

Получение пептидного комплекса с антибактериальным эффектом из донорских лейкоцитов

Л. В. ВОЛКОВА¹, А. Г. ВОЛКОВ¹, *П. В. КОСАРЕВА²⁻⁴, Е. С. ЗЕМЛЯКОВА⁵,
А. В. ЦИБУЛЬНИКОВА⁵, И. Г. САМУСЕВ⁵, О. О. БАБИЧ⁵

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

² ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГМУ им. ак. Е. А. Вагнера МЗ РФ), Пермь, Россия

³ ФГАО ВО Пермский государственный национальный исследовательский университет (ФГАОУ ВО ПГНИУ), Пермь, Россия

⁴ ГБУ здравоохранения Пермского края Детская клиническая больница им. П. И. Пичугина (ГБУЗ ПК ДКБ им. П. И. Пичугина), Пермь, Россия

⁵ ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта (ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта), Калининград, Россия

Резюме

Актуальность. На основе микробицидных белков создаются лекарственные antimicrobial средства природного происхождения. К настоящему времени показано, что при воздействии ультразвука на лейкоциты при полном разрушении клетки образуются новые соединения — пептидные комплексы, обладающие иммунобиологической активностью. **Цель** — модернизация параметров влияния ультразвука на донорские лейкоциты для выделения отдельных полипептидных соединений, обладающих биологической активностью. **Материал и методы.** Новые лейкоцитарные белково-пептидные комплексы получали методом ультразвуковой обработки донорских лейкоцитов. Разделение пептидных комплексов осуществляли на хроматографических колонках Superdex 200 increase. Для изучения их использовали методы ВЭЖХ и инфракрасной спектроскопии. Метод ВЭЖХ реализовывали на хроматографе фирмы Knauer (Германия) с применением спектрофотометрического детектора аналитических длин волн 280 нм и 293 нм. **Результаты.** Установлено, что различная величина амплитуды ультразвуковых волн и различная продолжительность их воздействия способствуют получению сложных белковых комплексов. При определённых условиях (время обработки донорских лейкоцитов ультразвуком в течение 90 с, с амплитудой 60%, мощностью 50 Вт, частотой 30 кГц) возможно получение комплекса низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой менее 6,5 кДа. Методом ИК-Фурье спектрометрии определено, что в состав полученного пептидного комплекса входят такие аминокислоты, как Thr, Ser, Phe, Tyr, His и Trp. Установлено, что данный комплекс обладает антибактериальной активностью. **Выводы.** Метод воздействия ультразвуком на донорские лейкоциты позволяет получить белковый комплекс с антибактериальной активностью.

Ключевые слова: антибактериальные пептиды; лейкоцитарный пептидный комплекс; ультразвуковое воздействие

Для цитирования: Волкова Л. В., Волков А. Г., Косарева П. В., Землякова Е. С., Цибульникова А. В., Самусев И. Г., Бабич О. О. Получение пептидного комплекса с антибактериальным эффектом из донорских лейкоцитов. *Антибиотики и химиотер.* 2025; 70 (9–10): 14–20. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-9-10-14-20>. EDN: MLCRNB.

Obtaining a Peptide Complex with Antibacterial Effect from Donor Leukocytes

LARISA V. VOLKOVA¹, ALEXANDER G. VOLKOV¹, *POLINA V. KOSAREVA²⁻⁴,
EVGENIYA S. ZEMLYAKOVA⁵, ANNA V. TSIBULNIKOVA⁵, ILIA G. SAMUSEV⁵, OLGA O. BABICH⁵

¹ Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia

² Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russia

³ Perm State National Research University, Perm, Russia

⁴ Children's Clinical Hospital named after P. I. Pichugin, Perm, Russia

⁵ Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Abstract

Relevance. Microbicidal proteins are used to create natural antimicrobial drugs. It has been shown to date that ultrasound exposure of leukocytes results in complete cell destruction and the formation of new compounds — peptide complexes with immunobiological activity. **The aim of the study** was to update the parameters of ultrasound effect on the donor leukocytes to isolate individual polypeptides with biological activity. **Materials and methods.** New leukocyte protein-peptide complexes were obtained by ultrasonic treatment of donor leukocytes. Separation of peptide complexes was carried out on Superdex

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: kosiba-med@mail.ru



*Correspondence to:
E-mail: kosiba-med@mail.ru



EDN: MLCRNB

200 increase chromatographic columns. HPLC and infrared spectroscopy methods were used to study them. The HPLC method was implemented on a Knauer chromatograph (Germany) using a spectrophotometric detector of analytical wavelengths of 280 nm and 293 nm. **Results.** It has been established that various ultrasound wave amplitudes and durations of their action contribute to the production of complex protein compounds. Under certain conditions (processing donor leukocytes with ultrasound for 90 sec., with an amplitude of 60%, a power of 50 W, and a frequency of 30 kHz), it is possible to obtain a complex of low-molecular peptides with a molecular weight of less than 6.5 kDa. Using Fourier transform infrared spectroscopy, it was determined that the composition of the obtained peptide complex includes amino acids such as Thr, Ser, Phe, Tyr, His, and Trp. It has been established that this complex has antibacterial activity. **Conclusion.** Ultrasound treatment of donor leukocytes produces a protein complex with antibacterial activity.

