

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-1-4-13>



Поступила 11.10.2025

Поступила после рецензирования 31.10.2026

Принята в печать 15.01.2026

© Бабич О. О., Тихонов С. Л., Чернуха И. М., Сухих С. А.,

Тихонова Н. В., Сысуюев Е. Б., 2026

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Открытый доступ

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕТИДОМИМЕТИКА НА МОДЕЛИ *IN VITRO*

Бабич О. О.¹, Тихонов С. Л.^{2,3,4*}, Чернуха И. М.⁴, Сухих С. А.¹, Тихонова Н. В.², Сысуюев Е. Б.⁵

¹Балтийский федеральный университет имени И. Канта, Калининград, Россия

²Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

³Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

⁴Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

⁵Филиал «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения в г. Екатеринбург, Екатеринбург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

окислительный стресс, болезнь Паркинсона, биоактивные вещества, биопептиды, молекулярная пептидная трансплантация

В статье рассматриваются нейропротекторные эффекты пептидомиметика CC-18 с последовательностью CTKSICTKTLRTPPIC, полученной методом молекулярной пептидной трансплантации. Цель исследования — оценить влияние пептидомиметика на уровень активных форм кислорода (АФК) в митохондриях клеток нейробластомы человека (SH-SY5Y) при окислительном стрессе, вызванном ротеноном. Синтез пептидомиметика проводился методом твердофазного синтеза Fmoc (SPPS) с последующей очисткой с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Влияние пептидомиметика на жизнеспособность клеток SH-SY5Y оценивали в диапазоне концентраций от 5 до 150 мкг/мл методом МТТ-теста. Также было проведено прогнозирование биологических свойств пептида с использованием баз данных Cybase, APD и ADMET. Результаты показали, что пептидомиметик CC-18 обладает нейропротекторным действием, которое заключается в снижении уровня АФК в митохондриях клеток SH-SY5Y. Механизм действия пептидомиметика связан с активацией экспрессии генов, ответственных за антиоксидантную защиту, таких как SOD1, SOD3, NQO1, GSS и GAPDH. Это способствует предотвращению гибели нейронов. Полученные данные подтверждают потенциал пептидомиметика CC-18 как эффективного антиоксидантного средства для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний, связанных с окислительным стрессом. Перспективным направлением являются исследования, доказывающие эффективность пептидомиметика CC-18 в клинической практике.

Received 11.10.2025

Accepted in revised 31.10.2026

Accepted for publication 15.01.2026

© Babich O. O., Tikhonov S. L., Chernukha I. M., Sukhoi S. A.,

Tikhonova N. V., Sysuev E. B., 2026

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF A PEPTIDOMIMETIC ON AN *IN VITRO* MODEL

Babich O. O.¹, Tikhonov S. L.^{2,3,4*}, Chernukha I. M.⁴, Sukhoi S. A.¹, Tikhonova N. V.², Sysuev E. B.⁵

¹Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

²Ural State Agricultural University, Yekaterinburg, Russia

³Ural State Forestry Engineering University, Yekaterinburg, Russia

⁴V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

⁵Branch of the “Russian Scientific and Research Institute for Medical Engineering of the Federal Service for Surveillance of Healthcare in Yekaterinburg, Yekaterinburg, Russia

KEYWORDS:

oxidative stress, Parkinson's disease, bioactive substances, peptidomimetic, molecular peptide transplantation

ABSTRACT

The article discusses the neuroprotective effects of the peptidomimetic CC-18 with the sequence CTKSICTKTLRTPPIC obtained by the method of molecular peptide transplantation. The aim of the study was to evaluate the effect of the peptidomimetic on the level of reactive oxygen species (ROS) in the mitochondria of human neuroblastoma cells (SH-SY5Y) under oxidative stress caused by rotenone. The peptidomimetic was synthesized by Fmoc solid-phase synthesis (SPPS) followed by purification using high performance liquid chromatography (HPLC). The effect of the peptidomimetic on viability of SH-SY5Y cells was evaluated in the concentration range from 5 to 150 micrograms/ml by the MTT test. The biological properties of the peptidomimetic were also predicted using the Cybase, APD, and ADMET databases. The results showed that the CC-18 peptidomimetic has a neuroprotective effect, reducing the level of ROS in the mitochondria of SH-SY5Y cells. The mechanism of action of the peptidomimetic is associated with the activation of expression of genes responsible for antioxidant protection, such as SOD1, SOD3, NQO1, GSS and GAPDH. This helps to prevent the death of neurons. The data obtained confirms the potential of the CC-18 peptidomimetic as an effective antioxidant agent for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases associated with oxidative stress. A promising area of further research are studies proving the effectiveness of the CC-18 peptidomimetic in clinical practice.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Бабич, О. О., Тихонов, С. Л., Чернуха, И. М., Сухих, С. А., Тихонова, Н. В., Сысуюев, Е. Б. (2026). Нейропротекторные эффекты пептидомиметика на модели *in vitro*. *Пищевые системы*, 9(1), 4–13. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-1-4-13>

FOR CITATION: Babich, O. O., Tikhonov, S. L., Chernukha, I. M., Sukhoi, S. A., Tikhonova, N. V., Sysuev, E. B. (2026). Neuroprotective effects of a biopeptidomimetic on an *in vitro* model. *Food Systems*, 9(1), 4–13. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2026-9-1-4-13>

1. Введение

Окислительный стресс (ОС) — физиологическое явление, при котором дисбаланс окислительных и антиоксидантных процессов в организме приводит к выработке избыточного количества активных форм кислорода (АФК), повреждающих клетки и способствующих развитию заболеваний. Наиболее подвержены ОС нервные клетки [1]. Возникновение некоторых нервных заболеваний тесно связано с избытком АФК и свободных радикалов в организме, в основном гидроксильного радикала (НО \cdot), супероксид-анионного радикала O $2^{\cdot-}$ и радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) [2]. При избытке активных форм кислорода нарушается клеточная сигнализация, что вызывает повреждение белков и ДНК, а также инициирует перекисидацию полиненасыщенных жирных кислот. В результате дестабилизируются клеточные мембраны, что приводит к повреждению нейробластов и запуску апоптоза [3]. Окислительный стресс, сопровождающийся агрегацией белков, реактивацией клеточного цикла, апоптозом и митохондриальной дисфункцией, обнаруживается при болезни Паркинсона (БП) [4]. Из-за высокой скорости метаболизма и потребления кислорода мозг является органом, особенно уязвимым к окислительному стрессу. Хотя патофизиология нервной системы изучена не до конца, большинство исследований различных моделей нейронных расстройств, воспроизводящих важные аспекты заболевания, выявили такие ключевые элементы, как окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, нейровоспаление и т. д. АФК запускают механизм, приводящий к нарушению функции нервных клеток и в конечном счете к нейродегенерации. Разнообразные неврологические заболевания, в том числе болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз (БАС), болезнь Хантингтона (БХ), рассеянный склероз (РС) и ишемический инсульт, связаны с окислительным стрессом. Понимание влияния окислительного стресса на развитие этих заболеваний крайне важно для разработки новых методов лечения [5].

Изменение соотношения глутатион/дисульфид глутатиона (GSH/GSSG) при болезни Паркинсона указывает на то, что окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе гибели нервных клеток. В посмертных образцах мозга пациентов с болезнью Паркинсона количество продуктов перекисного окисления липидов примерно в 10 раз выше, чем в других областях мозга у пациентов контрольной группы того же возраста. АФК приводят к гибели нейробластом человека SH-SY5Y [4]. Следовательно, контроль и регуляция окислительного стресса могут быть перспективным терапевтическим подходом для пациентов с болезнью Паркинсона. Современные методы лечения болезни Паркинсона направлены на повышение уровня дофамина [6]. Однако эти подходы не являются долгосрочным решением, поскольку каждый из них со временем теряет эффективность по мере прогрессирования дофаминергической нейродегенерации. Неудовлетворительные результаты лечения традиционными противопаркинсоническими препаратами побудили к поиску новых альтернатив [6].

Разрабатываются превентивные стратегии, препятствующие повреждению нейронов и других структур нервной системы и способствующие сохранению когнитивных, сенсорных и двигательных функций. Исследователи изучают возможность использования антиоксидантов и других молекул, которые могут помочь защититься от окислительного стресса и предотвратить или замедлить прогрессирование заболеваний головного мозга. Расширение знаний о роли окислительного стресса в патогенезе неврологических расстройств открывает возможности для создания более эффективных методов лечения и профилактики этих заболеваний для улучшения качества жизни пациентов.

К перспективным веществам, направленным на профилактику и лечение нервных болезней, вызванных образованием АФК, относятся биологически активные пептиды (БАП) с антиоксидантными свойствами [7]. Следует отметить, что на потребительском рынке специализированные, функциональные и персонализированные продукты питания, обогащенные БАП, представлены в недостаточном ассортименте. Одной из причин является то, что пептиды, попадая в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), подвергаются протеолизу и, соответственно, теряют биологическую активность. Поэтому в последние годы разрабатываются химические и биологические методы модификации пептидов [8,9]. Эти методы включают в себя либо нисходящие подходы, то есть выделение пептидов непосредственно из источника белка [10], либо восходящие подходы, при которых пептиды с заранее определенной последовательностью производятся с помощью химического синтеза или рекомбинантной технологии [11]. Все эти инструменты позволили собрать обширную коллекцию пептидов и разработать такие базы данных, как база данных пептидов, которая находится в свободном доступе [12].

