

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 615.32+577.13.3
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-3-206-212>

Поступила в редакцию 21.03.2023
Received 21.03.2023

М. А. Винтер, И. С. Казловский, А. И. Зинченко

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ХИТОЗАНА С 3',5'-ЦИКЛИЧЕСКИМ ДИАДЕНОЗИНМОНОФОСФАТОМ

Аннотация. С целью решения проблемы доставки фармакологически перспективного 3',5'-циклического диаденозинмонофосфата (цикло-диАМФ) к клеткам-мишеням в организме человека и животных впервые методом ионотропного гелеобразования синтезированы комплексы указанного динуклеотида с природным полимером – хитозаном. Установлено, что степень связывания цикло-диАМФ с этим биополимерным носителем достигает 60 %, при этом емкость полученных комплексов в отношении динуклеотида составляет 800–860 мкг/мг комплекса. Показано также, что цикло-диАМФ способен элюироваться из комплекса с хитозаном в цитрат-фосфатный буфер (рН 7,4) на 36 % за 21 ч. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования комплекса цикло-диАМФ с хитозаном для пролонгированной доставки изученного циклического динуклеотида в клетки-мишени.

Ключевые слова: хитозан, 3',5'-циклический диаденозинмонофосфат, ионное гелеобразование, индуктор интерферона, иммобилизация

Для цитирования: Винтер, М. А. Получение комплексов хитозана с 3',5'-циклическим диаденозинмонофосфатом / М. А. Винтер, И. С. Казловский, А. И. Зинченко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2023. – Т. 68, № 3. – С. 206–212. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-3-206-212>

Margarita A. Vinter, Illia S. Kazlouski, Anatoly I. Zinchenko

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

PRODUCTION OF CHITOSAN COMPLEXES WITH 3',5'-CYCLIC DIADENOSINE MONOPHOSPHATE

Abstract. To solve the problem of delivering pharmacologically promising 3',5'-cyclic diadenosine monophosphate (cyclo-diAMP) to target cells in humans and animals, the complexes of the above-mentioned dinucleotide with natural polymer – chitosan were originally synthesized by ionotropic gelation technique. It was found that the binding degree of cyclo-diAMP to this biopolymeric carrier reaches 60 %; wherein the capacity of the obtained complexes with respect to the dinucleotide is 800–860 µg/mg of the produced complex. Cyclo-diAMP has also been shown to elute from the chitosan complex to the citrate-phosphate buffer (pH 7.4) up to 36 % by 21 hours. The obtained results testify in favor of potential application of cyclo-diAMP complex with chitosan for prolonged delivery of the studied cyclic dinucleotide to target cells.

Keywords: chitosan, 3',5'-cyclic diadenosine monophosphate, ion gelation, interferon inducer, immobilization

For citation: Vinter M. A., Kazlouski I. S., Zinchenko A. I. Production of chitosan complexes with 3',5'-cyclic diadenosine monophosphate. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2023, vol. 68, no. 3, pp. 206–212 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2023-68-3-206-212>

Введение. Продолжающаяся пандемия COVID-19, вызванная респираторным вирусом SARS-CoV-2, и существующая вероятность появления новых пандемических вирусов диктуют необходимость поиска новых противовирусных средств [1].

Ранее в качестве универсального противовирусного средства нами предложено [2] использовать недавно открытый у бактерий и архей [3, 4] фармакологически перспективный 3',5'-циклический диаденозинмонофосфат (цикло-диАМФ), который в природе выполняет роль индуктора видоспецифичного эндогенного интерферона [5, 6], защищающего организм позвоночных от разнообразных инфекционных патогенов. Однако молекула этого отрицательно заряженного природного динуклеотида неустойчива в русле крови и с трудом проникает в иммунциты [7]. Это обстоятельство вынуждает искать способы повышения эффективности доставки цикло-диАМФ в патологические ткани и иммунные клетки-мишени.

В этой связи наше внимание привлеч сравнительно безопасный природный полимер хитозан – продукт частичного деацетилирования хитина (рис. 1), выделяемого из панциря ракообразных, моллюсков, насекомых и грибов [8, 9].