Keywords: antibacterial peptides; leukocyte peptide complex; ultrasound exposure

For citation: Volkova L. V., Volkov A. G., Kosareva P. V., Zemlyakova E. S., Tsibulnikova A. V., Samusev I. G., Babich O. O. Obtaining a peptide complex with antibacterial effect from donor leukocytes. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (9–10): 14–20. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-9-10-14-20>. EDN: MLCRNB. (in Russian)

Введение

Антибиотики с момента открытия пенициллина в 1928 г. являлись важным инструментом в современном здравоохранении. Благодаря их широкому использованию антибиотики в последние годы во многом способствовали быстрому увеличению продолжительности жизни; они являются незаменимыми препаратами, применяемыми для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний человека [1]. Однако их длительное применение способствует развитию резистентности бактерий к препаратам. Понимание механизмов устойчивости этих бактерий является ключевым шагом в разработке новых противомикробных препаратов для борьбы с лекарственно-устойчивыми бактериями [2].

Устойчивость к антибиотикам является серьёзной проблемой, которая привела к необходимости создания новых альтернативных веществ, обладающих антибактериальным действием [3, 4]. Перспективным кандидатом для преодоления устойчивости к антибиотикам являются природные антимикробные пептиды (АМП), которые проявляют широкий спектр антимикробной активности с высокой специфичностью и низкой токсичностью. Эти пептиды обладают исключительными структурой и функциями, используя в реализации программ врождённого иммунитета сложные механизмы действия [5, 6]. АМП вызывают большой интерес учёных как потенциальные антимикробные средства нового поколения, поскольку они представляют собой биологически активные небольшие по массе белки, естественным образом продуцируемые всеми живыми организмами и представляющие собой первую линию защиты от грибков, вирусов и бактерий [4, 5–9]. Они могут эффективно снижать вероятность лекарственной устойчивости бактерий и являются биосовместимыми, поэтому обладают огромными перспективами развития [10].

АМП принято классифицировать по источникам, а также по вторичной структуре, биосинтезу и механизму действия [4, 5–9]. Всего в базе данных антимикробных пептидов (APD31), обновлённой 24 августа 2020 г., зарегистрировано 3240 АМП. Раз-

личные типы АМП имеют следующие общие черты: количество аминокислотных остатков в них составляет от 10 до 60 (среднее 33,26), и почти все АМП являются катионными (средний чистый заряд 3,32). Однако существует также несколько анионных АМП, и в них есть несколько кислых аминокислот, таких как аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота [6]. Однако механизм действия АМП остаётся не до конца изученным, хотя существует несомненная взаимосвязь между физико-химическими свойствами АМП и их биологической активностью. Кроме того, необходимо отметить наличие такого феномена, как способность АМП к синергическому действию [4].

Хотя АМП имеют широкий спектр структурных вариаций, у них есть несколько общих характеристик, в том числе относительно небольшой размер (обычно от 12 до 50 аминокислотных остатков), катионность из-за присутствия многочисленных остатков аргинина и/или лизина и амфипатическая структура из-за присутствия как гидрофобных, так и гидрофильных участков. Также сообщалось, что АМП обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными, антибиоплёочными [11] и ранозаживляющими свойствами [12]. В этой связи препараты на основе низкомолекулярных пептидов являются привлекательными и одобренными различными ведомствами [13, 14].

Для получения пептидов из белков природного происхождения используют различные методы, среди которых можно выделить ферментативный гидролиз, микроволновое воздействие и ультразвуковую обработку. В исследованиях I. Habinshuti и соавт. [15] показано, что с помощью метода ультразвукового воздействия можно получить пептиды с высокой биологической активностью. Известно, что воздействие ультразвука (УЗ) на клетку может создавать небольшие поры в клеточной мембране. Пермеабиллизация клеточных мембран, запускаемая ультразвуком, также называемая сонопорацией, представляет собой процесс, который может быть обратимым или необратимым. Хотя обратимая сонопорация повышает клеточную концентрацию лекарственного средства, не вызывая прямой гибели клеток, считается, что необратимая сонопорация

смертельна для клеток и в большинстве случаев вызывает их немедленный некроз [16]. С другой стороны, дезагрегирующее воздействие звуковых волн на клетки жидких сред организмов возможно для извлечения новых биоагентов, которые в физиологических условиях содержатся внутри клетки. Известно, что степень лизиса клеток при воздействии ультразвуком зависит от многих условий [17–19].

В ФГАОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет» получен ряд новых биологически активных веществ полипептидной природы путём воздействия ультразвука на клетки крови — лейкоциты. Источник происхождения этих соединений предполагает возможность наличия у выделенных веществ антибактериального и иммунобиологического эффектов.

Цель работы — модернизация параметров влияния ультразвука на донорские лейкоциты для выделения отдельных полипептидных соединений, обладающих биологической активностью.

Материал и методы

Предметом настоящего изучения стали лейкоцитарные белково-пептидные комплексы (ЛБПК), полученные в результате ультразвукового воздействия на лейкоцитарную массу доноров *in vitro*.

Получение белково-пептидных комплексов из лейкоцитарной массы проводили в следующей форме: донорскую кровь отбирали в гемоконтейнер с гемоконсервантом фаглюцид (ОАО Синтез, РФ), с последующим центрифугированием и разделением на фракции клеток крови и плазмы. Затем полученную лейкоцитарную массу фракционировали для получения «чистых» лейкоцитов. В процессе разделения надосадочную суспензию утилизировали, а лейкоцитарный осадок использовали для выделения «чистых» лейкоцитов с последующим воздействием на них ультразвуковых волн [17].

