

Животноводство и кормопроизводство. 2026. Т. 109. № 2. С. 59-77.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2026. Vol. 109. No. 2. P. 59-77.

Научная статья
УДК 582.886:546.56
doi: 10.33284/2658-3135-109-2-59

Сравнительный анализ биологической активности ультрадисперсных частиц различного генезиса в тесте ингибирования бактериальной люминесценции

Даниил Евгеньевич Шошин^{1,6}, Кристина Владимировна Рязанцева², Ксения Сергеевна Нечитайло^{3,7}, Елена Анатольевна Сизова^{4,8}, Андрей Михайлович Брежнев⁵, Алексей Михайлович Гулюкин⁹
^{1,2,3,4,5} Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

^{6,7,8} Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко, Оренбург, Россия

⁹ Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.П. Коваленко Российской академии наук, Москва, Россия

^{1,6} daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

² reger94@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5134-0396>

^{3,7} k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

^{4,8} sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

⁵ brejnevandrey@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0006-6434-1607>

⁹ admin@viev.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

Аннотация. Проблемы спрединга множественной лекарственной устойчивости среди патогенной микробиоты сельскохозяйственных животных и человека побуждают к активному поиску и аттестации высокоэффективных альтернатив антибиотическим препаратам. Среди последних особое внимание уделяется ультрадисперсным частицам (УДЧ) различного генезиса (физического, химического или биологического происхождения). «Зеленые» УДЧ при этом, как правило, более биосовместимы и демонстрируют лучшие антибиотические свойства, что, однако, во многом зависит от используемых для их синтеза сырья и технологии. В частности, целью представленной работы стал анализ биологической активности УДЧ CuO , полученных методом распылительной сушки (коммерческий образец) и путем восстановления сульфата меди (II) в экстракте кипрея (лабораторный образец), в тесте ингибирования бактериальной люминесценции *Escherichia coli* K12 TG1. В результате проведенных исследований установлено, что «зеленые» УДЧ обладают более выраженными антибиотическими свойствами, чем УДЧ, полученные физическим путем. Так, минимальная ингибирующая концентрация для коммерческого образца составила 12,5 мг/мл, в то время как для опытного образца она равнялась $9,77 \times 10^{-2}$ мг/мл, что в 128 раз меньше, хотя в обоих случаях наблюдался выраженный пролонгированный бактерицидный эффект. В то же время было показано, что «зеленые» УДЧ по своей бактерицидной активности занимают промежуточное положение между исходной солью металла и коммерческим образцом, хотя используемый при их синтезе экстракт кипрея, напротив, стимулировал свечение биосенсора в диапазоне до 578,2 % относительно контроля. Таким образом, «зеленые» УДЧ обладают явным потенциалом применения в животноводстве в качестве аналога антибиотическим препаратам за счет выраженного бактерицидного эффекта, однако перед непосредственным введением их в корма необходимо провести более детальный анализ и иных их биологических свойств, как то: гено- и цитотоксичность, нефро- и нейротоксичность на фоне варьирования физико-химических характеристик (размер, форма, активная площадь поверхности и ее электрические свойства).

Ключевые слова: ультрадисперсные частицы, медь, кипрей, бактериальная люминесценция, «зеленый» синтез

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 25-76-10032.

Для цитирования: Сравнительный анализ биологической активности ультрадисперсных частиц различного генезиса в тесте ингибирования бактериальной люминесценции / Д.Е. Шошин, К.В. Рязанцева, К.С. Нечитайло, Е.А. Сизова, А.М. Брежнев, А.М. Гулюкин // Животноводство и кормопроизводство. 2026. Т. 109. № 2. С. 59-77. [Shoshin DE, Ryazanseva KV, Nechitailo KS, Sizova EA, Brezhnev AM, Gulukin AM. Comparative analysis of the biological activity of ultrafine particles of various genesis in the bacterial luminescence inhibition test. Animal Husbandry and Fodder Production. 2026;109(2):59-77. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-109-2-59>

Original article

**Comparative analysis of the biological activity of ultrafine particles of various genesis
in the bacterial luminescence inhibition test**

**Daniil E Shoshin^{1,6}, Kristina V Ryazantseva², Ksenia S Nechitailo^{3,7}, Elena A Sizova^{4,8},
Andrey M Brezhnev⁵, Alexey M Gulukin⁹**

^{1,2,3,4,5} Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

^{6,7,8} Orenburg State University named after VA Bondarenko, Orenburg, Russia

⁹ Federal Research Center–All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^{1,6} daniilshoshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3086-681X>

² reger94@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5134-0396>

^{3,7} k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

^{4,8} sizova.178@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

⁵ brejnevandrej@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0006-6434-1607>

⁹ admin@viev.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2160-4770>

Abstract. The problems of spreading multidrug resistance among the pathogenic microbiota of farm animals and humans prompt an active search and certification of highly effective alternatives to antibiotic drugs. Among the latter, special attention is paid to ultrafine particles (UFPs) of various origins (physical, chemical or biological origin). At the same time, "green" UFPs are usually more biocompatible and demonstrate better antibiotic properties, which, however, largely depends on the raw materials and technology used for their synthesis. In particular, the purpose of this work was to analyze the biological activity of CuO UFPs obtained by spray drying (commercial sample) and by the recovery of copper (II) sulfate in fireweed extract (laboratory sample) in the *Escherichia coli* K12 TG1 bacterial luminescence inhibition test. As a result of the conducted research, it was found that "green" UFPs have more pronounced antibiotic properties than UFPs obtained by physical means. Thus, the minimum inhibitory concentration for the commercial sample was 12.5 mg/ml, while for the prototype it was 9.77×10^{-2} , which is 128 times less, although in both cases a pronounced prolonged bactericidal effect was observed. At the same time, it was shown that the "green" UFPs, by their bactericidal activity, occupy an intermediate position between the initial metal salt and the commercial sample, although the fireweed extract used in their synthesis, on the contrary, stimulated the glow of the biosensor in the range up to 578.2% relative to the control. Thus, "green" UFPs have a clear potential for use in animal husbandry as an analogue to antibiotic drugs due to their pronounced bactericidal effect, however, before their direct introduction into feed, it is necessary to conduct a more detailed analysis of their other biological properties, such as: gene and cytotoxicity, nephrotoxicity and neurotoxicity against the background of varying physicochemical characteristics (size, shape, active surface area and its electrical properties).

Keywords: ultrafine particles, copper, cypress, bacterial luminescence, "green" synthesis

Acknowledgments: the work was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 25-76-10032

For citation: Shoshin DE, Ryazanseva KV, Nechitailo KS, Sizova EA, Brezhnev AM, Gulukin AM. Comparative analysis of the biological activity of ultrafine particles of various genesis in the bacterial luminescence inhibition test. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2026;109(2):59-77. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-109-2-59>

Введение.

Вопросы продовольственной безопасности на фоне увеличивающихся запросов населения побуждают научное сообщество к разработке высокоэффективных кормовых добавок и композиций, призванных при минимальных затратах ресурсов обеспечивать максимальную реали-

зацию генетического потенциала животных (Djuragic O et al., 2023). Последнее особенно актуально в рамках повсеместного введения запретов на применение антибиотических препаратов в кормлении в терапевтических целях и в качестве стимуляторов роста (Zheng S et al., 2025) в виду глобального распространения антибиотикорезистентности среди патогенной и условно патогенной микробиоты (Ding D et al., 2023). Так, среди возможных альтернатив сегодня выделяют различного рода подкислители (Wang H et al., 2022), олигосахариды (Sizova EA et al., 2025), экстракты и вытяжки из лекарственных растений (Шошин Д.Е. и Атландерова К.Н., 2025), очищенные вторичные метаболиты (Власенко Л.В. и др., 2023), нано- и ультрадисперсные частицы (Nechitailo KS et al., 2025). Последние интересны также тем, что помимо бактерицидных и микробиом-модулирующих свойств они являются дополнительным высокоэффективным источником эссенциальных элементов (Michalak I et al., 2022). При этом, однако, существуют определенные опасения относительно возможной биотоксичности ультрадисперсных частиц (УДЧ) при повышенных дозах (Awashra M and Młynarz P, 2023) и модуляции их свойств при различных подходах к синтезу (Harish V et al., 2022). В частности, все большую популярность набирает «зеленый» подход к получению ультрадисперсных препаратов, т. е. восстановление солей металлов посредством микроорганизмов, экстрактов растений и прочее (Nair GM et al., 2022). Так, в представленной работе мы остановимся на потенциале применения в качестве альтернативы антибиотическим препаратам УДЧ CuO, полученных путем восстановления сульфата меди в экстракте кипрея (*Epilobium angustifolium* L.). Выбор исходных компонентов при этом обусловлен рядом причин. Во-первых, как известно, медь входит в состав или является кофактором таких ферментов как цитохром-с-оксидаза, тирозиназа, аминоксидаза, супероксиддисмутаза Cu/Zn и некоторых других, она участвует в производстве энергии и процессах биосинтеза, выполняет роль динамической сигнальной молекулы, ингибирует липолиз, регулирует работу калиевых каналов и активность E3-убиквитинлигазы (Tsang T et al., 2021), следовательно, медь необходима для нормального функционирования целостного организма. Во-вторых, для меди характерны также природные антибиотические свойства (Gudkov SV et al., 2024), и наконец, она, в отличие от других эссенциальных элементов (Fe, Co, Mn и т. д.), не вступает в реакцию с соляной кислотой, что ограничивает деградацию медных частиц в желудке животных и блокирует «лавиноподобное» высвобождение ионов, что могло бы стать существенной преградой при дальнейшем использовании вновь синтезируемых УДЧ в кормлении. Кипрей же, или иван-чай (*Epilobium angustifolium* L.) содержит ряд веществ с высоким восстановительным потенциалом – энотеин В, кверцетин, кемпферол, мирицетин, галловая, эллаговая, хлорогеновая кислоты (Gevgenova R et al., 2025), что облегчает «зеленый» синтез, более того он активно произрастает на гаях и широко доступен в средней полосе, в отличие, например, от *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll.Arg, *Abies spectabilis* (D.Don) Mirb., *Abutilon indicum* L., *Moringa oleifera* Lam., *Allium saralicum* M. Fritsch, *Citrus* spp. (Murugan B et al., 2023), использованных для получения УДЧ CuO ранее. Помимо прочего, кипрей также известен своими антиоксидантными, противовоспалительными и антипролиферативными свойствами (Vlase AM et al., 2023), что может внести дополнительные позитивные эффекты к применению синтезируемых УДЧ. При этом следует также учитывать и возможные токсические эффекты от использования последних. Так, ранее, например, было показано, что медьсодержащие УДЧ в повышенных дозах могут вызвать серьезное повреждение печени (Tang H et al., 2019), обладают геното-, цитото- и иммунотоксическими свойствами (Naz S et al., 2020), что ограничивает возможности их использования в животноводстве.