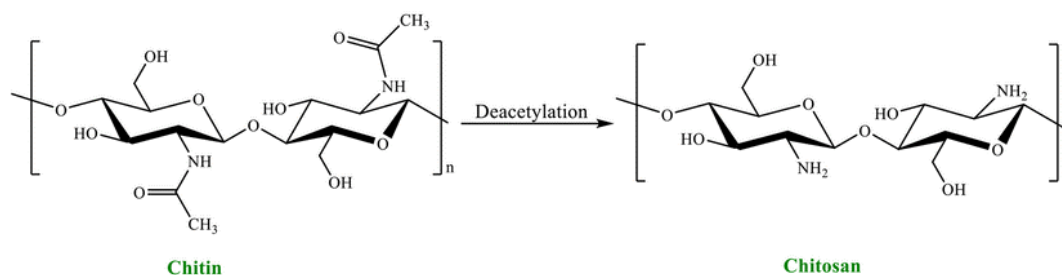


Рис. 1. Трансформация хитина в хитозан [8]

Fig. 1. Transformation of chitin into chitosan [8]

Катионные характеристики хитозана делают синтезированные из него наночастицы популярным средством при разработке новых систем доставки в клетки-мишени отрицательно заряженных лекарственных субстанций [10].

Кроме того, наночастицы хитозана включают особенности и преимущества как хитозана, так и наночастиц [11], которые сами по себе могут избирательно накапливаться внутри лимфатических узлов и стимулировать презентацию антигена и врожденный иммунный ответ без участия адьювантов [12].

На сегодняшний день разработаны многочисленные приемы получения хитозановых наночастиц [13], но наиболее распространенными методами являются ионотропное гелеобразование и полиэлектролитное комплексообразование [14].

В настоящей работе с целью синтеза комплексов хитозана, включающих цикло-диАМФ, нами использован метод ионотропного гелеобразования, поскольку он прост и не требует применения токсических сшивающих агентов и органических растворителей.

Материалы и методы исследования. Для синтеза комплексов хитозана с цикло-диАМФ хитозан фирмы Acros Organics (Бельгия) с молекулярной массой 100–300 кДа и степенью деацетилирования 75 % растворяли в 1 %-ной уксусной кислоте до концентрации 1 мг/мл. К этому раствору приливали по каплям при постоянном перемешивании и комнатной температуре 0,1 %-ный водный раствор цикло-диАМФ, синтезированного по методике, описанной нами в работе [15]. Полученную суспензию центрифугировали (10 000 g, 10 мин) и образовавшийся осадок дважды отмывали дистиллированной водой с последующим высушиванием при 60 °С в течение 24 ч.

Эффективность включения цикло-диАМФ в состав получаемых комплексов с хитозаном оценивали путем спектрофотометрического ($\lambda = 259$ нм) определения его концентрации в супернатанте после осаждения частиц комплекса.

Указанный параметр рассчитывали согласно следующей формуле:

$$A = \frac{m1}{m2} \cdot 100,$$

где A – эффективность включения, %; $m1$ – масса цикло-диАМФ, включившегося в состав частиц; $m2$ – масса цикло-диАМФ, взятого для проведения реакции комплексообразования.

Емкость комплексов с хитозаном в отношении цикло-диАМФ определяли по формуле

$$E = \frac{m1}{m3} \cdot 100,$$

где E – емкость препарата комплекса, %; $m1$ – масса цикло-диАМФ, включившегося в состав комплекса; $m3$ – масса высушенного комплекса.

Для элюции цикло-диАМФ из его комплексов с хитозаном навеску комплекса ресуспендировали в дистиллированной воде или в цитрат-фосфатном буфере. Суспензию инкубировали при комнатной температуре, отбирая аликвоты через определенные промежутки времени. Степень элюции оценивали путем спектрофотометрического ($\lambda = 259$ нм) определения его концентрации в супернатанте после осаждения частиц комплекса.

Для анализа антибактериальной активности комплексов хитозана с цикло-диАМФ применяли методику, описанную в работе [16]. Тестовая культура *Escherichia coli* БИМ В-1033 была предоставлена Белорусской коллекцией непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

Приведенные в работе экспериментальные данные представляют собой доверительный интервал среднего арифметического для 95 %-ного уровня вероятности.