При этом многие биотехнологические компании активно разрабатывают технологии пероральной доставки пептидов и/или проводят исследования показаний к их применению [13].

Схематическая оценка стратегий разработки пептидов для перорального введения представлена на Рисунке 1 [14].

Одним из перспективных направлений сохранения устойчивости пептида к действию протеаз и обеспечения термостабильности является встраивание пептидных последовательностей в устойчивый к протеолизу каркас. Такой метод создания новых пептидов с заданными свойствами называется молекулярная пептидная трансплантация [15]. Циклизация стала эффективным инструментом повышения стабильности пептидов и ограничения их трехмерной структуры для усиления желаемого биологического эффекта. Например, благодаря этому методу, например, гидрофобная область циклизованного аналога мелиттина осталась неизменной, что обеспечило сохранение его противомикробной активности и снижение гемолитической активности. Циклические пептиды называют пептидомиметиками или пептидами нового поколения [16].

Пептидомиметики как терапевтическое средство привлекают большое внимание из-за их способности к пероральному всасыванию и доступу к труднодоступным внутриклеточным мишеням. Авторы [17] провели химическую оптимизацию пептида, что позволило создать новый клинический препарат для перорального применения, известный как LUNA18.

Одним из примеров использования циклических пептидов в терапевтических целях является пептидомиметик циклоспорин. Он одобрен в качестве иммунодепрессанта и доступен в двух препаратах: мягкие желатиновые капсулы циклоспорина и раствор циклоспорина для приема внутрь, которые назначаются для лечения после трансплантации почек, печени и сердца. Синтезированный пептидомиметик десмопрессин, модифицированный аналог вазопрессина, был разработан в форме таблеток для лечения несахарного диабета. Десмопрессин обладает более высокой антидиуретической активностью, чем натуральный вазопрессин, и незначительной сосудосуживающей активностью. Также он обладает пролонгированным антидиуретическим действием по сравнению с нативным вазопрессином, отчасти из-за его устойчивости к деградации вазопрессиной [18]. Однако целесообразность циклизации пептидов как общей стратегии для повышения пероральной биодоступности все еще изучается. Нильсен и др. исследовали физико-химические параметры и пероральную абсорбцию 125 циклических пептидов [19].

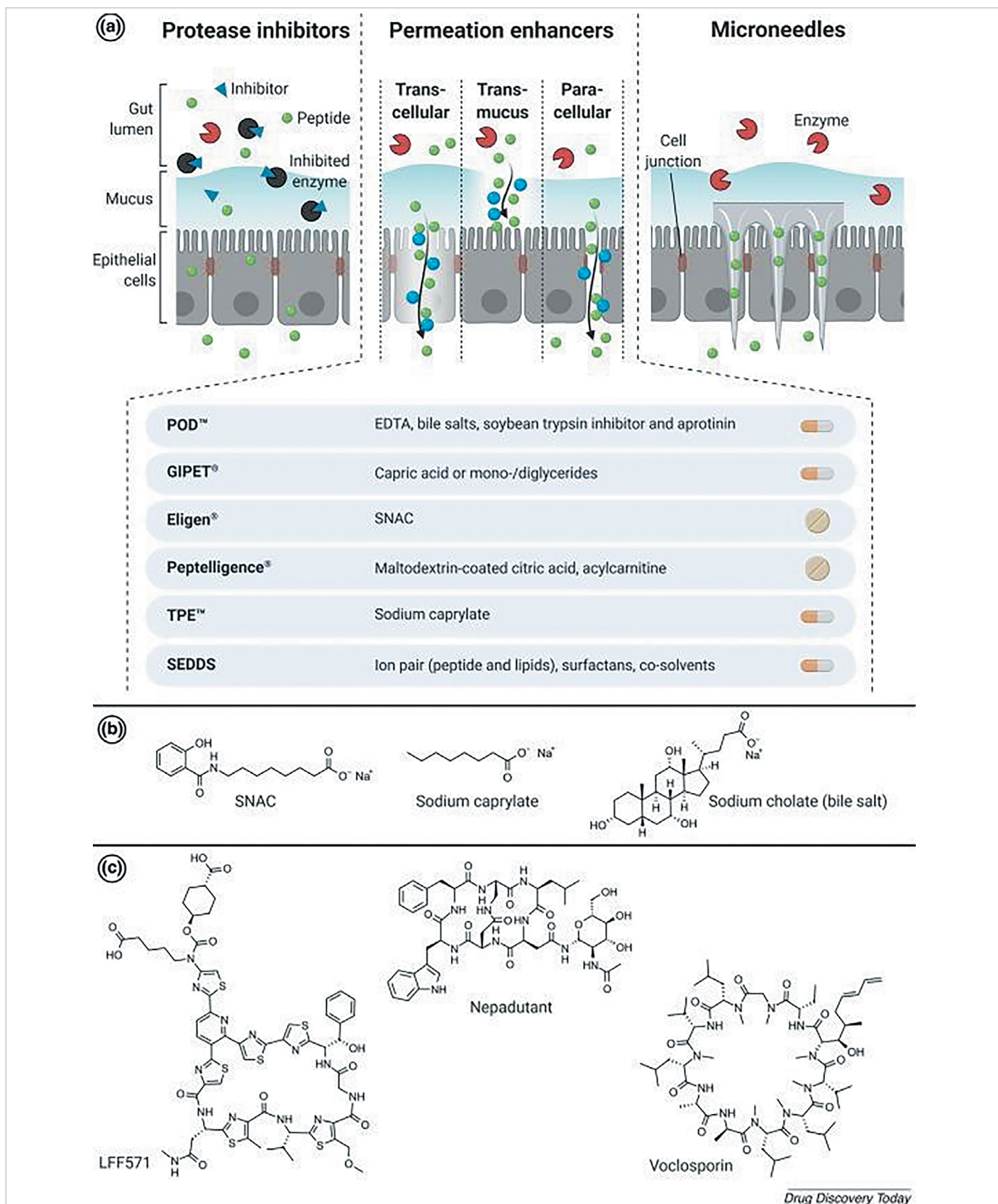
Цель работы — оценка нейропротекторных свойств нового циклического пептидомиметика с последовательностью STKSICTKTLRTPPIC путем изучения динамики АФК в митохондриях нейробластом человека SH-SY5Y на фоне индуцированной ротеноном генерации АФК.

2. Объекты и методы

2.1. Характеристика объекта исследования

В качестве объекта исследования использовали синтезированный пептидомиметик CC-18 с последовательностью STKSICTKTLRTPPIC, разработанный на основе циклического пептида из базы данных циклических пептидов Cybase $\text{\textcircled{R}}$ (Sybase CIS, США) с номером [Nphe5] SFTI-1(100). Синтез пептидомиметика проводился в компании Permics (Китай) с использованием твердофазного метода Fmoc, после чего осуществлялась очистка посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с применением хроматографической колонки SHIMADZU Inertsil ODS-SP (SHIMADZU, Япония). Прогнозирование свойств и биодоступности пептидомиметика выполнялось на основе данных из следующих ресурсов: APD, Peptidomimetic Property Calculator (Awesome Labs LLC, США) и платформы ADMET.

Молекулярная пептидная трансплантация последовательности TKTLRT, идентифицированной с помощью молекулярного докинга в протеомных базах данных, в устойчивый к протеолизу циклический пептид [Nphe5] SFTI-1(100) позволила создать новый циклический пептидомиметик с аминокислотной последовательностью STKSICTKTLRTPPIC после выравнивания по базе данных APD. По серверу Peptidomimetic Ranker биологическая активность пептида составляет 0,668782 ед. Пептиды считаются биоактивными при показателе более 0,5 ед. Прогнозирование физико-химических свойств пептидомиметика с использованием базы данных APD позволило определить следующие характеристики: молекулярная формула C $_{83}$ H $_{150}$ N $_{24}$ O $_{24}$ S $_4$, молекулярная масса — 1996 Да, общий заряд — +4, общее гидрофобное соотношение составляет 39%. Гидрофобность пептида по Уимли-Уайту (суммарная энергия переноса пептида без остатка из воды на поверхность раздела POPC) составляет 3,23.



Drug Discovery Today

Рисунок 1. Схематическая оценка стратегий разработки пептидов для перорального введения пептидов. (a) Ингибиторы протеазы, усилители проницаемости эффективны для перорального введения пептидов. (b) Для перорального введения успешно используются усилители проницаемости, такие как салкапрозат натрия (SNAC), соли желчных кислот и каприлат натрия. Они обеспечивают прохождение молекулы через слизистый слой, клеточные мембраны и плотные соединения. (c) Химическая модификация и циклизация являются подходящими инструментами для изменения физико-химических свойств пептидов и, таким образом, применяются для перорального введения пептидов [14].

Figure 1. Schematic evaluation of the strategies for the development of peptides for oral delivery of peptides. (a) Protease inhibitors, permeation enhancers are effective for oral delivery of peptides. (b) Permeation enhancers, such as salcaprozate sodium (SNAC), bile acid salts and sodium caprylate, are successfully used for oral delivery. They enable passage of the molecule through the mucus layer, cell membranes and tight junctions. (c) Chemical modification and cyclization are suitable instruments for changing physico-chemical properties of peptides and, therefore, are used for oral delivery of peptides [14].

