

Лейкоцитарный пептидный комплекс с антибактериальным и противовоспалительным эффектом

Л. В. ВОЛКОВА¹, А. Г. ВОЛКОВ¹, Т. В. ПОЛЮДОВА², И. П. РУДАКОВА³

¹ Пермский национальный исследовательский политехнический университет (ПНИПУ), Пермь, Россия

² Институт экологии и генетики микроорганизмов уральского отделения российской академии наук (ИЭГМ УРО РАН), Пермь, Россия

³ Пермская государственная фармацевтическая академия (ПГФА), Пермь, Россия

Резюме

Цель — изучение ингибирующей и бактерицидной активностей в отношении бактерий разных систематических групп в условиях *in vitro*, а также противовоспалительной активности лейкоцитарного пептидного комплекса в модельном эксперименте каррагенинового отёка. **Материал и методы.** Лейкоцитарный белково-пептидный комплекс получали ультразвуковым воздействием на лейкоциты крови здоровых доноров с последующим фракционированием посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии. Антибактериальную активность выделенной фракции определяли методом двукратных разведений. Противовоспалительную активность исследовали на модели острого каррагенинового отёка, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу белых нелинейных крыс раствора каррагенина. **Результаты.** Показана выраженная антибактериальная активность лейкоцитарного пептидного комплекса, состоящего из пептидов с молекулярной массой менее 6,5 кДа в отношении представителей бактерий *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis* и *Staphylococcus aureus*. Минимальные подавляющие концентрации комплекса составляли 0,5, 0,25 и 0,125 мг/мл соответственно. Внутривентральное введение лейкоцитарного белково-пептидного комплекса по сравнению с препаратом сравнения (нимесулид) обеспечивает статистически значимое торможение воспалительной реакции, достигающее 62,3%. Эффективность противовоспалительного действия лейкоцитарного белково-пептидного комплекса превышала таковую нимесулида более чем на 13%. **Выводы.** Показана возможность создания противовоспалительного препарата с выраженной антибактериальной активностью на основе пептидного комплекса, выделенного из лейкоцитов крови человека при помощи простого, быстрого и эффективного метода ультразвукового воздействия.

Ключевые слова: антибактериальные пептиды; противовоспалительная активность; каррагениновый отёк; лейкоцитарный пептидный комплекс

Для цитирования: Волкова Л. В., Волков А. Г., Полюдова Т. В., Рудакова И. П. Лейкоцитарный пептидный комплекс с антибактериальным и противовоспалительным эффектом. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 28–33. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-28-33>. EDN: UJZEZS.

Leukocyte Peptide Complex with Antibacterial and Anti-Inflammatory Effects

LARISA V. VOLKOVA¹, ALEXANDER G. VOLKOV¹,
TATYANA V. POLYUDOVA², IRINA P. RUDAKOVA³

¹ Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

³ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

Abstract

The aim was to study the inhibitory and bactericidal activity against bacteria of different systematic groups *in vitro*, as well as the anti-inflammatory activity of the leukocyte peptide complex in a model experiment of carrageenan edema. **Material and Methods.** Leukocyte protein-peptide complex was obtained by ultrasound treatment of healthy donors' blood leukocytes with subsequent fractionation via high-performance liquid chromatography. Antibacterial activity of the isolated fraction was determined using the twofold dilution method. Anti-inflammatory activity was studied on the model of acute carrageenin edema caused by subplantar injection of carrageenin solution into the hind paw of white nonlinear rats. **Results.** The leukocyte peptide complex consisting of peptides with molar mass less than 6.5 kDa demonstrated a pronounced antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis*, and *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentrations of the complex were 0.5, 0.25, and 0.125 mg/mL, respectively. Intraperitoneal administration of leukocyte protein-peptide complex compared to the reference drug (nimesulide) provides a statistically significant inhibition of the inflammatory response, reaching 62.3%. The anti-inflammatory efficacy of the leukocyte protein-peptide

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: wolkowalw@mail.ru



*Correspondence to:
E-mail: wolkowalw@mail.ru



EDN: UJZEZS

complex exceeded that of nimesulide by more than 13%. **Conclusion.** The possibility of creating an anti-inflammatory drug with pronounced antibacterial activity based on a peptide complex isolated from human blood leukocytes using a simple, fast, and effective method of ultrasound exposure has been shown.

