

Циано-фикоцианин: механизмы действия на коже человека и его перспективы в медицине

Авторы

Daiva Dranseikienė , Gabrielė Balčiūnaitė-Murzienė , Jūratė Karosienė , Dmitrij Morudov, Nomeda Juodžiukynienė , Nataliia Hudz , Rima Jūratė Gerbutavičienė , Nijolė Savickienė

Абстракт

Цианофикоцианин является одним из активных пигментов сине-зеленых водорослей. Его обычно получают из нитчатой цианобактерии *Arthrospira platensis* (спирулины). Благодаря множеству своих физиологических функций, а также отсутствию токсичности, цианофикоцианин может быть использован для местного лечения различных кожных заболеваний. В последнее время медицина все чаще сталкивается с такими проблемами, как резистентность, недостаточная эффективность и побочные действия применяемой терапии. Лекарственные средства, полученные из растительных компонентов, могут послужить альтернативой уже существующим препаратам. В данной научной работе будут рассмотрены ранозаживляющие, противомикробные, антиоксидантные, противовоспалительные, антимеланогенные и противораковые свойства цианофикоцианина, а также патогенетические механизмы его действия на коже человека. Кроме того, в конце статьи мы приводим возможные способы применения и биотехнологические особенности создания фармакологических форм лекарственных средств на основе цианофикоцианина для местного лечения различных заболеваний кожи.

Введение

В последнее десятилетие все больше и больше внимания ученых привлекают микроводоросли и цианобактерии. Последние, также известные как сине-зеленые водоросли, представляют собой наиболее примитивные на Земле фотосинтезирующие организмы. Несмотря на свое простое строение, цианобактерии способны накапливать множество активных компонентов, которые обладают широким спектром биологических и фармакологических свойств. Такими веществами и являются фикоцианины. Это светопоглощающие биологически активные билипротеины, присутствующие во всех цианобактериях.

В зависимости от спектральных характеристик фикоцианины делятся на 3 типа: циано-фикоцианин (C-PC), который получают только из сине-зеленых водорослей, и R-фикоцианин (R-PC), выделенный только из красных водорослей, и аллофикоцианин, который присутствует в обоих типах вышеперечисленных водорослей. Wang L. и др (2014) также выделили из морских цианобактерий *Synechococcus* R-фикоцианин II (R-PCII).

Фикоцианины представляют собой олигомерные протеины. Они состоят из мономеров, которые в свою очередь образованы α - и β -субъединицами. Молекулярная масса последних – примерно 18 и 20 кДа, соответственно. В C-PC каждый мономер несет 3 хромофора фикоцианабилина. α -субъединица содержит 1 фикоцианобилин, а β – 2. В R-PC α -субъединица несет 1 фикоцианобилин, а β – 1 фикоцианобилин и 1 фикоэритрин. Это отражается на количестве пиков поглощения света. Цианофикоцианин имеет только 1 пик при длинах волн примерно 610-620 нм, за счет фикоцианобилина, а R-фикоцианин – помимо этого еще и второй пик при длинах волн 550 нм, благодаря фикоэритрину. Аллофикоцианин имеет максимум поглощения света на длине волны 650 нм. R-PC, полученный из красной морской водоросли *Polysiphonia urceolata* (*Lightfoot ex Dillwyn*) *Greville* состоит из одной α -субъединицы и двух β -субъединиц. Их молекулярная масса – 17,5 кДа, 21,3 кДа и 22,6 кДа, соответственно. Фикоцианобилин α -субъединицы дает ярко выраженную полосу поглощения света при длине волны примерно 597 нм, а фикоэритробилин

двух β -субъединиц – при длине волны примерно 553 нм. Кроме того, образуется еще линия поглощения света при длине волны около 600 нм за счет фикоцианобилина, находящегося в β -субъединицах.

C-PC – гидрофильный сине-зеленый билипротеин. Он крайне стабилен при pH 5-8. Его изоэлектрическая точка варьирует от 4,1 до 6,4. Выделение C-PC должно происходить при температуре не выше 4 ± 1 °C, так как он очень чувствителен к нагреванию.

Нитчатая цианобактерия *Arthrospira platensis* Gomont является основным источником коммерческого C-PC. В общем, микроводоросли достаточно неприхотливы и могут расти в самых разнообразных условиях среды. Kuddus M. и другие выделили 4 разных способа получения C-PC: фотоавтотрофный, миксотрофный, гетеротрофный и рекомбинантный. Они отмечали экономическую выгодность выращивания в контролируемых условиях и недорогой последующей обработки. Количества получаемых таким способом микроводорослей вполне достаточно, чтобы удовлетворить существующий спрос на C-PC. Такой многоступенчатый процесс необходим для извлечения циано-фикоцианина и последующей его очистки. В начале клетку разрушают с помощью различных физических (звук, кавитация, осмос, многократное очередное воздействие низкой и высокой температурой) и химических (кислоты, щелочи, детергенты, ферменты) методов или их комбинаций. После этого C-PC выделяют из супернатанта центрифугированием. Следующий этап – очистка. Ее проводят экстракцией сульфатом аммония. Затем наступает черед разделения. Это выполняется либо методом колоночной хроматографии с использованием адсорбентов и анионообменников, либо методом гель-фильтрационной хроматографии. После этого пигмент высушивают. Больше всего для этого подходит способ лиофилизации. Чистоту C-PC обычно устанавливают путем деления оптической плотности C-PC при длине волны с максимумом поглощения 620 нм на оптическую плотность с длиной волны 280 нм. Последняя является оптической плотностью общего белка, в частности ароматических аминокислот. Таким образом, получается уравнение A_{620}/A_{280} . Чистота 0,7 считается пищевой, до 3,9 – реактивной, 4,0 и выше – аналитической.

C-PC интересен тем, что это вещество способно удалять активные радикалы, замедлять процессы воспаления и снижать действие окислительного стресса. Кроме того, было доказано, что C-PC обладает антимуtagenной, антимикробной и противоопухолевой активностью, а также ускоряет заживление ран.

Цель данной статьи заключается в обзоре недавних исследований, посвященных механизмам действия местного применения C-PC на коже человека. Физиологические свойства этого вещества при топическом нанесении приведены на рисунке 1. Кроме того, в данной статье обсуждаются возможные применения и биотехнологические требования к лекарственным формам C-PC для лечения различных кожных заболеваний.

2. Биологическая активность C-PC

2.1 Ранозаживляющее действие

Кожа человека служит барьером между внутренней средой организма и окружающим миром. Поэтому нарушение целостности кожных покровов негативно сказывается на здоровье в целом. Неблагоприятные условия окружающей среды, механические воздействия, а также дерматологические заболевания способствуют повреждениям кожи. Однако, и процессы репарации наступают немедленно. Первым делом в травмированном сосуде образуется тромб, а в окружающих тканях запускается воспаление. Этапы пролиферации и миграции клеток дермы и эпидермиса, а также синтез матрикса завершаются в течение 4 дней. Таким образом, на месте раны появляется новая ткань и тем самым восстанавливается нарушенный кожный барьер. Завершается репарация ремоделированием и созреванием клеток. Однако, некоторые

патологические состояния, например, хронические заболевания или бактериальные инфекции, способны замедлять процесс восстановления целостности кожных покровов. Об этом не стоит забывать при лечении ран.

Madhyastha H.R. и другие (2008) впервые обратили внимание на ранозаживляющий эффект С-РС. Они описали его влияние на процессы пролиферации и миграции фибробластов. Ученые обнаружили, что это вещество в концентрации 75 мкг/мл ускоряет рост клеток, стимулируя фазу G1 митоза и не влияя на G2 и S фазы. Кроме того, С-РС увеличивает экспрессию циклин-зависимых киназ (cdK1 и cdK2), которые играют важную роль в регуляции клеточного цикла, тем самым способствуя пролиферации.

Что касается миграции фибробластов, то С-РС влияет на активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), регулируя его экспрессию через цАМФ-опосредованный механизм, зависящий от работы протеинкиназы А (ПКА). uPA необходим для миграции фибробластов, и только при условии его наличия С-РС будет эффективен в ускорении этого процесса. В нем миграционные сигналы передаются Rho-семейством ГТФаз, включая Cdc 42 и Rac 1, через фосфоинозитид-3-киназный (PI-3K) путь. Сам фермент PI-3K играет ключевую роль в передаче сигнала, таким образом, обеспечивая выживаемость и миграцию клеток. Повышение концентрации С-РС до 100 мкг/мл не повлияло на жизнеспособность TIG 3-20 фибробластов. Также в этом исследовании было показано, что С-РС в концентрациях, необходимых для стимуляции пролиферации и миграции фибробластов, цитотоксичен для окружающих клеток. Ранозаживляющее действие этого вещества было также проверено и *in vivo* на мышах. Ученые не отметили значительной разницы в контрольной и исследуемой группе в начальной фазе лечения. Однако, у тех мышей, которые получали С-РС, к концу первой недели зажило 80% ран, в отличие от контрольной группы, где затянулось только 50%.

