$4,82 \pm 0,01$	$5,10 \pm 0,01$	$5,03 \pm 0,01$	$5,02 \pm 0,01$
Лимфоциты	$\times 10^9/\text{л}$	3,22–11,20	$3,74 \pm 0,04$	$3,62 \pm 0,05$	$3,58 \pm 0,5$	$3,73 \pm 0,15$
Моноциты	$\times 10^9/\text{л}$	0,30–1,43	$0,41 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,02$	$0,43 \pm 0,01$
Лимфоциты	%	52–86	$58,2 \pm 1,8$	$54,1 \pm 2,4$	$59,2 \pm 1,6$	$58,3 \pm 2,5$
Моноциты	%	0–8	$4,7 \pm 0,7$	$4,7 \pm 0,2$	$4,7 \pm 0,3$	$4,7 \pm 0,1$
Гранулоциты	%	10–40	$37,1 \pm 1,2$	$36,5 \pm 0,4$	$35,8 \pm 0,3$	$31,2 \pm 0,4$
Эритроциты	$\times 10^{12}/\text{л}$	5,0–9,9	$9,51 \pm 0,53$	$9,25 \pm 0,62$	$9,24 \pm 0,63$	$9,25 \pm 0,41$
Концентрация гемоглобина	г/л	109–163	123 ± 9	124 ± 2	124 ± 3	125 ± 1
Гематокрит	%	42–62	$45,9 \pm 3$	$47,1 \pm 1,5$	$44,5 \pm 1,8$	$43,1 \pm 2,1$
Средний объем эритроцита	фл	48,0–56,0	$43,2 \pm 3,4$	$46,8 \pm 5,1$	$45,2 \pm 2,3$	$46,5 \pm 2,7$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	пг	11,9–19,0	$12,9 \pm 1,2$	$13,1 \pm 1$	$13,2 \pm 1$	$13,0 \pm 1$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците	г/л	259–351	300 ± 9	289 ± 15	297 ± 14	295 ± 18
Ширина распределения эритроцитов	%	12–23,5	$16,4 \pm 1,5$	$14,2 \pm 1,7$	$15,6 \pm 1,2$	$14,8 \pm 1,6$
Тромбоциты	$\times 10^9/\text{л}$	600–1 843	909 ± 115	$1 075 \pm 141$	$1 028 \pm 137$	$1 075 \pm 143$
Средний объем тромбоцита	фл	4,5–6	$5,12 \pm 0,03$	$5,27 \pm 0,03$	$5,32 \pm 0,04$	$5,31 \pm 0,03$
Ширина распределения тромбоцитов	%	15–16,5	$15,5 \pm 0,4$	$15,9 \pm 0,1$	$15,8 \pm 0,2$	$15,9 \pm 0,3$
Тромбокрит	%	0,400–0,700	$0,459 \pm 0,012$	$0,576 \pm 0,059$	$0,571 \pm 0,048$	$0,573 \pm 0,034$

О функциональном состоянии внутренних органов мышей судили по биохимическим показателям крови – содержанию общего белка, креатинина, глюкозы и активности аминотрансфераз (АСТ-аспартатаминотрансфераза и АЛТ-аланинаминотрансфераза).

Полученные результаты показывают, что колебания биохимических показателей плазмы крови у мышей после многократного перорального введения пептидов не отличались от таковых у интактных (контрольных) животных (табл. 3).

Таблица 3. Биохимические показатели сывороток крови беспородных мышей, получавших внутрижелудочно исследуемые пептиды в течение 30 суток
Table 3. Biochemical parameters of blood sera of mongrel mice treated with intragastrically studied peptides for 30 days

Биохимические показатели	Ед. измерения	Границы нормы	1 группа (контроль)	2 группа	3 группа	4 группа
Креатинин	мкмоль/л	40,8–70,8	$44,6 \pm 2,8$	$49,7 \pm 0,9$	$48,6 \pm 6,8$	$49,5 \pm 6,8$
Общий белок	г/л	40,5–64	$62,62 \pm 1,5$	$67,9 \pm 3,0$	$65,1 \pm 3,4$	$65,1 \pm 2,8$
Аспартатамино-трансфераза (АСТ)	МЕ/л	69–191	$142,8 \pm 26,0$	$166,3 \pm 19,4$	$175,8 \pm 26,5$	$166,1 \pm 34,2$
Аланинамино-трансфераза (АЛТ)	МЕ/л	26–120	$59,4 \pm 7,9$	$49,8 \pm 7,5$	$54,3 \pm 9,2$	$54,3 \pm 7,1$
Глюкоза	ммоль/л	5,88–15,43	$9,66 \pm 1,28$	$8,97 \pm 0,34$	$7,94 \pm 0,74$	$7,86 \pm 0,71$