Иными словами, методы «зеленого» синтеза объединяют позитивные стороны применения УДЧ и фитобиотиков и обладают рядом преимуществ относительно традиционных физических или химических способов, такими как экологичность, энергоэффективность, биосовместимость, простота получения и экономичность (Miu BA and Dinischiotu A, 2022; Radulescu DM et al., 2023; Kirubakaran D et al., 2026). Тем не менее перед их непосредственным исследованием на животных необходимо проведение глубокого анализа биологических свойств с целью исключения всех возможных токсических эффектов. Однако, чтобы приступить к такой работе, для определения ее возможных перспектив, в первую очередь следует установить, обладают ли вновь синтезированные УДЧ бактерицидными свойствами в принципе, каков диапазон дозировок, отвечающих этому требованию и насколько наблюдаемый эффект сопоставим с действием коммерческих аналогов.

Цель исследования.

Анализ антибиотической активности УДЧ CuO, синтезированных путем восстановления CuSO₄ в экстракте кипрея, в сравнении с коммерческим аналогом, полученным физическим методом.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Ультрадисперсные частицы CuO, полученные физическим методом (коммерческий образец) и путем «зеленого» синтеза (лабораторный образец).

Схема эксперимента. Для оценки антибактериальных свойств навески CuSO₄ (ОАО «ОХК «Уралхим»», г. Москва), УДЧ CuO, полученных методом распылительной сушки (ООО «PLASMOTHERM», г. Москва), и синтезированных в лаборатории путем восстановления сульфата меди (II) в экстракте кипрея (*Epilobium angustifolium* L., ИП Кочнев А. Ю.) в количестве 100 мг диспергировали ультразвуком частотой 35 кГц в 1 мл дистиллированной воды (УЗВ «Сапфир» 4.0, Россия) при температуре +25 °С для получения однородной суспензии. Одновременно проводили экстрагирование 20 г травы кипрея в 200 мл дистиллированной воды на кипящей водяной бане в течение 15 мин (исходный эквивалент растительного сырья в растворе 100 мг/мл). Далее в 96-луночном культуральном планшете готовили серии двукратных разведений от 100 до 1,91×10⁻⁴ мг/мл. Биологическую активность определяли с помощью рекомбинантного люминесцирующего штамма *Escherichia coli* K12 TG1, несущего гибридную плазмиду pUC19 с клонированными luxCDABE генами морского люминесцирующего организма *Photobacterium leiognathi* 54D10 (коммерческое название «Эколюм», «НВО ИММУНОТЕХ», Россия). Для этого 100 мкл бактериальной суспензии вносили в лунку к исследуемому образцу и инкубировали в течение 3 часов, фиксируя интенсивность люминесценции с периодом в 5 мин на многофункциональном микропланшетном ридере TECAN Infinite F200 («Tecan Austria GmbH», Австрия). Для графического отображения полученных результатов вычисляли нормализованное относительное значение биолюминесценции по формуле:

$$A = \frac{I_{K_0} \times I_{O_n}}{I_{K_n} \times I_{O_0}} \times 100 \%,$$

где: I_{K0} – светимость контрольной пробы на 0 минуте эксперимента,
I_{Kn} – светимость контрольной пробы на n минуте эксперимента,
I_{O0} – светимость опытной пробы на 0 минуте эксперимента,
I_{On} – светимость опытной пробы на n минуте эксперимента.

Метод позволяет определить как интенсифицирующие, так и ингибирующие, субтоксичные дозы и, соответственно, вывести концентрации, рекомендуемые к дальнейшему тестированию на животных. Эффективность доказана в ряде исследований по определению активности микроэлементов в ультрадисперсной форме (Sizova E et al., 2015; Shoshin DE et al., 2025). Дополнительно методом динамического рассеяния света (DLS) на лазерном анализаторе размеров Microtrac NANOTRAC WAVE II (ООО «Микротрак», Россия) определяли гидродинамический диаметр исследуемых УДЧ.

Оборудование и технические средства. Исследования проводились с использованием приборной базы Центра коллективного пользования ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (<http://цкп-бст.рф>) (г. Оренбург) в 2025 г. Многофункциональный микропланшетный ридер TECAN Infinite F200 («Tecan Austria GmbH», Австрия), баня водяная LOIP LB-160 (АО «Лабораторное Оборудование и Приборы», Россия), весы лабораторные ВЛА (ООО «НПП «Госметр», г. Санкт-Петербург, Россия), лазерный анализатор размеров Microtrac NANOTRAC WAVE II (ООО «Микротрак», Россия).

Статистическая обработка. Статистическая обработка экспериментальных данных (n=10) была произведена с использованием программного пакета «IBM SPSS Statistics», версия 27 (IBM Corporation, США) и «Microsoft Excel» («Microsoft», США). Рассчитывали среднее (M), среднеквадратичное отклонение (±σ) и стандартную ошибку среднего (±SE). Статистическую значимость оценивали с помощью H-критерия Краскела-Уоллиса с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Различия считали значимыми при P≤0,05.

Результаты исследований.

Регистрируемые размеры для исследуемых УДЧ составили: 559 ± 24 нм (коммерческий образец) и 585 ± 21 нм. Нормализованное относительное значение биolumинесценции в опыте с УДЧ CuO (физический синтез) при концентрациях от 50 до 12,5 мг/мл уменьшалось прямо пропорционально длительности экспозиции (табл. 1). Так, если в первом разведении интенсивность свечения на 30 минуте относительно нулевой составляла 63,2 %, то к 180 минуте наблюдалось практически полное гашение ($P=0,002$) – отношение RLU (Relative luminescence units, приборные единицы свечения) в конце опыта к начальному значению равнялось 0,8 %, что свидетельствует о выраженном бактерицидном эффекте с пролонгированным действием. При дозе 25 мг/мл общая картина сохранялась. Только в случае с 12,5 мг/мл в конце опыта интенсивность свечения составила 26,5%. RLU падали до 22,0 % от исходных. Примечательно, что при дозе 1,56 мг/мл к 60 минуте интенсивность свечения была выше контрольных значений на 30,2 % (эффект гормезиса).

Таблица 1. Нормализованное значение относительной биolumинесценции *Escherichia coli* K12 TG1 в среде с различным содержанием УДЧ CuO (физический синтез)
Table 1. The normalized value of relative bioluminescence of *Escherichia coli* K12 TG1 in an environment with a different content of UFPs CuO (physical synthesis)

Время, мин / Time, min	Концентрация, мг/мл / Concentration, mg/ml												
	0	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	$7,81 \times 10^{-1}$	$3,91 \times 10^{-1}$	$1,95 \times 10^{-1}$	$9,77 \times 10^{-2}$	$4,88 \times 10^{-2}$	$2,44 \times 10^{-2}$
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	100	63,0 $\pm 0,9^c$	63,4 $\pm 0,5^c$	81,7 $\pm 1,1^c$	103,7 $\pm 1,7$	119,1 $\pm 1,7^{bd}$	120,3 $\pm 2,0^{bd}$	111,8 $\pm 1,3^b$	104,0 $\pm 1,8$	99,5 $\pm 1,1^c$	104,6 $\pm 1,7$	104,2 $\pm 1,7$	103,9 $\pm 1,8$
60	100	41,5 $\pm 0,8^{cd}$	47,6 $\pm 0,8^c$	74,0 $\pm 1,2^c$	111,1 $\pm 1,5^{bd}$	129,9 $\pm 1,9^{bd}$	130,2 $\pm 1,8^{bd}$	121,8 $\pm 1,8^{bd}$	110,5 $\pm 1,7^b$	105,8 $\pm 1,6$	110,2 $\pm 1,1^b$	111,6 $\pm 2,2^b$	107,1 $\pm 1,2$
90	100	31,8 $\pm 0,5^{cd}$	40,9 $\pm 0,7^c$	83,9 $\pm 1,2^c$	112,1 $\pm 1,7^{bd}$	118,2 $\pm 1,8^{bd}$	119,7 $\pm 2,1^{bd}$	112,5 $\pm 1,5^{bd}$	104,6 $\pm 1,3^b$	100,4 $\pm 1,9$	106,1 $\pm 1,7^b$	109,8 $\pm 1,5^b$	102,1 $\pm 1,3$
120	100	13,0 $\pm 0,3^{cd}$	17,9 $\pm 0,2^c$	58,1 $\pm 0,8^c$	95,7 $\pm 1,7$	112,0 $\pm 1,4^{bd}$	118,9 $\pm 1,9^{bd}$	113,7 $\pm 2,0^{bd}$	104,8 $\pm 1,8^b$	100,7 $\pm 1,4$	105,1 $\pm 2,0^b$	110,1 $\pm 1,6^b$	101,9 $\pm 1,6$
150	100	4,0 $\pm 0,0^{acd}$	6,6 $\pm 0,2^c$	40,6 $\pm 0,5^c$	90,4 $\pm 1,2$	110,9 $\pm 1,9^{bd}$	117,9 $\pm 1,9^{bd}$	112,9 $\pm 1,8^{bd}$	105,6 $\pm 2,0^b$	99,6 $\pm 1,5$	105,4 $\pm 1,2^b$	110,4 $\pm 1,8^b$	101,0 $\pm 1,4$
180	100	1,0 $\pm 0,0^{acd}$	2,0 $\pm 0,0^c$	26,6 $\pm 0,3^c$	88,1 $\pm 1,4$	104,2 $\pm 1,5^{bd}$	115,6 $\pm 1,5^{bd}$	108,8 $\pm 1,7^{bd}$	105,1 $\pm 1,3^b$	98,6 $\pm 1,8^b$	105,1 $\pm 1,2^b$	108,5 $\pm 1,2^{bc}$	100,4 $\pm 1,5$
Сред- нее / Average	100	25,7 $\pm 0,3^{cd}$	29,7 $\pm 0,4^c$	60,9 $\pm 0,9^c$	100,2 $\pm 1,6$	115,9 $\pm 1,8^{bd}$	120,3 $\pm 2,0^{bd}$	113,6 $\pm 1,8^{bd}$	105,9 $\pm 1,6$	100,8 $\pm 1,4$	106,0 $\pm 1,4^b$	109,3 $\pm 2,1^b$	102,7 $\pm 1,1$

Примечание: Числовые значения соответствуют величине нормализованного относительного значения биolumинесценции А (%). Цветовая заливка – показателям ● – Tox, ● – EC₈₀, ● – EC₅₀, ● – EC₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также нетоксичным по сравнению с контролем и индуцирующим свечение свыше 5 и 25 %. Индексы соответствуют порогу достоверности $P \leq 0,05$ (a – сравнение с фоном; b – сравнение с CuSO₄; c – сравнение с кипреем; d – сравнение с УДЧ CuO («зеленый синтез»))

Note: The numerical values correspond to the normalized relative value of bioluminescence A (%). The color fill is ● – Tox, ● – EC₈₀, ● – EC₅₀, ● – EC₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, that is, UFPs concentrations causing over 95, 80, 50 and 20% biosensor quenching, as well as non-toxic compared to the control and inducing a glow of over 5 and 25%. The indices correspond to a confidence threshold of $P \leq 0.05$ (a – comparison with the background; b – comparison with CuSO₄; c – comparison with fireweed; d – comparison with UFPs CuO ("green synthesis"))

В то же время «зеленые» УДЧ CuO (табл. 2) продемонстрировали значительно более выраженный антибиотический эффект. Полное подавление свечения в опыте к 180 минуте экспозиции наблюдалось вплоть до 1,56 мг/мл ($P=0,002$), при этом пролонгированный характер действия сохранялся – интенсивность свечения уменьшалась прямо пропорционально длительности эксперимента. При этом зона биохимического перехода охватывала полный спектр эффективных концентраций – от токсичных (до 1,56 мг/мл), через EC_{80} ($7,81 \times 10^{-1}$ мг/мл), EC_{50} ($3,91 \times 10^{-1}$ мг/мл) и EC_{20} ($1,95 \times 10^{-1} - 9,77 \times 10^{-2}$ мг/мл), то есть подавляющих свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора соответственно, до нетоксичных доз (менее $4,88 \times 10^{-2}$ мг/мл). Следует также отметить, что наблюдаемые нормализованные относительные значения биолуминесценции достоверно отличались не только от светимости контроля, но и от аналогичного показателя для УДЧ (коммерческий аналог) вплоть до $7,81 \times 10^{-1}$ мг/мл ($P=0,002$).