Результаты и их обсуждение. Комплексы хитозана с цикло-диАМФ получали методом ионной сшивки между положительно заряженными молекулами биополимера (рК 6,5–6,7) [17] и отрицательно заряженными молекулами динуклеотида. Как известно, в этих условиях хитозан подвергается ионному гелеобразованию с формированием суспензии сферических частиц субмикронного размера [18]. Раствор цикло-диАМФ в дистиллированной воде приливали по каплям при перемешивании к раствору хитозана. При этом наблюдали помутнение раствора и появление в нем опалесценции, что может указывать на образование в растворе наночастиц [19].

После центрифугирования реакционной смеси и спектрофотометрического определения количества несвязавшегося динуклеотида рассчитывали степень связывания его с хитозаном. Полученные результаты приведены на рис. 2, из которого следует, что в наших экспериментальных условиях порядка 60 % введенного в реакцию динуклеотида способно связываться с хитозаном.

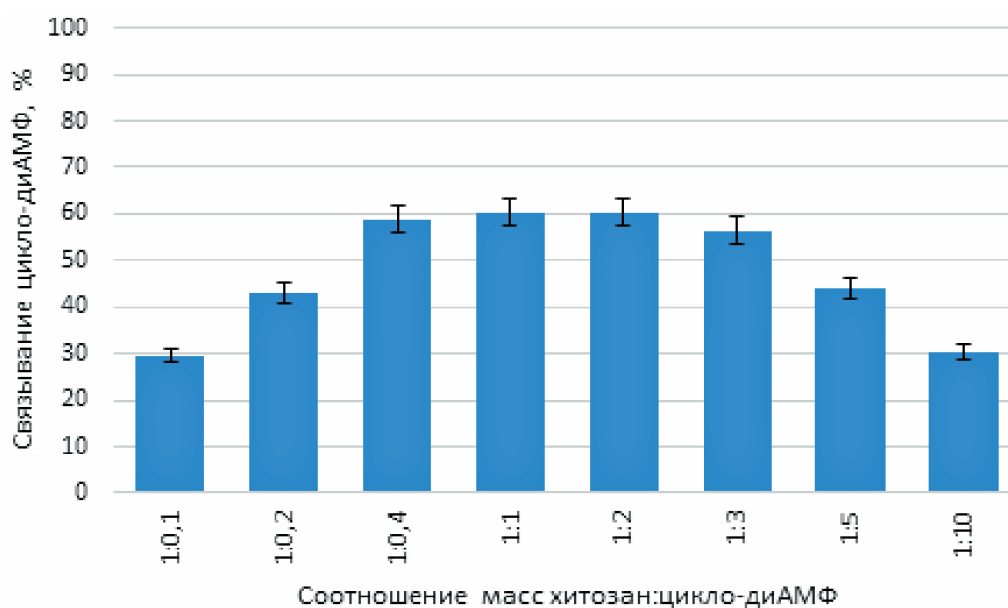


Рис. 2. Связывание цикло-диАМФ с хитозаном

Fig. 2. Binding of cyclo-diAMP to chitosan

В наших экспериментах емкость полученных комплексов в отношении цикло-диАМФ достигала 800–860 мкг динуклеотида/мг комплекса (при соотношении масс хитозана и цикло-диАМФ 1 : 10).

Таким образом, авторами данной работы, по-видимому, впервые было экспериментально продемонстрировано связывание цикло-диАМФ с хитозаном с образованием комплексов.

Следует отметить, что полученные нами комплексы цикло-диАМФ с хитозаном обладают антибактериальной активностью, что неоднократно отмечалось ранее другими авторами для хитозановых наночастиц [19].