Gur C.S. и другие (2013) провели *in vitro* (на культуре кератиноцитов человека) и *in vivo* (на крысах) исследования, в которых подтвердили ранозаживляющее действие С-РС. Положительный эффект наблюдался при использовании как экстракта спирулины, так и изолированного из нее С-РС с чистотой 4,0 и выше. Наблюдался дозозависимый эффект. С-РС продемонстрировал наилучший результат при концентрации 33,5 мкг/мл. Кроме того, исследование на животных показало, что 1,25% раствор С-РС оказывал максимальное влияние на пролиферацию и миграцию к 7 дню.

Таким образом, учитывая полученные результаты, можно использовать данное вещество в медицинских целях для лечения наружных и внутренних ран, например, язв.

2.2 Противомикробное действие

Для успешного лечения ран и восстановления нормальной функции кожных покровов необходимо поддерживать стабильную микрофлору кожи. Ее образуют определенные виды бактерий, грибов, вирусов и членистоногих, которые занимают различные области нашего тела. Например, пропионобактерии в основном обитают в сальных железах. Коринебактерии и стафилококки преобладают во влажных микросредах. Грибы рода *Malassezia* встречаются на руках и теле, а грибы родов *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Epicoccum*, *Cryptococcus*, *Epicoccum* и другие колонизируют ступни ног. Кроме того, метаболиты нормальной микрофлоры обеспечивают кислую среду кожных покровов, а также защищают их от инвазии патогенов.

Из-за нарушения нормальной микрофлоры кожи и связанной с ней патологии иммунной системы могут развиваться различные дерматологические заболевания. Дисбаланс нормальных и патогенных микроорганизмов на коже может привести к появлению системных заболеваний. В таких случаях особенно важно подбирать подходящую антимикробную терапию. Как известно, злоупотребление синтетическими антибиотиками способно привести к развитию резистентности.

Именно поэтому в последнее время внимание ученых привлекают противомикробные средства натурального происхождения.

2.2.1. Антибактериальное действие

С-РС (16 мкг/мл), полученный из *Oscillatoria minima Gicklhorn*, продемонстрировал антибактериальное действие против *Pseudomonas fragi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella oxytoca*, и *Streptococcus pyogenes*. Данный эффект не наблюдался в отношении таких бактерий, как *Enterobacter aerogenes* и *Staphylococcus aureus*.

Osman A и другие (2015) провели *in vitro* исследование, в котором проверяли антибактериальное действие С-РС против Грамположительных и Грамотрицательных бактерий. Первые были представлены *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, а вторые – *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Противомикробный эффект С-РС сравнивался с двумя контрольными группами: отрицательной, обработанной стерильной дистиллированной водой, и положительной, на которую воздействовали бензилпенициллином, клиндамицином, офлоксацином и доксициклином. Антибактериальное действие С-РС против вышеупомянутых микроорганизмов зависело от концентрации. Причем активность против Грамположительных бактерий была немного выше, чем против Грамотрицательных. Концентрация полумаксимального ингибирования (IC50) С-РС, полученного из *Anabaena oryzae Fritsch*, против исследуемых микроорганизмов составила 30,56-31,25 мкг/мл, а С-РС, выделенного из *Spirulina platensis* – 33,32-40,96 мкг/мл. В то же время IC50 для бензилпенициллина была 35,93-221,2 мкг/мл. Таким образом, можно сделать вывод, что С-РС, полученный из анабены, имеет антибактериальное действие, сравнимое с пенициллином. По силе действия С-РС из спируллины слегка уступает С-РС из анабены. Ученые также отметили, что воздействие последнего приводит к сморщиванию клеточной стенки, фрагментации, адгезии и агрегации органоидов и мембран бактерий. Тем не менее С-РС не оказывает никакого влияния на синтез белка в бактериальной клетке.

Во многих исследованиях было описано, что у 90% пациентов с атопическим дерматитом обнаруживается колонизация кожи *Staphylococcus aureus*. Эти бактерии способствуют развитию заболевания несколькими путями. Во-первых, *S. aureus*, выделяя эндо- и энтеротоксины, нарушает эпидермальный барьер и активирует рецепторы протеаз. Это инициирует воспаление, стимулирует тучные клетки и нарушает работу кератиноцитов. Во-вторых, *S. aureus* стимулирует продукцию цитокинов 2 типа, таких как тимический стромальный лимфопоэтин, интерлейкин 4 (ИЛ-4) и -13 (ИЛ-13). Высокие концентрации этих цитокинов ингибируют синтезируемые кератиноцитами антимикробные пептиды, которые необходимы для борьбы с патогенами. Таким образом, антибактериальное действие С-РС против *S. aureus* может оказаться полезным в лечении атопического дерматита.

Nihal B и другие (2018) исследовали антимикробное действие С-РС, полученного из спирулины, против двух основных Грамположительных бактерий, патогенетически связанных с возникновением вульгарных акне: *Propionibacterium acne (P. acne)* и *Staphylococcus epidermidis (S. epidermidis)*. *P. acne* – это анаэробные вытянутые бактерии, которые часто встречаются в основании волосяных фолликулов. Они расщепляют кожное сало и питаются им. Увеличение количества этих бактерий может привести к развитию воспалительных процессов в коже. *P. acne* в больших количествах в среде с повышенным содержанием сала начинает продуцировать активные формы кислорода и провоспалительные цитокины. Запускаемые ими каскады реакций изменяют морфологическое и функциональное строение сальных желез, нарушая нормальный состав кожного сала. *S. epidermidis* является частью нормальной микрофлоры кожи и в меньшей степени слизистых. Эту бактерию можно обнаружить внутри пор, пораженных вульгарными акне. В ходе вышеупомянутого исследования были изготовлены и протестированы 2 мази с С-РС: одна – на водорастворимой, другая – на масляной основе. Минимальные ингибирующие концентрации

(МИК) для первой (PEG400, PEG4000, стеариловый спирт, глицерин, вода) были 1,5 мг/мл и 1,8 мг/мл с диаметром зоны ингибирования 26,1 мм и 24,6 мм против *P. acne* и *S. epidermidis*, соответственно. Эти же показатели для второй (твердый парафин, ланолин, кетостеариловый спирт, белый мягкий парафин, жидкий парафин) составили 1,6 мг/мл и 2,1 мг/мл, а также 23,4 мм и 21,3 мм, соответственно. Полученные результаты возможно объяснить тем, что С-РС лучше растворим в воде. Именно поэтому первый вариант оказался более эффективным по сравнению со вторым. Соответственно, применять С-РС лучше в составе водорастворимых мазей и кремов для лечения акне.

Таким образом, С-РС способствует появлению морфологических изменений в клеточной стенке и мембранах бактерий. Он более эффективен против Грамположительных видов. Кроме того, следует отметить, что степень очистки вещества влияет на выраженность антимикробного действия.

2.2.2 Противогрибковое действие

Muragan T. и другие (2011) сравнили противогрибковую активность разных концентраций и степеней очистки С-РС, выделенного из *Spirulina platensis*. Ученые использовали 3 вида растворов: неочищенный экстракт (степень очистки 1,17, концентрация 0,8 мг/мл), частично очищенный С-РС (степень очистки 2,68, концентрация 0,9 мг/мл) и очищенный с помощью микроколоночной флеш-хроматографии (степень очистки 3,74, концентрация 1,85 мг/мл). Сначала были протестированы 2 концентрации неочищенного экстракта С-РС 40 и 80 мкг/мл против 5 грибов: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* и *Rhizopus*. Ни одна из концентраций не смогла ингибировать рост указанных патогенов. Однако оставшиеся 2 раствора препятствовали росту грибов с минимальной концентрацией 45 мкг/мл. Таким образом, можно заключить, что степень очистки значительно влияет на противогрибковую активность.

2.3 Антиоксидантное действие

Одним из факторов, способных нарушить барьерную функцию кожи, является солнечный свет. Ультрафиолет (УФ) имеет как положительное действие на организм, так и отрицательное. Например, фототерапия применяется для лечения эндокринных заболеваний, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, воспалительных заболеваний кишечника, а также оказывает влияние на метаболизм и физиологические состояния организма. Кроме того, она может применяться для лечения многих кожных заболеваний. Однако, стоит отметить, что длительное воздействие УФ, особенно УФВ с длиной волны 280-320 нм, может способствовать развитию различных патологических процессов в коже. Например, эти лучи запускают продукцию активных форм кислорода, таких как свободные радикалы, кислородные анионы и перекиси. При нормальных физиологических условиях АФК образуются при клеточном дыхании. Тем временем, в коже имеются естественные антиоксидантные системы защиты, такие как витамины С и Е, глутатион, липоевая и мочева кислота, каротины коэнзим Q и другие ферменты. К ним относятся супероксиддисмутаза, каталаза, пероксиредоксины, сульфидредоксины, тиоредоксины и глутатионовые системы. Эти белки предотвращают окислительное повреждение и гибель клеток. Однако аномальное повышение уровня АФК, вызванное непрерывным воздействием УФ-излучения, повреждает систему антиоксидантной защиты организма, вызывает окислительный стресс и приводит к повреждению ДНК, липидов, белков и других клеточных компонентов. Это может влиять на различные процессы в коже, начиная от ускорения старения кожи и заканчивая индукцией развития и прогрессии раковых заболеваний кожи, например, меланомы.