Лейкоциты в дозе 6,7 млн/мл в 0,9% растворе NaCl диспергировали ультразвуком с применением ультразвукового гомогенизатора UP50H (Helischer Ultrasonics, Германия) при следующих условиях: мощность 50 Вт и частота 30 кГц, то есть, при постоянных показателях, заданных конструкцией оборудования. Амплитуду УЗ волн варьировали в пределах от 60 до 80%. Длительность воздействия на выделенные клетки крови ультразвуком составляла от 30 до 150 с. Результативность УЗ гомогенизатора анализировали по разрушению клеточной суспензии [18, 20] и показателям антимикробной активности, которую оценивали методом последовательных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон и определяли индивидуальные значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) для каждого из анализируемых образцов в отношении тестируемого штамма микроорганизма [21].

Определение молекулярных параметров ЛБПК проводили методом ВЭЖХ на высокоэффективном хроматографе фирмы Клауег (Германия) и датчиком со спектрофотометрическим детектором аналитических длин волн 280 и 293 нм. Разделение ЛБПК осуществляли на хроматографических колонках Superdex 200 increase (Sigma-Aldrich, США) длиной 300 мм, диаметром 10 мм и детектора с сорбентом Диасфер-110-Диол.

Состав полипептидных соединений определяли в водном растворе ЛБПК с концентрацией 1 мг/мл по сухому веществу. Для устранения засорения колонки исследуемые образцы ЛБПК и маркерных пептидов предварительно фильтровали через шприцевые насадки Millex-GV Filter, 0.22 µm (Merck, Германия). Хроматографирование проводили при температуре

22°C, скорости потока 0,75 мл/мин, объём вводимой пробы составил 20 мкл, время регистрации составило 50 мин.

В качестве динамичной фазы использовали водный раствор следующего состава: 4,873 г/л динатрия дигидрофосфата натрия моногидрата, 11,688 г/л натрия хлорида и 0,05 г/л азиды натрия. В качестве маркеров молекулярной массы использовали Aprotinin (Sigma-Aldrich, США), Ribonuclease (Acros Organics, Бельгия), Carbonic Anhydrase (Thermo Fisher Scientific, США), Ovalbumin (Cytiva, Великобритания), Conalbumin (Cytiva, Великобритания), Aldolase (Cytiva, Великобритания), Ferritin (Cytiva, Великобритания), Thyroglobulin (Cytiva, Великобритания), по которым строили калибровочный график. Исследование пептидов проводили методом инфракрасной спектроскопии (ИК). Для этого образец предварительно смешивали с порошком KBr и истирали в агатовой ступке, затем полученный порошок прессовали в прозрачную таблетку, которая далее подвергалась измерениям на ИК-спектрометре IR Prestige-21 фирмы Shimadzu (Япония) в диапазоне волновых чисел $\nu = 500\text{--}4500\text{ см}^{-1}$ [22, 23].

Результаты

На первом этапе исследований изучено влияние условий УЗ обработки лейкоцитов крови человека на фракционный состав лейкоцитарных пептидов (табл. 1). В тестируемом образце ЛБПК доля веществ с молекулярной массой менее 6,5 кДа составила 16,8%, что согласуется с ранее проведёнными исследованиями [24] и данными других авторов [25].

Таблица 1. Распределение молекулярной массы и процентного содержания пептидов в ЛБПК до очистки
Table 1. Distribution of molecular weight and peptide percentage in leukocyte protein-peptide complexes before purification

Номер пика	Процентное содержание, %	Молекулярная масса, кДа
1	3,6	440,0
2	9,8	От 440,0 до 158,0
3	43,6	75,0
4	26,2	От 43,0 до 29,0
5	16,8	Менее 6,5

В составе изучаемого образца также обнаруживается фракция (3,6% от общей массы), молекулярная масса которой составляет 440,0 кДа — опираясь на ранее проведённые исследования, эта фракция содержит низкомолекулярные пептиды с антибактериальной активностью. Кроме того, образец ЛБПК (см. табл. 1) содержит значительное количество фракций с молекулярной массой 75,0 кДа и фракций с молекулярной массой от 43,0 до 29,0 кДа.

Результаты хроматографирования образцов ЛБПК, полученных при различных условиях воздействия ультразвука (рис. 1–3) свидетельствуют о том, что различная амплитуда УЗ волн и продолжительность их воздействия способствуют получению сложных белковых комплексов. При этом ЛБПК содержит значительное количество белкового балласта (см. табл. 1). Все образцы, за исключением образца № 1, характеризуются появлением белковых обломков.

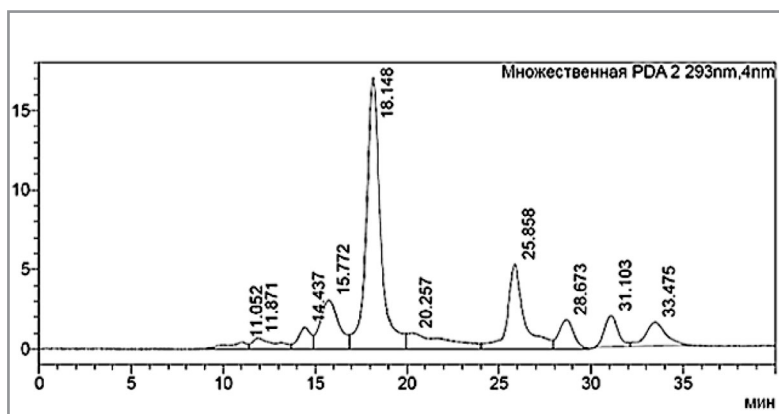


Рис. 1. Хроматограмма пептидного комплекса, полученного с помощью воздействия ультразвука на донорские лейкоциты (время экспозиции 90 с, амплитуда 60%).