Для изучения возможности использования комплексов хитозан/цикло-диАМФ в качестве системы для доставки этого соединения в клетки-мишени нами проведен эксперимент по высвобождению динуклеотида из полученных частиц в разных условиях. На рис. 3 приведены кривые, отражающие зависимость степени высвобождения цикло-диАМФ из комплекса с хитозаном от времени инкубации в дистиллированной воде и цитрат-фосфатном буфере при различных значениях рН (7,4 и 4,5). Такие значения рН были выбраны в связи с тем, что рН крови имеет значение около 7,4 [20], а рН внутри лизосом находится в диапазоне значений от 4 до 5 [21]. В качестве буферного компонента был выбран цитрат-фосфатный буфер, который обеспечивает показатель рН раствора в области исследуемых значений.

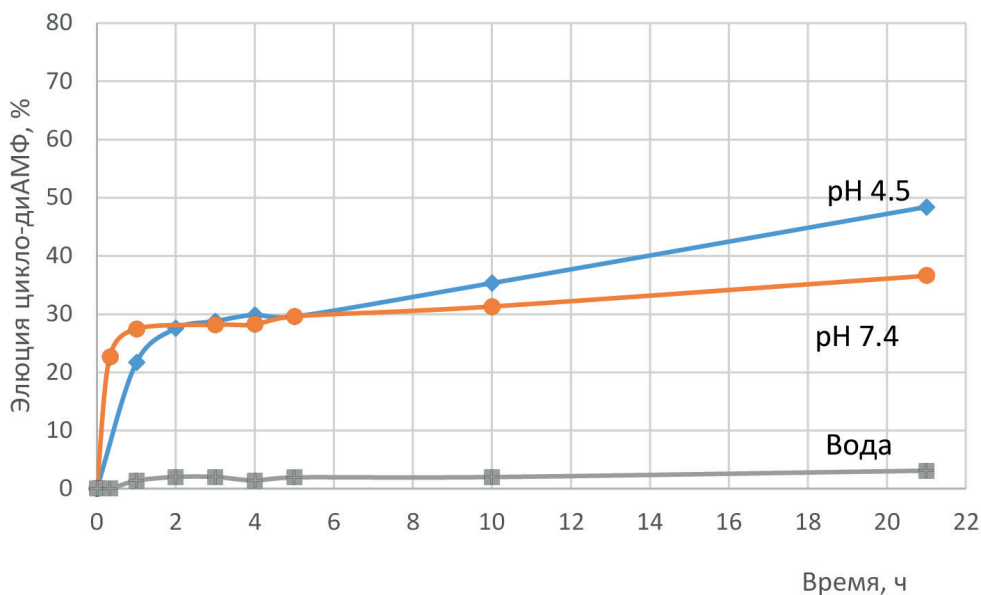


Рис. 3. Элюция цикло-диАМФ из комплексов с хитозаном

Fig. 3. Elution of cyclo-diAMP from chitosan complexes

Как видно из рис. 3, в воду цикло-диАМФ из комплекса практически не элюируется, но в то же время в цитрат-фосфатный буфер (рН 7,4) элюция почти за сутки достигает 38 %. В условиях ацидоза (при рН 4,5) высвобождение цикло-диАМФ из комплексов достигает 49 % за 21 ч.

Отмеченный факт высвобождения цикло-диАМФ из его комплексов с хитозаном свидетельствует о возможности использования полученных комплексов в качестве системы пролонгированной доставки изученного динуклеотида в клетки-мишени.

Заключение. Ранее нами предложено в качестве универсального противовирусного средства использовать индуктор эндогенного интерферона цикло-диАМФ. Преимущество этого индуктора перед многочисленными известными соединениями, стимулирующими синтез интерферона, заключается в том, что цикло-диАМФ – это элемент эволюционно сформированного природного механизма универсальной защиты организма позвоночных от многочисленных вирусных патогенов.

К сожалению, молекула этого динуклеотида несет два отрицательных заряда, что должно затруднять его проникновение в вирус-инфицированные и злокачественные клетки, поверхность которых также заряжена отрицательно [22, 23]. В научной литературе указанную проблему решают посредством иммобилизации таких соединений на положительно заряженных носителях [24], в том числе хитозановой природы [25].