Во множестве исследований описывается, что воздействия УФ-излучения является фактором риска развития как злокачественных меланом, так и немеланомных раков кожи. *In vitro* было установлено, что в клетках меланомы повышен уровень окислительного стресса. Хотя классические теории сходятся в том, что АФК способствуют развитию и прогрессированию рака,

роль этих молекул в данных процессах неоднозначна. Так, например, АФК могут как ускорять, так и замедлять рост опухолей. Существуют многочисленные данные о том, что окислительный стресс, вызванный диссеминированными клетками меланомы в системе кровообращения, потенциально препятствует метастазированию. Кроме того, эффект от применения антиоксидантов сильно зависит от их дозы, дозозависимого редокс-баланса и процессов его восстановления. Некоторые антиоксиданты способствуют канцерогенезу, а некоторые, наоборот препятствуют ему. Например, некоторые полифенолы, такие как розмариновая кислота, могут иметь как противораковые свойства, так и провоцировать его образование в зависимости от концентрации.

Антиоксидантную активность С-РС в основном измеряют с помощью анализа удаления радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) и диаммониевой соли 2,2'-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS). Анализ удаления радикалов DPPH основан на его изменении цвета с темно-фиолетового до желтого в присутствии донора водорода. ABTS же обесцвечивается с получением ABTS+. Происходит это путем окисления персульфатом калия и снижения количества антиоксидантов, отдающих водород. Venugopal VC и соавторы (2020) оценили антиоксидантную активность С-РС, выделенного из *Oscillatoria minima* и сравнили его с антиоксидантными свойствами бутилированного гидроксанизола (ВНА). С-РС в концентрации 1 мг/мл проявил 44% активность по удалению радикалов DPPH, а ВНА – 90%. Однако, та же концентрация очищенного С-РС проявила 95% активность по удалению радикалов ABTS+, в то время как активность ВНА составила примерно 70%. Таким образом, можно предположить, что очищенный С-РС уменьшает образование свободных радикалов и защищает от окислительных повреждений, вызванных АФК. В другом исследовании, проведенном Gantar M и соавторами (2012) ученые оценивали антиоксидантную активность С-РС, полученного из *Limnothrix* штамм 37-2-1, с помощью метода DPPH. Сухая биомасса этого штамма содержит 18% С-РС, в то время как, по литературным данным, в сухой биомассе спирулины содержится лишь 10-15% С-РС. Исследователи использовали простой метод получения С-РС без применения ионообменной хроматографии. Процедура включала осаждение пигмента из клеточного лизата соответствующей концентрацией сульфата аммония, очистку активированным углем и хитозаном и концентрирование образца с помощью тангенциальной проточной фильтрации. С помощью данного метода удалось получить С-РС со степенью очистки 4,3. Такое вещество в концентрации 0,15 мг/мл имело 100% антиоксидантную активность. Таким образом, степень очистки коррелирует с антиоксидантными свойствами С-РС.

В 2021 году было проведено еще одно исследование Jang Y.A. и соавторами. Они проверили, может ли С-РС ингибировать АФК, образованные под действием УФВ. Исследование проводилось на культуре кератиноцитов кожи человека (культура клеток HaCat). Активность АФК уменьшилась на 51,2 и 55,1% под действием растворов С-РС с концентрацией 40 и 80 мг/мл, соответственно. Кроме того, в этом же исследовании обнаружилось, что С-РС в различных концентрациях (20,40 и 80 мг/мл) способен значительно понижать уровень матричных металлопротеиназ-1 и -2. Их количество увеличивается под действием УФВ-лучей, что ассоциировано с разрушением коллагена и фотостарением кожи. В добавлении к этому, С-РС повышает продукцию таких белков, как лорикрин, филлагрин и инволюкрин, которые ответственны за выполнение барьерной функции кожи и ее увлажнение. Таким образом, эти исследования могут быть использованы для разработки кремов для лечения повреждений кожи, вызванных солнечным светом.

В исследованиях, проведенных *in vitro* на культурах дермальных фибробластов и эпидермальных кератиноцитах человека, было продемонстрировано, что под действием С-РС (1,0-20,0 мкг/мл) увеличивается экспрессия гемоксигеназы-1 (НО-1). Этот фермент играет важную роль в процессах воспаления и обеспечивает защиту от АФК. Количество НО-1 увеличивается за счет активации транскрипционных факторов NF-E2 и Nrf-2, а также за счет фосфорилирования протеинкиназы С

α/β II. В дополнении к этому, под воздействием С-РС в клетках увеличивалось количество антиапоптотического фактора Bcl-2 и уменьшалось количество проапоптотических факторов, таких как p53, Вах и каспазы-3. К тому же, значительно снижался уровень фрагментации ДНК из-за воздействия УФВ.

Согласно результатам вышеупомянутых исследований, С-РС может быть использован в качестве потенциального антиоксиданта для замедления фотостарения кожи, формирования морщин и даже препятствования развития рака.

2.4. Противовоспалительное действие

Окислительный стресс в основном связан с экспрессией циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), воспалением и перекисным окислением липидов мембраны клетки. ЦОГ-2 катализирует превращение арахидоновой кислоты в простагландины и другие эйкозаноиды. Избыточная экспрессия ЦОГ-2 приводит к повышению продукции простагландина E2 (ПГЕ2). Он стимулирует пролиферацию клеток и способствует иммуносупрессии. Кроме того, ПГЕ2 ингибирует апоптоз, увеличивая экспрессию Bcl-2. Арахидоновая кислота же действует на апоптотические процессы противоположным образом. Высокие уровни ПГЕ2 отмечаются при некоторых злокачественных образованиях, таких как рак мочевого пузыря, поджелудочной железы, толстой кишки, шейки матки, груди, простаты, легких и кожи. В исследованиях было продемонстрировано, что С-РС ингибировал ЦОГ-2 в культуре клеток гистиоцитарной опухолевой линии крысы АК-5. Кроме того, в этом же исследовании были обнаружены способности С-РС генерировать АФК в опухолевых клетках, активировать каспазу-3 и подавлять экспрессию антиапоптотического фактора Bcl-2. Эта активность С-РС способствует гибели опухолевых клеток. Хочется подчеркнуть, что С-РС продолжал активно работать и спустя 24 часа. Существуют доказательства, что избыточное количество ЦОГ-2 провоцирует мутагенез опухолевого белка p53. Например, Enache A.O. и соавторы (2018) обнаружили положительную линейную корреляцию между количеством p53 и ЦОГ-2 в клетках базальноклеточной карциномы. В другом исследовании Karahan N. И его коллеги убедились в том, что в той же опухоли повышена экспрессия ЦОГ-2. Они также предположили, что ингибирование этого фермента может положительно влиять на лечение базальноклеточной карциномы, особенно на более агрессивные фенотипы с высокой экспрессией ЦОГ-2. Таким образом, использование нестероидных противовоспалительных средств и селективных ингибиторов ЦОГ-2, таких как целекоксиб и С-РС логически оправдано для лечения злокачественных образований.

В некоторых исследованиях также были получены результаты, показывающие, что С-РС обладает большей селективностью в ингибировании ЦОГ-2, чем целекоксиб или рофекоксиб. Под воздействием С-РС уменьшалось количество ПГЕ2, что стимулировало пролиферацию Т- и В-клеток и, соответственно, усиливало иммунный ответ. Кроме того, было доказано, что ЦОГ-2 играет важную роль в процессах регулирования роста клеток. В исследованиях было продемонстрировано, что ингибирование экспрессии этого фермента в большей степени влияло на торможение роста клеток, чем ингибирование его каталитической активности. Следовательно, эти данные свидетельствуют о том, что существует 2 разных сигнальных пути, по которым ЦОГ-2 регулирует процессы клеточного роста.

Gupta и коллеги (2012) выяснили, что топическое нанесение 50, 200 и 400 мкг С-РС снижало экспрессию ЦОГ-2 и ИЛ-6, что уменьшало количество 12-О-тетрадеcanoил-форбол-13-ацетата. Причем эффект напрямую зависел от дозы применяемого вещества. Это может оказаться полезным, так как ИЛ-6 в больших количествах увеличивает фосфорилирование белка преобразователя сигнала и активатора транскрипции-3 (STAT3). А регуляция экспрессии этого цитокина осуществляется с участием ЦОГ-2.