Потенциал связывания с белками (индекс Бомана) равен 1,4 ккал/моль. Пептидомиметик обладает хорошей растворимостью в воде, изоэлектрическая точка составляет 9,34. Значение $\log P$ равно 1,6 моль/л (оптимальный диапазон: от 0,5 до 3 моль/л), а $\log D_{7,4}$ – 0,869 логарифмических моль/л (оптимальный диапазон: от 0,5 до 3 моль/л).

Поскольку в последовательности содержится четное количество остатков Cys, пептидомиметик формирует дефениноподобную β -структуру, стабилизированную дисульфидными связями. Хроматограмма синтезированного пептидомиметика CC-18 продемонстрирована на Рисунке 2. На Рисунке 3 представлен масс-спектр пептида CC-18.

2.2. Клетки и их культивирование

Использование *in vitro* модельных систем значительно расширило возможности нейробиологии и нейронаук. Клетки в культуре представляют собой эффективную платформу для изучения функциональности белков и молекулярных механизмов, лежащих в основе конкретных явлений, для понимания патогенеза заболеваний и инфекций, а также для проведения предварительных испытаний лекарственных препаратов. В нейробиологии основными типами клеточных культур являются линии человеческих нейронных клеток. В связи с вышеизложенным в эксперименте была использована клеточная линия нейробластомы человека SH-SY5Y, которую культивировали в среде DMEM (10% эмбриональная бычья сыворотка, 1% L-глутамин, 1% пируват натрия, 1% пенициллин/стрептомицин) (Cargilong Scientific, Германия). Условия культивирования: относительная влажность 95%, температура 37°C. Замена среды производилась каждые 3 дня в течение всего периода культивирования. Перед каждым экспериментом клетки исследовали на наличие микоплазмы.

2.3. Определение цитотоксичности CC-18

Для последующей работы с пептидомиметиком CC-18 необходимо выявить наибольшую концентрацию, при которой рост клеток либо стимулируется, либо не меняется.

Клетки были посеяны в 96-луночный планшет в количестве $0,5 \times 10^6$ клеток на лунку в 100 мкл среды. По достижении 70% конfluence к клеткам добавили CC-18 в разных концентрациях (5, 25, 50, 75, 100, 150 мкг/мл). Ротенон был добавлен как вещество, индуцирующее редокс. По данным [20], ротенон используют в экспериментах на лабораторных животных для индуцирования болезни Паркинсона.

Клетки инкубировали с экстрактами в течение двух дней. На третий день к клеткам добавили 10 мкл раствора МТТ (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (конечная концентрация 0,5 мг/мл). После планшет убрали в CO_2 -инкубатор на 4 часа. Затем смесь среды и МТТ удаляли. Далее добавляли 100 мкл DMSO и убрали планшет повторно в CO_2 -инкубатор на 30 минут. Поглощение оценивали на планшетном фотометре с блоком для кювет Multiskan Spectrum (Thermo Fisher Scientific, США) при длине волны 559 нм. Каждая из экспериментальных лунок была повторена 8 раз. Эксперимент был проведен в трехкратной повторности.

2.4. Изменение количества АФК в митохондриях

Для определения относительного количества АФК был использован краситель 6-карбокситетракарбоксил-2,7'-дихлориди-гидрофлуоресцеин диацетат. Клетки рассаживали в 24-луночный планшет в количестве 2×10^4 клеток на лунку. По достижении конfluence до 70% к клеткам добавили пептид CC-18 и ротенон в концентрации, определенной на предыдущем этапе. На третий

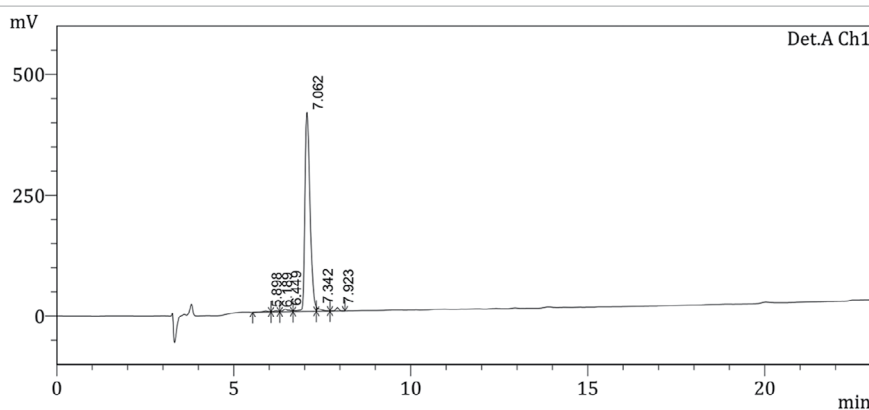


Рисунок 2. Хроматограмма пептидомиметика CC-18: по оси абсцисс – время удерживания (мин), по оси ординат – интенсивность сигнала детектора

Figure 2. Chromatogram of CC-18 peptidomimetic: on the x-axis – retention time (min), on the y-axis – detector signal intensity (mV)

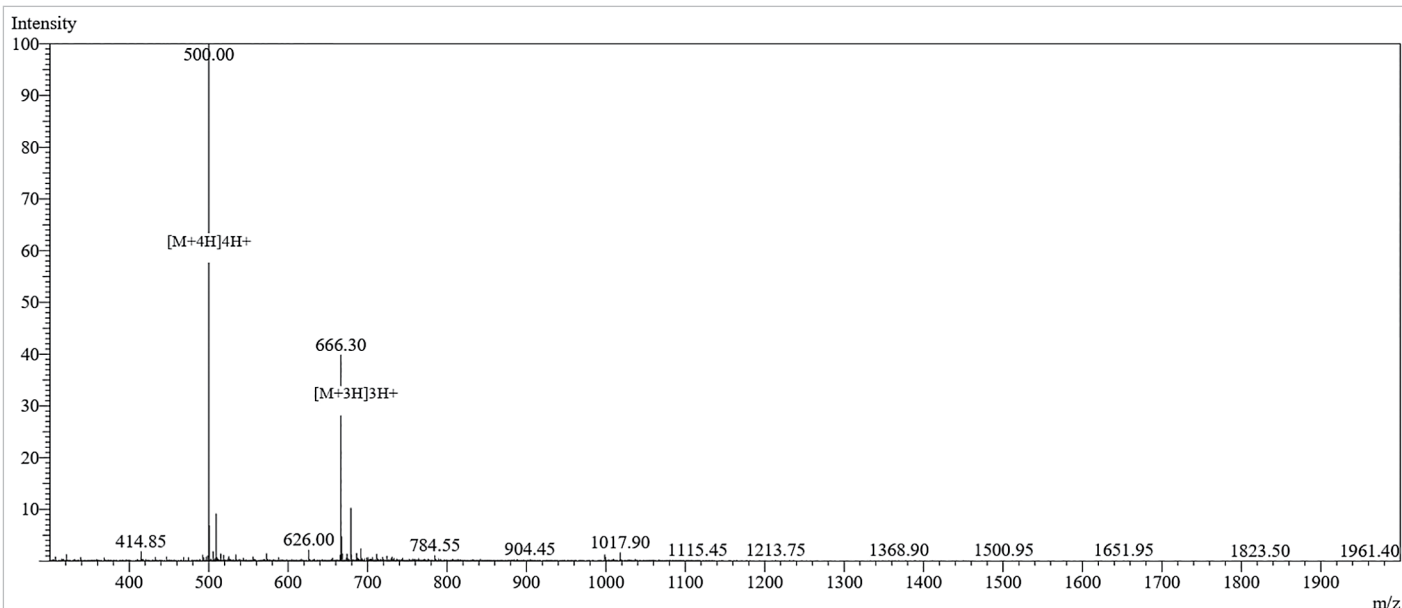


Рисунок 3. Масс-спектр пептидомиметика CC-18, на оси абсцисс m/z обозначает массу, деленную на число зарядов, на оси ординат – интенсивность пика (принята за 100)

Figure 3. Mass spectrum of the CC-18 peptidomimetic; x-axis – m/z means mass divided by the charge number, y-axis – peak intensity (taken for 100)

день культивирования у клеток собирали среду и промывали теплым раствором HBSS. Затем H_2DCFDA развели до концентрации 10 мкг/мл в DMEM ввиду ингибирования H_2DCFDA сывороткой. Наличие АФК определяли на проточном цитофлуориметре BD Fortessa (BD, США).

2.5. Изменение экспрессии маркеров накопления АФК

Клетки были засеяны в 6-луночный планшет в количестве 5×10^4 клеток на лунку. На следующий день к клеткам добавляли пептид CC-18 и ротенон по схеме, указанной ранее в концентрации. Через два дня клетки были трипсинолизированы и собраны для выделения РНК. Выделение РНК проводили с помощью реагента ExtractRNA («Евроген», Россия) по протоколу производителя. Обратная транскрипция была сделана с помощью набора SuperScript IV (Invitrogen, США), затем проводили количественную ПЦР с праймерами, указанными в Таблице 1, использовали набор 50X SYBR Green I («Евроген», Россия).