Keywords: antibacterial peptides; anti-inflammatory activity; carrageenan edema; leukocyte peptide complex

For citation: Volkova L. V., Volkov A. G., Polyudova T. V., Rudakova I. P. Leukocyte peptide complex with antibacterial and anti-inflammatory effects. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 28–33. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-28-33>. EDN: UJZEZS. (in Russian)

Введение

Одной из актуальных проблем современной медицины является поиск и разработка новых высокоэффективных лекарственных субстанций, сочетающих несколько биологических свойств, в том числе антимикробные и противовоспалительные эффекты. Инфекционные заболевания по своей частоте находятся на первом месте среди прочих болезней. По некоторым данным, более 70% всех известных патогенных бактерий устойчивы как минимум к одному из используемых антибиотиков, а антибиотикорезистентность является одной из основных проблем современного здравоохранения. Воспаление, в свою очередь, универсальный ответ организма на различные негативные факторы, лежащий в основе большого количества заболеваний различной природы. Бактериальная инфекция всегда сопровождается воспалительной реакцией, которая при длительном течении приводит к повреждению ткани, поэтому ингибирование медиаторов воспаления может уменьшить негативные эффекты инфекции. Для подавления воспалительного процесса применяют нестероидные противовоспалительные препараты, которые зачастую являются причиной нежелательных осложнений [1]. В связи с этим поиск новых безопасных противовоспалительных и антибактериальных соединений является высокоактуальной задачей.

Антимикробные пептиды (АМП) являются наиболее перспективной альтернативой традиционным антибиотикам, а возможно и нестероидным противовоспалительным препаратам. АМП сочетают в себе ряд свойств — это противомикробная активность, противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты [2].

Ранее из лейкоцитов крови человека была выделена пептидная субстанция с выраженными антимикробными свойствами [3]. Лейкоцитарный комплекс содержит 15 основных пептидов с молекулярной массой от 440 до 3000 Да [4]. Учитывая происхождение исследуемого пептидного комплекса, было спрогнозировано и экспериментально доказано отсутствие его токсичности [5, 6]. Выделенный нами лейкоцитарный пептидный комплекс (ЛПК) может стать основой для получения иммунобиологического препарата со свойствами, характерными для известных АМП.

Цель работы — изучение основных свойств ЛПК, а именно ингибирующей и бактерицидной активностей в отношении представителей бактерий с принципиально разным строением клеточной стенки в условиях *in vitro*, а также противовоспалительной активности ЛПК в модельном эксперименте каррагенинового отёка.

Материал и методы

Объектом исследования был лейкоцитарный пептидный комплекс (ЛПК), полученный в результате ультразвуковой обработки донорских лейкоцитов. Выделение ЛПК из лейкоцитов человека проводили следующим образом: кровь донора собирали в контейнер с раствором гемоконсерванта Фаглюцид, отделяли форменные клетки крови от плазмы центрифугированием в течение 20 мин при 1300 об/мин и температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$. Надосадочную жидкость удаляли, осадок фракционировали с помощью метилцеллюлозы 0,3% в растворе натрия цитрата 50% с целью получения «чистых лейкоцитов». Лейкоциты концентрацией 6,7 млн/мл 0,9% раствора NaCl подвергали воздействию ультразвука (УЗ) с использованием гомогенизатора UP50H (Hielscher Ultrasonics, Германия) мощностью 50 Вт и частотой 30 кГц, амплитуду УЗ волн варьировали в пределах от 60 до 80%. Продолжительность обработки клеток ультразвуком 90, 120 и 150 с. Эффективность УЗ обработки оценивали по количеству разрушенных лейкоцитов, количество которых должно быть не менее $73,2 \pm 2,5\%$. Для оценки степени разрушения образец суспензии помещали в 1% раствор эозина натрия и проводили подсчёт лейкоцитов в окрашенной суспензии при помощи камеры Горяева под микроскопом Axiostar plus (Zeiss, Германия). Суспензию разрушенных лейкоцитов подвергали центрифугированию в течение 15 мин при 4000 об/мин для удаления клеточной стромы. Надосадочную жидкость стерилизовали фильтрованием (Millex-GV Filter, 0,22 μm , Merck, Германия) и лиофильно высушивали. Хранили в сухом, защищённом от света месте при температурах 4–8°C. Определение молекулярных параметров ЛПК проводили с использованием метода ВЭЖХ на хроматографе Knauer (Германия) со спектрофотометрическим детектором аналитических длин волн 280 нм и 293 нм. Разделение ЛПК осуществляли на хроматографических колонках Superdex 200 increase (Sigma-Aldrich, США) длиной 300 мм, диаметром 10 мм с сорбентом Диасфер-110-Диол. Хроматографирование проводили при 22°C, скорости потока 0,75 мл/мин. В качестве подвижной фазы применяли водный раствор следующего состава: 4,87 г/л динатрия дигидрофосфата натрия моногидрата, 11,69 г/л натрия хлорида и 0,05 г/л азида натрия. В качестве маркеров молекулярной массы использовали соединения, представленные в табл. 1.