Таким образом, С-РС может применяться в качестве натурального противовоспалительного средства, который обладает большими селективными свойствами по отношению к ЦОГ-2 в сравнении с целекоксибом и рофекоксибом. Кроме того, это средство можно использовать и для терапии рака, так как оно помимо ЦОГ-2 ингибирует ИЛ-6 и Vcl-2.

2.5 Антимеланогенное действие

Пигментация кожи – важный защитный механизм от окислительного стресса и УФ-лучей. Однако, этот процесс тесно связан со старением. Гиперпигментация же помимо эстетических проблем может быть причиной серьезных заболеваний. Синтез меланина происходит в специальных органеллах меланоцитов, называемых меланосомами. Это многоступенчатый процесс из большого количества ферментативных и химических реакций, происходящих в меланосомах. В них содержатся белки, которые регулируют синтез пигментов. К ним относятся тирозиназа и связанные с тирозиназой белки 1 и 2. Повышение экспрессии генов этих ключевых ферментов усиливает меланогенез. Причиной этого может быть активация фактора, связанного с микрофальмией (MIFT). Выделяют три сигнальных пути регуляции меланогенеза, каждый из которых, в конечном счете, влияет на MIFT. К ним относятся пути, связанные с рецептором меланокортина-1 (MC1-R), Wnt/ β -катенином и рецептором тирозинкиназы/фактором стволовых клеток (SCF). Работа меланоцитов регулируется MC1-R. Связывание α -меланоцит-стимулирующего гормона (α -МСГ) с этим рецептором на мембране меланоцитов активирует аденилатциклазу, что увеличивает содержание цАМФ в клетке. Это активирует CREB-белок (он становится фосфорилированным), который увеличивает экспрессию MITF-гена, что и способствует меланогенезу. Таким образом, MC1-R играет очень важную роль в пигментации кожи. Помимо всего прочего, этот ген зависим от меланомы.

Во множестве исследований было продемонстрировано, что различные фармакологические вещества способны как ингибировать, так и стимулировать синтез меланина. Wu L. и соавторы (2011) изучали влияние С-РС на меланогенез. Им удалось установить, что это вещество ингибировало тирозинкиназу и, соответственно, синтез меланина, причем выраженность эффекта зависела от концентрации (0,05-0,1 мг/мл). В добавлении к этому С-РС (0,1 мг/мл) увеличивал почти в 2 раза содержание цАМФ в течение первых 10 минут. Исследователи сделали вывод, что С-РС ингибирует α -МСГ путь, который связан с накоплением цАМФ. В то же время снижение экспрессии гена тирозиназы свидетельствует о связи количества цАМФ и пути митоген-активированной протеинкиназы (МАРК)/внеклеточных сигнал-регулируемых киназ (ERK). Ученые исследовали поведение факторов, ассоциированных с этим путем (ERK1/ ERK2 и MEK), под воздействием С-РС. Им удалось обнаружить, что воздействие С-РС значительно увеличивало количество фосфорилированных ERK1/ ERK2 и MEK через 540 мин. Кроме того, по истечению этого времени значительно уменьшалась и экспрессия гена MIFT. Связано это с тем, что С-РС ингибирует фосфорилирование p38, в результате чего снижается уровень фосфорилированного CREB и, соответственно, становится невозможной транскрипция MIFT. Таким образом, Wu L. и соавторы (2011) доказали, что С-РС угнетает синтез меланина, способствуя деградации MIFT белка через стимуляцию МАРК/ ERK-пути и подавление активации CREB.

Эти данные свидетельствуют о том, что С-РС является ингибитором меланогенеза и, соответственно, способен уменьшать пигментацию кожи и замедлять ее фотостарение.

2.6 Противораковое действие

Злокачественные новообразования характеризуются неконтролируемым ростом и распространением аномальных клеток. Основными формами рака кожи являются базальноклеточная карцинома, плоскоклеточный рак и меланома. Последняя представляет собой

наиболее агрессивную форму рака кожи, с которой связано наибольшее число смертей из-за злокачественных новообразований кожи. В последнее время наблюдается рост заболеваемости меланомой, что связываю с большим воздействием прямых солнечных лучей.

C-PC оказывает противоопухолевое действие сразу несколькими способами:

- подавляет определенные фазы клеточного цикла
- модифицирует окислительно-восстановительное состояние клетки
- инициирует апоптоз и некроз

Апоптотический эффект фикоцианина был отмечен во многих *in vitro* и *in vivo* исследованиях. При воздействии C-PC наблюдалось сморщивание клеток, конденсация хроматина, увеличение процента клеток в фазе суб- G0/G1, потеря микроворсинок и вздутие мембраны. В исследованиях также подтвердилось, что апоптоз был индуцирован высвобождением цитохрома C из митохондрий мышинных макрофагов клеточной линии RAW 264.7. Воздействие 20 мкмоль C-PC привело к типичной конденсации ядер 16,6% клеток в фазе суб- G0/G1. В зависимости от концентрации прибавлялся эффект фрагментации ДНК. Кроме того, уменьшалось количество ПГЕ2, как следствие ингибирования ЦОГ-2. Антипролиферативное действие C-PC было подтверждено на клетках меланомы человека A375. В них также наблюдалась фрагментация ДНК, конденсация хроматина и увеличение количества клеток в фазе суб-G1. В своем исследовании Нао и соавторы (2018) отмечали значительное замедление роста меланомных клеток в культуре A375 после воздействия C-PC. Однако данный эффект не наблюдался на HaCat культуре.

Антинеопластическое действие C-PC на клетки меланомы обусловлено подавлением (GRB2)-ERK1/2 пути.

C-PC может способствовать экспрессии Fas, поверхностного клеточного рецептора. Он напрямую активирует смерть клетки путем апоптоза. Кроме того, C-PC увеличивает синтез белка ICAM-1, который подавляет экспрессию Vcl-2. Таким образом, это вещество активирует проапоптотические гены и ингибирует экспрессию антиапоптотических. Кроме того, в исследовании на культуре клеток HeLa было обнаружено, что после воздействия C-PC активировались каспазы 2,3,4,6,8,9 и 10, что позволяет предположить, что апоптоз клеток каспаза-зависимый. В другом исследовании на культуре опухолевых клеток АК-5 было доказано, что C-PC ингибирует Vcl-2. Этот эффект C-PC особенно важен, так как во многих раковых клетках апоптоз не происходит как раз из-за гиперэкспрессии Vcl-2. Таким образом, подавление синтеза этого белка может сделать опухоли более чувствительными к антинеопластическим лекарствам.

Недавно было проведено исследование *in vivo* на мышах, в котором проверяли способность C-PC ингибировать развитие опухолей в коже. Канцерогенез индуцировали 12-О-тетрадеканил-форбол-13-ацетатом (ТРА). Это вещество индуцировало полиамин-биосинтетический фермент орнитин декарбоксилазу. Повышенный уровень данного фермента может способствовать росту опухоли и прогрессии деления клеток. Орнитин декарбоксилаза активируется УФВ и гормонами. Отмечено, что в клетках базальноклеточной меланомы и плоскоклеточного рака уровень этого фермента значительно выше, чем в здоровых клетках кожи. Местное нанесение C-PC (50, 200 и 400 мкг) ингибировало ТРА-опосредованную экспрессию орнитин декарбоксилазы на уровне белков (на 17,38 и 50%, соответственно), а также на уровне мРНК.

Еще одним исследуемым белком была транскриптаза 2 (TG2). Этот кальций зависимый ядерный фермент катализирует перенос первичных аминов на субстраты белка. Он индуцирует апоптоз и дифференцировку клеток, а также препятствует процессам метастазирования. Воздействие теми же дозами C-PC увеличивало уровень TG2 на 35,52, 141,2 и 219%, а количество его мРНК на 16,05, 50,67 и 59,60%, соответственно. Хорошо известно, что гиперэкспрессия TG2

способствует спонтанному апоптозу клеток и делает их более чувствительными к апоптоз-индуцирующим факторам. Однако, существуют исследования, показывающие обратное. В них продемонстрировано, что избыточная экспрессия TG2, наоборот, способствует выживаемости клетки и предотвращает ее апоптоз. Это возможно благодаря тому, что этот фермент активирует NF- κ B в опухолях. Таким образом, данные о функции TG2 достаточно противоречивы. Некоторые авторы считают, что модель поведения фермента зависит от типа клетки, в которой он находится, а также от его локализации. Высокие концентрации Ca^{2+} (>1 мМ) индуцируют активацию TG2, что способствует меж- и внутримолекулярному сшиванию белков и гибели клетки. В то время как низкий уровень кальция (<1 мМ) при большом количестве (>9 мкМ) гуанозинтриосфата (то есть при обычных условиях внутри клетки), наоборот, предрасполагает к выживаемости клетки. Реакции образования изопептидных связей, катализируемые трансглутаминазами, имеют большое значение в организме человека. Молекулы, соединенные этим видом связей, часто встречаются в волосах или коже. Их число увеличивается в процессах заживления ран, апоптоза и формирования тромбов. Однако, нарушение регуляции функций трансглутаминазы может привести к таким патологическим процессам, как нейродегенерация, прогрессирующий фиброз тканей, некоторые аутоиммунные и инфекционные заболевания, а также процессы, связанные с нарушением целостности рогового слоя эпидермиса. Было доказано, что экспрессия TG2 отвечает за регулирование числа типов раковых клеток, особенно в тех опухолях, которые нечувствительны к противораковой терапии, а также в метастазах. Из вышесказанного можно заключить, что для лечения онкологических заболеваний особенно пригодились бы биологически активные вещества, способные влиять на поврежденные опухолевым процессом гены. В частности, были бы полезны такие препараты, которые препятствуют метастазированию и развитию резистентности к проводимой терапии. Chhabra A и соавторы также отмечали, что для увеличения эффективности противоопухолевых средств возможно использование ингибиторов TG2, таких как слабая интерферирующая РНК или низкомолекулярные ингибиторы.