Таблица 1. Праймеры для оценки изменения экспрессии маркеров миграции

Table 1. Primers for assessing changes in expression of migration markers

Название гена	Последовательность, 5' -> 3'
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG
	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA
SOD1	CTCACTCTCAGGAGACCATTGC
	CCACAAGCCAACGACTTCCAG
SOD3	ACGCTGGCGAGGACGACCTG
	GCTTCTTGGCTCTGAGTGCTC
NQO1	CCTGCCATCTGAAAGGCTGGT
	GTGGTGATGGAAGCACTGCCT
GSS	CCAAGACCGAAGGCTGTTTGTG
	TGTGACCTCTCCAGCAGTAGAC

2.6. Статистический анализ

Результаты исследований выражены в виде среднего значения \pm стандартного отклонения. Все эксперименты были повторены три раза. Результаты исследования жизнеспособности клеток линии SH-SY5Y были проанализированы с помощью метода нелинейной регрессии. В рамках остальных экспериментов для сравнения результатов использовали тест Крускала-Уоллиса.

3. Результаты и обсуждение

Клетки SH-SY5Y часто используются в качестве *in vitro* моделей для изучения функций и дифференциации нейронов. Они являются адригергическими по фенотипу, но также экспрессируют дофаминергические маркеры и поэтому используются для изучения болезни Паркинсона, нейрогенеза и других характеристик клеток мозга.

При исследовании токсичности МТТ тестом пептидомиметика CC-18 на клетках установлено, что пептидомиметик не цитотоксичен, так как во всех исследуемых вышеуказанных концентрациях гибель клеток SH-SY5Y не наблюдалась. При концентрациях пептидомиметика 5, 25, 50, 75, 100 и 150 мкг/мл отмечается достоверная пролиферация клеток на 5, 4, 5, 7, 8 и 7% ($P \leq 0,05$). Результаты исследований представлены на Рисунке 4.

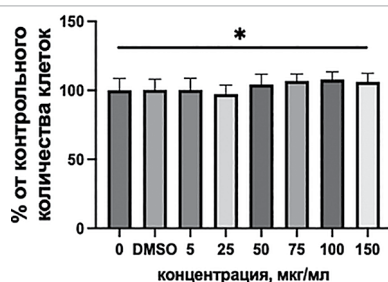


Рисунок 4. Результаты исследования токсичности пептидомиметика на клетках SH-SY5Y: статистически значимые результаты ($p < 0,05$) наблюдались при концентрации пептида 0 и 150 мкг/мл, что было подтверждено с помощью теста Крускала-Уоллиса

Figure 4. Results of the study of the toxicity of the peptidomimetic on the SH-SY5Y cells: statistically significant results ($p < 0.05$) were observed at the peptide concentrations of 0 and 150 $\mu\text{g/ml}$, which was confirmed by the Kruskal-Wallis test

Результаты проведенного исследования соответствуют данным, полученным в работе [20], где показано, что нейротропный пептид Tat-NTS демонстрирует эффективность (сохраняет активность в течение 2 ч) и является нетоксичным при введении различными способами, такими как пероральный, подкожный, внутрибрюшинный и внутривенный.

На Рисунке 5 представлены данные о накоплении активных форм кислорода в клетках SH-SY5Y.

Пептидомиметик C18 способствует нормализации редокс-состояния в клетках SH-SY5Y. Так, добавление CC-18 в дозировке 100 мкг/мл сократило количество АФК на 35%, нивелировав присутствие ротенона.

Результаты исследований согласуются с данными [21], которые показали, что пептид Tat-NTS предотвращал образование АФК в нейронах, а также ингибировал ядерную транслокацию ANXA1 в микроглию, вызванную ишемическим повреждением мозга. ANXA1 оставался в цитоплазме и подвергался модификации через SUMO-окивление, после чего связывался с IKK α и NBR1. Это вызвало аутофагическую деградацию IKK α , что дополнительно подавляло путь NF- κ B и снижало высвобождение провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α в микроглии. В результате ослаблялся апоптоз нейронов и улучшалось восстановление неврологических функций после ишемии мозга.

На Рисунке 6 представлены данные об экспрессии генов редокс-маркеров GAPDH, SOD1, SOD3, NQO1 и GSS.

Пептидомиметик индуцирует элиминацию АФК и, как следствие, снижается экспрессия маркеров редокс. У генов SOD1 (супероксиддисмутаза), NQO1, GSS (глутатионсинтаза) и GAPDH (гликолитический фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) достоверно снижается экспрессия на 40,83; 50,6; 35,5; 38,7 и 35,3% в сравнении с их уровнем при инкубировании с ротенонем. Данный эффект указывает на снижение количества супер-анион кислорода, гидроксогрупп и перекиси водорода как ключевых и наиболее значимых АФК. SOD1 относится к классу ферментов, которые катализируют превращение супероксидных радикалов в кислород и перекись водорода. У всех млекопитающих, включая человека, есть три изоформы супероксиддисмутазы: Cu/ZnSOD (SOD1), митохондриальная MnSOD (SOD2) и внеклеточная Cu/ZnSOD (SOD3). Нарушение их антиоксидантной функции связывают с заболеваниями с нарушением функции нервной системы и других [22,23].

В нашем эксперименте активность SOD1 при окислительном стрессе клеток снижается на фоне применения пептидомиметика CC-18, что свидетельствует об ослаблении окислительного стресса в клетках и согласуется с исследованиями [24–26], в которых доказано, что снижение экспрессии SOD1 связано с ослаблением окислительного повреждения, включая перекисное окисление липидов мембран, карбонилирование белков и разрыв ДНК.

Исследования [27] показали, что активный центр рекомбинантного цитозольного фермента NQO1 содержит нековалентно связанный флаavin в форме ФАД и способен генерировать восстановленный флаavin (ФАДН $_2$) путем окисления НАД(Ф)Н в эксперименте с очищенным ферментом и в клеточных системах, экспрессирующих NQO1. Таким образом, NQO1 функционирует как НАД(Ф)Н-зависимая супероксидредуктаза, поддерживая восстановленный флаavin. Следует отметить, что высокий уровень NQO1, наблюдаемый во многих типах клеток как до, так и после индукции в результате стрессовых реакций, может компенсировать более низкую скорость восстановления супероксида с помощью NQO1. Кроме того, по данным [28], высокий уровень экспрессии NQO1 обнаружен в тканях, подвергающихся воздействию высокого уровня кислорода, таких как роговица, хрусталик глаза, дыхательные пути и кровеносные сосуды. В клетках, чувствительных к окислительному стрессу, включая адипоциты, NQO1 обеспечивает дополнительную защиту от перекисного окисления липидов [29]. Поэтому в эксперименте мы изучили экспрессию NQO1.

В исследованиях установлено, что экспрессия NQO1 достоверно снижается на 50,6% в сравнении с уровнем при инкубировании с ротенонем. Следовательно, NQO1 может функционировать как белок, чувствительный к окислительно-восстановительным процессам, и как окислительно-восстановительный переключател. Это согласуется с исследованиями [30], в которых предполагается, что локальное соотношение пиридиновых нуклеотидов приводит к восстановлению ФАД и к изменению конформации белка. Изменение конформации приводит к потере связывания с антителами, которые нацелены на несколько участков NQO1. Это конформационное изменение обратимо и зависит от уровня восстановленных пиридиновых нуклеотидов и окислительно-восстановительного состояния