Заключение

Разработана экспериментальная установка для микрокапсулирования пептидов в псевдоожиженном слое. В результате исследований определена зависимость толщины защитного слоя мальтодекстрина на конгломерате пептида от продолжительности процесса микрокапсуляции. Расчетным путем установлен критерий Архимеда и скорость витания конгломерата в узкой и широкой частях конуса установки, найдено соотношение размеров широкой и узкой частей аппарата для микрокапсулирования. Полученное в результате расчета соотношение позволяет определить продолжительность микрокапсулирования – от 2 минут и максимальный слой покрытия на исходные частицы – до 10 мкм. В исследованиях по определению субхронической токсичности свободных и микрокапсулированных пептидов на основании общего состояния, динамики массы тела, гематологических и биохимических показателей крови лабораторных мышей установлена безопасность их применения при внутривенном введении.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Библиографический список

- Тодес О. М., Цитович О. Б. Аппараты с кипящим зернистым слоем: Гидравлические и тепловые основы работы. Л.: Химия, 1981. 296 с.
- Abdel-Aty Azza M., Hamed M. B., Salama Walaa H., Ali Mamdouh M. [et al.]. Ficus carica, Ficus sycomorus and Euphorbia tirucalli latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. Vol. 20. Article number: 101199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>.
- Athira P. P., Anooja V. V., Anju M. V., Neelima S. [et al.]. A hepatic antimicrobial peptide, hepcidin from Indian major carp, *Catla catla*: molecular identification and functional // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2022. Vol. 20, Iss. 1. Article number: 49. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00330-7>.
- Cairangzhuoma, Yamamoto M., Xijier, Inagaki M. [et al.]. A preparation of cow's late colostrum fraction containing α 1-casein promoted the proliferation of cultured rat intestinal IEC-6 epithelial cells // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2013. Vol. 77, Iss. 5. P. 992–997. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.120942>.
- Champagne C. P., Raymond Y., Pouliot Y., Gauthier S. F. [et al.]. Effect of bovine colostrum, cheese whey, and spray-dried porcine plasma on the in vitro growth of probiotic bacteria and *Escherichia coli* // Canadian Journal of Microbiology. 2014. Vol. 60, Iss. 5. P. 287–295. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0130>.
- Dupont E., Prochiantz A., Joliot A. Identification of a signal peptide for unconventional secretion // Journal of Biological Chemistry. 2007. Vol. 282, Iss. 12. P. 8994–9000. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M609246200>.
- Godhia M. L., Patel N. Colostrum – its composition, benefits as a nutraceutical – A review // Current Research in Nutrition and Food Science Journal. 2013. Vol. 1, Iss. 1. P. 37–47. DOI: <https://doi.org/10.12944/crnfsj.1.1.04>.
- Henninot A., Collins J. C., Nuss J. M. The current state of peptide drug discovery: Back to the future? // Journal of Medicinal Chemistry. 2018. Vol. 61, Iss. 4. P. 1382–1414. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00318>.
- Hjellnes V., Rustad T., Jensen I.-J., Eiken E. Ultrafiltration of saithe (*Pollachius virens*) protein hydrolysates and its effect on antioxidative activity // Catalysts. 2021. Vol. 11, Iss. 9. Article number: 1053. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal11091053>.
- Javee A., Karuppan R., Subraman N. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces* sp. SNJASM6 // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020. Vol. 23. Article number: 101505. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101505>.
- Jiao C.-Y., Delaroche D., Burlina F., Alves I. D. [et al.]. Translocation and endocytosis for cell-penetrating peptide internalization // Journal of Biological Chemistry. 2009. Vol. 284, Iss. 49. P. 33957–33965. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.056309>.
- Korhonen H. Antimicrobial factors in bovine colostrum // Agricultural and Food Science. 1977. Vol. 49, Iss. 5. P. 434–447. DOI: <https://doi.org/10.23986/afsci.71956>.
- Lau J. L., Dunn M. K. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2018. Vol. 26, Iss. 10. P. 2700–2707. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>.
- Lindgren M., Langel Ü. Classes and prediction of cell-penetrating peptides // Cell-Penetrating Peptides. Methods and Protocols / ed.: Ü. Langel. Humana Totowa, NJ, 2011. Vol. 683. P. 3–19. (Part of the Methods in Molecular Biology). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-919-2_1.
- Madani F., Lindberg S., Langel Ü., Futaki S. [et al.]. Mechanisms of cellular uptake of cell-penetrating peptides // Journal of Biophysics. 2011. Vol. 2011. Article number: 414729. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/414729>.
- Marasco D., Perretta G., Sabatella M., Ruvo M. Past and future perspectives of synthetic peptide libraries // Current Protein & Peptide Science. 2008. Vol. 9, Iss. 5. P. 447–467. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920308785915209>.