Gupta N.K и коллеги подтвердили противораковое действие С-РС. Они исследовали влияние этого вещества на экспрессию фосфорилированного преобразователя сигнала и активатора транскрипции-3 (pSTAT3), количество которого увеличивается под действием ТРА. Ученым удалось обнаружить, что в присутствии С-РС рост числа pSTAT3 под воздействием ТРА не происходит, причем этот эффект доза-зависимый. Было доказано, что ИЛ-6 способствует активации pSTAT3 и, соответственно, росту опухолей.

В заключение хочется отметить, что С-РС потенциально может быть использован в качестве противоопухолевого средства. Это вещество обладает антиоксидантными свойствами, способностью ингибировать экспрессию ЦОГ-2, уменьшать уровень ПГЕ2 и индуцировать апоптоз раковых клеток. Кроме того, учитывая, что С-РС имеет способность активировать про-апоптотические гены и угнетать анти-апоптотические, его можно применять в комбинации с другими противоопухолевыми средствами. Таким образом появляется возможность уменьшить дозы назначаемых препаратов для лечения рака, минимизировать их побочные эффекты и бороться с резистентностью к ним.

3. Современные технологии, применяемые для внедрения С-РС

Кожа является барьером между внутренней средой организма и окружающим миром. Это подвергает ее множеству опасностей, таких как вирусные, бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции или воздействие УФ-лучей. Все это приводит к возникновению различных травм, воспалений, сыпи, нарушений пигментации, появлению новообразований, в том числе и злокачественных. В настоящее время применяется большое количество терапевтических методов для лечения заболеваний кожи. Тем не менее, многие из них имеют

множество ограничений из-за развития побочных реакций или нечувствительности кожных покровов к ним.

Например, избыточное использование очищающих косметических средств может нарушать гидрофильный барьер и нормальную микрофлору. Это приводит к появлению воспалений и, в конечном счете, к атопическим заболеваниям. Подобное часто случается при неправильном лечении или самолечении акне. Это хроническое заболевание кожи, которое возникает при закупорке пор волосяных мешочков мертвыми клетками кожи. Оно подразделяется на невоспалительное (угри, черные и белые точки) и воспалительные (появление красных опухших прыщей) типы. Лечение акне можно проводить с помощью специальных кремов и гелей, которые препятствуют опуханию пор и уменьшают наружное воспаление. В некоторых случаях назначается изотретиноин. Однако, из-за своего тератогенного действия он строго противопоказан беременным и кормящим женщинам. Поэтому в последнее время все больше возрастает интерес к натуральным средствам, которые оказывают комплексный эффект на лечение акне.

Антиоксидантное, противомикробное и противовоспалительное действия С-РС позволяют рассматривать это вещество в качестве потенциального средства для лечения акне. Nival B. И коллеги (2018) исследовали два состава мазей с С-РС в качестве терапии акне. Первая была изготовлена на масляной основе. Она содержала твердый, мягкий и жидкий парафин, ланолин, кетостеариловый спирт и экстракт С-РС. Вторая мазь была водорастворимой. В ее состав входили PEG400, PEG4000, стеариловый спирт, глицерин, вода и экстракт С-РС. Этот вариант оказался более эффективным. Во-первых, консистенция водорастворимой мази позволяла ей лучше распределяться по коже. Во-вторых, ее диффузия в исследованиях *in vitro* составила 92% через 5 часов после нанесения, в то время как жирорастворимая мазь диффундировала лишь на 88%. И в-третьих, состав на водной основе продемонстрировал больший антибактериальный эффект против *P. acne* и *S. Epidermidis*. Полученные результаты можно объяснить тем, что С-РС лучше растворяется в воде. Кроме того, минеральные масла, например, парафины, способствуют аккумуляции жира в коже. Из всего вышесказанного можно сделать вывод, что для лечения акне больше подходит водорастворимая основа.

Кожа представляет собой высоко селективный барьер. Ее многослойность ограничивает спектр веществ, которые могут проникать внутрь с помощью пассивной диффузии. Только липофильные вещества и с относительно низкой молекулярной массой (<500 Da) способны попадать в глубокие слои кожи с помощью этого вида транспорта. Большая часть белков же представляет собой достаточно крупные и гидрофильные молекулы. Соответственно, они будут плохо проходить через кожный барьер.

Терапевтический эффект лекарственного средства зависит от активного вещества. Однако, неактивные проводники играют ключевую роль. Именно благодаря им реализуется доставка активного вещества в глубокие слои кожи и определяется возможность его действия. В клинической практике существует множество ограничений, связанных с полутвердыми средствами, такими как мази, гели, крема или масла. Местные побочные эффекты и недостаточное преодоление кожных барьеров становятся основным препятствием в разработке топических лекарственных средств. По этим причинам с помощью нанотехнологий возможно создание эффективных систем доставки активных веществ для лечения кожных заболеваний, а также в косметической промышленности.

Для лечения многих заболеваний кожи пригодилось бы использование природных компонентов и создание для них таких лекарственных форм, с помощью которых было бы возможно контролировать высвобождение и абсорбцию активного вещества. Например, нано-системы на липидной основе имеют структурное сходство с липидами кожи. Это способствует их

взаимодействию, что улучшает увлажненность кожи и проникновение в нее инкапсулированных молекул.

Было установлено, что с помощью липосом можно доставлять в кожу вещества с большой молекулярной массой, например, такие как С-РС. Использование обычных фосфолипидных молекул улучшало противовоспалительную активность веществ в исследованиях *in vivo*. Кроме того, применение липосом позволило уменьшить в 2 раза дозу С-РС по сравнению со свободным белком, не понизив при этом его эффективность. Однако везикулы, содержащие усилитель проникновения (PEV), в частности пропиленгликоль, лучше справлялись с доставкой большой молекулы С-РС, чем обычные липосомы и этосомы. Castangia I и коллеги (2016) в своем исследовании обнаружили, что фикоцианин, доставленный в кожу с помощью гиалуросом, особенно с помощью PEG-гиалуросом, способен проникать в более глубокие слои кожи и демонстрировать большую антиоксидантную активность. Ученые также разработали новый вид бионосителей, который был назван сантосомами. Нановезикулы сформировали из гидрогенизированного фосфатидилхолина, холестерина и эссенциального масла *Santolina insularis* (*Gennari ex Fiori*) Arrigoni. Это растение относится к семейству *Asteraceae* и является эндемичным для Сардинии. *S. insularis* накапливает моно- и сесквитерпены, которые усиливают проникновение и абсорбцию в кожу активных веществ. В качестве гидрофильного усилителя пенетрации был добавлен пропиленгликоль. В полученные нановезикулы инкорпорировали С-РС. После оценки токсичности было подобрано оптимальное соотношение компонентов: 100 мкг/мл фосфатидилхолина, 50 мкг/мл С-РС и 25 мкг/мл эфирного масла. С-РС, доставленный с помощью сантосом, проникал в кератиноциты человека даже спустя час после нанесения. Его концентрации в коже оставались стабильно высокими в течение 1 суток. В то же время свободный С-РС был неспособен проникнуть в клетки. Помимо всего прочего, доставка активного вещества с помощью С-РС удлиняла его антиокислительное и противовоспалительное действие, а также способность восстанавливать и защищать кожу. Репарация и заживление ран – очень сложный и многоступенчатый процесс. Особенно трудно поддаются лечению ожоги, диабетические язвы и пролежни. Dev A и соавторы (2020) разработали инъекционный препарат на основе гидрогеля из полисахарида к-каррагинана и С-РС. В нем были учтены все противомикробные, антиокислительные, противовоспалительные и ранозаживляющие свойства С-РС. Гидрогель к-CRG-С-РС улучшал миграцию фибробластов, тромбообразование и уменьшал время закрытия раны. Наличие С-РС в гидрогеле продлевало время его нахождения в области повреждения с 24 часов до 6 суток. Наилучшие результаты наблюдались на 8 день лечения гидрогелем к-CRG-С-РС. Кроме того, в исследуемой группе отмечали более выраженный гемостаз и синтез коллагена, что способствовало быстрому восстановлению структуры поврежденной кожи. Madhyastha и коллеги (2020) в своем исследовании конъюгировали С-РС с ионами серебра. Они отмечали, что по воздействию таких наночастиц (AgсPCNP) фибробласты быстрее мигрируют к области раны. Это объясняется тем, что AgсPCNP совмещают в себе ранозаживляющие и антибактериальные свойства С-РС и ионов серебра.