Таблица 2. Нормализованное значение относительной биолуминесценции *Escherichia coli* K12 TG1 в среде с различным содержанием УДЧ CuO (зеленый синтез)
Table 2. The normalized value of relative bioluminescence of *Escherichia coli* K12 TG1 in an environment with a different content of UFPs CuO (green synthesis)

Вре- мя, мин / Time, min	Концентрация, мг/мл / Concentration, mg/ml												
	0	6,25	3,13	1,56	$7,81 \times 10^{-1}$	$3,91 \times 10^{-1}$	$1,95 \times 10^{-1}$	$9,77 \times 10^{-2}$	$4,88 \times 10^{-2}$	$2,44 \times 10^{-2}$	$1,22 \times 10^{-2}$	$6,1 \times 10^{-3}$	$3,05 \times 10^{-2}$
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	100	10,9 $\pm 0,2^d$	17,4 $\pm 0,3^{cd}$	55,1 $\pm 0,9^{cd}$	81,8 $\pm 0,9^d$	105,6 $\pm 1,8$	105,1 $\pm 1,1$	101,9 $\pm 1,7$	101,1 $\pm 1,7$	96,2 $\pm 1,7$	100,1 $\pm 1,5$	103,6 $\pm 1,3$	104,9 $\pm 2,0$
60	100	3,0 $\pm 0,0^{cd}$	2,9 $\pm 0,1^{cd}$	15,1 $\pm 0,2^{cd}$	60,5 $\pm 0,9^{cd}$	90,8 $\pm 1,3^d$	101,2 $\pm 1,5$	102,4 $\pm 1,1$	104,2 $\pm 2,0$	101,4 $\pm 1,2$	104,9 $\pm 1,2$	108,0 $\pm 1,7$	106,4 $\pm 1,2$
90	100	2,0 $\pm 0,0^{cd}$	1,0 $\pm 0,0^{cd}$	6,2 $\pm 0,1^{cd}$	51,4 $\pm 0,8^{cd}$	99,1 $\pm 1,2$	93,5 $\pm 1,7$	89,2 $\pm 1,4$	96,2 $\pm 1,3$	98,1 $\pm 1,3$	101,7 $\pm 1,5$	104,3 $\pm 1,8$	100,0 $\pm 1,5$
120	100	1,0 $\pm 0,0^{ad}$	1,0 $\pm 0,0^{ad}$	3,0 $\pm 0,0^{ad}$	30,2 $\pm 0,6^{cd}$	54,9 $\pm 0,9^d$	71,5 $\pm 1,0$	80,9 $\pm 1,6$	90,4 $\pm 1,4$	96,3 $\pm 1,5$	99,7 $\pm 1,4$	105,2 $\pm 1,2$	96,9 $\pm 1,5$
150	100	1,0 $\pm 0,0^{ad}$	0,0 $\pm 0,0^{ad}$	2,0 $\pm 0,0^{ad}$	19,4 $\pm 0,3^{cd}$	49,5 $\pm 0,9$	65,9 $\pm 1,0$	75,8 $\pm 0,8$	86,6 $\pm 1,4$	93,7 $\pm 1,3$	97,7 $\pm 1,6$	105,8 $\pm 1,4$	93,9 $\pm 1,6$
180	100	1,0 $\pm 0,0^{ad}$	0,0 $\pm 0,0^{ad}$	1,0 $\pm 0,0^{ad}$	13,7 $\pm 0,2^{cd}$	46,7 $\pm 0,5$	63,0 $\pm 1,2$	72,1 $\pm 0,9$	81,6 $\pm 0,9$	89,8 $\pm 1,4$	96,2 $\pm 1,5$	104,8 $\pm 1,5$	90,2 $\pm 1,2$
Сред- нее / Average	100	3,0 $\pm 0,0^d$	4,0 $\pm 0,0^{cd}$	13,6 $\pm 0,2^{cd}$	42,9 $\pm 0,7^{cd}$	74,3 $\pm 1,1^d$	83,4 $\pm 1,3^d$	87,1 $\pm 1,2$	93,5 $\pm 1,8$	95,9 $\pm 1,0$	99,9 $\pm 1,6$	105,4 $\pm 1,5$	98,6 $\pm 1,7$

Примечание: Числовые значения соответствуют величине нормализованного относительного значения биолуминесценции A (%). Цветовая заливка – показателям ● – Tox, ● – EC_{80} , ● – EC_{50} , ● – EC_{20} , ● – NTOX, ● – NTOX⁺, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также нетоксичным по сравнению с контролем и индуцирующим свечение свыше 5 %. Индексы соответствуют порогу достоверности $P \leq 0,05$ (a – сравнение с фоном; b – сравнение с CuSO₄; c – сравнение с УДЧ CuO; d – сравнение с кипреем)

Note: The numerical values correspond to the normalized relative value of bioluminescence A (%). The color fill is ● – Tox, ● – EC_{80} , ● – EC_{50} , ● – EC_{20} , ● – NTOX, ● – NTOX⁺, that is, UFPs concentrations causing over 95, 80, 50 and 20% biosensor quenching, as well as non-toxic compared to the control and inducing a glow of over 5%. The indices correspond to a confidence threshold of $P \leq 0.05$ (a – comparison with the background; b – comparison with CuSO₄; c – comparison with UFPs CuO; d – comparison with fireweed)

При этом, условно говоря, наблюдаемые в случае с «зелеными» УДЧ CuO эффекты представляли собой сумму от действия используемых при их синтезе материалов. В частности, среди изучаемых образцов максимальной токсичностью в отношении *Escherichia coli* K12 TG1 обладал сульфат меди (II) (табл. 3), причем в отличие от УДЧ интенсивность свечения здесь резко падала уже к 30 минуте, после чего держалась примерно на одном уровне, что говорит скорее о бактериостатическом эффекте, чем о бактерицидном действии и возможностях адаптации отдельных бактерий к высокому уровню ионов металла в суспензии. Так, в частности, при дозе $9,77 \times 10^{-2}$ мг/мл (Tox), начиная с 60 минуты, нормализованное относительное значение биolumинесценции держалось на уровне 4-5 % ($P=0,003$) в сравнении с УДЧ (коммерческий образец)); при дозах $4,88 \times 10^{-2}$ и $2,44 \times 10^{-2}$ (EC₈₀) – на уровне 6-10 % и 12-19 %, соответственно; а при дозе $1,22 \times 10^{-2}$ (EC₅₀) – в диапазоне от 33,0 % до 48,1 %. При этом отношение RLU в конце опыта к исходному значению росло обратно пропорционально концентрации CuSO₄ в растворе – от 6,7 % до 56,9 % соответственно.

Таблица 3. Нормализованное значение относительной биolumинесценции *Escherichia coli* K12 TG1 в среде с различным содержанием CuSO₄
Table 3. The normalized value of relative bioluminescence of *Escherichia coli* K12 TG1 in an environment with a different content of CuSO₄

Время, мин / Time, min	Концентрация, мг/мл / Concentration, mg/ml												
	0	$9,77 \times 10^{-2}$	$4,88 \times 10^{-2}$	$2,44 \times 10^{-2}$	$1,22 \times 10^{-2}$	$6,1 \times 10^{-3}$	$3,05 \times 10^{-3}$	$1,53 \times 10^{-3}$	$7,63 \times 10^{-4}$	$3,81 \times 10^{-4}$	$1,91 \times 10^{-4}$	$9,54 \times 10^{-5}$	$4,77 \times 10^{-5}$
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	100	4,0 $\pm 0,0^b$	21,4 $\pm 0,3^b$	42,7 $\pm 0,7^b$	80,5 $\pm 1,2$	110,1 $\pm 1,5$	113,5 $\pm 2,2$	111,7 $\pm 1,4$	112,6 $\pm 1,8$	110,9 $\pm 1,9$	110,8 $\pm 2,1$	111,2 $\pm 1,8$	109,9 $\pm 1,8$
60	100	4,0 $\pm 0,0^{bc}$	10,6 $\pm 0,2^{bc}$	19,2 $\pm 0,2^b$	48,1 $\pm 0,6$	85,0 $\pm 1,3^b$	106,4 $\pm 1,2$	110,4 $\pm 1,5$	109,8 $\pm 2,1$	109,5 $\pm 1,6$	108,7 $\pm 1,0$	106,8 $\pm 1,8$	104,8 $\pm 1,5$
90	100	4,0 $\pm 0,0^{bc}$	7,2 $\pm 0,1$	12,3 $\pm 0,2$	33,1 $\pm 0,5$	78,4 $\pm 1,4$	108,8 $\pm 1,5$	117,7 $\pm 1,5$	116,8 $\pm 1,8^b$	117,5 $\pm 2,2^b$	117,1 $\pm 2,0^{bd}$	114,6 $\pm 1,6$	111,7 $\pm 1,0$
120	100	4,2 $\pm 0,1^{abc}$	8,4 $\pm 0,2^{bc}$	13,1 $\pm 0,2$	37,3 $\pm 0,5$	107,6 $\pm 1,2$	147,4 $\pm 2,3^b$	144,5 $\pm 2,4^b$	143,4 $\pm 1,9^b$	139,3 $\pm 2,5^b$	133,4 $\pm 2,5^{bd}$	133,7 $\pm 2,2$	133,7 $\pm 1,7$
150	100	4,6 $\pm 0,2^{ac}$	6,0 $\pm 0,0^c$	12,8 $\pm 0,2$	38,3 $\pm 0,6$	120,8 $\pm 1,6^b$	136,2 $\pm 2,2^b$	124,9 $\pm 2,2^b$	122,2 $\pm 2,5^b$	122,0 $\pm 1,5^b$	116,4 $\pm 1,8$	117,8 $\pm 1,7$	117,6 $\pm 2,1$
180	100	5,0 $\pm 0,0^{ac}$	8,1 $\pm 0,1^{ac}$	12,1 $\pm 0,2$	39,9 $\pm 0,6$	124,9 $\pm 1,7^b$	121,4 $\pm 1,6^b$	120,0 $\pm 1,9^b$	115,3 $\pm 1,8$	115,9 $\pm 1,6$	110,7 $\pm 1,7$	112,2 $\pm 1,5$	112,6 $\pm 2,3$
Сред- нее / Average	100	4,0 $\pm 0,0^{bc}$	10,3 $\pm 0,2^{bc}$	18,9 $\pm 0,2$	46,4 $\pm 0,8$	104,5 $\pm 1,4$	122,2 $\pm 2,1^b$	121,5 $\pm 1,5^b$	120,0 $\pm 1,8^b$	119,1 $\pm 1,4^b$	116,3 $\pm 1,5^b$	116,3 $\pm 1,8$	115,1 $\pm 1,5$