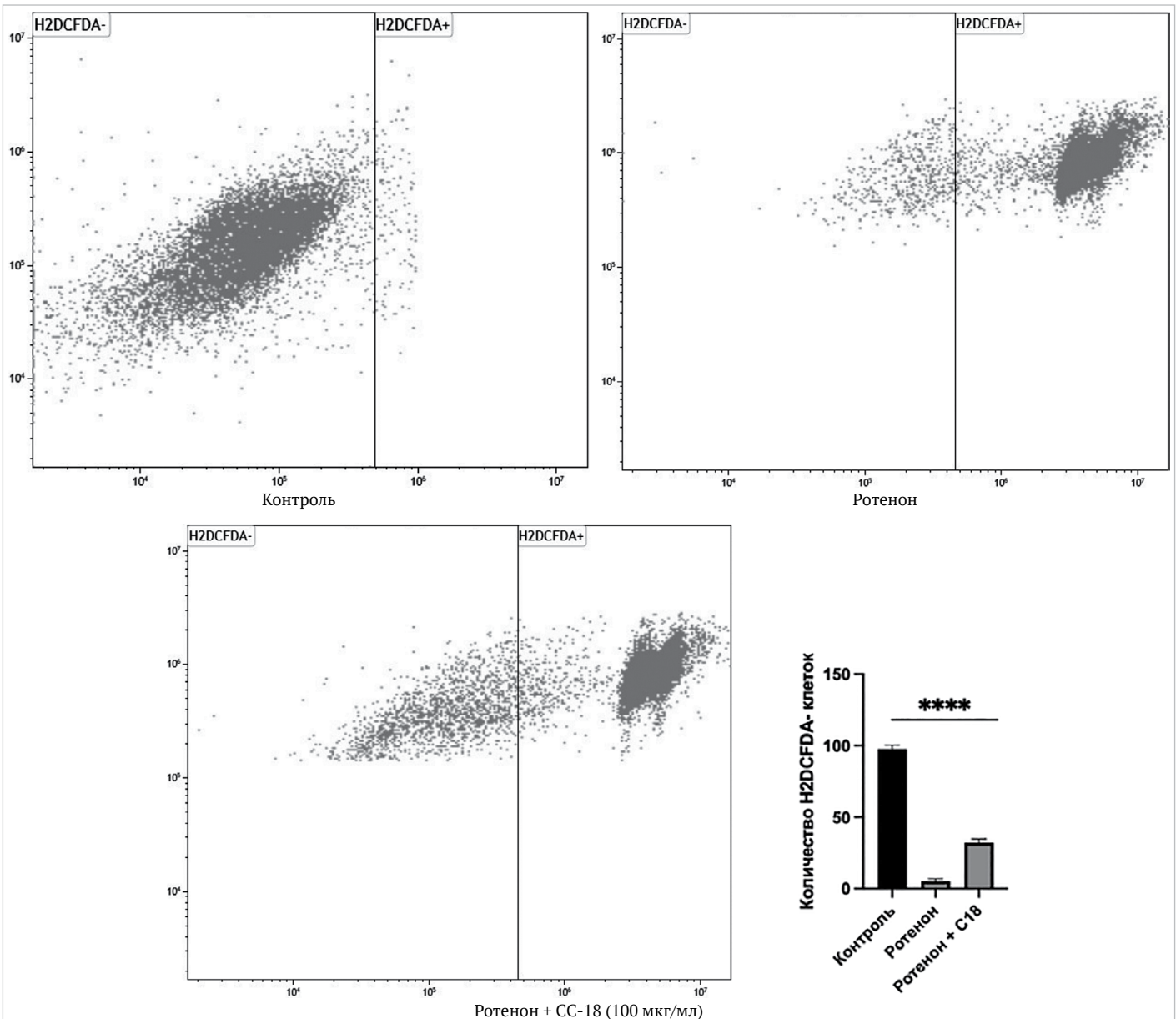


Рисунок 5. Результаты исследований по накоплению активных форм кислорода в клетках SH-SY5Y (клетки слева от разделяющей линии – без АФК, справа – с наличием АФК): значения достоверно отличались друг от друга ($p < 0,001$), что подтверждено с помощью теста Крускала-Уоллиса

Figure 5. Results of the study of the accumulation of reactive oxygen species in the SH-SY5Y cells (cells to the left of the separating line – without ROS, to the right – with ROS): values significantly differ from each other ($p < 0.001$), which was confirmed by the Kruskal-Wallis test

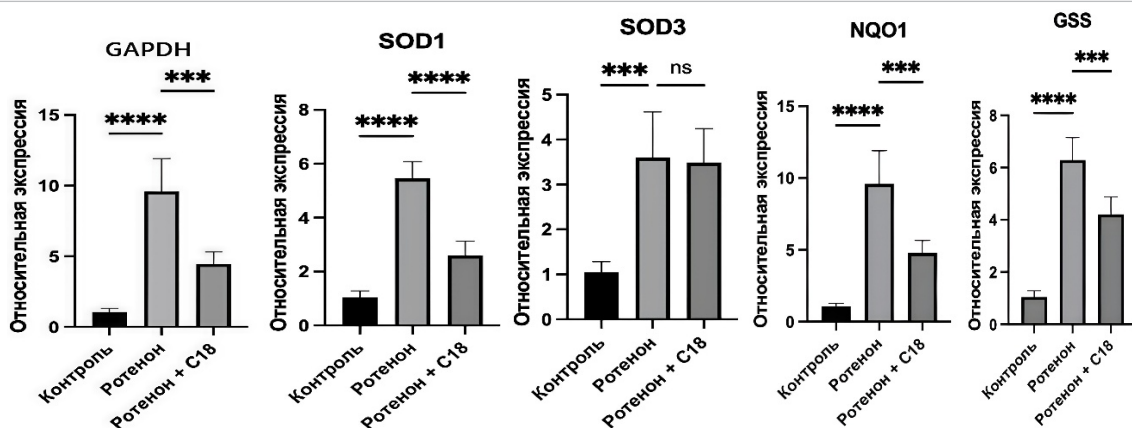


Рисунок 6. Экспрессии генов SOD1, SOD3, NQO1, GSS и GAPDH – маркеров редокс в клетках SH-SY5Y: значения достоверно отличались друг от друга (** – $p < 0,005$; **** – $p < 0,001$); ns – значения статистически незначимы. Анализ результатов был подтвержден с помощью теста Крускала-Уоллиса

Figure 6. Expression of the genes SOD1, SOD3, NQO1, GSS and GAPDH – redox markers in the SH-SY5Y cells: values significantly differ from each other (** – $p < 0.005$; **** – $p < 0.001$); ns – values are statistically non-significant. Analysis of the results was confirmed by the Kruskal-Wallis test

флавина. Защита от протеасомной деградации белков с помощью NQO1 зависела от уровня пиридиновых нуклеотидов. Это позволяет предположить, что на взаимодействие NQO1 с белками-мишенями может напрямую влиять соотношение NAD(P)H: NAD(P)⁺ и конформация белка. Поэтому NQO1 может быть потенциальным сенсором восстановленных пиридиновых нуклеотидов, который реагирует на изменения в окислительно-восстановительной среде пиридиновых нуклеотидов, изменяя свою конформацию.

Что касается биохимии окислительно-восстановительного механизма защиты NAD(P)H от окисления и протеолитического расщепления, можно предположить следующее. В нормальных условиях, когда уровень NAD(P)H высок, NQO1 принимает восстановленную конформацию после переноса гидрида от NAD(P)H к кофактору FAD в NQO1. В присутствии эффективных акцепторов электронов, таких как некоторые хиноны, восстановленная форма флавина существует очень недолго. Однако в отсутствие эффективных акцепторов электронов реакция между O₂ и восстановленным флавином протекает медленно, что свидетельствует о заметной стабильности восстановленной формы фермента в таких условиях. Рентгеновская кристаллография, биохимические и вычислительные исследования позволили предположить, что стабильность восстановленной формы NQO1 частично обусловлена стабилизацией разделения зарядов в восстановленном флавине с помощью белка [31]. Восстановленную и окисленную формы NQO1 можно различить с помощью редокс-зависимых антител, которые связываются с окисленным, но не с восстановленным NQO1 (Рисунок 7) [30].

В присутствии НАД(Ф)Н, но в отсутствие эффективного акцептора электронов в виде хинона, удалось иммунопреципитировать лишь небольшое количество NQO1, что свидетельствует о наличии восстановленной формы NQO1. По мере снижения уровня НАД(Ф)Н NQO1 больше не может поддерживать восстановленную конформацию, а присутствие окислительно-восстановительных ферментов способствует поддержанию определенных белков в окисленной форме, что необходимо для эффективного связывания с антителами при иммунопреципитации. NQO1 претерпевает конформационные изменения при связывании с восстановленными пиридиновыми нуклеотидами, что приводит к потере иммунореактивности по отношению к антителам, которые связываются с седьмой спиралью домена каталитического ядра или С-концом. Восстановленная и окисленная конформации NQO1 не были структурно охарактеризованы, но неденатурирующие гели явно демонстрируют различия в миграционных свойствах восстановленной и окисленной конформаций фермента. В исследовании [32] было продемонстрировано, что NQO1 может существовать как минимум в трех различных конформационных формах: восстановленной, окисленной и инактивированной, которые по-разному взаимодействуют с антителами и, следовательно, по-разному влияют на взаимодействие с нижестоящими белками.

В целом это подчеркивает зависимость структуры NQO1 от окислительно-восстановительных процессов и конформации, а также то,

как она может играть альтернативную роль в восприятии окислительно-восстановительных процессов и/или переключении между ними. Изменения в окислительно-восстановительном статусе пиридиновых нуклеотидов приводят к изменению конформации NQO1, что, в свою очередь, может модулировать последующие взаимодействия NQO1. Вопрос о том, приводят ли конформационные изменения в NQO1 к изменению расположения белка, остается открытым и требует дальнейшего изучения. Известно, что NQO1 в основном находится в цитозоле, но, по некоторым данным, в разных типах клеток он также присутствует в значительных количествах в ядре, митохондриях и мембранах [3,15,33].

Тот факт, что соотношение пиридиновых нуклеотидов определяет конформацию NQO1, о чем свидетельствует связывание редокс-специфичных антител, позволяет предположить, что NQO1 также может служить редокс-датчиком, как и другие флавопротеины. Изменение функциональности NQO1, особенно в отношении взаимодействия с другими белками и РНК, в зависимости от окислительно-восстановительного состояния пиридиновых нуклеотидов, открывает интересные возможности для передачи сигналов, зависящих от окислительно-восстановительных процессов. Следовательно, экспрессия NQO1 при индуцированном редокс-состоянии отражает жизнеспособность клеток SH-SY5Y. Это указывает на нейропротекторное действие пептидомиметика в эксперименте.

В эксперименте нами рассмотрена экспрессия глутатионсинтазы (GSS). В присутствии GSS из глутамата, цистеина и глицина вырабатывается глутатион (GSH), участвующий в антиоксидантной системе и способный защищать клетки от повреждения липидными пероксидами. С помощью глутатиона поддерживается окислительно-восстановительный баланс в клетке и в организме в целом. Снижение активности GSS приводит к ослаблению антиоксидантной защиты, накоплению липидных пероксидов и запуску ферроптоза — типа гибели клеток. Под действием глутатиона ферроптоз подавляется, поскольку липидные пероксиды превращаются в соответствующие спирты. Таким образом, истощение запасов глутатиона является основной причиной запуска ферроптоза [34–36].

По данным [37,38], ингибирование GSS приводит к нарушению синтеза GSH, который является необходимым кофактором для глутатионпероксидазы (GPX2). Нарушение синтеза GSH ослабляет активность GPX2, что, в свою очередь, приводит к выработке липидных АФК и ферроптозу [39].