Для лечения менее сложных ран были разработаны пластыри из полимолочной кислоты. Этот полимер был выбран в связи с тем, что он нетоксичен, биоразлагаем и обладает всеми свойствами обычных пластырей. С-РС использовался в качестве активного вещества с антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Для пролонгации высвобождения С-РС в пластырь был добавлен альгинат. Таким образом длительность действия лекарственного средства составила примерно 20 часов. Наилучшими свойствами (эластичность, высвобождение С-РС) обладал пластырь с соотношением С-РС и альгината 40/60.

Модифицированный биогенный кремний может быть использован в качестве мезопористого биоматериала для доставки противоопухолевых лекарств. Его можно получать из диатомных

водорослей. Это одноклеточные фотосинтезирующие эукариоты. Их клеточные стенки состоят из аморфного SiO₂ и называются фрустулами. Эти кремниевые структуры имеют поры размером 20 нм. Они могут быть использованы в качестве наноносителей. Комбинация С-РС с мезопористым кремнием улучшала стабильность первого и была более эффективна в фотодинамической терапии опухолей. Свободный С-РС и биогенный кремний по отдельности абсолютно безопасны, так как без воздействия света вызывали гибель лишь менее 10% клеток культуры RAW264.7. При воздействии света отдельно С-РС в концентрации 150 мкг/мл убивал менее 25% опухолевых клеток, тогда как его комбинация с модифицированным кремнием – 66-81%. Jiang L и коллеги (2019) разработали новое таргетное лекарство против опухолей шейки матки.

Карбоксиметилхитозан (СМС) использовали в качестве основы наноконструкции. Это вещество хорошо растворимо в воде, нетоксично, биоразлагаемо, а также совместимо с другими соединениями. В полученной комбинации С-РС и СМС была улучшена стабильность первого, обеспечено его медленное высвобождение и повышена эффективность в лечении рака. Для увеличения избирательности действия использовался CD59 специфический лигандный пептид (CD59sp). Он связывается только с белком CD59, количество которого увеличивается исключительно на опухолевых клетках. Этот протеин подавляет образование мембранного атакующего комплекса (МАК) системы комплемента. Как результат, он позволяет опухолевым клеткам избежать разрушения системой иммунитета. В эксперименте такая молекула С-РС/СМС-CD59sp продемонстрировала большую способность останавливать клеточный цикл в фазе G₀/G₁ в клетках опухоли шейки матки HeLa и SiHa по сравнению с С-РС отдельной и комбинацией С-РС-СМС. Таким образом, С-РС самостоятельно способен индуцировать апоптоз культуры клеток как HeLa, так и SiHa, увеличивать экспрессию каспазы-3 и уменьшать экспрессию белка bcl-2. Однако, это вещество в комплексе с СМС и CD59sp, кроме того, ингибирует экспрессию MMP-2 и в большей степени подавляет рост клеток рака шейки матки.

Благодаря множественным положительным свойствам С-РС все чаще рассматривается в качестве активного вещества для лечения различных заболеваний кожи, в том числе и онкологических. Однако, С-РС является белком, а это значит, что необходимо уделять особое внимание условиям, в которых он находится. Неблагоприятная среда может разрушить уникальную структуру этого протеина. По мнению большинства авторов, pH и температура являются ключевыми факторами, влияющими на стабильность С-РС. Оптимальные для него диапазоны pH – 5,5-6,0, а температуры – 25-45*С. При температуре выше 45*С происходит деградация С-РС, а при 70*С начинается его денатурация. Более того, С-РС очень чувствителен к свету, поэтому лучше хранить его в темноте.

Поскольку С-РС очень чувствителен к воздействию окружающей среды, для повышения его стабильности часто используются различные дополнительные компоненты. Но важно учесть, что их химическая структура и концентрация должны быть безопасны для человека и не должны нарушать строение белка или отрицательно влиять на его свойства. В качестве консервантов могут использоваться моно- и дисахариды (глюкоза, фруктоза, сахароза, трегалоза, лактоза, мальтоза и сорбит), а также органические кислоты (лимонная, аскорбиновая и бензойная кислоты) или неорганические соли (хлорид натрия, хлорид кальция). Многие ученые исследуют компоненты, которые могут повысить термостабильность С-РС. Например, добавление глюкозы увеличивает время активации в 4 раза (так как белок полимеризуется под действием сахара) и предотвращает разрушение протеина при нагревании. 2,5% хлорид натрия также эффективно защищает С-РС от разрушения. Указанная нестабильность протеина препятствует его широкому применению в медицине. Именно поэтому чаще С-РС чаще используется в таких условиях, где не требуется нагревание, применение ультразвука или органических растворителей. Кроме того, еще одним способом предотвращения деградации белков может быть использование инкапсулированных форм (нановолокон, микрочастиц или наночастиц). Например, в качестве носителей могут быть применены водные двухфазные системы полимер/соль (4% PEG и 18% соль) и полимер/полимер

(6% PEG и 10% декстран). Такие структуры повышают стабильность и чистоту С-РС. Более того, такое двойное инкапсулирование продлило срок годности С-РС на 6 месяцев без заметных изменений его физических свойств. Guo J.W и соавторы (2021) в своем исследовании пришли к подобным же выводам. Кроме того, они отметили, что пептиды и белки с большой молекулярной массой могут вызывать воспаление. Следовательно, необходимо тщательно подбирать подходящее количество активного вещества.

Таким образом, можно заключить, что С-РС достаточно чувствителен к условиям окружающей среды, особенно к рН и температуре. Для предотвращения его деградации следует использовать консерванты, такие как глюкоза, фруктоза и хлорид натрия. Использование современных нанотехнологий позволит в полной мере использовать все положительные свойства С-РС для лечения заболеваний кожи.

4. Вывод

На основании вышеупомянутых исследований, можно сделать вывод, что С-РС ускоряет заживление ран и регенерацию тканей, стимулируя пролиферацию фибробластов и их миграцию к месту повреждения. Кроме того, под влиянием С-РС нарушается целостность клеточных стенок и мембран бактерий. Стоит отметить, что это вещество более эффективно в отношении Грамположительных микроорганизмов. Благодаря способности ингибировать АФК и антимеланогенным свойствам, С-РС может использоваться в качестве средства, замедляющего фотостарение кожи. Однако, не следует забывать, что на выраженность антиоксидантного и противомикробного действий большое влияние оказывает чистота активного вещества. Ко всему вышесказанному можно добавить, что С-РС является природным противовоспалительным средством, так как он селективно ингибирует ЦОГ-2. Причем этот эффект выражен у него в большей степени, чем у целекоксиба и рофекоксиба. Основываясь на приведенных исследованиях следует отметить, что С-РС может в будущем применяться в качестве вспомогательной или даже монотерапии злокачественных новообразований кожи. Связано это с тем, что данное вещество обладает антиокислительными свойствами, способно ингибировать ЦОГ-2, уменьшать уровень ПГЕ2, а также индуцировать апоптоз раковых клеток. Применение современных нанотехнологий позволит извлечь максимальную пользу из С-РС для его использования в лечении различных кожных заболеваний.