Антибактериальную активность ЛПК изучали на бактериях *Escherichia coli* M-17, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Mycobacterium smegmatis* mc²155, *Proteus vulgaris* HX 19/222, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, которые выращивали на питательной среде Luria Bertani (LB) (HiMedia, Индия) до середины логарифмической фазы роста. Готовили суспензию бактерий в свежей стерильной среде Muller Hinton, содержа-

Таблица 1. Белки-маркеры молекулярного веса, использованные для калибровки хроматографической колонки
Table 1. Molar mass marker proteins used for chromatographic column calibration

Название маркеров	Молекулярная масса, кДа	Время удержания, мин
Aprotinin (Sigma-Aldrich, США)	6,5	25,6
Ribonuclease Acros Organics, Бельгия	13,7	23,6
Carbonic Anhydrase (Thermo Fisher Scientific, США)	29,0	21,8
Ovalbumin (Cytiva, Великобритания)	43,0	19,8
Conalbumin (Cytiva, Великобритания)	75,0	18,5
Aldolase (Cytiva, Великобритания)	158,0	16,7
Ferritin (Cytiva, Великобритания)	440,0	13,7
Thyroglobulin (Cytiva, Великобритания)	660,0	11,9

щей 10^6 колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл). Антибактериальную активность (АБА) определяли методом двукратных разведений в жидкой питательной среде Muller Hinton («HiMedia», Индия), а для бактерий *M. smegmatis* mc2155 в жидкой питательной среде Middelbrook 7H9 («HiMedia», Индия). По 100 мкл питательной среды вносили в лунки 96-луночных планшетов («Медполимер», Россия), готовили серию двукратных разведений раствора ЛПК (2 мг/мл). Затем в каждую лунку добавляли по 10 мкл суспензии тест-бактерий, содержащей 10^6 КОЕ/мл [7]. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 ч. За минимальную подавляющую концентрацию (МПК) ЛПК принимали наименьшую концентрацию, при которой не наблюдался видимый рост бактерий. Для определения минимальных бактерицидных концентраций (МБК) из лунок, без видимого роста бактерий, удаляли содержимое и вносили в них по 100 мкл свежей питательной среды LB. Планшеты вновь помещали в термостат и инкубировали не менее 24 ч. Бактерии, оставшиеся живыми, после удаления антибактериального агента, возобновляли свой рост. Концентрация раствора ЛПК, после удаления которого рост бактерий не возобновлялся, принималась за МБК.

Определение противовоспалительной активности ЛПК проводили на нелинейных половозрелых крысах массой 180–250 г, обоего пола (каждая группа включала 6 животных). Животные содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым свето-теневым циклом, при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных, животные имели неограниченный доступ к питьевой воде. В опыт отбирались здоровые животные после предварительной адаптации их в условиях вивария в течение 5 дней с ежедневной оценкой их состояния. Исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и её последующих обновлениях, и одобренными Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО ИГМА Минздрава России (протокол № 5 от 15.10.2023).