Примечание: Числовые значения соответствуют величине нормализованного относительного значения биolumинесценции A (%). Цветовая заливка – показателям ● – Tox, ● – EC₈₀, ● – EC₅₀, ● – EC₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также нетоксичным по сравнению с контролем и индуцирующим свечение свыше 5 и 25 %. Индексы соответствуют порогу достоверности $P \leq 0,05$ (a – сравнение с фоном; b – сравнение кипреем; c – сравнение с УДЧ CuO; d – сравнение с УДЧ CuO («зеленый синтез»))

Note: The numerical values correspond to the normalized relative value of bioluminescence A (%). The color fill is ● – Tox, ● – EC₈₀, ● – EC₅₀, ● – EC₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, that is, UFPs concentrations causing over 95, 80, 50 and 20% biosensor quenching, as well as non-toxic compared to the control and inducing a glow of over 5 and 25%. The indices correspond to a confidence threshold of $P \leq 0.05$ (a – comparison with the background; b – comparison with fireweed; c – comparison with UFPs CuO; d – comparison with UFPs CuO ("green synthesis"))

Напротив, чистый экстракт кипрея, не только не подавлял свечения биосенсора, но стимулировал его (табл. 4). Так, максимум относительного нормализованного значения биоллюминесценции наблюдался при концентрации эквивалента растительной массы 12,5 мг/мл, составляя уже на 30 минуте 225,7 % ($P=0,016$) и достигая 578,2 % на 180 минуте. Этот эффект сохранялся в диапазоне концентраций от 50 до $7,81 \times 10^{-1}$ мг/мл, отношение RLU в конце опыта к исходному значению варьировало здесь от 127,1 % до 861,5 % против 148,9 % в контрольной ячейке.

Таблица 4. Нормализованное значение относительной биоллюминесценции *Escherichia coli* K12 TG1 в среде с различным содержанием эквивалента растительной массы в экстракте кипрея (*Epilobium angustifolium* L.)

Table 4. The normalized value of relative bioluminescence of *Escherichia coli* K12 TG1 in an environment with a different content of fireweed (*Epilobium angustifolium* L.)

Время, мин / Time, min	Концентрация, мг/мл / Concentration, mg/ml												
	0	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	$7,81 \times 10^{-1}$	$3,91 \times 10^{-1}$	$1,95 \times 10^{-1}$	$9,77 \times 10^{-2}$	$4,88 \times 10^{-2}$	$2,44 \times 10^{-2}$
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	100	218,0 $\pm 3,0^{bcd}$	215,5 $\pm 1,6^{bcd}$	242,4 $\pm 3,1^{bcd}$	225,7 $\pm 3,6^{bcd}$	232,4 $\pm 3,3^{bcd}$	242,4 $\pm 4,2^{bcd}$	243,5 $\pm 2,8^{bcd}$	248,2 $\pm 4,2^a$	243,1 $\pm 2,4^{abc}$	236,3 $\pm 3,8^{ab}$	206,4 $\pm 3,4^b$	152,4 $\pm 2,6^b$
60	100	225,8 $\pm 4,4^{bc}$	250,2 $\pm 3,9^{bcd}$	352,5 $\pm 5,7^{bcd}$	350,4 $\pm 4,6^{bcd}$	334,1 $\pm 4,9^{bcd}$	291,9 $\pm 4,1^{bcd}$	265,6 $\pm 3,9^{bcd}$	219,9 $\pm 3,3^{bcd}$	182,3 $\pm 2,7^b$	159,7 $\pm 1,6^b$	145,6 $\pm 2,7^b$	125,6 $\pm 1,4^b$
90	100	214,1 $\pm 3,4^{bc}$	276,1 $\pm 4,3^{bcd}$	414,6 $\pm 5,6^{bcd}$	411,1 $\pm 6,5^{bcd}$	333,4 $\pm 4,9^{bcd}$	274,9 $\pm 4,8^{bcd}$	211,2 $\pm 2,9^{bcd}$	161,9 $\pm 2,0^b$	123,6 $\pm 2,3^b$	115,6 $\pm 1,8^b$	103,3 $\pm 1,4$	97,0 $\pm 1,3$
120	100	222,1 $\pm 4,6^{bc}$	301,7 $\pm 4,0^{bcd}$	471,1 $\pm 6,5^{bcd}$	413,6 $\pm 7,0^{bcd}$	345,8 $\pm 4,2^{bcd}$	251,9 $\pm 3,9^{bcd}$	176,8 $\pm 3,1^{bcd}$	129,8 $\pm 2,2^{bcd}$	84,7 $\pm 1,2$	86,2 $\pm 1,6$	75,3 $\pm 1,1$	76,8 $\pm 1,2$
150	100	239,9 $\pm 2,9^{bc}$	332,4 $\pm 5,9^{bcd}$	522,2 $\pm 7,1^{bcd}$	458,4 $\pm 6,5^{bcd}$	333,0 $\pm 5,7^{bcd}$	249,8 $\pm 4,1^{bcd}$	148,0 $\pm 2,4^{bcd}$	106,3 $\pm 1,9^b$	68,0 $\pm 1,0$	61,7 $\pm 0,7$	56,1 $\pm 1,0$	64,8 $\pm 0,9$
180	100	275,9 $\pm 5,5^{bc}$	397,6 $\pm 5,9^{bcd}$	578,2 $\pm 6,6^{bcd}$	463,5 $\pm 7,1^{bcd}$	349,9 $\pm 5,1^{bcd}$	250,0 $\pm 3,1^{bcd}$	129,4 $\pm 2,1^{bcd}$	85,3 $\pm 1,1$	57,1 $\pm 1,0$	45,8 $\pm 0,5$	46,2 $\pm 0,5^c$	57,1 $\pm 0,8$
Сред- нее / Average	100	213,8 $\pm 1,7^{bc}$	267,8 $\pm 1,6^{bcd}$	383,1 $\pm 2,5^{bcd}$	346,2 $\pm 1,3^{bcd}$	289,7 $\pm 0,9^{bcd}$	237,3 $\pm 1,2^{bcd}$	182,3 $\pm 1,3^{bcd}$	150,2 $\pm 1,0^{bcd}$	122,8 $\pm 0,6^{bcd}$	115,0 $\pm 0,8^b$	104,8 $\pm 0,5^b$	96,3 $\pm 0,6$

Примечание: Числовые значения соответствуют величине нормализованного относительного значения биоллюминесценции А (%). Цветовая заливка – показателям ● – Тох, ● – ЕС₈₀, ● – ЕС₅₀, ● – ЕС₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, ● – NTOX³⁺, то есть концентрациям УДЧ, вызывающим свыше 95, 80, 50 и 20 % тушения биосенсора, а также нетоксичным по сравнению с контролем и индуцирующим свечение свыше 5; 25 % и 100 %. Индексы соответствуют порогу достоверности $P \leq 0,05$ (a – сравнение с фоном; b – сравнение с CuSO₄; c – сравнение с УДЧ CuO; d – сравнение с УДЧ CuO («зеленый синтез»))

Note: The numerical values correspond to the normalized relative value of bioluminescence A (%). The color fill is ● – Tox, ● – EC₈₀, ● – EC₅₀, ● – EC₂₀, ● – NTOX, ● – NTOX⁺, ● – NTOX²⁺, ● – NTOX³⁺, that is, UFPs concentrations causing over 95, 80, 50 and 20% biosensor quenching, as well as non-toxic compared to the control and inducing a glow of over 5; 25% and 100%. The indices correspond to a confidence threshold of $P \leq 0.05$ (a – comparison with the background; b – comparison with CuSO₄; c – comparison with UFPs CuO; d – comparison with UFPs CuO ("green synthesis"))

В то же время в диапазоне концентраций от $1,95 \times 10^{-1}$ до $1,22 \times 10^{-2}$ к концу экспозиции относительное значение биолюминесценции несколько снижалось, вплоть до 45,9 % при дозе $9,77 \times 10^{-2}$ мг/мл, формируя своего рода «метаболическую яму».

Обсуждение полученных результатов.

Биологические свойства УДЧ во многом определяются их малыми размерами, способностью адгезироваться на поверхности клеток, активным высвобождением ионов при деградации, индукцией окислительного стресса и, как следствие, инактивацией ряда ферментативных систем (He X et al., 2015; Wang D et al., 2016). Вкупе все это ведет к деструкции клеточных мембран, генетического и энергетического аппарата (Tsikourkitoudi V et al., 2022). Так, ранее, например, было показано, что УДЧ CuO (физический синтез) обладают существенным антибиотическим эффектом, подавляя рост и размножение таких патогенов, как *Bacillus subtilis*, *Klebsiella Pneumonia* и *Staphylococcus aureus* в диапазоне ингибирующих концентраций от 0,025 до 0,1 mM (Thakur S et al., 2020), вероятнее всего, за счет продукции супероксиданиона и гидроксила (Meghana S et al., 2015). Идентичный эффект был выявлен и в опыте с *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus vulgaris* (Khashan KS et al., 2016). Однако показанная здесь ингибирующая концентрация в отношении *Escherichia coli* составила всего 1 мг/мл, что значительно меньше продемонстрированной нами. Такое разногласие может быть обусловлено как различными подходами к синтезу, так и размерами УДЧ (в цитируемой работе наблюдалось два пика в 275 и 650 нм, против 559 нм у нас) или их формой. В другом исследовании было установлено, что УДЧ CuO способны также угнетать экспрессию генов *ptk*, *espA* и *mexX* у *Acinetobacter baumannii*, отвечающих за синтез бактериальной капсулы и образование биопленок (Al-Kadmy IM et al., 2023). При внесении УДЧ CuO в почвенные биомы отмечалось снижение активности систем электронного транспорта и процессов денитрификации за счет уменьшения ферментативной функции нитратредуктазы и редуктазы оксида азота на 21,1-42,1 % и 10,3-16,3 % соответственно (Zhao S et al., 2020). Под ингибирующее действие УДЧ CuO попадали и другие ферменты, к примеру – β -галактозидаза (Rabbani G et al., 2014) и протеиназа (Hosseini-Koupaei M et al., 2019). В работе Chen Z с соавторами (2019) УДЧ CuO снижали сульфатредуцирующую активность *Desulfovibrio vulgaris*, подавляя пролиферацию клеток и экспрессию генов, участвующих в работе электрон-транспортной цепи, а также генов, кодирующих сборку жгутиков. В общих чертах механизм антибиотического действия УДЧ металлов сводится к следующей схеме:

- 1) адгезия на поверхности клеток, в частности за счет электростатического притяжения между катионом и отрицательно заряженными структурами билипидного слоя (Kariuki R et al., 2025);
- 2) деградация с постепенным высвобождением активных ионов (He X et al., 2015);
- 3) проникновение ионов в клетку, индукция синтеза активных форм кислорода, окислительный стресс (Abdal Dayem A et al., 2017);
- 4) связывание катионов и АФК с белковыми молекулами, инактивация ферментов (Ahmed KBA et al., 2016);
- 5) молекулярное взаимодействие катионов и АФК с генетическим материалом клетки, контроль экспрессии генов и разрушение ДНК (Huq MA et al., 2023).