Список использованной литературы

1. Ragusa, I.; Nardone, G.N.; Zanatta, S.; Bertin, W.; Amadio, E. Spirulina for skin care: A bright blue future. *Cosmetics* 2021, 8, 7. [CrossRef]
2. Safaei, M.; Maleki, H.; Soleimanpour, H.; Norouzy, A.; Zahiri, H.S.; Vali, H.; Noghabi, K.A. Development of a novel method for the purification of C-phycoyanin pigment from a local cyanobacterial strain *Limnothrix* sp. NS01 and evaluation of its anticancer properties. *Sci. Rep.* 2019, 9, 9474. [CrossRef] [PubMed]
3. Osman, A.; Salama, A.; Ghany, A.A.; Sitohy, M. Antibacterial activity and mechanism of action of phycoyanin extracted from an Egyptian strain of *Anabaena oryzae* SOS13. *Zagazig J. Agric. Biochem. Appl.* 2015, 42, 30–321.
4. Kuddus, M.; Singh, P.; Thomas, G.; Al-Hazimi, A. Recent development in production and biotechnological applications of C-phycoyanin. *BioMed Res. Int.* 2013, 2013, 742859. [CrossRef] [PubMed]
5. Wang, L.; Qu, Y.; Fu, X.; Zhao, M.; Wang, S. Isolation, Purification and Properties of an R-Phycoyanin from the Phycobilisomes of a Marine Red Macroalga *Polysiphonia urceolata*. *PLoS ONE* 2014, 9, e87833. Available online:

- <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0087833&type=printable> (accessed on 28 December 2021). [CrossRef] [PubMed]
6. Wang, Y.; Gong, X.; Wang, S.; Chen, L. Separation of Native Allophycocyanin and R-Phycocyanin from Marine Red Macroalga *Polysiphonia urceolata* by the Polyacrylamide Gel Electrophoresis Performed in Novel Buffer Systems. *PLoS ONE* 2014, 9, e106369. Available online: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0106369&type=printable> (accessed on 2 January 2022). [CrossRef]
 7. Glazer, A.N. Phycobilisome: A macromolecular complex optimized for light energy transfer. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Rev. Bioenerg.* 1984, 768, 29–51. [CrossRef]
 8. Park, W.S.; Kim, H.J.; Li, M.; Lim, D.H.; Kim, J.; Kwak, S.S.; Kang, C.M.; Ferruzzi, M.G.; Ahn, M.J. Two classes of pigments, carotenoids and C-Phycocyanin, in *Spirulina* powder and their antioxidant activities. *Molecules* 2018, 23, 2065. [CrossRef]
 9. Venugopal, V.C.; Thakur, A.; Chennabasappa, L.K.; Mishra, G.; Singh, K.; Rathee, P.; Ranjan, A. Phycocyanin extracted from *Oscillatoria minima* shows antimicrobial, algicidal, and antiradical activities: In silico and in vitro analysis. *Antiinfl. Anti-Allergy Agents Med. Chem.* 2020, 19, 240–253. [CrossRef]
 10. Aoki, J.; Sasaki, D.; Asayama, M. Development of a method for phycocyanin recovery from filamentous cyanobacteria and evaluation of its stability and antioxidant capacity. *BMC Biotechnol.* 2021, 21, 40. [CrossRef]
 11. Hsieh-Lo, M.; Castillo, G.; Ochoa-Becerra, M.A.; Mojica, L. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability. *Algal Res.* 2019, 42, 101600. [CrossRef]
 12. Kuddus, M.; Singh, P.; Thomas, G.; Ali, A. *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications*, 1st ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 287–288.
 13. Patil, G.; Chethana, S.; Sridevi, A.S.; Raghavarao, K.S.M.S. Method to obtain C-phycocyanin of high purity. *J. Chromatogr.* 2006, 1127, 76–81. [CrossRef] [PubMed]
 14. Liu, P.; Choi, J.W.; Lee, M.K.; Choi, Y.H.; Nam, T.J. Wound healing potential of *Spirulina* protein on CCD-986sk cells. *Mar. Drugs* 2019, 17, 130. [CrossRef] [PubMed]
 15. Syarina, P.N.A.; Karthivashan, G.; Abas, F.; Arulsevan, P.; Fakurazi, S. Wound healing potential of *Spirulina platensis* extracts on human dermal fibroblast cells. *EXCLI J.* 2015, 14, 385–393. [PubMed]
 16. Madhyastha, H.K.; Radha, K.S.; Sugiki, M.; Omura, S.; Maruyama, M. C-phycocyanin transcriptionally regulates uPA mRNA through cAMP mediated PKA pathway in human fibroblast WI-38 cells. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Gen. Subj.* 2006, 1760, 1624–1630. [CrossRef]
 17. Madhyastha, H.K.; Radha, K.S.; Nakajima, Y. uPA dependent and independent mechanisms of wound healing by C-phycocyanin. *J. Cell. Mol. Med.* 2008, 12, 2691–2703. [CrossRef]
 18. Gur, C.S.; Erdogan, D.K.; Onbasilar, I.; Atilla, P.; Cakar, N.; Gurhan, I.D. In Vitro and in Vivo investigations of the wound healing effect of crude *Spirulina* extract and C-Phycocyanin. *J. Med. Plants Res.* 2013, 7, 425–433.
 19. Guo, J.W.; Jee, S.H. Strategies to develop a suitable formulation for inflammatory skin disease treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6078. [CrossRef]
 20. Aguilera, A.C.; Dagher, I.A.; Kloepfer, K.M. Role of the Microbiome in Allergic Disease Development. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2020, 20, 44. [CrossRef]
 21. Byrd, A.L.; Belkaid, Y.; Segre, J.A. The human skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018, 16, 143–155. [CrossRef]
 22. Nihal, B.; Gupta, N.V.; Gowda, D.V.; Mariapan, M. Formulation and development of topical anti acne formulation of *Spirulina* extract. *Int. J. Appl. Pharm.* 2018, 10, 229. [CrossRef]
 23. Murugan, T.; Radhamadhavan. Screening for antifungal and antiviral activity of C-phycocyanin from *Spirulina platensis*. *J. Pharm. Res.* 2011, 4, 4161–4163. *Plants* 2022, 11, 1249 17 of 18

24. Zebracka, A.; Matysiak, M.; Jastrzebska, M.D.; Skrzypczak, L.K. Molecular and environmental aspects of skin cancers. *J. Pre-Clin. Res.* 2015, 9, 158–162. [CrossRef]
25. Kim, K.M.; Im, A.R.; Park, S.K.; Shin, H.S.; Chae, S.W. Protective effects of timosaponin AIII against UVB-radiation induced inflammation and DNA injury in human epidermal keratinocytes. *Biol. Pharm. Bull.* 2019, 42, 1524–1531. [CrossRef]
26. Obrador, E.; Smith, F.L.; Dellinger, R.W.; Salvador, R.; Meyskens, F.L.; Estrela, J.M. Oxidative stress and antioxidants in the pathophysiology of malignant melanoma. *Biol. Chem.* 2019, 400, 589–612. [CrossRef]
27. Jang, Y.A.; Kim, B.A. Protective effects of Spirulina- derived C-Phycocyanin against ultraviolet B-induced damage in HaCaT cells. *Medicina* 2021, 57, 273. [CrossRef]
28. Jung, S.M.; Min, S.K.; Lee, H.C.; Kwon, Y.S.; Jung, M.H.; Shin, H.S. Spirulina PCL nanofiber wound dressing to improve cutaneous wound healing by enhancing antioxidative mechanism. *J. Nanomater.* 2016, 1, 6135727. [CrossRef]
29. Allegra, A.; Pioggia, G.; Tonacci, A.; Musolino, C.; Gangemi, S. Oxidative stress and photodynamic therapy of skin cancers: Mechanisms, challenges and promising developments. *Antioxidants* 2020, 9, 448. [CrossRef]
30. Gantar, M.; Simovic, D.; Djilas, S.; Gonzalez, W.W.; Miksovska, J. Isolation, characterization and antioxidative activity of C-phycoyanin from *Limnothrix* sp. strain 37-2-1. *J. Biotechnol.* 2012, 159, 21–26. [CrossRef]
31. Kim, K.M.; Lee, J.Y.; Im, A.; Chae, S. Phycocyanin protects against UVB-Induced Apoptosis Through the PKC α/β II-Nrf-2/HO-1 Dependent Pathway in Human Primary Skin Cells. *Molecules* 2018, 23, 478. [CrossRef]
32. Pardhasaradhi, B.V.V.; Ali, A.M.; Kumari, A.L.; Reddanna, P.; Khar, A. Phycocyanin-mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS. *Mol. Cancer Ther.* 2003, 2, 1165–1170. [PubMed]
33. Tudor, D.V.; Baldea, I.; Lupu, M.; Kacso, T.; Kutasi, E.; Hopartean, A.; Stretea, R.; Filip, A.G. COX-2 as a potential biomarker and therapeutic target in melanoma. *Cancer Biol. Med.* 2020, 17, 20–31. [CrossRef] [PubMed]
34. Enache, A.O.; Stepan, A.E.; Margaritescu, C.; Patrascu, V.; Ciurea, R.N.; Simionescu, C.E.; Camen, A. Immunoexpression of p53 and COX-2 in basal cell carcinoma. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2018, 59, 1115–1120. [PubMed]
35. Karahan, N.; Baspinar, S.; Bozkurt, K.K.; Caloglu, E.; Ciris, I.M.; Kapucuoglu, N. Increased expression of COX-2 in recurrent basal cell carcinoma of the skin: A pilot study. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2011, 54, 526–531.
36. Liu, Q.; Huang, Y.; Zhang, R.; Cai, T.; Cai, Y. Medical application of Spirulina platensis derived C-phycoyanin. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2016, 2016, 7803846.
37. Higashi, Y.; Kanekura, T.; Kanzaki, T. Enhanced expression of cyclooxygenase (COX)-2 on human skin epidermal cancer cells: Evidence for growth suppression by inhibiting COX-2 expression. *Int. Union Against Cancer* 2000, 86, 667–671. [CrossRef]
38. Gupta, N.K.; Gupta, K.P. Effects of C-Phycocyanin on the representative genes of tumor development in mouse skin exposed to 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2012, 34, 941–948. [CrossRef]
39. Rzepka, Z.; Buszman, E.; Beberok, A.; Wrzesniok, D. From tyrosine to melanin: Signaling pathways and factors regulating melanogenesis. *Postepy Hig. I Med. Dosw.* 2016, 70, 695–708. [CrossRef]
40. Qian, W.; Liu, W.; Zhu, D.; Cao, Y.; Tang, A.; Gong, G.; Su, H. Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis. *Exp. Ther. Med.* 2020, 20, 173–185. [CrossRef]
41. Fu, C.; Chen, J.; Lu, J.; Yi, L.; Tong, X.; Kang, L.; Pei, S.; Ouyang, Y.; Jiang, L.; Ding, Y.; et al. Roles of inflammation factors in melanogenesis. *Mol. Med. Rep.* 2020, 21, 1421–1430. [CrossRef]