В исследовании [40] установлено, что подавление GPX2 делает эпителиальные клетки лёгких чувствительными к окислительному повреждению. Повышение уровня GPX2 ослабляет апоптотическую реакцию клеток MCF7 на окислительный стресс.

В результате исследований установлено, что на фоне использования пептидомиметика экспрессия GSS была выше, чем в контроле, на 307%, но ниже, чем при инкубировании с ротеноном, на 35,4%. Это свидетельствует о нивелировании окислительного действия ротенона на клетку и, соответственно, о предупреждении гибели

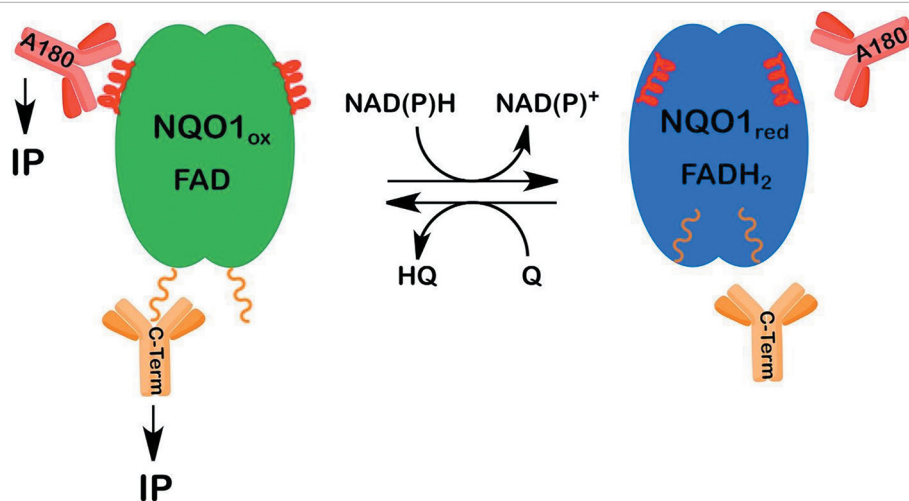


Рисунок 7. Схематическое изображение редокс-зависимой иммунореактивности NQO1. Когда НАД(Ф)Н легко доступен, NQO1 принимает восстановленную конформацию (синяя), что препятствует связыванию антител с редокс-зависимыми эпитопами в спирали 7 (A180) и с С-концевыми хвостами. Когда уровень НАД(Ф)Н падает, фермент не может поддерживать восстановленную конформацию, и редокс-зависимые эпитопы становятся доступными для иммунопреципитации (IP) [30]

Figure 7. Schematic illustration of the redox-dependent immunoreactivity of NQO1. When NAD(P)H is easily available, NQO1 adopts the reduced conformation (blue), which prevents binding antibodies to redox-dependent epitopes within helix 7 (A180) and to the C-terminal tails. When the NAD(P)H levels decrease, the enzyme is not able to maintain the reduced conformation and redox-dependent epitopes become available for immunoprecipitation (IP) [30]

нейробластом от АФК. Следовательно, пептидомиметик СС-18 участвует в регуляции окислительно-восстановительных реакций. Данное исследование показало, что СС-18, вероятно, может напрямую взаимодействовать как с глутатионсинтегазой, так и с GPX2. Можно предположить, что и глутатионсинтегаза является потенциальной мишенью пептидомиметика СС-18.

В присутствии НАД(Ф)Н, но также в отсутствие эффективного акцептора электронов в виде хинона удалось иммунопреципитировать лишь небольшое количество NQO1, что свидетельствует о наличии восстановленной формы NQO1. Отдельные восстановленная и окисленная конформации NQO1 не были структурно охарактеризованы, но не денатурирующие гели явно демонстрируют различия в миграционных свойствах восстановленной и окисленной конформаций фермента [32]. В последующих исследованиях [33] было продемонстрировано, что NQO1 может существовать как минимум в трех различных конформационных формах: восстановленной, окисленной и инактивированной, которые по-разному взаимодействуют с антителами и, следовательно, по-разному влияют на взаимодействие с нижестоящими белками.

Исследование на гликолитическом ферменте GAPDH является особенно интересным, так как по нему можно судить об окислительно-восстановительных свойствах белка. Во-первых, GAPDH по своей природе более реактивен по отношению к H_2O_2 , чем большинство других редокс-регулируемых белков. Также GAPDH гораздо более распространен, чем большинство других белков, регулируемых окислительно-восстановительными процессами. Цитозольная концентрация тетрамерного GAPDH оценивается в ~ 240 мкМ, что означает, что цитозольная концентрация тиолов активного центра GAPDH составляет почти 1 мМ. Такое сочетание повышенной тиоловой реактивности и высокой концентрации теоретически делает GAPDH наиболее значимым белком-мишенью для ротенона, помимо специализированных тиоловых пероксидаз, и позволяет предположить, что GAPDH должен эффективно конкурировать за ротенон [41]. Учитывая цитозольную распространенность, GAPDH является наиболее значимой мишенью H_2O_2 в клетке, помимо специализированных тиолпероксидаз, поэтому мы исследовали его изменение в нашем эксперименте. В исследованиях авторов [42] экспериментально было установлено, что GAPDH является наиболее значимой пероксидазной мишенью для окислителей внутри клеток. Научно обосновано, почему GAPDH обладает исключительной реакционной способностью по отношению к H_2O_2 . В GAPDH тиолат C152 — аминокислотный остаток цистеина — является реактивным нуклеофилом активного центра. Кроме того, хорошо известно, что GAPDH чувствителен к окислительной инактивации из-за прямой реакции тиолата C152 с H_2O_2 , в результате которой образуется сульфеновая кислота и последующие продукты окисления. Доказано, что реакция между C152 в активном центре белка и H_2O_2 катализируется ранее неизвестным, высококонсервативным и специализированным механизмом, который, подобно механизму, используемому тиолпероксидазами, стабилизирует специфическое переходное состояние реакции и способствует отщеплению уходящей группы, обеспечивая специализированный путь переноса протонов. Примечательно, что этот механизм влияет только на реакционную способность C152 по отношению к H_2O_2 , не затрагивая реакционную способность по отношению к гликолитическому субстрату глицеральдегид-3-фосфату (G3P). Таким образом, реакционная способность C152 по отношению к H_2O_2 и G3P регулируется отдельными механизмами, которые не связаны друг с другом. Эти результаты противоречат ранее существовавшим представлениям о тиолах, которые в целом являются реакционноспособными или нереакционноспособными, и, таким образом, позволяют лучше понимать процесс окисления тиолов в белках.

По данным [43], GAPDH легко окисляется в своем активном центре цистеином в ответ на умеренное повышение уровня внутриклеточного пероксида водорода (H_2O_2). Ни один другой фермент не окисляется H_2O_2 [44]. GAPDH отличается от других тиолсодержащих белков тем, что реакционная способность H_2O_2 по отношению к тиолу его активного центра выше, чем у белковых тиолов в целом [42]. Окисление тиола GAPDH сначала приводит к сульфенированию ($R-SH + H_2O_2 \rightarrow R-SOH + H_2O$), а затем к глутатионированию ($R-SOH + GSH \rightarrow R-SSG + H_2O$). В результате происходит обратное ингибирование гликолитической активности GAPDH [43].

Следует отметить, что GAPDH обладает «встроенным» каталитическим механизмом, который значительно повышает скорость реакции между H_2O_2 и тиолом в активном центре. Этот механизм объясняет, почему кажущаяся константа скорости второго порядка для окисления GAPDH при pH 7 значительно выше, чем для других белков, регулируемых окислительно-восстановительными процессами.

Предлагаемый механизм, специфичный для H_2O_2 , основан на стабилизации переходного состояния и на содействии отщеплению группы, подобно каталитическим принципам, применяемым к специализированным тиолпероксидазам. В частности, повышенная чувствительность GAPDH к H_2O_2 зависит от протонного реле, которое позволяет отщепляющемуся гидроксильному иону превращаться в молекулу воды. Одна из причин, по-видимому, заключается в том, что участок, способствующий окислению в GAPDH, не виден при изучении кристаллической структуры. Остатки, участвующие в реакции с H_2O_2 , структурно незаметны, поскольку не образуют собственной полости активного центра. Участок реакции с H_2O_2 представляет собой неглубокую вогнутость на внутренней поверхности канонического активного центра, а цепь передачи протонов в основном скрыта внутри белка и взаимодействует с полостью активного центра только через один остаток (T153). Следует отметить, что гликолитическую и пероксидазную активность GAPDH можно полностью отделить друг от друга несмотря на то, что обе активности зависят от одного и того же нуклеофильного тиола. Предполагается, что тиол в целом «активирован», и поэтому нет необходимости в отдельном механизме окисления тиола. Почти исключительное внимание к нуклеофильным свойствам, возможно, также способствовало распространению мнения о том, что значения pK_a тиолов являются ключевыми факторами, определяющими их реакционную способность по отношению к H_2O_2 . Однако в рамках концепции, ориентированной на нуклеофилы и pK_a , практически невозможно найти мутаций, которые избирательно устраняют чувствительность к окислению, сохраняя при этом каноническую каталитическую функцию, или наоборот.