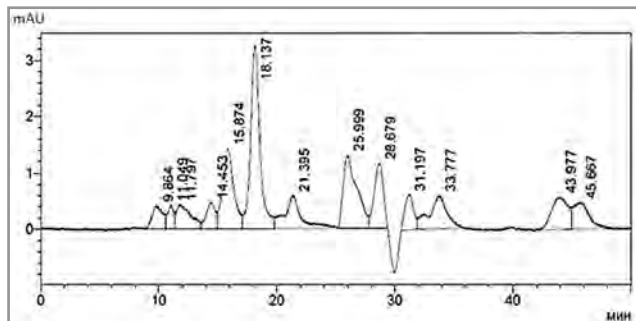


Рис. 1. ВЭЖХ экстракта, полученного при воздействии на лейкоциты человека ультразвуком мощностью 50 Вт, частотой 30 кГц, амплитудой 60% в течение 90 с.
Fig. 1. HPLC of the extract obtained by exposing human leukocytes to ultrasound with a power of 50 W, a frequency of 30 kHz, and a range of 60% for 90 s.

Раствор ЛПК и препарат сравнения — нимесулид (CJSC «Berezovsky Pharmaceutical Plant», Россия) вводили животным разных групп однократно внутрибрюшинно в 0,9% растворе натрия хлорида производства ОАО «ДАЛЬХИМФАРМ» (Россия) в дозе 50 мг/кг за 0,5 ч до введения флогогенного агента. Контрольная группа животных получала эквивалентный объём 0,9% раствора натрия хлорида. Моделирование острого воспалительного отёка осуществляли субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% стерильного водного раствора каррагинена. Увеличение объёма стопы, свидетельствующее о развитии отёка, оценивали онкометрически [8] перед введением и через 3 ч после введения каррагинена.

Статистическую обработку проводили с помощью программы MS Excel 2010, рассчитывая средние значения и доверительные интервалы ($\alpha=0,05$), достоверность отличий между группами оценивали с вычислением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

После воздействия УЗ мощностью 50 Вт, частотой 30 кГц с амплитудой 60% от общей мощности прибора на лейкоциты в течение 90 с наблюдалось появление в инкубационной среде белковых соединений. Сравнение полученного спектра с временем удержания белков-маркеров (см. табл. 1) позволило предположить, что в составе полученной белковой смеси преобладают крупномолекулярные соединения более 6500 Да, и лишь незначительная доля соединений, выявляемых на хроматограмме в виде четырёх пиков со временем удержания 25,8, 28,7, 31,1 и 33,5 мин. Увеличение времени УЗ воздействия до 120 с приводило к возрастанию количества низкомолекулярных фракций, время удержания которых было более 23 мин (рис. 1), что свидетельствует о их низкой молекулярной массе, не превышающей 6500 Да. Дальнейшее увеличение амплитуды и времени УЗ воздействия не приводило к изменению хроматографического профиля получаемого экстракта. При подсчёте процентного содержания пептидов с массой менее 6500 Да в полученном препарате, оказалось, что их доля составляет около 17 %.

Известно, что наибольшей биологической активностью обладают пептиды млекопитающих с молекулярной массой менее 10 кДа, такие как кателицидины [9], бактенецины [10], дефензины [11]. Ранее было показано, что антибактериальная активность ЛПК выявляется лишь во

Таблица 2. Минимальная подавляющая и бактерицидная концентрации ЛПК, мкг/мл

Table 2. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of LPC, µg/ml

Бактерии	Концентрация ЛПК	
	МИК/МІС	МБК/МВС
<i>Escherichia coli</i> M-17	25,0	100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	50,0	200
<i>Mycobacterium smegmatis</i> mc2155	12,5	25,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	1,5	12,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	6,5	25,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	125,0	62,5
<i>Proteus vulgaris</i> HX 19/222	25,0	50,0