Fig. 1. Chromatogram of a peptide complex obtained by ultrasound treatment of donor leukocytes (exposure time 90 sec, amplitude 60%).

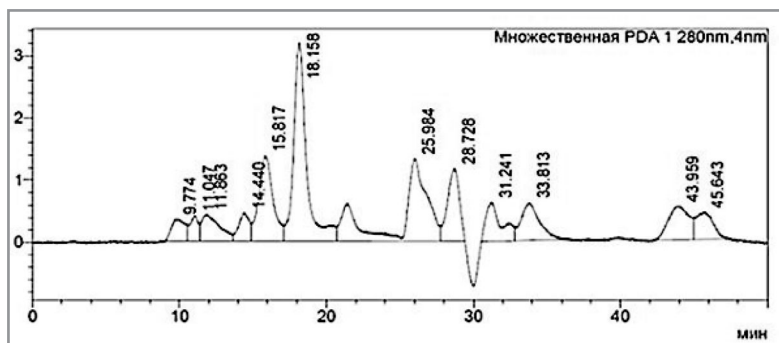


Рис. 2. Хроматограмма пептидного комплекса, полученного с помощью воздействия ультразвука на донорские лейкоциты (время экспозиции 150 с, амплитуда 60%).

Fig. 2. Chromatogram of a peptide complex obtained by ultrasound treatment of donor leukocytes (exposure time 150 sec, amplitude 60%).

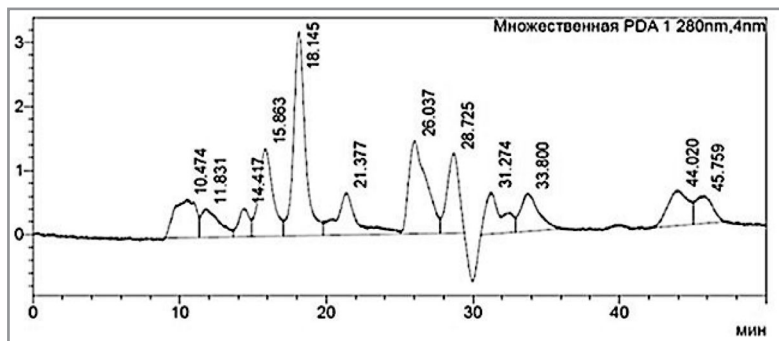


Рис. 3. Хроматограмма пептидного комплекса, полученного с помощью воздействия ультразвука на донорские лейкоциты (время экспозиции 120 с, амплитуда 80%).

Fig. 3. Chromatogram of a peptide complex obtained by ultrasound treatment of donor leukocytes (exposure time 120 sec, amplitude 80%).

По результатам ВЭЖХ на хроматограмме для всех образцов характерно наличие двух основных пиков: первый соответствует агрегатам с высокой молекулярной массой, второй — пептидам с низкой молекулярной массой. Установлено, что

данные вещества выходят за границы градуировочного графика как для агрегатов, так и для полипептидов. С помощью аппроксимации с использованием программного обеспечения установлено, что пик с временем удерживания 27,3 мин соответствует молекулярной массе около 4 кДа, а также то, что образец № 1, полученный при следующих условиях воздействия ультразвука: время обработки 90 с, амплитуда 60% (при мощности 50 Вт и частоте 30 кГц), обладает антибактериальным эффектом.

С целью подтверждения природы и структуры ЛБПК проводили анализ методом ИК-спектromетрии. Метод ИК-Фурье спектromетрии позволяет определить типы и компонентный состав сложных смесей [26] (табл. 2, рис. 4–6). Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что в ИК-спектре наблюдается линия колебаний гидроксильных и аминных групп с максимумом при 3422 и 3441 см^{-1} . Валентные асимметричные колебания CH_2 — 2934 см^{-1} и 2934 см^{-1} . Наблюдаются ярко выраженные линии колебаний $\text{C}=\text{O}$ и $\text{C}=\text{N}$ с максимумами при 1593 см^{-1} и 1404 см^{-1} . Отметим широкий контур поглощения колебаний $\text{C}-\text{O}$ с максимумом 1122 см^{-1} .

В области $\sim 1300\text{--}1200 \text{ см}^{-1}$, помимо колебания Амид III, проявляются деформационные $\delta(\text{OH})$ и $\delta(\text{NH})$ колебания Thr, Ser, Phe, Tyr, His и Trp, частоты которых могут смещаться, например, при образовании водородной связи с молекулами воды или соседними аминокислотными остатками до $\sim 50 \text{ см}^{-1}$, а интенсивность изменяться в $\sim 2\text{--}5$ раз. Спектральная область поглощения ниже 1200 см^{-1} редко используется для анализа конформационных изменений белков, так как считается малоинформативной [27–31].

