

УДК 615.281.9

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МАТРИЦЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

*А.Г. Волков*

*Серовская городская больница, г. Серов, Россия*

Изучение биологических свойств природных пептидов из клеток донорской крови не теряет своей актуальности для биофармацевтической промышленности. Лейкоцитарные пептиды, полученные в результате воздействия ультразвука, подтверждают возможность их использования в качестве альтернативы антибиотикам. Показано противовоспалительное действие лейкоцитарных пептидов и наличием антиадгезивным потенциалом против изученных бактерий *Staphylococcus cohnii* ВКМ В-3165 и *Listeria welshimeri* Bel-19.

**Ключевые слова:** лейкоцитарные пептиды, биологические свойства, технология, биологические свойства

## STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF LEUKOCYTE PEPTIDES FOR CREATING DRUG MATRIX

*A.G. Volkov*

*Serov Municipal Hospital, Serov, Russia*

The study of the biological properties of natural peptides from donor blood cells does not lose its relevance for the biopharmaceutical industry. Leukocyte peptides obtained as a result of exposure to ultrasound confirm the possibility of their use as an alternative to antibiotics. The anti-inflammatory effect of leukocyte peptides and the presence of anti-adhesive potential against the studied bacteria *Staphylococcus cohnii* VKM В-3165 and *Listeria welshimeri* Bel-19 have been shown.

**Keywords:** leukocyte peptides, biological properties, technology, biological properties

Согласно Государственной программе «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» Российской Федерации на период до 2020 г. и «Фарма 2030» особое внимание уделяется развитию и внедрению производства инновационных лекарственных средств, в том числе пептидам, обладающим антимикробными свойствами. В последние годы существует большая потребность практического здравоохранения в природных антибактериальных полипептидах широкого спектра действия. Система глобального эпиднадзора за развитием устойчивости бактерий к противомикробным препаратам (GLASS) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) выявила широкое распространение антибиотикорезистентности среди населения 22 стран мира.

В настоящее время доказано, что природные антимикробные пептиды (АМП) обладают относительно низкой токсичностью по отношению к клеткам собственного организма, а развитие резистентности к ним бактерий вырабатывается медленнее, чем к традиционным антибиотическим агентам [5]. Помимо непосредственного антибактериального действия, АМП нередко проявляют целый ряд иммуномодулирующих эффектов [7]. В связи с этим разработка технологии и структурно-функциональное изучение АМП животных и человека создают предпосылки для создания производства гомологов подобных соединений и их внедрения в медицину в качестве альтернативы современным антибиотикам.

Существующие методы выделения лейкоцитарных пептидов из клеток млекопитающих, включающие этапы экстрагирования пептидов из лейкоцитарных клеток при низких значениях

pH с последующей экспозицией при пониженных температурах. Полученный экстрагированием материал подвергают ультрафильтрации для выделения низкомолекулярной белковой фракции, с последующей концентрацией и обессоливанием. Получение высокоочищенных фракций, проявляющих антимикробный эффект, осуществляют методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Таким образом, на сегодняшний день получены и частично исследованы низкомолекулярные пептиды из лейкоцитов собак, коз, обезьян, лосей, обладающие противомикробным действием [6, 8, 9]. Анализ литературы свидетельствует об использовании лейкоцитов млекопитающих в качестве сырьевого источника получения полипептидов. Получаемые субстанции обладают антибактериальным и иммуномодулирующим эффектами, что является несомненным преимуществом при разработке терапевтических препаратов.

Использование ультразвука в качестве деструктора лейкоцитов актуально. Разработана методика ультразвукового воздействия на лейкоцитарные клетки, позволяющая получить белково-пептидный комплекс. Для максимального выделения биологической активности из лейкоцитов наиболее эффективна их ультразвуковая обработка при амплитуде 80-100 % вне зависимости от времени обработки. Оптимальная концентрация лейкоцитов в клеточной суспензии для проведения клеточной деструкции путем УЗ-обработки составляет 6,7 млн/мл.

Нами ранее разработана технология получения лейкоцитарных пептидов, с применением ультразвукового лизиса клеток и очистки с помощью ультрафильтрационных пластин с порогом отсека 15кДа. Определены оптимальные условия проведения ультразвуковой обработки лейкоцитов: концентрация лейкоцитов в клеточной суспензии – 6,7 млн/мл; температура – от +4 до +8 °С; время воздействия ультразвука – от 80 до 100 сек.; частота ультразвуковых волн – 30 кГц; амплитуда УЗ-излучения – 60%. Проведенный анализ ВЭЖХ подтвердил наличие в ЛБПК низкомолекулярных пептидов, с количественным содержанием до 90 % [2,3]. Установлено, что ЛБПК обладает высокой антибактериальной активностью в отношении штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris* средне выраженной активностью в отношении изученных штаммов *E. faecalis*, *P. aeruginosa*. Так же показано, что лейкоцитарный белково-пептидный комплекс обладает умеренной противовирусной активностью и относится к 4 классу токсичности по ГОСТ 12.1.007-76 (является малотоксичным) [4].