фракциях, содержащих низкомолекулярные пептидные компоненты [4]. В связи с этим, дальнейшие исследования проводили с биологически активной субстанцией, содержащей комплекс низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой менее 6,5 кДа. В настоящем исследовании проведена количественная оценка антибактериального действия, выделенных из лейкоцитов человека, пептидов с определением минимальной подавляющей концентрации (МИК) и МБК для бактерий разных систематических групп (табл. 2). Используемые в работе тест-бактерии обладают принципиально разным строением клеточной стенки. *E. coli*, *P. vulgaris* и *P. aeruginosa* ATCC 9027 являются грамотрицательными, представитель рода *Staphylococcus* и *E. faecalis* обладают грамположительной клеточной стенкой, как и бактерии *M. smegmatis*, которые также являются кислотоустойчивыми [12]. Полученные данные свидетельствуют о широком спектре антибактериальной активности выделенных лейкоцитарных пептидов. Наибольшая чувствительность к ЛПК обнаружена у бактерий рода *Staphylococcus*. Важно отметить, что антибактериальная активность ЛПК выявлена и в отношении бактерий *M. smegmatis*, которые являются модельным организмом для поиска потенциальных противотуберкулезных средств [13].

При изучении процесса воспаления в лапе крыс, вызванного введением раствора каррагенина установлено, что флогогенный агент вызывал острую воспалительную реакцию, пик которой наблюдался через 3 ч после введения. На пике воспалительной реакции были проведены замеры объемов поражённых конечностей животных всех групп. Оказалось, что объёмы стоп крыс на пике воспаления существенно различались. Максимальный объём стоп фиксировался у животных контрольной группы, которым вводили 0,9% раствор натрия хлорида, предварительное введение нимесулида животным приводило к снижению воспалительной реакции примерно в 2 раза, а введение ЛПК снижало воспалительный эффект более чем в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 2). О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции, которая при

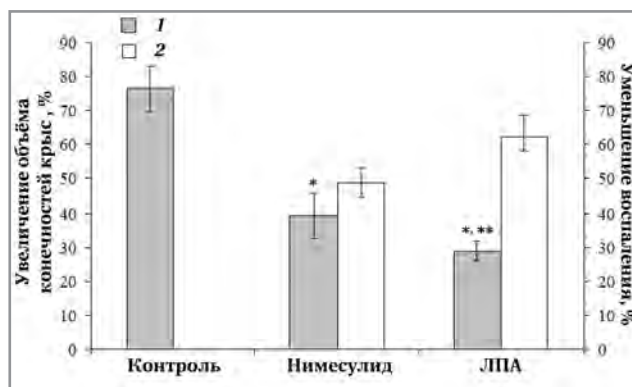


Рис. 2. Увеличение объёма конечностей крыс через 3 ч после введения раствора каррагенина (1) и противовоспалительное действие нимесулида и ЛПА (2).

Примечание. * — разница с контролем статистически значима ($p < 0,001$); ** — разница с нимесулидом статистически значима ($p < 0,05$).

Fig. 2. Rat limb volume increase 3 hours after administration of carrageenan solution (1) and the anti-inflammatory effect of nimesulide and LPC (2).

Note. * — the difference with the control is statistically significant ($P < 0.001$); ** — the difference with nimesulide is statistically significant ($P < 0.05$).

применении ЛПК оказалась в 2,7 раза меньше, чем в контрольной группе. Ингибирование воспаления при этом составило 62,3%. Противовоспалительная активность исследуемого пептидного комплекса не уступала препарату сравнения нимесулиду и даже превышала его действие на 13% (см. рис. 2).

Обсуждение

Важной проблемой поиска новых лекарственных соединений животного происхождения является обнаружение пептидных компонентов со специфической биологической активностью, выделение и получение в больших количествах активных пептидных фракций. Не менее важной является разработка из них новых лекарств или других пептидных продуктов, необходимых для практических целей человека.