Противоречие легко устраняется, если признать, что продуктивное окисление тиолов H_2O_2 требует завершения всего реакционного пути, на котором возникают кинетические барьеры, не связанные с иницирующей нуклеофильной атакой. Таким образом, для существенного повышения скорости реакции с H_2O_2 требуются каталитические механизмы, воздействующие на переходное состояние и уходящую группу. Действительно, разделение пероксидазной и гликолитической реактивности в наших экспериментах было достигнуто за счет прерывания функций, повышающих скорость реакции. Эти функции способствуют протеканию последующих стадий реакции и не связаны с иницирующей нуклеофильной атакой. Тот факт, что гликолитическую и пероксидазную реакции можно разделить, не противоречит тому, что нуклеофильность C152 является общим условием как для гликолитической, так и для пероксидазной реакций.

Специфическая чувствительность GAPDH к H_2O_2 в сочетании с его высокой концентрацией в цитозоле подтверждает идею о том, что GAPDH действует как датчик H_2O_2 в условиях длительного воздействия H_2O_2 . Сначала системы тиолпероксидаз поддерживают низкий уровень H_2O_2 , но их постоянная активность приводит к истощению запасов NADPH, что, в свою очередь, замедляет поглощение H_2O_2 . Возникающее в результате повышение внутриклеточной стационарной концентрации H_2O_2 приводит к S-сульфенированию GAPDH, за которым быстро следует S-глутатионирование. Примечательно, что восстановительная реактивность S-глутатионированного GAPDH зависит от NADPH-зависимых восстановительных систем. Таким образом, S-глутатионирование сохраняет GAPDH в неактивном состоянии до тех пор, пока уровень NADPH не восстановится до уровня, позволяющего реактивировать GAPDH. Это, скорее всего, создает петлю обратной связи для саморегуляции. Таким образом, GAPDH может действовать как «защитник второй линии» после тиолпероксидаз, усиливая выработку НАДФН. Это обеспечивает поддержку НАДФН-зависимых «защитников первой линии» в их антиоксидантной функции. Реактивность GAPDH в отношении H_2O_2 может быть точно настроена таким образом, чтобы реагировать на небольшое повышение общего уровня H_2O_2 .

Приведенные выше результаты позволяют предположить, что клетки SH-SY5Y с низкой экспрессией GAPDH лучше поддерживают уровень НАДФН в условиях окислительного стресса при включении СС-18 по сравнению с клетками, где в эксперименте не был использован исследуемый пептид. Полученные данные согласуются с исследованиями [45], в которых доказано, что клетки с низкой экспрессией GAPDH способны поддерживать уровень НАДФН при воздействии H_2O_2 .

Пептидомиметик СС-18 был получен в результате молекулярной пептидной трансплантации аминокислотных последовательностей в циклический пептид из базы данных циклических пептидов Cybase с номером [Nphe5]SFTI-1(100). Такая стратегия гибридизации позволила комбинировать функциональные фрагменты двух различных пептидов для создания гибридного пептидомиметика с заданной

направленностью и устойчивого к протеолизу. Этот подход сегодня применяется в различных исследованиях благодаря своей простоте и эффективности [44,45]. При разработке пептидомиметиков еще одной важной задачей является выявление функциональных пептидных фрагментов в больших библиотеках пептидных последовательностей. Благодаря стремительному развитию компьютерных технологий, виртуальный скрининг на основе вычислений сделал возможным высокопроизводительный скрининг функциональных пептидомиметиков. Молекулярный докинг, проведенный в нашем исследовании, подтвердил эффективность выявления пептидных последовательностей с высокой антиоксидантной активностью и аффинностью к целевым белкам. Эти результаты, возможно, позволят значительно сократить трудозатраты при отборе потенциально перспективных пептидов. Результаты исследований подтверждают, что с помощью программных инструментов для докинга белков и пептидов можно получить пептидомиметики с заданными свойствами и биологической направленностью. Следует отметить, что у каждого программного обеспечения для докинга есть свои алгоритмические предпочтения, которые могут влиять на производительность в зависимости от конкретной задачи. Это особенно важно для быстрого скрининга при разработке пептидомиметиков и молекулярном

проектировании. Но не следует останавливаться только на молекулярном докинге при разработке новых пептидомиметиков. Следует активно применять и продвигать модели клеточного скрининга с использованием репортерных генов, поскольку они значительно повышают эффективность скрининга и, в отличие от виртуального скрининга, пригодны для разработки пептидомиметиков. Такие клеточные анализы обеспечивают выявление всех потенциальных биоактивных мишеней без риска их упущения. Кроме того, результаты клеточных анализов более убедительны и надежны.

4. Выводы

Синтезированный циклический пептидомиметик CC-18 обладает нейропротекторными свойствами благодаря активации экспрессии генов, регулирующих реакцию на окислительный стресс. Это способствует элиминации АФК в клетках. Следовательно, можно предположить, что CC-18 регулирует экспрессию генов SOD1, SOD3, NQO1, GSS и GAPDH — маркеров редокс-состояния в нервных клетках. Представленный комплекс исследований подтверждает гипотезу о положительной роли пептидомиметиков в предупреждении развития неврологических заболеваний, вызванных окислительным стрессом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Hu, Y.-M., Lu, S.-Z., Li, Y.-S., Wang, H., Shi, Y., Zhang, L. et al. (2022). Protective effect of antioxidant peptidomimetics from grass carp scale gelatin on the H₂O₂ — mediated oxidative injured HepG2 cells. *Food Chemistry*, 373(Part B), Article 131539. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131539>
- Zheng, L., Xu, H., Hu, H., Ruan, J., Shi, C., Cao, J. et al. (2022). Preparation, characterization, and antioxidant activity of inclusion complex loaded with puerarin and corn peptidomimetic. *Food Bioscience*, 49, Article 101886. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101886>
- Ruan, J., Chen, J., Zeng, J., Yang, Z., Wang, C., Hong, Z. et al. (2019). The protective effects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale collagen hydrolysate against oxidative stress induced by tributyltin in HepG2 cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4), 3612–3620. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3729-9>
- Tsang, A. H., Chung, K. K. (2009). Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease*, 1792(7), 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.12.006>
- Borges, T., Coelho, P., Prudêncio, C., Gomes, A., Gomes, P., Ferraz, R. (2025). Bioactive peptides from milk proteins with antioxidant, anti-inflammatory, and antihypertensive activities. *Foods*, 14(3), Article 535. <https://doi.org/10.3390/foods14030535>
- Senek, M., Nyholm, D. (2014). Continuous drug delivery in Parkinson's disease. *CNS Drugs*, 28(1), 19–27. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0127-1>
- Li, M., Zheng, H., Lin, M., Zhu, W., Zhang, J. (2020). Characterization of the protein and peptidomimetic of excipient zein by the multienzyme digestion coupled with nano-LC-MS/MS. *Food Chemistry*, 321, Article 126712. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126712>
- Duffuler, P., Bhullar, K. S., de Campos Zani, S. C., Wu, J. (2022). Bioactive peptides: From basic research to clinical trials and commercialization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3585–3595. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06289>
- Majura, J. J., Cao, W., Chen, Z., Htwe, K. K., Li, W., Du, R. et al. (2022). The current research status and strategies employed to modify food-derived bioactive peptides. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 950823. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.950823>
- Murtaza, M. A., Irfan, S., Hafiz, I., Ranjha, M., Rahaman, A., Murtaza, M. et al. (2022). Conventional and novel technologies in the production of dairy bioactive peptides. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 780151. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.780151>
- Wang, W., Yang, W., Dai, Y., Liu, J. H., Chen, Z.-Y. (2023). Production of food-derived bioactive peptides with potential application in the management of diabetes and obesity: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(15), 5917–5945. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c08835>
- DFBP (Database of food-derived bioactive peptides) Retrieved from <http://www.cqudfbp.net/index.jsp> Accessed October 01, 2025.
- Улитина, Е. А., Валиева, Ш. С., Тихонов, С. Л., Тихонова, Н. В. (2024). Новый антимикробный пищевой пептид: характеристика, свойства и оценка эффективности. *Аграрная наука*, 4, 132–137. [Ulitina, E. A., Valieva, Sh. S., Tikhonov, S. L., Tikhonova, N. V. (2024). A new antimicrobial food peptide: Characteristics, properties and effectiveness evaluation. *Agrarian Science*, 4, 132–137. (In Russian)] <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-381-4-132-137>
- Zizzari, A. T., Pliatsika, D., Gall, F. M., Fischer, T., Riedl, R. (2021). New perspectives in oral peptidomimetic delivery. *Drug Discovery Today*, 26(4), 1097–1105. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.01.020>
- Wang, C. K., Craik, D. J. (2021). Linking molecular evolution to molecular grafting. *Journal of Biological Chemistry*, 296, Article 100425. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100425>
- Qin, L., Cui, Z., Wu, Y., Wang, H., Zhang, X., Guan, J. et al. (2022). Challenges and strategies to enhance the systemic absorption of inhaled peptidomimetics and proteins. *Pharmaceutical Research*, 40(5), 1057–1055. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-05435-3>
- Tanada, M., Tamiya, M., Matsuo, A., Chiyoda, A., Takano, K., Ito, T. et al. (2023). Development of orally bioavailable peptidomimetics targeting an intracellular protein: From a hit to a clinical KRAS inhibitor. *Journal of the American Chemical Society*, 145(30), 16610–16620. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c05886>
- Qureshi, S., Galiveeti, S., Bichet, D. G. (2014). Diabetes insipidus: Celebrating a century of vasopressin therapy. *Endocrinology*, 155(12), 4605–4621. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1385>
- Nielsen, D. S., Shepherd, N. E., Xu, W., Lucke, A. J., Stoermer, M. J., Fairlie, D. P. (2017). Orally absorbed cyclic peptidomimetics. *Chemical Reviews*, 117(12), 8094–8128. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00838>
- Zhao, Z., Li, F., Ning, J., Peng, R., Shang, J., Liu, H. et al. (2021). Novel compound FLZ alleviates rotenone-induced PD mouse model by suppressing TLR4/MyD88/NF-κB pathway through microbiota-gut-brain axis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(9), 2859–2879. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.03.020>
- Zhou, H., Yan, L., Huang, H., Li, X., Xia, Q., Zheng, L. et al. (2023). Tat-NTS peptidomimetic protects neurons against cerebral ischemia-reperfusion injury via ANXA1 SUMOylation in microglia. *Theranostics*, 13(15), 5561–5581. <https://doi.org/10.7150/tno.85390>
- Zhao, J.-S., Jin, H.-X., Gao, J.-L., Pu, C., Zhang, P., Huang, J.-J. et al. (2018). Serum extracellular superoxide dismutase is associated with diabetic retinopathy stage in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Disease Markers*, 2018, Article 8721379. <https://doi.org/10.1155/2018/8721379>
- Trist, B. G., Davies, K. M., Cottam, V., Genoud, S., Ortega, R., Roudeau, S. et al. (2017). Amyotrophic lateral sclerosis-like superoxide dismutase 1 proteinopathy is associated with neuronal loss in Parkinson's disease brain. *Acta Neuropathologica*, 134(1), 113–127. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1726-6>
- Van Remmen, H., Hamilton, M. L., Richardson, A. (2003). Oxidative damage to DNA and aging. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 31(5), 149–153. <https://doi.org/10.1097/00003677-200307000-00009>
- Elchuri, S., Oberley, T. D., Qi, W., Eisenstein, R. S., Roberts, L. J., Van Remmen, H. et al. (2005). CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life. *Oncogene*, 24(3), 367–380. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208207>
- Yang, W., Li, J., Hekimi, S. (2007). A measurable increase in oxidative damage due to reduction in superoxide detoxification fails to shorten the life span of long-lived mitochondrial mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 177(4), 2065–2074. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.080788>
- Zhu, H., Jia, Z., Mahaney, J. E., Ross, D., Misra, H. P., Trush, M. A. et al. (2007). The highly expressed and inducible endogenous NAD(P)H: Quinone oxidoreductase 1 in cardiovascular cells acts as a potential superoxide scavenger. *Cardiovascular Toxicology*, 7(3), 202–211. <https://doi.org/10.1007/s12012-007-9001-z>
- Siegel, D., Ross, D. (2000). Immunodetection of NAD(P)H: Quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3–4), 246–253. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00310-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00310-5)
- Palming, J., Sjöholm, K., Jernäs, M., Lystig, T. C., Gummesson, A., Romeo, S. et al. (2007). The expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 is high in human adipose tissue, reduced by weight loss, and correlates with adiposity, insulin sensitivity, and markers of liver dysfunction. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(6), 2346–2352. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-2476>
- Siegel, D., Dehn, D. D., Bokatzian, S. S., Quinn, K., Backos, D. S., Di Francesco, A. et al. (2018). Redox modulation of NQO1. *PLoS One*, 13(1), Article e0190717. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190717>
- Janke, C., Montagnac, G. (2017). Causes and consequences of microtubule acetylation. *Current Biology*, 27(23), R1287–R1292. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.10.044>
- Siegel, D., Bersie, S., Harris, P., Di Francesco, A., Armstrong, M., Reisdorff, N. et al. (2021). A redox-mediated conformational change in NQO1 controls binding to microtubules and α-tubulin acetylation. *Redox Biology*, 39, Article 101840. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101840>
- Milkovic, L., Tomljanovic, M., Gasparovic, A.C., Kujundzic, R.N., Simunic, D., Konjevoda, P. et al. (2019). Nutritional stress in head and neck cancer originating cell lines: The sensitivity of the NRF2-NQO1 axis. *Cells*, 8(9), Article 1001. <https://doi.org/10.3390/cells8091001>