В настоящее время проводится дальнейшее изучение биологических свойств полученного лейкоцитарного пептида из крови доноров. Показано, что лейкоцитарный пептидный комплекс наряду с антимикробной активностью обладает противовоспалительным действием. Данный препарат проявляет выраженную противовоспалительную активность, которая в 2,7 раза меньше, чем в контрольной группе. Противовоспалительная активность исследуемого пептидного комплекса не уступала препарату сравнения нимесулиду и превышала его действие на 13%. Учеными продолжают исследования по поиску эффективных лекарственных субстанций, которые обладали снижением агрессивного потенциала биопленок и как следствие снижение риска инфекционных заболеваний. Ранее нами был получен положительный результат эффективности ЛПК на адгезию бактерий к полистеролу [1]. Полученные результаты показали, что предобработка полистерола ЛПК в концентрации 20 мг/мл снижала сорбцию *Staphylococcus cohnii* ВКМ В-3165 и *Listeria welshimeri* Bel-19 в одинаковой степени более чем на 70% от контролей. Таким образом, лейкоцитарный пептидный комплекс обладал выраженным антиадгезивным потенциалом против изученных видов бактерий.

Изучение структурно-функциональных свойств полученного лейкоцитарного полипептидного комплекса и дальнейшее получение отдельных пептидов, отвечающих за биологические свойства, вносят не только вклад в фундаментальные исследования, но и создают подходы в создании препаратов нового поколения для медицины.

**Благодарности.**

Автор выражает глубокую благодарность профессору ПНИПУ Волковой Л.В., сотрудникам лаборатории биохимии развития микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН: и.о. зав. лабораторией к.б.н. Полюдовой Т.В., научному консультанту к.м.н. Коробову В.П. и ведущему инженеру Кононовой Л.И. за участие в проведении совместных научных исследований.

**Библиографический список**

1. Безматерных И.С. Влияние лейкоцитарного белково-пептидного комплекса на адгезию бактерий к полистеролу/ И.С. Безматерных, Л.И. Кононова, В.П. Коробов, Л.В. Волкова //Химия. Экология. Урбанистика: матер. всерос. науч.-практ. конф. (с междунар. участием). - 2022, т. 4; Т. 2. - С. 27-31.
2. Волкова Л.В. Фракционный состав лейкоцитарного лизата и его биологические свойства / Л.В. Волкова, Т.А. Гришина, А.Г. Волков // Современные проблемы науки и образования. – 2019. - № 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28527>.
3. Гришина Т.А., Волкова Л.В., Волков А.Г. Способ фракционирования лейкоцитарных белков (патент РФ на изобретение №2737730).
4. Гришина Т.А. Цитотоксичность и токсикологическая характеристика нового лейкоцитарного полипептида/ Т.А. Гришина, А.Г. Волков, Л.В. Волкова// Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23, № 5. – С. 3–8.
5. Жаркова М.С. Антимикробные пептиды млекопитающих: классификация, биологическая роль, перспективы практического применения (обзорная статья)/М.С. Жаркова, Д.С. Орлов, В.Н. Кокряков и др. // Biological Communication. - 2014.- вып. 1.- С. 98-114.
6. Кораблева Е.С. Антимикробный пептид из лейкоцитов собаки: структурно-функциональные свойства/ Е.С. Кораблева, У. Белов, Ю.В. Андреева и др.// Biological Communications. - 2007.- в. 3- С. 80- 84.
7. Мусин Х.Г. Антимикробные пептиды – потенциальная замена традиционным антибиотикам/ Х.Г. Мусин//Russian Journal of Infection and Immunity/ - 2018.-no.3, pp. 295-308.
8. Шамова О.В. Мини-бактенецины ChVac7.5N  $\alpha$  и ChVac7.5N  $\beta$  - антимикробные пептиды из лейкоцитов козы *Capra hircus*/ О. В. Шамова, Д. С. Орлов, М. С. Жаркова и др.// Acta Naturae (русскаяязычная версия).- 2016. - Т.8, № 3. - С. 1-11.
9. Юхнев В.А. Поиск новых антимикробных пептидов из семейства кателицидинов и дефенсинов в лейкоцитах лося (*alces alces*) /В.А. Юхнев, М.А. Шартукова, Н.В. Луговкина и др. // Biological Communications. - 2014.- в. 1- С. 115-132.