Все это в итоге ведет к лизису, что согласуется с наблюдаемым нами гашением люминесцентного отклика у *Escherichia coli* K12 TG1. При этом общий антибиотический эффект в этом случае развивается постепенно и пролонгируется за счет медленной деградации УДЧ. Напротив, минеральные соли демонстрируют значительно большую токсичность, причем в малом интервале времени, из-за лавинообразного проникновения свободных ионов в клетку (Lai Y et al., 2024). Так, ранее в экспериментах на дафниях (*Daphnia magna*) было показано, что токсичность медных УДЧ существенно уступала аналогичному показателю медно-солевого раствора: EC_{50} в первом случае составила 1,041 мг Cu/л, а во втором – 0,022 мг Cu/л (Adam N et al., 2015). В другой работе по оценке влияния меди (II) на ключевые микробные популяции в системах очистки сточных вод бы-

ло продемонстрировано, что ионы Cu^{2+} активно подавляют различные ферментирующие бактерии, аэробные гетеротрофы, разлагающие глюкозу, и нитрифицирующие бактерии ($\text{EC}_{50}=3,5; 4,6$ и $26,5$ мг $\text{Cu}/\text{л}$ соответственно). Концентрации меди (II), вызывающие 50 % ингибирование по метаболической активности денитрификаторов, составила $0,95$ мг $\text{Cu}/\text{л}$ (Ochoa-Herrera V et al., 2011). Таким образом, в очередной раз подтверждается предположение, что токсичность ультрадисперсных материалов обусловлена постепенным высвобождением ионов с их поверхности (Ramos-Zúñiga J et al., 2023).

В то же время свойства растительных экстрактов напрямую зависят от их химического состава и суммарной композиции биологически активных вторичных метаболитов. В частности, в экстракте кипрея (*Epilobium angustifolium*) обнаруживают соединения из группы фенольных кислот, флавоноидов, органических кислот и эфирных производных глюкозидов, а именно: лимонную кислоту, галловую кислоту, изомер ванильной кислоты, галлоилглюкозу, дигаллоилглюкозу, изомер гидроксибензойной кислоты, неохлорогеновую кислоту, изомер гидроксибензойной кислоты, изомер кумароилквинной кислоты, хлорогеновую кислоту, феруловую кислоту, кверцетина глюкоуронид, ванильную кислоту, мирицетина гексозид, гиперин галлата, мирицетина глюкоуронид, изокверцетин, кверцетина глюкозид, кемпферола глюкозид, кемпферола глюкоуронид, изомер гидроксибензойной кислоты, феруловую кислоту, афзелин (кемпферола рамнозид) и кофеиновую кислоту (Kowalik K et al., 2022). Такое молекулярное богатство обуславливает многие терапевтические свойства *Epilobium angustifolium* L., включая противогрибковое, антимикробное, антипролиферативное, противовоспалительное, антиандрогенное и антиоксидантное действие (Vitalone A and Allkanjari O, 2018). Последнее может быть причиной повышенной люминесценции *Escherichia coli* K12 TG1: введение растительного экстракта, в составе которого, помимо прочего, присутствуют дополнительные питательные вещества защищает бактерии от окислительного стресса. К примеру, ранее нами было установлено, что совместное введение экстракта душицы с УДЧ Co_3O_4 способствует депрессии токсических свойств последних (Шошин Д.Е. и др., 2022). В работе Samoilova Z с коллегами (2014) было показано, что растительные экстракты за счет полифенольной своей составляющей и хелатирующих свойств способны также модулировать восприимчивость *Escherichia coli* к различным антибиотикам. Так, экстракты *Arctostaphylos uva-ursi* и *Vaccinium vitis-idaea* при обработке бактериальной культуры ципрофлоксацином и ампициллином демонстрировали явный защитный эффект, причем была установлена хорошая корреляция между содержанием полифенолов и способностью экстрактов нивелировать окислительные повреждения ($r=0,88$). При этом наблюдаемая нами «метаболическая» яма по интенсивности свечения *Escherichia coli* K12 TG1 в диапазоне концентраций экстракта от $1,95 \times 10^{-1}$ до $1,22 \times 10^{-2}$ может быть связана со смещением баланса от антиоксидантных молекул и питательных веществ к преобладанию антибиотических компонентов. К примеру, хорошо известны бактерицидные свойства галловой кислоты (Tian Q et al., 2022), кверцетина (Nguyen TLA and Bhattacharya D, 2022), мирицетина (Zhou JL et al., 2024), кемпферола (Periferakis A et al., 2022) и других компонентов экстракта кипрея (Dreger M et al., 2023).

Наконец, «зеленым» УДЧ CuO как антибактериальным агентам также уделяется значительное внимание благодаря их уникальным физико-химическим свойствам и биосовместимости (Naz S et al., 2023). Например, Nagore et al. (2021) сообщили о зеленом синтезе УДЧ CuO с использованием экстракта листьев *Polyalthia longifolia*. Последние продемонстрировали существенный антибиотический эффект в отношении целого ряда бактериальных штаммов, таких как *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. В другом исследовании УДЧ CuO были синтезированы с помощью экстракта листьев алоэ вера и исследованы против *Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium branchiophilum* и *Pseudomonas fluorescens*, методом диффузии агаровых скважин. Значимая антибактериальная активность была показана против всех протестированных микроорганизмов: при 100 мкг/мл не наблюдалось роста бактерий, а зоны ингибирования составляли 21 , 19 и 17 мм; при 20 мкг/мл – 13 , 15 и 11 мм соответственно (Kumar PV et al., 2015). УДЧ CuO , полученные с помощью экстракта коры *Syzygium alternifolium*, были исследованы на предмет их антибактериального потенциала против *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,

Bacillus subtilis, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella typhimurium*. Среди них сильнее всего подавлялся рост у *Escherichia coli*, далее следовал *Staphylococcus aureus*. Минимальная ингибирующая концентрация здесь составила 20 мкг/мл (Yugandhar P et al., 2018). Интересно, что УДЧ CuO продемонстрировали и множественную фунгицидную активность (Naz S et al., 2023). При этом во всех описанных случаях отмечается, что «зеленые» УДЧ более эффективны в качестве аналога антибиотическим препаратам в сравнении с традиционными, полученными химическим и физическим путем, что согласуется с полученными нами данными. Механизм такого «превосходства» может быть обусловлен так называемым «капингом» или «кэппированием», т. е. наслоением малых молекул растительного происхождения на поверхность синтезируемой частицы, что, во-первых, позволяет контролировать ее рост, во-вторых, стабилизирует ее структуру и, наконец, придает дополнительные биологические свойства (Villagrán Z et al., 2024). Однако, здесь следует обратить внимание на различия регистрируемых минимальных ингибирующих концентраций в зависимости не только от их размера, но целевого микроорганизма, что требует дополнительных изысканий в поле понимания молекулярных механизмов действия «зеленых» УДЧ.

Заключение.

Таким образом, можно констатировать, что УДЧ CuO, полученные путем восстановления сульфата меди в экстракте кипрея («зеленый» синтез), обладают более выраженными бактерицидными свойствами в сравнении с коммерческим аналогом (физический синтез), подавляя свыше 20 % бактериальной люминесценции при концентрации $9,77 \times 10^{-2}$ мг/мл против 12,5 мг/мл. Потенциально это позволяет снизить вводимые в рационы животных дозировки УДЧ в качестве аналога антибиотическим препаратам и сократить затраты на производство, однако перед непосредственным введением в корма представленные УДЧ должны также пройти через серию комплексных испытаний по определению и исключению их возможных токсических эффектов в животных тканях, как то: гено- и цитотоксичность, нефро- и нейротоксичность на фоне варьирования физико-химических характеристик (размер, форма, активная площадь поверхности и ее электрические свойства, тип и характер покрытия, скорость деградации в физиологических средах организма). Среди ограничений проведенного исследования следует отметить отсутствие данных по форме изучаемых УДЧ и механизмам их бактерицидного действия, определение которых может стать целью дальнейших изысканий.