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования комплекса цикло-диАМФ с хитозаном для пролонгированной доставки изученного динуклеотида в клетки-мишени.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Origin and evolution of SARS-CoV-2 / I. Pagani [et al.] // *Eur. Phys. J. Plus.* – 2023. – Vol. 38, N 2. – Art. 157. <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-023-03719-6>
2. Зинченко, А. Интерфероны и их индукторы как элементы борьбы с COVID-19 / А. Зинченко, М. Винтер, И. Казловский // *Наука и инновации.* – 2023. – № 2. – С. 24–29.
3. Structural biochemistry of a bacterial checkpoint protein reveals diadenylate cyclase activity regulated by DNA recombination intermediates / G. Witte [et al.] // *Mol. Cell.* – 2008. – Vol. 30. – P. 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.02.020>
4. A decade of research on the second messenger c-di-AMP / W. Yin [et al.] // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2020. – Vol. 44, N 6. – P. 701–724. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa019>
5. STING-dependent cytosolic DNA sensing promotes radiation-induced type I interferon-dependent antitumor immunity in immunogenic tumors / L. Deng [et al.] // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41, N 5. – P. 843–852. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.019>
6. Intratumoral administration of cGAMP transiently accumulates potent macrophages for anti-tumor immunity at a mouse tumor site / T. Ohkur [et al.] // *Cancer Immunol. Immunother.* – 2017. – Vol. 66, N 6. – P. 705–716. <https://doi.org/10.1007/s00262-017-1975-1>
7. Nanoparticle delivery improves the pharmacokinetic properties of cyclic dinucleotide STING agonists to open a therapeutic window for intravenous administration / M. Wehbe [et al.] // *J. Controll. Rel.* – 2021. – Vol. 330. – P. 1118–1129. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.11.017>
8. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives / M. N. V. R. Kumar [et al.] // *Chem. Rev.* – 2004. – Vol. 104, N 12. – P. 6017–6084. <https://doi.org/10.1021/cr030441b>
9. Kean, T. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan / T. Kean, M. Thanou // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2010. – Vol. 62, N 1. – P. 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.09.004>
10. Chitosan nanoparticles: a versatile platform for biomedical applications / S. M. Bashir [et al.] // *Materials.* – 2022. – Vol. 15, N 19. – Art. 6521. <https://doi.org/10.3390/ma15196521>
11. Divya, K. Chitosan nanoparticles preparation and applications / K. Divya, M. Jisha // *Environ. Chem. Lett.* – 2018. – Vol. 16. – P. 101–112. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0670-y>
12. A STING-activating nanovaccine for cancer immunotherapy / M. Luo [et al.] // *Nat. Nanotechnol.* – 2017. – Vol. 12, N 7. – P. 648–654. <https://doi.org/10.1038/nnano.2017.52>
13. Grenha, A. Chitosan nanoparticles: A survey of preparation methods / A. Grenha // *J. Drug Target.* – 2012. – Vol. 20. – P. 291–300. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2011.654121>
14. Tiyaboonchai, W. Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery / W. Tiyaboonchai // *Naresuan Univ. J. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 11. – P. 51–66.
15. Vinter, M. A. Construction of bacterial strain forming inclusion bodies, exhibiting diadenylate cyclase activity / M. A. Vinter, I. S. Kazlouski, A. I. Zinchenko // *Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси.* – Минск, 2022. – Т. 33. – С. 76–81.
16. Potential antimicrobial applications of chitosan nanoparticles (ChNP) / N. A. S. Rozman [et al.] // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 29, N 7. – P. 1009–1013. <https://doi.org/10.4014/jmb.1904.04065>
17. Хитозан – природный полимер для формирования наночастиц / А. В. Ильина [и др.] // *Докл. Акад. наук.* – 2008. – Т. 421, № 2. – С. 199–201.
18. Agnihotri, S. A. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery / S. A. Agnihotri, N. N. Mallikarjuna, T. M. Aminabhavi // *J. Controll. Rel.* – 2004. – Vol. 100, N 1. – P. 5–28. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.08.010>
19. Оценка антибактериальной активности ципрофлоксацина в составе наночастиц хитозана / А. М. Жиров [и др.] // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 47–51.
20. *In vitro* sustained release of LMWH from MgAl-layered double hydroxide nanohybrids / Z. Gu [et al.] // *Chem. Mater.* – 2008. – Vol. 20, N 11. – P. 3715–3722. <https://doi.org/10.1021/cm703602t>
21. Inorganic delivery vector for intravenous injection / S. Y. Kwak [et al.] // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25, N 28. – P. 5995–6001. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.01.056>
22. Changes in electric charge and phospholipids composition in human colorectal cancer cells / I. Dobrzynska [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2005. – Vol. 276, N 1–2. – P. 113–119. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-3557-3>
23. Targeting negative surface charges of cancer cells by multifunctional nanoprobe / B. Chen [et al.] // *Theranostics.* – 2016. – Vol. 6, N 11. – P. 1887–1898. <https://doi.org/10.7150/thno.16358>
24. Recent advances in drug delivery systems for enhancing drug penetration into tumors / B. He [et al.] // *Drug Delivery.* – 2020. – Vol. 27, N 1. – P. 1474–1490. <https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1831106>
25. Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study of the sustained release *in vitro* and *in vivo* / L. Sun [et al.] // *Asian J. Pharm. Sci.* – 2017. – Vol. 12, N 5. – P. 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.04.002>