Обсуждение

Природные антимикробные пептиды млекопитающих представляют собой небольшие по массе катионные пептиды с антимикробной активностью, которая, как правило, обусловлена их уникальной аминокислотной последовательностью, обладают антибактериальной активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также грибов и оболочечных вирусов [32], могут действо-

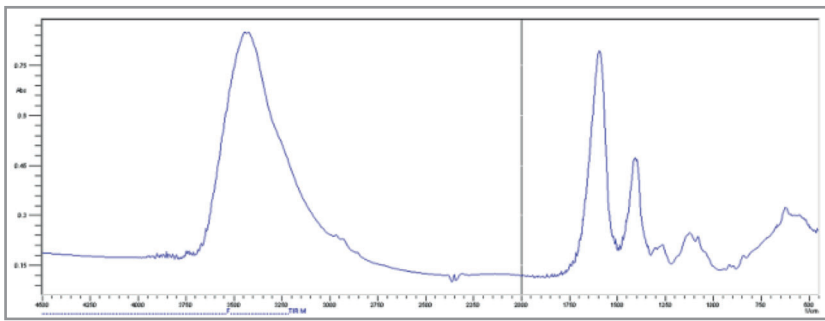


Рис. 4. ИК-спектры аминокрупп с максимумом при 3422 и 3441 см⁻¹.
Fig. 4. IR spectra of amino groups with a maximum at 3422 and 3441 cm⁻¹.

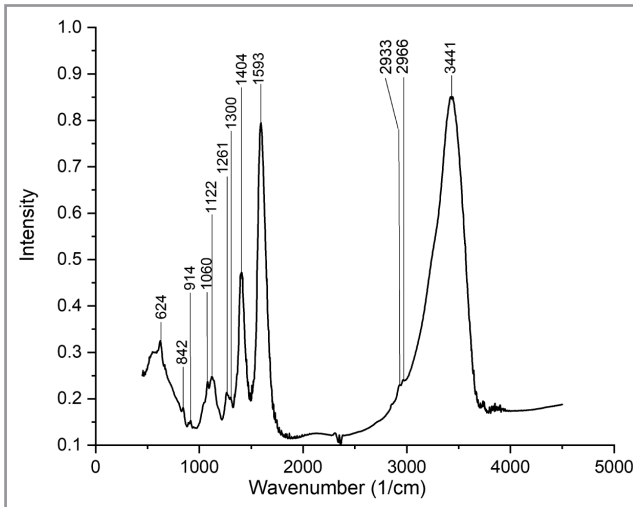


Рис. 5. ИК-спектры аминокрупп с максимумом при 2934 см⁻¹.
Fig. 5. IR spectra of amino groups with a maximum at 2934 cm⁻¹.

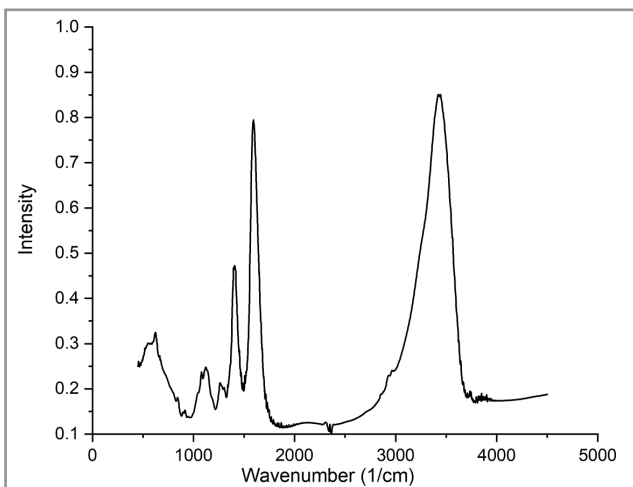


Рис. 6. ИК-спектры аминокрупп с максимумом при 1300–1200 см⁻¹.
Fig. 6. IR spectra of amino groups with a maximum at 1300–1200 cm⁻¹.

вать внутри- и внеклеточно [33]. АМП являются естественной частью иммунной системы всех высших организмов и демонстрируют замечательную активность широкого спектра и высокую

селективность в отношении бактериальных клеток по сравнению с клетками-хозяевами [34].

У человека экспрессируются различные типы антибактериальных пептидов, которые обладают также и противовирусной активностью [11]. Кроме того, эти пептиды могут действовать как хемокины в отношении моноцитов и Т-клеток [35], усиливая и изменяя адаптивные иммунные реакции, раскрывая непрямой противовирусный механизм [11]. АМП способны стимулировать хемотаксическую активность, стимуляцию окислительного метаболизма в фагоцитах, увеличение продукции белка в фазе острого воспаления и стимуляцию клеток CD4+ и CD8+ [36]. Помимо прямых антимикробных функций, дефенсины обладают иммуномодулирующей функцией и участвуют во многих физиологических процессах [10, 35, 37]. Пептиды нейтрофилов человека, таким образом, являются эффекторными молекулами врождённого иммунитета. Антибактериальные пептиды человека, в основном, продуцируются нейтрофилами, но сообщалось об их продукции и другими лейкоцитами, такими как НК-клетки, В-клетки, Т-клетки, моноциты и макрофаги [35, 38, 39].

Синтез антибактериальных пептидов с использованием химических и рекомбинантных подходов является сложной задачей [35], в связи с чем на сегодняшний день актуальна их экстракция из лейкоцитов донорской крови.