42. Wu, L.C.; Lin, Y.Y.; Yang, S.Y.; Weng, Y.T.; Tsai, Y.T. Antimelanogenic effect of c-phycocyanin through modulation of tyrosinase expression by upregulation of ERK and downregulation of p38 MAPK signaling pathways. *J. Biomed. Sci.* 2011, 18, 74. [CrossRef] [PubMed]
43. Silva, E.F.; Figueira, F.S.; Lettnin, A.P.; Carrett-Dias, M.; Filgueira, D.M.V.B.; Kalil, S.; Trindade, G.S.; Votto, A.P.S. C-Phycocyanin: Cellular targets, mechanisms of action and multi drug resistance in cancer. *Pharmacol. Rep.* 2017, 70, 75–80. [CrossRef] [PubMed]
44. Li, B.; Gao, M.H.; Zhang, X.C.; Chu, X.M. Molecular immune mechanism of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* induces apoptosis in HeLa cells in vitro. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 2006, 43, 155–164. [PubMed]
45. Reddy, M.C.; Subhashini, J.; Mahipal, S.V.K.; Bhat, V.B.; Reddy, P.S.; Kiranmai, G.; Madvasta, K.M.; Reddanna, P. C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide- stimulated RAW 264.7 macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, 304, 385–392. [CrossRef]
46. Chen, T.; Wong, Y.S. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of selenium-containing phycocyanin from selenium enriched *Spirulina platensis*. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 4352–4358. [CrossRef]
47. Hao, S.; Li, S.; Wang, J.; Zhao, L.; Zhang, C.; Huang, W.; Wang, C. Phycocyanin reduces proliferation of melanoma cells through downregulating GRB2/ERK signaling. *J. Agric. Food Chem.* 2018, 66, 10921–10929. [CrossRef]
48. Hongo, T.; Morimoto, Y.; Iwagaki, H.; Kobashi, K.; Yoshii, M.; Urushihara, N.; Hizuta, A.; Tanaka, N. Functional expression of Fas and Fas ligand on human colonic intraepithelial T lymphocytes. *J. Int. Med. Res.* 2000, 28, 132–142. [CrossRef]
49. Elmets, C.A.; Athar, M. Targeting ornithine decarboxylase for the prevention of nonmelanoma skin cancer in humans. *Cancer Prev. Res.* 2010, 3, 8–11. [CrossRef]
50. Mann, A.P.; Verma, A.; Sethi, G.; Manavathi, B.; Wang, H.; Fok, J.Y.; Kunnumakkara, A.B.; Kumar, R.; Aggarwal, B.B.; Mehta, K. Overexpression of tissue transglutaminase leads to constitutive activation of nuclear factor-kB in cancer cells: Delineation of a novel pathway. *Cancer Res.* 2006, 66, 8788–8795. [CrossRef]
51. Chhabra, A.; Verma, A.; Mehta, K. Tissue transglutaminase promotes or suppresses tumors depending on cell context. *Anticancer Res.* 2009, 29, 1909–1919. *Plants* 2022, 11, 1249 18 of 18
52. Mehta, K.; Eckert, R. *Transglutaminases: Family of Enzymes with Diverse Functions. Progress in Experimental Tumor Research*, 1st ed.; Karger Publishers: Basel, Switzerland, 2005; Volume 38.
53. Esposito, E.; Nastruzzi, C.; Sguizzato, M.; Cortesi, R. Nanomedicines to treat skin pathologies with natural molecules. *Curr. Pharm. Des.* 2019, 25, 2323–2337. [CrossRef] [PubMed]
54. Majtan, J.; Bucekova, M.; Jesenak, M. Natural products and skin diseases. *Molecules* 2021, 26, 4489. [CrossRef] [PubMed]
55. Manconia, M.; Pendas, J.; Ledon, N.; Moreira, T.; Sinico, C.; Saso, L.; Fadda, A.M. Phycocyanin liposomes for topical antiinflammatory activity: In-vitro in-vivo studies. *J. Pharm. Pharmacol.* 2009, 61, 423–430. [CrossRef] [PubMed]
56. Caddeo, C.; Chessa, M.; Vassallo, A.; Pons, R.; Diez-Sales, O.; Fadda, A.M.; Manconi, M. Extraction, purification and Nanoformulation of Natural Phycocyanin (from Klamath algae) for Dermal and Deeper Soft Tissue Delivery. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2013, 9, 1929–1938. [CrossRef]
57. Castangia, I.; Manca, M.L.; Catalan- Latorre, A.; Maccioni, A.M.; Fadda, A.M.; Manconi, M. Phycocyanin- encapsulating hyalurosomes as carrier for skin delivery and protection from oxidative stress damage. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2016, 27, 75. [CrossRef]
58. Castangia, I.; Manca, M.L.; Caddeo, C.; Bacchetta, G.; Pons, R.; Demurtas, D.; Diez-Sales, O.; Fadda, A.M.; Manconi, M. Santosomes as natural and efficient carriers for the improvement of phycocyanin reepithelising ability in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2016, 103, 149–158. [CrossRef]

59. Dev, A.; Mohanbhai, S.J.; Kushwaha, A.C.; Sood, A.; Sardiowala, M.N.; Choudhury, S.R.; Karmakar, S. Corrigendum to 'κcarrageenan-c-phycoyanin based smart injectable hydrogels for accelerated wound recovery and real-time monitoring. *Acta Biomater.* 2022, 138, 576. [CrossRef]
60. Madhyastha, H.; Madhyastha, R.; Thakur, A.; Kentaro, S.; Dev, A.; Singh, S.; Chandrashekharappa, R.B.; Kumar, H.; Acevedo, O.; Nakajima, Y.; et al. C-Phycocyanin primed silver nano conjugates: Studies on red blood cell stress resilience mechanism. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2020, 194, 111211. [CrossRef]
61. Adli, S.A.; Ali, F.; Azmi, A.S.; Anuar, H.; Nasir, N.A.M.; Hasham, R.; Idris, M.K.H. Development of biodegradable cosmetic patch using a polylactic acid/phycoyanin- alginate composite. *Polymers* 2020, 12, 1669. [CrossRef]
62. Pu, Y.; Wei, M.; Witkowski, A.; Krzywda, M.; Wang, Y.; Li, W. A hybrid biomaterial of biosilica and C-phycoyanin for enhanced photodynamic effect towards tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2020, 553, 573–579. [CrossRef]
63. Jiang, L.; Wang, Y.; Zhu, F.; Liu, G.; Liu, H.; Ji, H.; Zheng, S.; Li, B. Molecular mechanism of anti-cancer activity of the nano-drug C-PC/CMC-CD59sp NPs in cervical cancer. *J. Cancer* 2019, 10, 92–104. [CrossRef] [PubMed]
64. Chaiklahan, R.; Chirasuwan, N.; Bunnag, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochem.* 2012, 47, 659–664. [CrossRef]
65. Adjali, A.; Clarot, I.; Chen, Z.; Marchioni, E.; Boudier, A. Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review. *J. Pharm. Anal.* 2021. [CrossRef]
66. Hadiyanto, H.; Christwardana, M.; Sutanto, H.; Suzery, M.; Amelia, D.; Aritonang, R.F. Kinetic study on the effects of sugar addition on the thermal degradation of phycocyanin from *Spirulina* sp. *Food Biosci.* 2018, 22, 85–90. [CrossRef]
67. Chandralekha, A.; Prashanth, H.S.; Tavanandi, H.; Raghavarao, K.S.M.S. A novel method for double encapsulation of Cphycoyanin using aqueous two-phase systems for extension of shelf life. *J. Food Sci. Technol.* 2021, 58, 1750–1763. [CrossRef] [PubMed]