References

1. Pagani I., Ghezzi S., Alberti S., Poli G., Vicenzi E. Origin and evolution of SARS-CoV-2. *European Physical Journal Plus*, 2023, vol. 138, no. 2, art. 157. <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-023-03719-6>
2. Zinchenko A., Vinter M., Kazlouski I. Interferons and their inducers as elements in control of COVID-19. *Science and Innovation*, 2023, no. 2, pp. 24–29 (in Russian).
3. Witte G., Hartung S., Büttner K., Hopfner K. P. Structural biochemistry of a bacterial checkpoint protein reveals diadenylate cyclase activity regulated by DNA recombination intermediates. *Molecular Cell*, 2008, vol. 30, no. 2, pp. 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.02.020>
4. Yin W., Cai X., Ma H., Zhu L., Zhang Y., Chou S. H., He J. A decade of research on the second messenger c-di-AMP. *FEMS Microbiology Reviews*, 2020, vol. 44, no. 6, pp. 701–724. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa019>
5. Deng L., Liang H., Xu M., Yang X., Burnette B., Arina A., Weichselbaum R. R. STING-dependent cytosolic DNA sensing promotes radiation-induced type I interferon-dependent antitumor immunity in immunogenic tumors. *Immunity*, 2014, vol. 41, no. 5, pp. 843–852. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.019>
6. Ohkuri T., Kosaka A., Ishibashi K., Kumai T., Hirata Y., Ohara K., Kobayashi H. Intratumoral administration of cGAMP transiently accumulates potent macrophages for anti-tumor immunity at a mouse tumor site. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2017, vol. 66, no. 6, pp. 705–716. <https://doi.org/10.1007/s00262-017-1975-1>
7. Wehbe M., Wang-Bishop L., Becker K. W., Shae D., Baljon J. J., He X., Wilson J. T. Nanoparticle delivery improves the pharmacokinetic properties of cyclic dinucleotide STING agonists to open a therapeutic window for intravenous administration. *Journal of Controlled Release*, 2021, vol. 330, pp. 1118–1129. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.11.017>
8. Kumar M. R., Muzzarelli R., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*, 2004, vol. 104, no. 12, pp. 6017–6084. <https://doi.org/10.1021/cr030441b>
9. Kean T., Thanou M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, vol. 62, no. 1, pp. 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.09.004>
10. Bashir S. M., Ahmed Rather G., Patrício A., Haq Z., Sheikh A. A., Shah M. Z. U. H., Fonte P. Chitosan nanoparticles: a versatile platform for biomedical applications. *Materials*, 2022, vol. 15, no. 19, art. 6521. <https://doi.org/10.3390/ma15196521>
11. Divya K., Jisha M. S. Chitosan nanoparticles preparation and applications. *Environmental Chemistry Letters*, 2018, vol. 16, pp. 101–112. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0670-y>
12. Luo M., Wang H., Wang Z., Cai H., Lu Z., L. Y., Gao J. A STING-activating nanovaccine for cancer immunotherapy. *Nature Nanotechnology*, 2017, vol. 12, no. 7, pp. 648–654. <https://doi.org/10.1038/nnano.2017.52>
13. Grenha A. Chitosan nanoparticles: A survey of preparation methods. *Journal of Drug Targeting*, 2012, vol. 20, no. 4, pp. 291–300. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2011.654121>
14. Tiyaboonchai W. Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery. *Naresuan University Journal: Science and Technology*, 2013, vol. 11, no. 3, pp. 51–66.
15. Vinter M. A., Kazlouski I. S., Zinchenko A. I. Construction of bacterial strain forming inclusion bodies, exhibiting diadenylate cyclase activity. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika: sbornik nauchnykh trudov. Tom 33* [Molecular and applied genetics: a collection of scientific papers. Vol. 33]. Minsk, 2022, vol. 33, pp. 76–81.