Синтез антибактериальных пептидов с использованием химических и рекомбинантных подходов является сложной задачей [35], в связи с чем на сегодняшний день актуальна их экстракция из лейкоцитов донорской крови.

Заключение

Открытие антибиотиков стало крупным прорывом в современной медицине. Но широкое развитие устойчивости многих патогенных микроорганизмов к антибиотикам побуждает искать новые вещества с антибактериальным действием. Среди таких веществ можно выделить АМП природного происхождения. В настоящей работе показано, что при деструкции лейкоцитов крови человека ультразвуком можно получить комплекс низкомолекулярных пептидов лейкоцитарного происхождения, в котором выделяется сложный пептид с молекулярной массой менее 6,5 кДа, который в перспективе может быть использован в производстве антибактериальных препаратов нового поколения.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Участие авторов. Волкова Л. В. — разработка технологии получения нового лейкоцитарного пептидного комплекса, предоставление опытного

Таблица 2. Влияние условий воздействия ультразвука на результаты ИК-спектроскопии

Table 2. Effect of ultrasound treatment conditions on IR spectroscopy results

№ п/п	Условия ИК-спектроскопии	
	высота пика, нм	интенсивность, отн. ед
1	549,7	0,3010
2	624,9	0,3248
3	842,9	0,1811
4	914,3	0,1529
5	1080,1	0,2374
6	1122,6	0,2479
7	1261,5	0,2134
8	1300,0	0,2031
9	1404,2	0,4726
10	1593,2	0,7949
11	2933,7	0,2299
12	2966,5	0,2408
13	3421,7	0,8508
14	3441,0	0,8507

Литература/References

1. *Simonson A. W., Aronson M. R., Medina S. H.* Supramolecular peptide assemblies as antimicrobial scaffolds. *Molecules*. 2020; 25 (12): 2751. doi: 3390/molecules25122751.
2. *Mancuso G., Midiri A., Gerace E., Biondo C.* Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. *Pathogens*. 2021; 10 (10): 1310. doi: 10.3390/pathogens10101310. PMID: 34684258; PMCID: PMC8541462.
3. *Азимова В. Т., Потатуркина-Нестерова Н. И., Нестеров А. С.* Эндогенные антимикробные пептиды человека. Современные проблемы науки и образования. 2015; 1: 1337. [*Azimova V. T., Potaturkina-Nesterova N. I., Nesterov A. S.* Endogenous human antimicrobial peptides. *Modern Problems of Science and Education*. 2015; 1: 1337. (in Russian)]
4. *Yan Y., Li Y., Zhang Z., Wang X., Niu Y., Zhang S., Xu W., Ren C.* Advances of peptides for antibacterial applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021; 202: 111682. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.111682.
5. *Zhang Q. Y., Yan Z. B., Meng Y. M., Hong X. Y., Shao G., Ma J. J. et al.* Antimicrobial peptides: mechanism of action, activity and clinical potential. *Mil Med Res*. 2021; 8 (1): 48. doi: 10.1186/s40779-021-00343-2. PMID: 34496967; PMCID: PMC8425997.
6. *Huan Y., Kong Q., Mou H., Yi H.* Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Front Microbiol*. 2020; 11: 582779. doi: 10.3389/fmicb.2020.582779. PMID: 33178164; PMCID: PMC7596191.
7. *Moretta A., Scieuzo C., Petrone A. M., Salvia R., Manniello M. D., Franco A. et al.* Antimicrobial peptides: a new hope in biomedical and pharmaceutical fields. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 668632. doi: 10.3389/fcimb.2021.668632.
8. *Захарова О. И., Лискова Е. А., Михалева Т. В.* Антибиотикорезистентность: эволюционные предпосылки, механизмы, последствия. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2018; 64 (3): 13–21. [*Zakharova O. I., Liskova E. A., Mikhaleva T. V.* Antibiotic resistance: evolutionary prerequisites, mechanisms, consequences. *Agrarian Science of the Euro-North-East* (in Russian)]
9. *Волков А. Г.* Пептиды из сред организма человека. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2023; 26 (9): 37–42. [*Volkov A. G.* Peptides from the human body environment. *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2023; 26 (9): 37–42. (in Russian)].
10. *Dömer D., Walther T., Möller S., Behnen M., Laskay T.* Neutrophil extracellular traps activate proinflammatory functions of human neutrophils. *Front Immunol*. 2021; 12: 636954. doi: 10.3389/fimmu.2021.636954.
11. *Talapko J., Meštrović T., Juzbašić M., Tomas M., Erić S., Aleksijević H. L. et al.* Antimicrobial peptides—mechanisms of action, antimicrobial effects and clinical applications. *Antibiotics* (Basel). 2022; 11 (10): 1417. doi: 10.3390/antibiotics11101417. PMID: 36290075; PMCID: PMC9598582.
12. *Appiah C., Chen S., Pori A. I., Retuyunskiy V., Tzeng C., Zhao Y.* Study of al-loferon, a novel immunomodulatory antimicrobial peptide (AMP), and its analogues. *Front Pharmacol*. 2024; 15: 1359261. doi: 10.3389/fphar.2024.1359261.
13. *Sharma R., Shrivastava S., Kumar S. S., Kumar A., Saxena S., Kumar S. R.* Deep-ABPpred: identifying antibacterial peptides in protein sequences using bidirectional LSTM with word2vec. *Briefings in Bioinformatics*. 2021; 22 (5): bbab065. doi: 10.1093/bib/bbab065.