- Masuyama K., Chikamatsu K., Ikagawa S., Matsuoka T. [et al.]. Analysis of helper T cell responses to Cry j 1-derived peptides in patients with nasal allergy: Candidate for peptide-based immunotherapy of Japanese cedar pollinosis // *Allergology International*. 2009. Vol. 58, Iss. 1. P. 63–70. DOI: <https://doi.org/10.2332/allergolint.08-OA-0008>.
- Pecka-Kiełb E., Zachwieja A., Wojtas E., Zawadzki W. Influence of nutrition on the quality of colostrum and milk of ruminants // *Mljekarstvo*. 2018. Vol. 68, Iss. 3. P. 169–181. DOI: <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0302>.
- Rytkin A., Ashkenazy H., Weiss-Ottolenghi Y., Piller C. [et al.]. Phage display peptide libraries: Deviations from randomness and correctives // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46, Iss. 9. P. e52. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky077>.
- Talmadge J. E. Pharmacodynamic aspects of peptide administration biological response modifiers // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1998. Vol. 33, Iss. 3. P. 241–252. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(98\)00032-5](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(98)00032-5).
- Wang S.-H., Yu J. Structure-based design for binding peptides in anti-cancer therapy // *Biomaterials*. 2018. Vol. 156. P. 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.11.024>.
- Wang Y., Li Y., Shan J., Fixman E. [et al.]. Effective treatment of experimental ragweed-induced asthma with STAT-6-IP, a topically delivered cell-penetrating peptide // *Clinical & Experimental Allergy*. 2011. Vol. 41, Iss. 11. P. 1622–1630. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2011.03853.x>.
- Weinstock M. T., Francis J. N., Redman J. S., Kay M. S. Protease-resistant peptide design-empowering nature's fragile warriors against HIV // *Biopolymers*. 2012. Vol. 98, Iss. 5. P. 431–442. DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.22073>.
- Yadav P., Yadav A. B. Preparation and characterization of BSA as a model protein loaded chitosan nanoparticles for the development of protein-/peptide-based drug delivery system // *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021. Vol. 7. Article number: 200. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00345-w>.
- Ziegler A. Thermodynamic studies and binding mechanisms of cell-penetrating peptides with lipids and glycosaminoglycans // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008. Vol. 60, Iss. 4-5. P. 580–597. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.10.005>.

References

- Todes, O. M., Tsytovich, O. V. 1981. Devices with a boiling granular layer : Hydraulic and thermal fundamentals of work. Leningrad. (In Russ.)
- Abdel-Aty, Azza M., Hamed, M. B., Salama, Walaa H., Ali Mamdouh, M. et al. 2019. Ficus carica, Ficus sycamoros and Euphorbia tirucalli latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20. Article number: 101199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>.
- Athira, P. P., Anooja, V. V., Anju, M. V., Neelima, S. et al. 2022. A hepatic antimicrobial peptide, hepcidin from Indian major carp, *Catla catla* : molecular identification and functional. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 20(1). Article number: 49. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00330-7>.
- Cairangzhuoma, Yamamoto, M., Xijier, Inagaki, M. et al. 2013. A preparation of cow's late colostrum fraction containing us1-casein promoted the proliferation of cultured rat intestinal IEC-6 epithelial cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(5), pp. 992–997. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.120942>.
- Champagne, C. P., Raymond, Y., Pouliot, Y., Gauthier, S. F. et al. 2014. Effect of bovine colostrum, cheese whey, and spray-dried porcine plasma on the in vitro growth of probiotic bacteria and *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(5), pp. 287–295. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0130>.
- Dupont, E., Prochiantz, A., Joliot, A. 2007. Identification of a signal peptide for unconventional secretion // *Journal of Biological Chemistry*, 282(12), pp. 8994–9000. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M609246200>.
- Godhia, M. L., Patel, N. 2013. Colostrum – its composition, benefits as a nutraceutical – A review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 1(1), pp. 37–47. DOI: <https://doi.org/10.12944/crnfsj.1.1.04>.
- Henninot, A., Collins, J. C., Nuss, J. M. 2018. The current state of peptide drug discovery: Back to the future? *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(4), pp. 1382–1414. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00318>.
- Hjellnes, V., Rustad, T., Jensen, I.-J., Eiken, E. 2021. Ultrafiltration of saithe (*Pollachius virens*) protein hydrolysates and its effect on antioxidative activity. *Catalysts*, 11(9). Article number: 1053. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal11091053>.
- Javee, A., Karuppan, R., Subraman, N. 2020. Bioactive glycolipid biosurfactant from seaweed *Sargassum myriocystum* associated bacteria *Streptomyces* sp. SNJASM6. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23. Article number: 101505. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101505>.
- Jiao, C.-Y., Delaroche, D., Burlina, F., Alves, I. D. et al. 2009. Translocation and endocytosis for cell-penetrating peptide internalization. *Journal of Biological Chemistry*, 284(49), pp. 33957–33965. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.m109.056309>.