Выделение и очистку антимикробных пептидов из лейкоцитарной массы обычно проводят посредством агрессивного воздействия на лейко-

циты кислотами [14] или поверхностно активными веществами [15], при этом процесс гомогенизации лейкоцитарной массы занимает несколько часов с обязательным охлаждением [14, 15]. В настоящем исследовании показана возможность получения биологически активных фракций лейкоцитарных пептидов быстрым и недорогим способом ультразвукового воздействия на лейкоцитарную массу. Краткосрочное действие низкочастотного ультразвука позволяет разрушить клетки, но при этом низкомолекулярные белки и пептиды сохраняют свою стабильность, что проявляется в их биологической активности — антибактериальной и противовоспалительной. Использование для детекции пептидов при хроматографии длин волн 280 и 293 нм, позволило выделить пептиды, содержащие ароматические аминокислоты, структурно схожие α -дефенсинами HNP-1, HNP-2 и HNP-3, содержащими в составе остатки тирозина, фенилаланина и триптофана и обладающие выраженной антимикробной активностью [16]. Подобными характеристиками обладают некоторые β -дефенсины, как например hBD-1 [17]. Высокое содержание в этих дефенсинах остатков цистеина способствует образованию дисульфидных связей в молекуле, а также наличие консервативного мостика Arg-Glu, придаёт структурную стабильность и большую устойчивость этих пептидов к протеазам [18, 19]. В этой связи данная фракция, выделенных нами устойчивых к протеазам пептидов была исследована на предмет её противовоспалительной активности методом внутрибрюшинного введения и показала выраженный противовоспалительный эффект.

В настоящее время известно, что пептиды имеют первостепенное значение в регуляции иммунитета, кровяного давления, уровня холесте-

рина, обладают противовирусной и антибактериальной активностью [20]. Использование в качестве исходного сырья донорских лейкоцитов, включающих в свой состав большой диапазон пептидных соединений, позволяет выявить у них широкий спектр биологической активности [21, 22].

В настоящем исследовании продемонстрирована антибактериальная активность ЛПК в отношении представителей разных клинически значимых групп бактерий. Выявление фракции пептидов с наиболее выраженным противомикробным эффектом и раскрытие механизма антибактериального действия будут являться целью наших дальнейших исследований. Вместе с тем, биоактивные пептиды выполняют важную функцию в регулировании и балансировании воспалительных реакций врождённого иммунитета. В наших экспериментах убедительно продемонстрирован противовоспалительный эффект ЛПК, превышающий таковой известного нестероидного противовоспалительного средства нимесулида.

Заключение

Показана возможность создания противовоспалительного препарата с выраженной антибактериальной активностью на основе пептидного комплекса, выделенного из лейкоцитов крови человека при помощи простого, быстрого и эффективного метода ультразвукового воздействия. Сочетание противовоспалительных и антибактериальных свойств ЛПК представляет собой высокий практический интерес для создания эффективного лекарственного средства. Комплексное действие ЛПК на моделях инфекционного воспаления требует дальнейшего детального изучения.