образца в достаточном количестве для постановки экспериментов, интерпретация результатов, написание текста статьи, финальное утверждение рукописи; *Волков А. Г.* — предоставление опытного образца в достаточном количестве для постановки экспериментов, контроль за постановкой экспериментов, редактирование статьи, подготовка статьи для журнала; *Косарева П. В.* — поиск литературы по проблеме, написание текста статьи; *Землякова Е. С.* — постановка и проведение экспериментов, написание выполненной данной экспериментальной части статьи; *Цибулькинова А. В.* — постановка и проведение экспериментов, написание выполненной данной экспериментальной части статьи; *Самусев И. Г.* — интерпретация полученных данных, редактирование статьи; *Бабич О. О.* — интерпретация полученных данных, редактирование статьи.

14. *Kundu R.* Cationic amphiphilic peptides: Synthetic antimicrobial agents inspired by nature. *Chem Med Chem*. 2020; 15 (20): 1887–1896. doi: 10.1002/cmcd.202000301.
15. *Habinshuti I., Mu T. H., Zhang M.* Ultrasound microwave-assisted enzymatic production and characterisation of antioxidant peptides from sweet potato protein. *Ultrason Sonochem*. 2020; 69: 105262. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105262.
16. *Przystupski D., Ussowicz M.* Landscape of cellular bioeffects triggered by ultrasound-induced sonoporation. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (19): 11222. doi: 10.3390/ijms231911222.
17. *Волкова Л. В., Гришина Т. А., Волков А. Г.* Метод фракционирования лейкоцитарных белков. Пат. РФ № 2737730; опубл. 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)]
18. *Гришина Т. А.* Разработка технологии и стандартизация лиофилизированной субстанции лейкоцитарного белково-пептидного комплекса. Автореферат дисс. канд. фарм. наук, Пермь 2021; 22. [*Grishina T. A.* Development of technology and standardization of lyophilized substance of leukocyte protein-peptide complex. Abstract of diss. candidate of pharmaceutical sciences, Perm 2021; 22. (in Russian)]
19. *Marchei E., Ferri M. A., Torrens M., Farré M., Pacifici R., Pichini S. et al.* Ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and high-sensitivity gas chromatography-mass spectrometry screening of classic drugs and new psychoactive substances and metabolites in urine of consumers. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (8): 4000. doi: 10.3390/ijms22084000.
20. *Волков А. Г., Безматерных И. С., Волкова Л. В.* Эффективность антибактериального лейкоцитарного белково-пептидного комплекса на клинические штаммы микроорганизмов. Вестник ПНИПУ. Химические технологии и биотехнологии. 2022; 4: 17–25. [*Volkov A. G., Bezmaternykh I. S., Volkova L. V.* Efficiency of antibacterial leukocyte protein-peptide complex on clinical strains of microorganisms. *Bulletin of Perm Polytechnic University. Chemical Technologies and Biotechnology*. 2022; 4: 17–25 (in Russian)]
21. МУК 4.2.1890–04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава России. М.: 2004; 91. [Methodical instructions 4.2.1890–04. Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: method. Instructions. Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow. 2004; 91. (in Russian)]
22. *Zhu X., Yuan J., Chang R., Fan W.* Crystallization inhibition and enhanced release of nobiletin in supramolecular peptide assemblies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2024; 697: 134331. doi: 10.1016/j.colsurfa.2024.134331.
23. *Jia J., Liu Q., Liu H., Yang C., Zhao Q., Xu Y. et al.* Structure characterization and antioxidant activity of abalone visceral peptides-selenium in vitro. *Food Chem*. 2024; 433: 137398. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.137398.
24. *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 drug obtained 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)]
25. *Levy O, Weiss J, Zarembek K, Eng Ooi Ch.* Antibacterial 15-kDa protein isoforms (p15s) are members of a novel family of leukocyte proteins. *J Biol Chem.* 1993; 268 (8): 6058–6063. doi: [10.1016/S0021-9258\(18\)53425-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53425-6).
 26. *Lin X. W., Liu R. H., Wang S., Yang J. W., Tao N. P., Wang X. C. et al.* Direct identification and quantitation of protein peptide powders based on multi-molecular infrared spectroscopy and multivariate data fusion. *J Agric Food Chem.* 2023; 71 (28): 10819–10829. doi: [10.1021/acs.jafc.3c01841](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01841).
 27. *Тен Г. Н., Герасименко А. Ю., Щербаклова Н. Е., Баранов В. И.* Интерпретация ИК и КР спектров альбумина. Известия Саратовского университета. Серия Физика. 2019; 19 (1): 43–57. doi: <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57>. [Тен Г. Н., Герасименко А. Ю., Щербаклова Н. Е., Баранов В. И. Interpretation of IR and Raman spectra of albumin. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Physics.* 2019; 19 (1): 43–57. doi: <https://doi.org/10.18500/1817-3020-2019-19-1-43-57>. (in Russian)]
 28. *Gharehbeglou P, Sarabandi K, Akbarbaglu Z.* Chitosan-coated nanoliposomes: exploring the impact on physicochemical properties, stability, antioxidant activity, and molecular characterization of chlorella-peptide fractions. *Journal of Polymers and the Environment.* 2024; 32: 5387–5405. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-024-03313-6>.
 29. *Kafle B., Böcker U., Wubshet S. G., Dankel K.* Fourier-transform infrared spectroscopy for characterization of liquid protein solutions: A comparison of two sampling techniques. *Vibrational Spectroscopy.* 2024; 124: 103490. doi: [10.1016/j.vibspec.2022.103490](https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103490).
 30. *Rutherford S. H., Baker M. J., Hunt N. T.* 2D-IR spectroscopy of proteins in H₂O — a perspective. *J Chem Phys.* 2023; 158 (3): 030901. doi: [10.1063/5.0129480](https://doi.org/10.1063/5.0129480).
 31. *Lorenz-Fonfria V. A.* Infrared difference spectroscopy of proteins: from bands to bonds. *Chem Rev.* 2020; 120 (7): 3466–3576. doi: [10.1021/acs.chemrev.9b00449](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00449).
 32. *Bruggeman M., Ijkipour H., Stamboulis A.* Defensin-like peptides and their antimicrobial activity in free-form and immobilized on material surfaces. *Open Access Peer-Reviewed Chapter.* 2019; 18. doi: [10.5772/intechopen.85508](https://doi.org/10.5772/intechopen.85508).
 33. *Buccini D. E, Cardoso M. H., Franco O. L.* Antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides for treating intracellular bacterial infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 10: 612931. doi: [10.3389/fcimb.2020.612931](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.612931). PMID: 33614528; PMCID: PMC7892433.
 34. *Makhlynets O. V, Caputo G. A.* Characteristics and therapeutic applications of antimicrobial peptides. *Biophys Rev.* 2021; 2 (1): 011301. doi: [10.1063/5.0035731](https://doi.org/10.1063/5.0035731).
 35. *Ferdowsi S., Abbasi-Malati Z., Pourfathollah A. A.* Leukocyte reduction filters as an alternative source of peripheral blood leukocytes for research. *Hemathol Transfus Cell Ther.* 2021; 43 (4): 494–498. doi: [10.1016/j.htct.2020.10.963](https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.963).
 36. *Buccini D. E, Cardoso M. H., Franco O. L.* Antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides for treating intracellular bacterial infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 10: 612931. doi: [10.3389/fcimb.2020.612931](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.612931). PMID: 33614528; PMCID: PMC7892433.
 37. *Zhai Y.-J., Feng Y., Ma X., Ma F.* Defensins: defenders of human reproductive health. *Hum Reprod Update.* 2023; 29 (1): 126–154. doi: [10.1093/humupd/dmac032](https://doi.org/10.1093/humupd/dmac032).
 38. *Mims D., Smith K. J., Alessandrini V.* The neutrophil antimicrobial peptide cathelicidin promotes Th17 differentiation. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 1285. doi: [10.1038/s41467-021-21533-5](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21533-5).
 39. *Zdziennicka J., Szponder T., Latalski M., Żylińska B., Sobczyńska-Rak A., Wessely-Szponder J.* The influence of autologous and heterologous extract of antimicrobial peptides on leukocytes isolated during titanium implant insertion in rabbit and ovine model. *Engineering of Biomaterials.* 2021; 24 (159). doi: [10.34821/eng.biomat.159.2021.24-30](https://doi.org/10.34821/eng.biomat.159.2021.24-30).