Список источников

1. Влияние фитохимических веществ на сигнальные молекулы системы «Quorum Sensing» у бактерий / Л.В. Власенко, К.Н. Атландерова, Г.К. Дускаев, Д.Е. Шошин // Международный вестник ветеринарии. 2023. № 2. С. 25-31. [Vlasenko LV, Atlanderova KN, Duskaev GK, Shoshin DE. The effect of phytochemicals on the signaling molecules of the "Quorum Sensing" system in bacteria. International Journal of Veterinary Medicine. 2023;2:25-31. (In Russ.)]. doi: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.25
2. Шошин Д.Е., Атландерова К.Н. Использование фитохимических веществ в кормлении крупного рогатого скота (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2025. Т. 60. № 2. С. 220-244. [Shoshin DE, Atlanderova KN. Use of phytochemicals in cattle feeding (review). Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2025;60(2):220-244. (In Russ.)]. doi: 10.15389/agrobiology.2025.2.220rus doi: 10.15389/agrobiology.2025.2.220eng
3. Шошин Д.Е., Сизова Е.А., Камирова А.М. Взаимодействие ультрадисперсных частиц оксида кобальта Co_3O_4 с экстрактом травы душицы *Origanum vulgare* // Животноводство и кормопроизводство. 2022. Т. 105. № 4. С. 35-48. [Shoshin D, Sizova E, Kamirova A. Interaction of Co_3O_4 cobalt oxide ultrafine particles with oregano herb extract *Origanum vulgare*. Animal Husbandry and Fodder Production. 2022;105(4):35-48. (In Russ.)]. doi: 10.33284/2658-3135-105-4-35

4. Abdal Dayem A, Hossain MK, Lee SB, Kim K, Saha SK, Yang GM, Choi HY, Cho SG. The role of reactive oxygen species (ROS) in the biological activities of metallic nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(1):120. doi: 10.3390/ijms18010120
5. Adam N, Vakurov A, Knapen D, Blust R. The chronic toxicity of CuO nanoparticles and copper salt to *Daphnia magna*. *Journal of Hazardous Materials*. 2015;283:416-422. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.09.037
6. Ahmed KBA, Raman T, Veerappan A. Future prospects of antibacterial metal nanoparticles as enzyme inhibitor. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;68:939-947. doi: 10.1016/j.msec.2016.06.034
7. Al-Kadmy IM, Aziz SN, Rheima AM, Abid SA, Suhail A, Hamzah IH, Naji EN, Besinis A, Hetta HF. Anti-capsular activity of CuO nanoparticles against *Acinetobacter baumannii* produce efflux pump. *Microbial Pathogenesis*. 2023;181:106184. doi: 10.1016/j.micpath.2023.106184
8. Awashra M, Mlynarz P. The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an in vitro metabolomic perspective. *Nanoscale Advances*. 2023;5(10):2674-2723. doi: 10.1039/D2NA00534D
9. Chen Z, Gao SH, Jin M, Sun S, Lu J, Yang P, Bond PL, Yuan Z, Guo J. Physiological and transcriptomic analyses reveal CuO nanoparticle inhibition of anabolic and catabolic activities of sulfate-reducing bacterium. *Environment International*. 2019;125:65-74. doi: 10.1016/j.envint.2019.01.058
10. Ding D, Wang B, Zhang X, Zhang J, Zhang H, Liu X, Gao Z, Yu Z. The spread of antibiotic resistance to humans and potential protection strategies. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2023;254:114734. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.114734
11. Djuragic O, Čabarkapa I, Šeremešić MM, Rakita S, Tomićić Z. Feed additives, their role, and technological properties. In: Arsenos G, Giannenas I, editors. *Sustainable Use of Feed Additives in Livestock*. Cham: Springer; 2023:17-45. doi: 10.1007/978-3-031-42855-5_2
12. Dreger M, Adameczak A, Foksowicz-Flaczyk J. Antibacterial and antimycotic activity of *Epilobium angustifolium* L. extracts: A review. *Pharmaceutics*. 2023;16(10):1419. doi: 10.3390/ph16101419
13. Gevrenova R, Zengin G, Ozturk G, Zheleva-Dimitrova D. Exploring the phytochemical profile and biological insights of *Epilobium angustifolium* L. herb. *Plants*. 2025;14(3):415. doi: 10.3390/plants14030415
14. Gudkov SV, Burmistrov DE, Fomina PA, Validov SZ, Kozlov VA. Antibacterial properties of copper oxide nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(21):11563. doi: 10.3390/ijms252111563
15. Harish V, Ansari MM, Tewari D, Gaur M, Yadav AB, García-Betancourt ML, Abdel-Haleem FM, Bechelany M, Barhoum A. Nanoparticle and nanostructure synthesis and controlled growth methods. *Nanomaterials*. 2022;12(18):3226. doi: 10.3390/nano12183226
16. He X, Pan Y, Zhang J, Li Y, Ma Y, Zhang P, Wu Z, Zhao Y, Chai Z, Zhang Z. Quantifying the total ionic release from nanoparticles after particle-cell contact. *Environmental pollution*. 2015;196:194-200. doi: 10.1016/j.envpol.2014.09.021
17. Hosseini-Koupaei M, Shareghi B, Saboury AA, Davar F, Sirotkin VA, Hosseini-Koupaei MH, Enteshari Z. Catalytic activity, structure and stability of proteinase K in the presence of biosynthesized CuO nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;122:732-744. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.001
18. Huq MA, Apu MAI, Ashrafudoulla M, Rahman MM, Parvez MAK, Balusamy SR, Rahman MS. Bioactive ZnO nanoparticles: biosynthesis, characterization and potential antimicrobial applications. *Pharmaceutics*. 2023;15(11):2634. doi: 10.3390/pharmaceutics15112634
19. Kariuki R, Mirihana KA, Penman R, Hung A, Meftahi N, Bryant G, Ramsland PA, Voitchovsky K, Conn CE, Contini C, Bryant SJ, Christofferson AJ, Elbourne A. Interactions of nanoparticles with living and synthetic bio-membrane. *Chemical Society Reviews*. 2025;54:10531-10615. doi: 10.1039/D5CS00841G

20. Khashan KS, Sulaiman GM, Abdulameer FA. Synthesis and antibacterial activity of CuO nanoparticles suspension induced by laser ablation in liquid. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2016;41(1):301-310. doi: 10.1007/s13369-015-1733-7
21. Kirubakaran D, Wahid JBA, Karmegam N, Jeevika R, Sellapillai L, Rajkumar M, SenthilKumar KJ. A comprehensive review on the green synthesis of nanoparticles: advancements in biomedical and environmental applications. *Biomedical Materials & Devices*. 2026;4(1):388-413. doi: 10.1007/s44174-025-00295-4
22. Kowalik K, Polak-Berecka M, Prendecka-Wróbel M, Pigoń-Zajac D, Niedźwiedź I, Sz wajgier D, Baranowska-Wójcik E, Waśko A. Biological activity of an *Epilobium angustifolium* L. (Fireweed) infusion after in vitro digestion. *Molecules*. 2022;27(3):1006. doi: 10.3390/molecules27031006
23. Kumar PV, Shameem U, Kollu P, Kalyani RL, Pammi SVN. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Aloe vera leaf extract and its antibacterial activity against fish bacterial pathogens. *BioNanoScience*. 2015;5(3):135-139. doi: 10.1007/s12668-015-0171-z
24. Lai Y, Gao FF, Ge RT, Liu R, Ma S, Liu X. Metal ions overloading and cell death. *Cell biology and toxicology*. 2024;40(1):72. doi: 10.1007/s10565-024-09910-4
25. Meghana S, Kabra P, Chakraborty S, Padmavathy N. Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *RSC advances*. 2015;5(16):12293-12299. doi: 10.1039/C4RA12163E
26. Michalak I, Dziergowska K, Alagawany M, Farag MR, El-Shall NA, Tuli HS, Emran TB, Dhama K. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry. *Veterinary Quarterly*. 2022;42(1):68-94. doi: 10.1080/01652176.2022.2073399
27. Miu BA, Dinischiotu A. New green approaches in nanoparticles synthesis: An overview. *Molecules*. 2022;27(19):6472. doi: 10.3390/molecules27196472
28. Murugan B, Rahman MZ, Fatimah I, Lett JA, Annaraj J, Kaus NHM, Al-Anber MA, Sagadevan S. Green synthesis of CuO nanoparticles for biological applications. *Inorganic Chemistry Communications*. 2023;155:111088. doi: 10.1016/j.inoche.2023.111088
29. Nagore P, Ghotekar S, Mane K, Ghoti A, Bilal M, Roy A. Structural properties and antimicrobial activities of Polyalthia longifolia leaf extract-mediated CuO nanoparticles. *BioNanoScience*. 2021;11(2):579-589. doi: 10.1007/s12668-021-00851-4
30. Nair GM, Sajini T, Mathew B. Advanced green approaches for metal and metal oxide nanoparticles synthesis and their environmental applications. *Talanta Open*. 2022;5:100080. doi: 10.1016/j.talo.2021.100080
31. Naz S, Gul A, Zia M, Javed R. Synthesis, biomedical applications, and toxicity of CuO nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2023;107(4):1039-1061. doi: 10.1007/s00253-023-12364-z
32. Naz S, Gul A, Zia M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET nanobiotechnology*. 2020;14(1):1-13. doi: 10.1049/iet-nbt.2019.0176
33. Nechitailo KS, Sizova EA, Lebedev SV, Miroshnikov SA, Ryazantseva KV, Yausheva EV, Shoshin DE, Fisinin VI. Modern approaches to the use of ultrafine and nanoparticles as components of feed additives in poultry farming. *World's Poultry Science Journal*. 2025;81(2):481-520. doi: 10.1080/00439339.2025.2457070
34. Nguyen TLA, Bhattacharya D. Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. *Molecules*. 2022;27(8):2494. doi: 10.3390/molecules27082494
35. Ochoa-Herrera V, León G, Banihani Q, Field JA, Sierra-Alvarez R. Toxicity of copper (II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems. *Science of the Total Environment*. 2011;412:380-385. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.09.072
36. Periferakis A, Periferakis K, Badarau IA, Petran EM, Popa DC, Caruntu A, Costache RS, Scheau C, Caruntu C, Costache DO. Kaempferol: antimicrobial properties, sources, clinical, and traditional applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(23):15054. doi: 10.3390/ijms232315054