Литература/References

1. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem Pharmacol.* 2020; 180: 114147. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114147.
2. Luo Y., Song Y. Mechanism of antimicrobial peptides: antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (21): 11401. doi: 10.3390/ijms222111401.
3. Волкова Л. В., Гришина Т. А., Волков А. Г. Метод фракционирования лейкоцитарных белков. Пат. РФ № 2737730; опубликовано 02.12.2020. [Volkova L. V., Grishina T. A., Volkov A. G. Method for fractionation of leukocyte proteins. Patent RF № 2737730; published 02.12.2020. (in Russian)]
4. Волков А. Г., Кононова Л. И., Коробов В. П., Волкова Л. В. Изучение молекулярных параметров и антибактериальная активность пептидного препарата, полученного из лейкоцитов человека. Антибиотики и химиотер. 2023; 68 (9–10): 20–24. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-20-24. [Volkov A. G., Kononova L. I., Korobov V. P., Volkova L. V. Study of molecular parameters and antibacterial activity of a peptide preparation derived from human leukocytes. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68 (9–10): 20–24. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-9-10-20-24. (in Russian)]
5. Гришина Т. А., Волков А. Г., Волкова Л. В. Цитотоксичность и токсикологическая характеристика нового лейкоцитарного полипептида. *Вопр биол мед фарм хим.* 2020; 23 (5): 54–58. doi: https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-08. [Grishina T. A., Volkov A. G., Volkova L. V. Cytotoxicity and toxicological characteristics of the new leukocitar polypeptide. *Probl Bio Med Pharm Chem.* 2020; 23 (5): 54–58. doi: https://doi.org/10.29296/25877313-2020-05-08. (in Russian)]
6. Волкова Л. В. Острая и хроническая токсичность антибактериального пептидного комплекса. *Биофарм ж.* 2022; 14 (1): 51–54. doi: https://doi.org/10.30906/2073-8099-2022-14-1-51-54. [Volkova L. V. Acute and chronic toxicity of antibacterial peptide complex. *Rus J Biopharmaceuticals.* 2022; 14 (1): 51–54. doi: https://doi.org/10.30906/2073-8099-2022-14-1-51-54. (in Russian)]
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2020) Version 8. <http://www.eucast.org/>
8. Тринус Ф. П., Клебанов Б. М., Кондратьев В. И. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) исследованию нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ. М.: Минздрав СССР 1983; 16. [Trinus F. P., Klebanov B. M., Kondratyuk V. I. Methodological recommendations for experimental (preclinical) research of non-steroidal anti-inflammatory pharmacological substances. Moscow: Ministry of Health of the USSR. 1983; 16. (in Russian)]
9. Чернов А. Н., Орлов Д. С., Шамова О. В. Пептиды врождённого иммунитета как потенциальные противоопухолевые агенты: плюсы и минусы. *Мед иммунол.* 2021; 23 (6): 1285–1306. doi: https://doi.org/10.15789/1563-0625-POT-2303. [Chernov A. N., Orlov D. S., Shamova O. V. Peptides of the innate immunity as potential anticancer agents: pros and cons. *Med Immunol.* 2021; 23 (6): 1285–1306. doi: https://doi.org/10.15789/1563-0625-POT-2303. (in Russian)]
10. Шамова О. В., Орлов Д. С., Жаркова М. С., Баландин С. В., Ямицкова Е. В., Кнаппе Д., Хоффманн Р., Кокряков В. Н., Овчинникова Т. В. Мини-