Поступила / Received 08.09.2025

Принята в печать / Accepted 18.09.2025

Информация об авторах

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

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

Косарева Полина Владимировна — д. м. н., ФГБОУ ВО ПГМУ им. ак. Е. А. Вагнера МЗ РФ; профессор кафедры пропедевтики детских болезней, ФГАОУ ВО ПГНИУ; профессор кафедры неорганической химии, химической технологии и техносферной безопасности, ГБУЗ ПК ДКБ им. П. И. Пичугина, Пермь, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0853-925X

Землякова Евгения Сергеевна — к. т. н., научный сотрудник, ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта, Научно-образовательный центр «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника», Калининград, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0974-3914

Цибульникова Анна Владимировна — к. физ.-мат. н., старший научный сотрудник, ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта, Научно-образовательный центр «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника», Калининград, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8578-0701

Самусев Илья Геннадьевич — к. физ.-мат. н., ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта, директор, Научно-образовательный центр «Фундаментальная и прикладная фотоника. Нанопотоника», Калининград, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5026-7510

Бабич Ольга Олеговна — д. т. н., ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта, директор, Научно-образовательный центр «Промышленные биотехнологии», Калининград, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4921-8997

About the authors

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

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

Polina V. Kosareva — D. Sc. in Medicine, Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner; Professor at the Department of Propaedeutics of Childhood Diseases, Perm State National Research University, Professor, Department of Inorganic Chemistry, Chemical Engineering, and Technosphere Safety, Children's Clinical Hospital named after P. I. Pichugin, Perm, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0853-925X

Evgeniya S. Zemlyakova — Ph. D. in Engineering Sciences, Researcher, Research and Educational Center «Fundamental and Applied Photonics. Nanophotonics», Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0974-3914

Anna V. Tsubulnikova — Ph. D. in Physics and Mathematics, Senior Researcher, Research and Educational Center «Fundamental and Applied Photonics. Nanophotonics», Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8578-0701

Ilya G. Samusev — Ph. D. in Physics and Mathematics, Research and Educational Center «Fundamental and Applied Photonics. Nanophotonics», Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5026-7510

Olga O. Babich — D. Sc. in Engineering Sciences, Scientific and Educational Center «Industrial Biotechnology», Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4921-8997