37. Rabbani G, Khan MJ, Ahmad A, Maskat MY, Khan RH. Effect of copper oxide nanoparticles on the conformation and activity of β -galactosidase. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;123:96-105. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.08.035
38. Radulescu DM, Surdu VA, Fikai A, Fikai D, Grumezescu AM, Andronesu E. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: a review of the principles and biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(20):15397. doi: 10.3390/ijms242015397
39. Ramos-Zúñiga J, Bruna N, Pérez-Donoso JM. Toxicity mechanisms of copper nanoparticles and copper surfaces on bacterial cells and viruses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(13):10503. doi: 10.3390/ijms241310503
40. Samoiloza Z, Smirnova G, Muzyka N, Oktyabrsky O. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. *Microbiological research*. 2014;169(4):307-313. doi: 10.1016/j.micres.2013.06.013
41. Shoshin DE, Sizova EA, Yausheva EV, Ryazantseva KV, Nechitajlo KS, Kamirova AM. Ultrafine metallic particles as inducers of digestive processes in rumen: dry matter digestibility of feed and enzymatic activity. *Scientifica*. 2025;2025(1):9556646. doi: 10.1155/sci5/9556646
42. Sizova E, Miroshnikov S, Yausheva E, Kosyan D. Comparative characteristic of toxicity of nanoparticles using the test of bacterial bioluminescence. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2015;12:361-368. doi: 10.13005/bbra/2211
43. Sizova EA, Shoshin DE, Yausheva EV, Ivanishcheva AP, Nechitailo KS, Ryazantseva KV. Influence of lactulose as a composition of organic-mineral feed additive on broiler chicken productivity, feed digestibility, and microbiome. *Veterinary World*. 2025;18(7):2095-2105. doi: 10.14202/vetworld.2025.2095-2105
44. Tang H, Xu M, Luo J, Zhao L, Ye G, Shi F, Lv C, Chen H, Wang Y, Li Y. Liver toxicity assessments in rats following sub-chronic oral exposure to copper nanoparticles. *Environmental Sciences Europe*. 2019;31(1):30. doi: 10.1186/s12302-019-0214-0
45. Thakur S, Shandilya M, Thakur S, Sharma DK. Growth mechanism and characterization of CuO nanostructure as a potent antimicrobial agent. *Surfaces and Interfaces*. 2020;20:100551. doi: 10.1016/j.surf.2020.100551
46. Tian Q, Wei S, Su H, Zheng S, Xu S, Liu M, Bo R, Li J. Bactericidal activity of gallic acid against multi-drug resistance *Escherichia coli*. *Microbial Pathogenesis*. 2022;173:105824. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105824
47. Tsang T, Davis CI, Brady DC. Copper biology. *Current Biology*. 2021;31(9):R421-R427. doi: 10.1016/j.cub.2021.03.054
48. Tsikourkitoudi V, Henriques-Normark B, Sotiriou GA. Inorganic nanoparticle engineering against bacterial infections. *Current Opinion in Chemical Engineering*. 2022;38:100872. doi: 10.1016/j.coche.2022.100872
49. Villagrán Z, Anaya-Esparza LM, Velázquez-Carriles CA, Silva-Jara JM, Ruvalcaba-Gómez JM, Aurora-Vigo EF, Rodríguez-Lafitte E, Rodríguez-Barajas N, Balderas-León I, Martínez-Esquivias F. Plant-based extracts as reducing, capping, and stabilizing agents for the green synthesis of inorganic nanoparticles. *Resources*. 2024;13(6):70. doi: 10.3390/resources13060070
50. Vitalone A, Allkanjari O. *Epilobium* spp: pharmacology and phytochemistry. *Phytotherapy Research*. 2018;32(7):1229-1240. doi: 10.1002/ptr.6072
51. Vlase AM, Toiu A, Tomuța I, Vlase L, Muntean D, Casian T, Fizeșan I, Nadăș GC, Novac CȘ, Tămaș M, Crișan G. *Epilobium* species: from optimization of the extraction process to evaluation of biological properties. *Antioxidants*. 2023;12(1):91. doi: 10.3390/antiox12010091
52. Wang D, Lin Z, Wang T, Yao Z, Qin M, Zheng S, Lu W. Where does the toxicity of metal oxide nanoparticles come from: the nanoparticles, the ions, or a combination of both? *Journal of Hazardous Materials*. 2016;308:328-334. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.01.066
53. Wang H, Long W, Chadwick D, Zhang X, Zhang S, Piao X, Hou Y. Dietary acidifiers as an alternative to antibiotics for promoting pig growth performance: A systematic review and meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*. 2022;289:115320. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2022.115320

54. Yugandhar P, Vasavi T, Jayavardhana Rao Y, Uma Maheswari Devi P, Narasimha G, Savithramma N. Cost effective, green synthesis of copper oxide nanoparticles using fruit extract of *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp., characterization and evaluation of antiviral activity. *Journal of Cluster Science*. 2018;29(4):743-755. doi: 10.1007/s10876-018-1395-1
55. Zhao S, Su X, Wang Y, Yang X, Bi M, He Q, Chen Y. Copper oxide nanoparticles inhibited denitrifying enzymes and electron transport system activities to influence soil denitrification and N₂O emission. *Chemosphere*. 2020;245:125394. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125394
56. Zheng S, Li Y, Chen C, Wang N, Yang F. Solutions to the dilemma of antibiotics use in livestock and poultry farming: regulation policy and alternatives. *Toxics*. 2025;13(5):348. doi: 10.3390/toxics13050348
57. Zhou JL, Chen HH, Xu J, Huang MY, Wang JF, Shen HJ, Shen SX, Gao CX, Qian CD. Myricetin acts as an inhibitor of type II NADH Dehydrogenase from *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2024;29(10):2354. doi: 10.3390/molecules29102354

References

1. Vlasenko LV, Atlanderova KN, Duskaev GK, Shoshin DE. The effect of phytochemicals on the signaling molecules of the "Quorum Sensing" system in bacteria. *International Journal of Veterinary Medicine*. 2023;2:25-31. doi: 10.52419/issn2072-2419.2023.2.25
2. Shoshin DE, Atlanderova KN. Use of phytochemicals in cattle feeding (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2025;60(2):220-244. doi: 10.15389/agrobiology.2025.2.220rus doi: 10.15389/agrobiology.2025.2.220eng
3. Shoshin D, Sizova E, Kamirova A. Interaction of Co₃O₄ cobalt oxide ultrafine particles with oregano herb extract *Origanum vulgare*. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2022;105(4):35-48. doi: 10.33284/2658-3135-105-4-35
4. Abdal Dayem A, Hossain MK, Lee SB, Kim K, Saha SK, Yang GM, Choi HY, Cho SG. The role of reactive oxygen species (ROS) in the biological activities of metallic nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(1):120. doi: 10.3390/ijms18010120
5. Adam N, Vakurov A, Knapen D, Blust R. The chronic toxicity of CuO nanoparticles and copper salt to *Daphnia magna*. *Journal of Hazardous Materials*. 2015;283:416-422. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.09.037
6. Ahmed KBA, Raman T, Veerappan A. Future prospects of antibacterial metal nanoparticles as enzyme inhibitor. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;68:939-947. doi: 10.1016/j.msec.2016.06.034
7. Al-Kadmy IM, Aziz SN, Rheima AM, Abid SA, Suhail A, Hamzah IH, Naji EN, Besinis A, Hetta HF. Anti-capsular activity of CuO nanoparticles against *Acinetobacter baumannii* produce efflux pump. *Microbial Pathogenesis*. 2023;181:106184. doi: 10.1016/j.micpath.2023.106184
8. Awashra M, Mlynarz P. The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an in vitro metabolomic perspective. *Nanoscale Advances*. 2023;5(10):2674-2723. doi: 10.1039/D2NA00534D
9. Chen Z, Gao SH, Jin M, Sun S, Lu J, Yang P, Bond PL, Yuan Z, Guo J. Physiological and transcriptomic analyses reveal CuO nanoparticle inhibition of anabolic and catabolic activities of sulfate-reducing bacterium. *Environment International*. 2019;125:65-74. doi: 10.1016/j.envint.2019.01.058
10. Ding D, Wang B, Zhang X, Zhang J, Zhang H, Liu X, Gao Z, Yu Z. The spread of antibiotic resistance to humans and potential protection strategies. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2023;254:114734. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.114734
11. Djuragic O, Čabarkapa I, Šeremešić MM, Rakita S, Tomićić Z. Feed additives, their role, and technological properties. In: Arsenos G, Giannenas I, editors. *Sustainable Use of Feed Additives in Livestock*. Cham: Springer; 2023:17-45. doi: 10.1007/978-3-031-42855-5_2
12. Dreger M, Adameczak A, Foksowicz-Flaczyk J. Antibacterial and antimycotic activity of *Epilobium angustifolium* L. extracts: A review. *Pharmaceuticals*. 2023;16(10):1419. doi: 10.3390/ph16101419

13. Gevrenova R, Zengin G, Ozturk G, Zheleva-Dimitrova D. Exploring the phytochemical profile and biological insights of *Epilobium angustifolium* L. herb. *Plants*. 2025;14(3):415. doi: 10.3390/plants14030415
14. Gudkov SV, Burmistrov DE, Fomina PA, Validov SZ, Kozlov VA. Antibacterial properties of copper oxide nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(21):11563. doi: 10.3390/ijms252111563
15. Harish V, Ansari MM, Tewari D, Gaur M, Yadav AB, García-Betancourt ML, Abdel-Haleem FM, Bechelany M, Barhoum A. Nanoparticle and nanostructure synthesis and controlled growth methods. *Nanomaterials*. 2022;12(18):3226. doi: 10.3390/nano12183226
16. He X, Pan Y, Zhang J, Li Y, Ma Y, Zhang P, Wu Z, Zhao Y, Chai Z, Zhang Z. Quantifying the total ionic release from nanoparticles after particle-cell contact. *Environmental pollution*. 2015;196:194-200. doi: 10.1016/j.envpol.2014.09.021
17. Hosseini-Koupaei M, Shareghi B, Saboury AA, Davar F, Sirotkin VA, Hosseini-Koupaei MH, Enteshari Z. Catalytic activity, structure and stability of proteinase K in the presence of biosynthesized CuO nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;122:732-744. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.001
18. Huq MA, Apu MAI, Ashrafudoulla M, Rahman MM, Parvez MAK, Balusamy SR, Rahman MS. Bioactive ZnO nanoparticles: biosynthesis, characterization and potential antimicrobial applications. *Pharmaceutics*. 2023;15(11):2634. doi: 10.3390/pharmaceutics15112634
19. Kariuki R, Mirihana KA, Penman R, Hung A, Meftahi N, Bryant G, Ramsland PA, Voitchovsky K, Conn CE, Contini C, Bryant SJ, Christofferson AJ, Elbourne A. Interactions of nanoparticles with living and synthetic bio-membrane. *Chemical Society Reviews*. 2025;54:10531-10615. doi: 10.1039/D5CS00841G
20. Khashan KS, Sulaiman GM, Abdulameer FA. Synthesis and antibacterial activity of CuO nanoparticles suspension induced by laser ablation in liquid. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2016;41(1):301-310. doi: 10.1007/s13369-015-1733-7
21. Kirubakaran D, Wahid JBA, Karmegam N, Jeevika R, Sellapillai L, Rajkumar M, SenthilKumar KJ. A comprehensive review on the green synthesis of nanoparticles: advancements in biomedical and environmental applications. *Biomedical Materials & Devices*. 2026;4(1):388-413. doi: 10.1007/s44174-025-00295-4
22. Kowalik K, Polak-Berecka M, Prendecka-Wróbel M, Pigoń-Zajac D, Niedźwiedz I, Sz wajgier D, Baranowska-Wójcik E, Waśko A. Biological activity of an *Epilobium angustifolium* L. (Fireweed) infusion after in vitro digestion. *Molecules*. 2022;27(3):1006. doi: 10.3390/molecules27031006
23. Kumar PV, Shameem U, Kollu P, Kalyani RL, Pammi SVN. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using Aloe vera leaf extract and its antibacterial activity against fish bacterial pathogens. *BioNanoScience*. 2015;5(3):135-139. doi: 10.1007/s12668-015-0171-z
24. Lai Y, Gao FF, Ge RT, Liu R, Ma S, Liu X. Metal ions overloading and cell death. *Cell biology and toxicology*. 2024;40(1):72. doi: 10.1007/s10565-024-09910-4
25. Meghana S, Kabra P, Chakraborty S, Padmavathy N. Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *RSC advances*. 2015;5(16):12293-12299. doi: 10.1039/C4RA12163E
26. Michalak I, Dziargowska K, Alagawany M, Farag MR, El-Shall NA, Tuli HS, Emran TB, Dhama K. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry. *Veterinary Quarterly*. 2022;42(1):68-94. doi: 10.1080/01652176.2022.2073399
27. Miu BA, Dinischiotu A. New green approaches in nanoparticles synthesis: An overview. *Molecules*. 2022;27(19):6472. doi: 10.3390/molecules27196472
28. Murugan B, Rahman MZ, Fatimah I, Lett JA, Annaraj J, Kaus NHM, Al-Anber MA, Sagadevan S. Green synthesis of CuO nanoparticles for biological applications. *Inorganic Chemistry Communications*. 2023;155:111088. doi: 10.1016/j.inoche.2023.111088