- бактенецины ChBac7.5N α ChBac7.5N β — антимикробные пептиды из лейкоцитов козы *Capra hircus*. *Acta Naturae*. 2016; 8 (30): 147–157. doi: <https://doi.org/10.32607/20758251-2016-8-3-136-146>. [Shamova O. V., Orlov D. S., Zharkova M. S., Balandin S. V., Yamshchikova E. V., Knappe D., Hoffmann R., Kokryakov V. N., Ovchinnikova T. V. Minibactenecins ChBac7.N α and ChBac7.N β — Antimicrobial Peptides from Leukocytes of the Goat *Capra hircus*. *Acta Naturae*. 2016; 8 (30): 136–146. doi: <https://doi.org/10.32607/20758251-2016-8-3-136-146>. (in Russian)]
11. Будихина А. С. Пинегин Б. В. Дефензины — мультифункциональные катионные пептиды человека. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2008; 2: 31–40. [Budikhina A. S., Pinegin B. V. Defensins are multifunctional human cationic peptides. *Int J Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2008; 2: 31–40. (in Russian)]
 12. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М.: Мир, 1997; 800. [Identifier of bacteria Bergey. In 2 volumes: Transl. With. English. J. Hout, N. Krieg, P. Sneath, J. Staley, S. Williams (eds.). Moscow: Mir, 1997; 800.
 13. Коробов В. П., Шагдарова Б. Ц., Варламов В. П., Есаев Л. Л., Полюдова Т. В. Ингибирующее действие низкомолекулярного хитозана на рост бактерий с различными тинкториальными свойствами. *Микробиология*. 2023; 92 (2): 197–203. doi: <https://doi.org/10.31857/S0026365622600754>. [Korobov V. P., Shagdarova B. Ts., Varlamov V. P., Esaev A. L., Polyudova T. V. Inhibitory action of low-molecular chitosan on growth of bacteria with different tinctorial properties. *Microbiology*. 2023; 92 (2): 215–220. doi: doi.org/10.1134/S0026261722603347. (in Russian)]
 14. Цветкова Е. В., Алешина Г. М., Шамова О. В., Леонова Л. Е., Лерер Р. И., Кокряков В. Н. α -Дефензины из лейкоцитов крови обезьяны *Papio hamadryas*. *Биохимия*. 2006; 71 (8): 1083–1090. [Tsvetkova E. V., Aleshina G. M., Shamova O. V., Kokryakov V. N., Leonova L. E., Lehrer R. I. α -Defensins from blood leukocytes of the monkey *Papio hamadryas*. *Biochemistry*. 2006. 71 (8): 879–883. (in Russian)]
 15. Юхнев В. А., Шартукова М. А., Луговкина Н. В., Кокряков В. Н., Шамова О. В. Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефензинов в лейкоцитах лося (*Alces alces*). Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. 2014; 1: 115–131. [Yuhnev V. A., Shartukova M. A., Lugovkina N. V., Kokryakov V. N., Shamova O. V. Search of novel antimicrobial peptides of the cathelicidins and defensins families in moose (*Alces alces*) leucocytes. *Bulletin of St. Petersburg University. Episode 3. Biology*. 2014; 1: 115–131. (in Russian)]
 16. Selsted M. E., Harwig S. S., Ganz T., Schilling J. W., Lehrer R. I. Primary structures of three human neutrophil defensins. *J Clin Invest*. 1985. 76 (4): 1436–9. doi: [10.1172/JCI112121](https://doi.org/10.1172/JCI112121)
 17. Bensch K. W., Raida M., Magert H. J., Schulz-Knappe P., Forssmann W. G. hBD-1: a novel β -defensin from human plasma. *FEBS Letters*. 1995. 368: 331–335. doi: [10.1016/0014-5793\(95\)00687-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00687-5).
 18. Lu S., Cao Y., Fan S. B., Chen Z. L., Fang R. Q., He S. M., Dong M. Q. Mapping disulfide bonds from sub-micrograms of purified proteins or micrograms of complex protein mixtures. *Biophys Rep*. 2018; 4 (2): 68–81. doi: [10.1007/s41048-018-0050-6](https://doi.org/10.1007/s41048-018-0050-6).
 19. Wu Z., Li X., Leeuw E., Ericksen B., Lu W. Why Is the Arg5-Glu13 Salt Bridge Conserved in Mammalian α -Defensins? *J Biol Chem*. 2005; 280 (52): 43039–43047. doi: [10.1074/jbc.M510562200](https://doi.org/10.1074/jbc.M510562200)
 20. Sparks I. L., Derbyshire K. M., Jacobs W. R., Morita Y. S. Mycobacterium smegmatis: The vanguard of mycobacterial research. *J Bacteriol*. 2023; 205 (1): e0033722. doi: [10.1128/jb.00337-22](https://doi.org/10.1128/jb.00337-22).
 21. Kang L., Han T., Cong H., Yu B., Shen Y. Recent research progress of biologically active peptides. *Biofactors*. 2022; 48 (3): 575–596. doi: [10.1002/biof.1822](https://doi.org/10.1002/biof.1822).
 22. Panerai A. E. Lymphocytes as a source of hormones and peptides. *J Endocrinol Invest*. 1993; 16: 549–557. doi: [10.1007/BF03348904](https://doi.org/10.1007/BF03348904).

Поступила / Received 11.05.2024

Принята в печать / Accepted 20.06.2024

Информация об авторах

Волкова Лариса Владимировна — д. м. н., профессор; профессор кафедры, кафедра охраны окружающей среды, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7445-5943

Волков Александр Геннадьевич — к. м. н., доцент кафедры, кафедра охраны окружающей среды Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия. ORCID ID: 0009-0001-8516-6143

Полюдова Татьяна Вячеславовна — к. б. н., заведующая лабораторией, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиал Пермского Федерального исследовательского центра УРО РАН, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2618-762X

Рудакова Ирина Петровна — д. м. н., доцент, заведующая кафедрой физиологии, Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2227-8313

About the authors

Larisa V. Volkova — D. Sc. in Medicine, Professor; Professor at the Environmental Protection Department, Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7445-5943

Aleksandr G. Volkov — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Environmental Protection Department, Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia. ORCID ID: 0009-0001-8516-6143

Tatyana V. Polyudova — Ph. D. in Biology, Head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences — Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2618-762X

Irine P. Rudakova — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Head of the Physiology Department, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2227-8313