16. Rozman N. A. S., Tong W. Y., Leong C. R., Tan W. N., Hasanolbasori M. A., Abdullah S. Z. Potential antimicrobial applications of chitosan nanoparticles (ChNP). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol. 29, no. 7, pp. 1009–1013. <https://doi.org/10.4014/jmb.1904.04065>
17. Il'ina A. V., Varlamov V. P., Ermakov Yu. A., Orlov V. N., Skryabin K. G. Chitosan – a natural polymer for constructing nanoparticles. *Doklady Akademii nauk* [Reports of the Academy of Sciences], 2008, vol. 421, no. 2, pp. 199–201 (in Russian).
18. Agnihotri S. A., Mallikarjuna N. N., Aminabhavi T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 2004, vol. 100, no. 1, pp. 5–28. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.08.010>
19. Zhironov A. M., Kovalev D. A., Aksenova L. Yu., Ryazanova A. G., Golovinskaya T. M., Kurcheva S. A. Evaluation of the antibacterial activity of ciprofloxacin in the composition of chitosan nanoparticles. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical news of North Caucasus], 2022, vol. 17, no. 1, pp. 47–51. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17013> (in Russian).
20. Gu Z., Thomas A. C., Xu Z. P., Campbell J. H., Lu G. Q. *In vitro* sustained release of LMWH from MgAl-layered double hydroxide nanohybrids. *Chemistry of Materials*, 2008, vol. 20, no. 11, pp. 3715–3722. <https://doi.org/10.1021/cm703602t>
21. Kwak S. Y., Kriven W. M., Wallig M. A., Choy J. H. Inorganic delivery vector for intravenous injection. *Biomaterials*, 2004, vol. 25, no. 28, pp. 5995–6001. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.01.056>
22. Dobrzynska I., Szachowicz-Petelska B., Sulkowski S., Figaszewski Z. Changes in electric charge and phospholipids composition in human colorectal cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2005, vol. 276, no. 1–2, pp. 113–119. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-3557-3>
23. Chen B., Le W., Wang Y., Li Z., Wang D., Ren L., Cui Z. Targeting negative surface charges of cancer cells by multi-functional nanoprobe. *Theranostics*, 2016, vol. 6, no. 11, pp. 1887–1898. <https://doi.org/10.7150/thno.16358>
24. He B., Sui X., Yu B., Wang S., Shen Y., Cong H. Recent advances in drug delivery systems for enhancing drug penetration into tumors. *Drug Delivery*, 2020, vol. 27, no. 1, pp. 1474–1490. <https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1831106>
25. Sun L., Chen Y., Zhou Y., Guo D., Fan Y., Guo F., Chen W. Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study of the sustained release *in vitro* and *in vivo*. *Asian journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, vol. 12, no. 5, pp. 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.04.002>

Информация об авторах

Винтер Маргарита Андреевна – аспирант. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rita.vinter.abc@gmail.com

Казловский Илья Сергеевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kazlouski.illia@gmail.com

Зинченко Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-2401-2586>. E-mail: zinch@mbio.bas-net.by

Information about the authors

Margarita A. Vinter – Postgraduate student. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rita.vinter.abc@gmail.com

Illia S. Kazlouski – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kazlouski.illia@gmail.com

Anatoly I. Zinchenko – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-2401-2586>. E-mail: zinch@mbio.bas-net.by