29. Nagore P, Ghotekar S, Mane K, Ghoti A, Bilal M, Roy A. Structural properties and antimicrobial activities of *Polyalthia longifolia* leaf extract-mediated CuO nanoparticles. *BioNanoScience*. 2021;11(2):579-589. doi: 10.1007/s12668-021-00851-4
30. Nair GM, Sajini T, Mathew B. Advanced green approaches for metal and metal oxide nanoparticles synthesis and their environmental applications. *Talanta Open*. 2022;5:100080. doi: 10.1016/j.talo.2021.100080
31. Naz S, Gul A, Zia M, Javed R. Synthesis, biomedical applications, and toxicity of CuO nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2023;107(4):1039-1061. doi: 10.1007/s00253-023-12364-z
32. Naz S, Gul A, Zia M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET nanobiotechnology*. 2020;14(1):1-13. doi: 10.1049/iet-nbt.2019.0176
33. Nechitailo KS, Sizova EA, Lebedev SV, Miroshnikov SA, Ryazantseva KV, Yausheva EV, Shoshin DE, Fisinin VI. Modern approaches to the use of ultrafine and nanoparticles as components of feed additives in poultry farming. *World's Poultry Science Journal*. 2025;81(2):481-520. doi: 10.1080/00439339.2025.2457070
34. Nguyen TLA, Bhattacharya D. Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. *Molecules*. 2022;27(8):2494. doi: 10.3390/molecules27082494
35. Ochoa-Herrera V, León G, Banihani Q, Field JA, Sierra-Alvarez R. Toxicity of copper (II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems. *Science of the Total Environment*. 2011;412:380-385. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.09.072
36. Periferakis A, Periferakis K, Badarau IA, Petran EM, Popa DC, Caruntu A, Costache RS, Scheau C, Caruntu C, Costache DO. Kaempferol: antimicrobial properties, sources, clinical, and traditional applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(23):15054. doi: 10.3390/ijms232315054
37. Rabbani G, Khan MJ, Ahmad A, Maskat MY, Khan RH. Effect of copper oxide nanoparticles on the conformation and activity of β -galactosidase. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;123:96-105. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.08.035
38. Radulescu DM, Surdu VA, Fikai A, Fikai D, Grumezescu AM, Andronescu E. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: a review of the principles and biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(20):15397. doi: 10.3390/ijms242015397
39. Ramos-Zúñiga J, Bruna N, Pérez-Donoso JM. Toxicity mechanisms of copper nanoparticles and copper surfaces on bacterial cells and viruses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(13):10503. doi: 10.3390/ijms241310503
40. Samoilova Z, Smirnova G, Muzyka N, Oktyabrsky O. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. *Microbiological research*. 2014;169(4):307-313. doi: 10.1016/j.micres.2013.06.013
41. Shoshin DE, Sizova EA, Yausheva EV, Ryazantseva KV, Nechitajlo KS, Kamirova AM. Ultrafine metallic particles as inducers of digestive processes in rumen: dry matter digestibility of feed and enzymatic activity. *Scientifica*. 2025;2025(1):9556646. doi: 10.1155/sci5/9556646
42. Sizova E, Miroshnikov S, Yausheva E, Kosyan D. Comparative characteristic of toxicity of nanoparticles using the test of bacterial bioluminescence. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 2015;12:361-368. doi: 10.13005/bbra/2211
43. Sizova EA, Shoshin DE, Yausheva EV, Ivanishcheva AP, Nechitailo KS, Ryazantseva KV. Influence of lactulose as a composition of organic-mineral feed additive on broiler chicken productivity, feed digestibility, and microbiome. *Veterinary World*. 2025;18(7):2095-2105. doi: 10.14202/vetworld.2025.2095-2105
44. Tang H, Xu M, Luo J, Zhao L, Ye G, Shi F, Lv C, Chen H, Wang Y, Li Y. Liver toxicity assessments in rats following sub-chronic oral exposure to copper nanoparticles. *Environmental Sciences Europe*. 2019;31(1):30. doi: 10.1186/s12302-019-0214-0
45. Thakur S, Shandilya M, Thakur S, Sharma DK. Growth mechanism and characterization of CuO nanostructure as a potent antimicrobial agent. *Surfaces and Interfaces*. 2020;20:100551. doi: 10.1016/j.surfin.2020.100551

46. Tian Q, Wei S, Su H, Zheng S, Xu S, Liu M, Bo R, Li J. Bactericidal activity of gallic acid against multi-drug resistance *Escherichia coli*. Microbial Pathogenesis. 2022;173:105824. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105824
47. Tsang T, Davis CI, Brady DC. Copper biology. Current Biology. 2021;31(9):R421-R427. doi: 10.1016/j.cub.2021.03.054
48. Tsikourkitoudi V, Henriques-Normark B, Sotiriou GA. Inorganic nanoparticle engineering against bacterial infections. Current Opinion in Chemical Engineering. 2022;38:100872. doi: 10.1016/j.coche.2022.100872
49. Villagrán Z, Anaya-Esparza LM, Velázquez-Carriles CA, Silva-Jara JM, Ruvalcaba-Gómez JM, Aurora-Vigo EF, Rodríguez-Lafitte E, Rodríguez-Barajas N, Balderas-León I, Martínez-Esquivias F. Plant-based extracts as reducing, capping, and stabilizing agents for the green synthesis of inorganic nanoparticles. Resources. 2024;13(6):70. doi: 10.3390/resources13060070
50. Vitalone A, Allkanjari O. Epilobium spp: pharmacology and phytochemistry. Phytotherapy Research. 2018;32(7):1229-1240. doi: 10.1002/ptr.6072
51. Vlase AM, Toiu A, Tomuță I, Vlase L, Muntean D, Casian T, Fizeșan I, Nădăș GC, Novac CȘ, Tămaș M, Crișan G. Epilobium species: from optimization of the extraction process to evaluation of biological properties. Antioxidants. 2023;12(1):91. doi: 10.3390/antiox12010091
52. Wang D, Lin Z, Wang T, Yao Z, Qin M, Zheng S, Lu W. Where does the toxicity of metal oxide nanoparticles come from: the nanoparticles, the ions, or a combination of both? Journal of Hazardous Materials. 2016;308:328-334. doi: 10.1016/j.jhazmat.2016.01.066
53. Wang H, Long W, Chadwick D, Zhang X, Zhang S, Piao X, Hou Y. Dietary acidifiers as an alternative to antibiotics for promoting pig growth performance: A systematic review and meta-analysis. Animal Feed Science and Technology. 2022;289:115320. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2022.115320
54. Yugandhar P, Vasavi T, Jayavardhana Rao Y, Uma Maheswari Devi P, Narasimha G, Savithramma N. Cost effective, green synthesis of copper oxide nanoparticles using fruit extract of *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp., characterization and evaluation of antiviral activity. Journal of Cluster Science. 2018;29(4):743-755. doi: 10.1007/s10876-018-1395-1
55. Zhao S, Su X, Wang Y, Yang X, Bi M, He Q, Chen Y. Copper oxide nanoparticles inhibited denitrifying enzymes and electron transport system activities to influence soil denitrification and N₂O emission. Chemosphere. 2020;245:125394. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125394
56. Zheng S, Li Y, Chen C, Wang N, Yang F. Solutions to the dilemma of antibiotics use in livestock and poultry farming: regulation policy and alternatives. Toxics. 2025;13(5):348. doi: 10.3390/toxics13050348
57. Zhou JL, Chen HH, Xu J, Huang MY, Wang JF, Shen HJ, Shen SX, Gao CX, Qian CD. Myricetin acts as an inhibitor of type II NADH Dehydrogenase from *Staphylococcus aureus*. Molecules. 2024;29(10):2354. doi: 10.3390/molecules29102354

Информация об авторах:

Даниил Евгеньевич Шошин, аспирант, младший научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; ассистент научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-965-932-53-67.

Кристина Владимировна Рязанцева, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-986-775-95-45.

Ксения Сергеевна Нечитайло, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; старший преподаватель научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-905-893-55-99.

Елена Анатольевна Сизова, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований и металломики в животноводстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; профессор научно-образовательного центра «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет имени В.А. Бондаренко, 460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 8-912-344-99-07.

Андрей Михайлович Брежнев, аспирант, лаборант-исследователь отдела физиологии, биохимии и морфологии животных, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-912-844-34-59.

Алексей Михайлович Гулюкин, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологии, Федеральный исследовательский центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Ю.Р. Коваленко Российской академии наук, 109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, стр. 1.

Information about the authors:

Daniil E Shoshin, post-graduate student, Junior Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., 460000, Orenburg, Russia; Assistant at the Scientific and Educational Center "Biological Systems and Nanotechnology", Orenburg State University named after VA Bondarenko, 13 Pobedy ave., Orenburg, 460018, tel.: 8-965-932-53-67.

Kristina V Ryazantseva, Cand. Sci. (Biology), Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., 460000, Orenburg, Russia, tel.: 8-986-775-95-45.

Ksenia S Nechitailo, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., 460000, Orenburg, Russia; senior lecturer at the Scientific and Educational Center "Biological Systems and Nanotechnology", Orenburg State University named after VA Bondarenko, 13 Pobedy ave., Orenburg, 460018, tel.: 8-905-893-55-99.

Elena A Sizova, Dr Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher at the Laboratory of Molecular Genetic Research and Metallomics in Animal Husbandry, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., 460000, Orenburg, Russia; Professor at the Scientific and Educational Center "Biological Systems and Nanotechnology", Orenburg State University named after VA Bondarenko, 13 Pobedy ave., Orenburg, 460018, tel.: 8-912-344-99-07.

Andrey M Brezhnev, post-graduate student, Laboratory Researcher at the Department of Physiology, Biochemistry and Morphology of Animals, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., 460000, Orenburg, Russia, tel.: 8-912-844-34-59.

Alexey M Gulyukin, Dr Sci. (Veterinary), Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Epizootology, Federal Research Center–All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 24, Ryazanskiy prospect, build. 1, Moscow, 109428.

Статья поступила в редакцию 18.02.2026; одобрена после рецензирования 27.05.2026; принята к публикации 15.06.2026.

The article was submitted 18.02.2026; approved after reviewing 27.05.2026; accepted for publication 15.06.2026.