- Korhonen, H. 1977. Antimicrobial factors in bovine colostrum. *Agricultural and Food Science*, 49(5), pp. 434–447. DOI: <https://doi.org/10.23986/afsci.71956>.
- Lau, J. L., Dunn, M. K. 2018. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(10), pp. 2700–2707. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>.
- Lindgren, M., Langel, Ü. 2011. Classes and prediction of cell-penetrating peptides. In *Cell-Penetrating Peptides. Methods and Protocols*. Ed.: Ü. Langel. Humana Totowa, NJ, Vol. 683. P. 3–19. (Part of the Methods in Molecular Biology). DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-919-2_1.
- Madani, F., Lindberg, S., Langel, Ü., Futaki, S. et al. 2011. Mechanisms of cellular uptake of cell-penetrating peptides. *Journal of Biophysics*, 2011. Article number: 414729. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/414729>.
- Marasco, D., Perretta, G., Sabatella, M., Ruvo, M. 2008. Past and future perspectives of synthetic peptide libraries. *Current Protein & Peptide Science*, 9(5), pp. 447–467. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920308785915209>.
- Masuyama, K., Chikamatsu, K., Ikagawa, S., Matsuoka, T. et al. 2009. Analysis of helper T cell responses to Cry j 1-derived peptides in patients with nasal allergy: Candidate for peptide-based immunotherapy of Japanese cedar pollinosis. *Allergology International*, 58(1), pp. 63–70. DOI: <https://doi.org/10.2332/allergolint.08-OA-0008>.
- Pecka-Kielb, E., Zachwieja, A., Wojtas, E., Zawadzki, W. 2018. Influence of nutrition on the quality of colostrum and milk of ruminants. *Mljekarstvo*, 68(3), pp. 169–181. DOI: <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0302>.
- Ryvkin, A., Ashkenazy, H., Weiss-Ottolenghi, Y., Piller, C. et al. 2018. Phage display peptide libraries: Deviations from randomness and correctives. *Nucleic Acids Research*, 46(9), pp. e52. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky077>.
- Talmadge, J. E. 1998. Pharmacodynamic aspects of peptide administration biological response modifiers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 33(3), pp. 241–252. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(98\)00032-5](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(98)00032-5).
- Wang, S.-H., Yu, J. 2018. Structure-based design for binding peptides in anti-cancer therapy. *Biomaterials*, 156, pp. 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.11.024>.
- Wang, Y., Li, Y., Shan, J., Fixman, E. et al. 2011. Effective treatment of experimental ragweed-induced asthma with STAT-6-IP, a topically delivered cell-penetrating peptide. *Clinical & Experimental Allergy*, 41(11), pp. 1622–1630. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2011.03853.x>.
- Weinstock, M. T., Francis, J. N., Redman, J. S., Kay, M. S. 2012. Protease-resistant peptide design-empowering nature's fragile warriors against HIV. *Biopolymers*, 98(5), pp. 431–442. DOI: <https://doi.org/10.1002/bip.22073>.
- Yadav, P., Yadav, A. B. 2021. Preparation and characterization of BSA as a model protein loaded chitosan nanoparticles for the development of protein-/peptide-based drug delivery system. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7. Article number: 200. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00345-w>.
- Ziegler, A. 2008. Thermodynamic studies and binding mechanisms of cell-penetrating peptides with lipids and glycosaminoglycans. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(4-5), pp. 580–597. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.10.005>.

Сведения об авторах

Тихонов Сергей Леонидович – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, профессор; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Sergey L. Tikhonov – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Professor; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

Тихонова Наталья Валерьевна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, профессор; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Natalya V. Tikhonova – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Professor; e-mail: tihonov75@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

Кольберг Наталья Александровна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, канд. ветеринар. наук, доцент; e-mail: kolberg_na@usue.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6548-5104>

Natalia A. Kolberg – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Cand. Sci. (Veterinary), Associate Professor; e-mail: kolberg_na@usue.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6548-5104>

Ожгихина Анна Сергеевна – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, аспирант; e-mail: annatebenkova92@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0832-4547>

Anna S. Ozhgikhina – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Ph.D. Student; e-mail: annatebenkova92@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0832-4547>

Шихалев Сергей Валерьевич – ул. 8 Марта, 62/45, г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия, 620144; Уральский государственный экономический университет, д-р техн. наук, доцент; e-mail: sershih@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9236-7154>

Sergey V. Shikhalev – 62/45 March 8 Str., Yekaterinburg, Sverdlovsk region, Russia, 620144; Ural State Economic University, Dr Sci. (Engineering), Associate Professor; e-mail: sershih@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9236-7154>