34. Yang, W. S., SriRamaratnam, R., Welsch, M. E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V. S. et al. (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156(1–2), 317–331. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
35. Yang, Y., Lin, J., Guo, S., Xue, X., Wang, Y., Qiu, S. et al. (2020). RRM2 protects against ferroptosis and is a tumor biomarker for liver cancer. *Cancer Cell International*, 20(1), Article 587. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01689-8>
36. Tang, H., Chen, D., Li, C., Zheng, C., Wu, X., Zhang, Y. et al. (2019). Dual GSH-exhausting sorafenib loaded manganese-silica nanodrugs for inducing the ferroptosis of hepatocellular carcinoma cells. *International Journal of Pharmaceutics*, 572, Article 118782. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118782>
37. Yang, W. S., Stockwell, B. R. (2016). Ferroptosis: Death by lipid peroxidation. *Trends in Cell Biology*, 26(3), 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.10.014>
38. Mao, L., Zhao, T., Song, Y., Lin, L., Fan, X., Cui, B. et al. (2020). The emerging role of ferroptosis in non-cancer liver diseases: Hype or increasing hope? *Cell Death and Disease*, 11(7), Article 518. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2732-5>
39. Lewerenz, J., Hewett, S. J., Huang, Y., Lambros, M., Gout, P. W., Kalivas, P. W. et al. (2013). The cystine/glutamate antiporter system x(c) (–) in health and disease: From molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(5), 522–555. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4391>
40. Singh, A., Rangasamy, T., Thimmulappa, R. K., Lee, H., Osburn, W. O., Brigelius-Flohé, R. et al. (2006). Glutathione peroxidase 2, the major cigarette smoke-inducible isoform of GPX in lungs, is regulated by Nrf2. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 35(6), 639–650. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2005-0325OC>
41. Seidler, N. W. (2013). GAPDH: Biological properties and diversity. Springer Dordrecht, 2013. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4716-6>
42. Peralta, D., Bronowska, A. K., Morgan, B., Dóka, É., Van Laer, K., Nagy, P. et al. (2015). A proton relay enhances H₂O₂ sensitivity of GAPDH to facilitate metabolic adaptation. *Nature Chemical Biology*, 11(2), 156–163. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1720>
43. Van der Reest, J., Lilla, S., Zheng, L., Zanivan, S., Gottlieb, E. (2018). Proteome-wide analysis of cysteine oxidation reveals metabolic sensitivity to redox stress. *Nature Communications*, 9(1), Article 1581. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04003-3>
44. Anastasiou, D., Pouligiannis, G., Asara, J. M., Boxer, M. B., Jiang, J.-K., Shen, M. et al. (2011). Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses. *Science*, 334(6060), 1278–1283. <https://doi.org/10.1126/science.1211485>
45. Talwar, D., Miller, C. G., Grossmann, J., Szyrwiel, L., Schwecke, T., Demichev, V. et al. (2023). The GAPDH redox switch safeguards reductive capacity and enables survival of stressed tumour cells. *Nature Metabolism*, 5(4), 660–676. <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00781-3>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Бабич Ольга Олеговна — доктор технических наук, директор, Научно-образовательный центр «Промышленные биотехнологии», Балтийский федеральный университет имени И. Канта. 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 E-mail: olich.43@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4921-8997	Olga O. Babich , Doctor of Technical Sciences, Director, Scientific and Educational Center "Industrial Biotechnologies", Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia E-mail: olich.43@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4921-8997
Тихонов Сергей Леонидович — доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Высшая школа биотехнологии», Уральский государственный лесотехнический университет 620100, Екатеринбург, Сибирский тракт, 37 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834 * автор для контактов	Sergey L. Tikhonov , Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Higher School of Biotechnology, Ural State Forestry University 37, Sibirskiy Trakt, 620100, Yekaterinburg, Russia E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4863-9834 * corresponding author
Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Руководитель Отдела координации инициативных и международных проектов, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, Москва, ул. Талалихина, 26 E-mail: i.chernuha@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927	Irina M. Chernukha , Doctor of Technical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Principal Research Fellow, Head of the Department for Coordination of Initiative and International Projects, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhin str., 109316, Moscow, Russia E-mail: i.chernuha@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927
Сухих Станислав Алексеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий лабораторией микробиологии и биотехнологий, Балтийский федеральный университет имени И. Канта 236001, Калининград, ул. Университетская, 2 E-mail: SSukhikh@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388	Stanislav A. Sukhov , Doctor of Technical Sciences, Docent, Head of the Laboratory of Microbiology and Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University 2, Universitetskaya str., 236001, Kaliningrad, Russia E-mail: SSukhikh@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388
Тихонова Наталья Валерьевна — доктор технических наук, заведующий кафедрой пищевой инженерии аграрного производства, Уральский государственный аграрный университет 620000, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42 E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5841-1791	Natalia V. Tikhonova , Doctor of Technical Sciences, Head of the Department of Food Engineering of Agricultural Production, Ural State Agricultural University 42, Karl Liebknecht str., 620000, Yekaterinburg, Russia E-mail: tihonov75@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5841-1791
Сысуев Евгений Борисович — кандидат фармацевтических наук, доцент, руководитель филиала «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения в г. Екатеринбург E-mail: es555@yandex.ru, ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7648-0088	Sysoev E. Borisovich — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Docent, Head of the branch of the Russian Scientific and Research Institute for Medical Engineering of the Federal Service for Surveillance of Healthcare in Yekaterinburg E-mail: es555@yandex.ru, ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7648-0088
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest