



Научная статья

4.3.3 – Пищевые системы (технические науки)

УДК 664:637.123

doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2025.03.005



## РАЗРАБОТКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО БИОПЕПТИДА ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ

Сергей Леонидович Тихонов<sup>1</sup>, Наталья Валерьевна Тихонова<sup>2</sup>,  
Ольга Олеговна Бабич<sup>3</sup>, Станислав Алексеевич Сухих<sup>4</sup>,  
Евгений Борисович Сысуев<sup>5</sup>, Дарья Александровна Зверева<sup>6</sup>

<sup>1,2</sup> Уральский государственный аграрный университет, Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

<sup>1</sup> tihonov75@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

<sup>2</sup> tihonov75@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

<sup>3,4</sup> Балтийский федеральный университет, Калининград, Россия

<sup>3</sup> olich.43@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

<sup>4</sup> stas-aspm@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7910-8388>

<sup>5</sup> Филиал ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора в г. Екатеринбург, Екатеринбург, Россия

<sup>5</sup> es555@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7648-0088>

<sup>1,6</sup> Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия

<sup>6</sup> dshz456@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-5033-2044>

**Аннотация.** Пептиды играют ключевую роль в пищевой промышленности и фармацевтике, однако их применение в диетических и клинических целях часто ограничивается низкой стабильностью в организме. Авторами работы предложен новый «сшитый» биопептид GD-20, синтезированный на основе циклического пептида [Nphe5]SFTI-1(100). Анализ аминокислотного состава, молекулярной массы и структуры свидетельствуют о значительном терапевтическом потенциале GD-20 и его высокой устойчивости к протеолизу. Значение показателя  $Fsp^3$  (0,78) указывает на перспективность использования пептида в качестве биологически активного вещества, устойчивого к протеолизу в желудочно-кишечном тракте. Установлено, что GD-20 не содержит антигенных детерминант, а значит, не вызывает аллергических реакций, что делает его безопасным для применения в составе пищевых продуктов диетического и профилактического назначения. Прогнозируемая высокая биологическая активность пептида (0,916819 ед. при максимальной 1,0 ед.) подтверждает его потенциал в качестве функционального ингредиента, обеспечивающего профилактику сахарного диабета 2 типа. Полученные результаты подтверждают возможность разработки новых, устойчивых к деградации пептидов с улучшенными фармакокинетическими характеристиками.

**Ключевые слова:** профилактическое питание, диетическое питание, функциональные ингредиенты, сахарный диабет второго типа, пептиды, синтез пептидов, макроциклизация, лактамизация.

**Финансирование:** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00178), Соглашение № 25-16-00178 подписано 29.05.2025.

**Для цитирования:** Разработка и прогнозирование свойств нового биопептида для диетического питания / С. Л. Тихонов [и др.] // Ползуновский вестник. 2025. № 3, С. 31–38. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2025.03.005. EDN: <https://elibrary.ru/MSGTOG>.

Original article

## DEVELOPMENT AND PREDICTION OF PROPERTIES A NEW BIOPEPTIDE FOR DIETARY NUTRITION

Sergey L. Tikhonov<sup>1</sup>, Natalya V. Tikhonova<sup>2</sup>, Olga O. Babich<sup>3</sup>, Stanislav A. Suhikh<sup>4</sup>,  
Evgeny B. Sysuev<sup>5</sup>, Darya A. Zvereva<sup>6</sup>

<sup>1,2</sup> Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

<sup>1</sup> tihonov75@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4863-9834>

<sup>2</sup> tihonov75@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5841-1791>

<sup>3,4</sup> Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

<sup>3</sup> olich.43@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4921-8997>

<sup>4</sup> stas-aspm@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7910-8388>

<sup>5</sup> FSBI "VNIIMT" Roszdravnadzor in Yekaterinburg, Yekaterinburg, Russia

<sup>5</sup> bes555@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7648-0088>

© Тихонов С. Л., Тихонова Н. В., Бабич О. О., Сухих С. А., Сысуев Е. Б., Зверева Д. А., 2025

<sup>1, 6</sup> Ural State Forestry Engineering University, Yekaterinburg, Russia

<sup>6</sup> dshz456@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0000-5033-2044>

**Abstract.** *Peptides play a key role in the pharmaceutical and food industries, but their clinical use is often limited by their low stability in the body. This paper presents a new biopeptide GD-20 synthesized on the basis of cyclic peptide [Nphe5]SFTI-1(100). Analysis of the amino acid composition, molecular weight and structure showed that this peptide has a high resistance to proteolysis and significant therapeutic potential. Its Fsp3 index (0.78) indicates a promising use in oral preparations. It has been established that GD-20 does not contain antigenic determinants, which means it does not cause allergic reactions, which makes it safe for use as a biologically active substance. The high predicted biological activity of the peptide (0.916,819 units at a maximum of 1.0) confirms its potential. Due to these properties, GD-20 can be considered as a promising functional ingredient in food products aimed at preventing type 2 diabetes. The results obtained confirm the possibility of developing new degradation-resistant peptides with improved pharmacokinetic characteristics.*

**Keywords:** *biologically active peptides, macrocyclization, lactamization, antimicrobial activity, type 2 diabetes mellitus, oral administration.*

**Financing:** *The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation (project No. 25-16-00178), Agreement No. 25-16-00178 was signed on 05/29/2025.*

**For citation:** Tikhonov, S.L., Tikhonova, N.V., Babich, O.O., Sukhih, S.A., Sysuev, E.B. & Zvereva, D.A. (2025). Development and prediction of properties of a new biopeptide for dietary nutrition. *Polzunovskiy vestnik*, (3), 31-38. (In Russ). doi: 10/25712/ASTU.2072-8921.2025.03.005. EDN: <https://elibrary.ru/MSGTOG>.

## ВВЕДЕНИЕ

Пептиды играют важную роль в развитии современной фармацевтической промышленности и создании принципиально новых продуктов питания профилактического и диетического назначения [1]. На сегодняшний день около 80 представленных на мировом рынке пептидных препаратов используются для лечения и профилактики различных заболеваний, включая рак, диабет, остеопороз и вирусные инфекции. Разработка новых пептидных препаратов, пригодных к использованию в качестве фармацевтических препаратов и функциональных ингредиентов, продолжается. В настоящее время около 150 пептидов находятся на стадии клинических испытаний, более 400 пептидов проходят доклинические исследования [2].

Несмотря на существенный прогресс в разработке пептидных препаратов в последние годы, их недостатки, такие как протеолиз в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), короткий период полувыведения, слабое проникновение в клетки и конформационная гибкость, снижают их сродство к конкретным мишеням и препятствуют их быстрому внедрению в пищевую отрасль. Чтобы преодолеть связанные с перечисленными недостатками ограничения к прикладному использованию пептидов, разработано несколько стратегий их химической модификации [3–6]. Эти подходы включают N-концевую капацию, замену D-аминокислот, пегилирование, липидизацию и макроциклизацию [7]. Макроциклизация повышает гидролитическую стабильность пептидов и их проникновение в клетку-мишень. Однако включение в рецептуры пищевых продуктов и обеспечение стабильности пептидов в ЖКТ остается сложной задачей, побуждающей исследователей детально изучать взаимосвязь физико-химических свойств пептидов с их метаболизмом и биологической активностью [8].

Стратегия сшивки является одним из наиболее распространенных методов макроциклизации, основанном на усилении  $\alpha$ -спиральной конформации пептида [9].

В целом, метод пептидной сшивки – это стратегия, которая предполагает сшивание боковой цепи аминокислотного остатка с концом пептида или с боковой цепью аминокислотного остатка в нативном пептиде [10]. Две выбранные или замененные аминокислоты должны быть расположены на одной и той же спиральной поверхности, тогда их боковые цепи могут быть ковалентно сшиты друг с другом [11, 12].

Для каждых 3,6 остатков в  $\alpha$ -спиралях положения  $i/i+3$ ,  $i/i+4$  (однооборотная скоба),  $i/i+7$  (двухоборотная скоба) и  $i/i+11$  (трехоборотная скоба) выровнены вдоль одной и той же спиральной поверхности, и ковалентное соединение каждой из этих боковых цепей может стабилизировать спиральную конформацию (рисунок 1А). При разработке пептидных сшивающих агентов (рисунок 1В) углеводородное сшивание считается одним из наиболее перспективных подходов в обеспечении стабильности пептидов к протеолизу [13].

Помимо углеводородных сшивающих агентов, за последние 20 лет исследовано множество стратегий сшивания, использующих различные формы макроциклизации. Благодаря развитию стратегий пептидного сшивания, новые пептиды используются для разработки лекарств с четко определёнными мишенями, в том числе внутри- и внеклеточными, в основном для регулирования белок-белковых взаимодействий (ББВ), рисунок 2А [14, 15]. До 40 % ББВ происходят между белковым доменом и короткой пептидной структурной областью, в то время как остальные 60 % пептидов связываются с белком в спиральных или спиралевидных конформациях [16]. Кроме того, сшитые спиральные пептиды привлекают большое внимание из-за их повышенной аффинности к белкам-мишеням, улучшенного проникновения в клетки и устойчивости к протеолизу [17, 18]. Такие пептиды, в основном, работают по принципу электростатических взаимодействий для связывания с отрицательно заряженными клеточными мембранами и дальнейшего разрушения их за счет своего активного воздействия.

На рисунке 2 представлены методы сшивания пептидов. В настоящее время появилось множество новых методов сшивки для синтеза сшитых пептидов с использованием ненатуральных аминокислот, натуральных аминокислот или комбинации ненатуральных и натуральных аминокислот. Метод циклизации исходной пептидной боковой цепи (рисунок 2А) основан на реакции между натуральными аминокислотами [19].

Лактамизация – эта стратегия образования лактамного мостика между входящими в структуру пептида аминокислотными остатками лизина и аспарагина или глутамина (рисунок 2А) [20]. Хотя лактамовые мостики Asp-Lys и Lys-Asp тоже повышают стабильность спирали, предпочтительнее использовать лактамы Lys-Asp из-за их более выраженного эффекта индукции спирали.

# РАЗРАБОТКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО БИОПЕПТИДА ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ

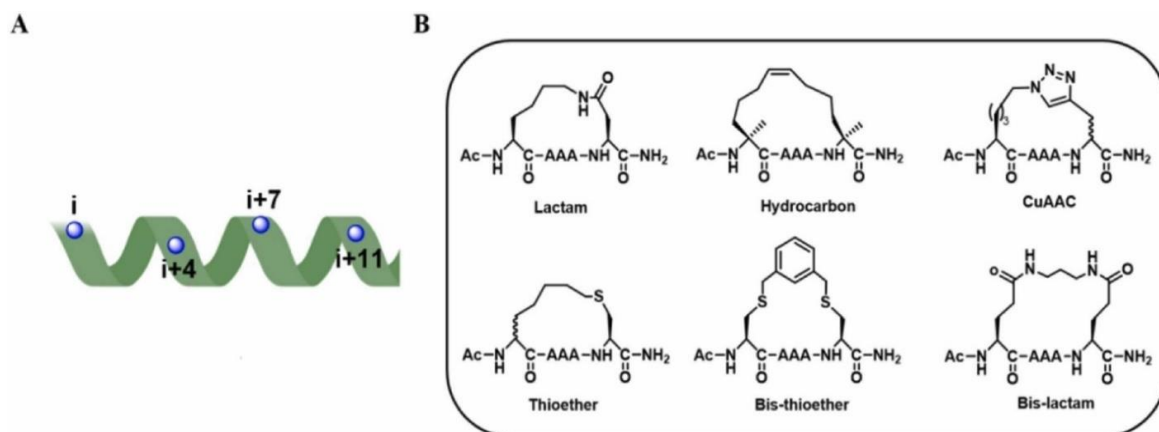
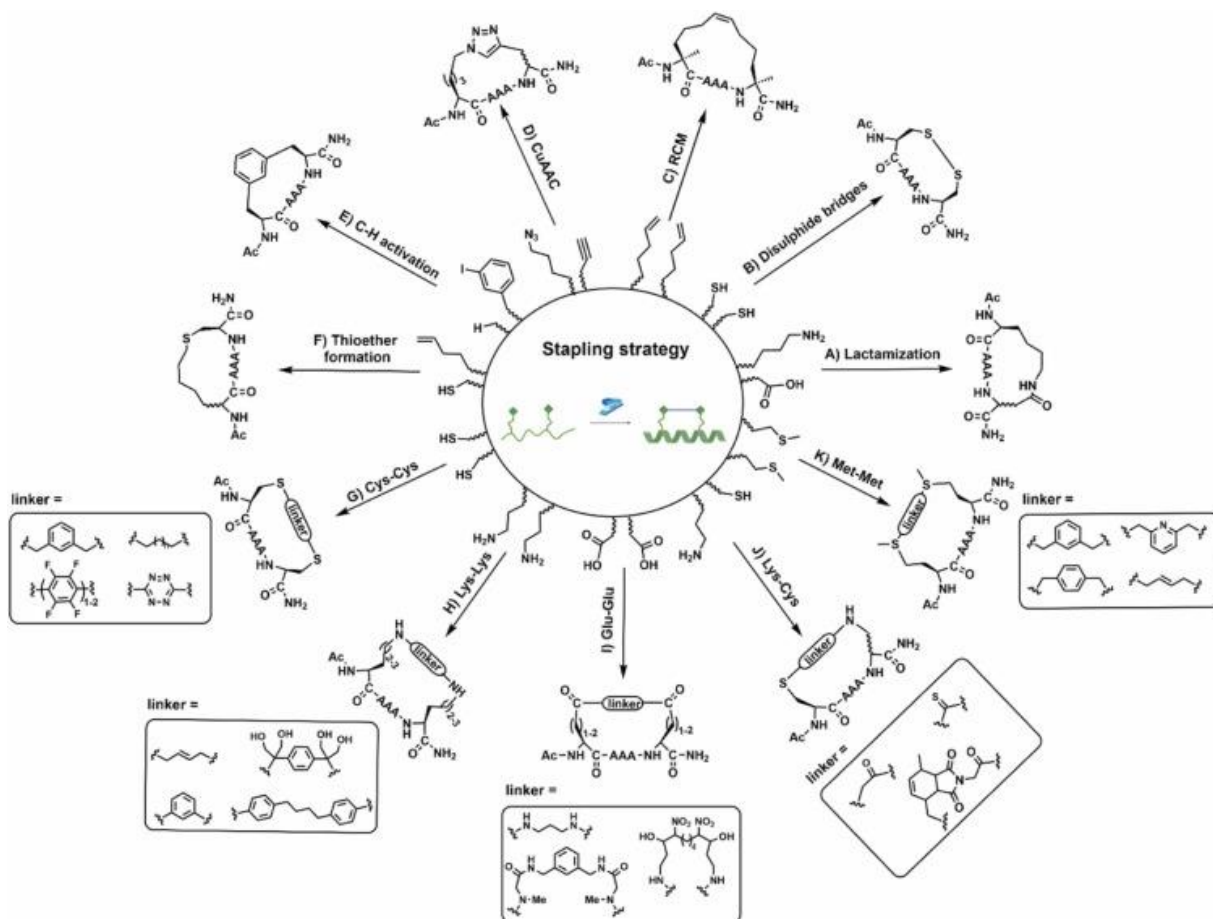


Рисунок 1 А – Аминокислотные остатки на одной и той же поверхности спирали показаны зеленым цветом с интервалом  $i, i+4/7/11$ . В – Стратегии сшивания с использованием различных химических реакций макроциклизации

Figure 1 A – Amino acid residues on the same surface of the spiral are shown in green with an interval of  $i, i+4/7/11$ . B – Bonding strategies using various chemical macrocyclization reactions



А – лактамизация, В – дисульфидный мостик между двумя остатками цистеина, С – метатезис с замыканием цикла, D – циклоприсоединение азидо-алкина, катализируемое медью (I), Е – активация C-H, катализируемая палладием, F – образование тиоэфира, G – сшивание с инициализацией Cys-Cys, H – сшивание с инициализацией Lys-Lys, I – сшивание с инициализацией Glu-Glu, J – сшивание с инициализацией Lys-Cys, K – сшивание с инициализацией Met-Met

Рисунок 2 – Типичные однокомпонентные и многокомпонентные стратегии сшивки для получения сшитых пептидов [19]

A – Lactamization, B – A disulfide bridge between two cysteine residues, C – Loop-closure metathesis, D – Azide-alkyne cycloaddition catalyzed by copper (I), E – C-H activation catalyzed by palladium, F – Thioether formation, G – Cys-Cys initialized stitching strategy, H – Lys-Lys initialized stitching strategy, I – Glu-Glu initialized stitching strategy, J – Lys-Cys initialized stitching strategy, K – Met-Met initialized stitching strategy

Figure 2 – Typical single-component and multicomponent crosslinking strategies for obtaining crosslinked peptides [19]

Помимо лактамизации между Lys и Asp/Glu, два остатка лизина также могут выступать в качестве сшивающих аминокислот при пептидной сшивке, опосредованной двухкомпонентной (2H) лактамизацией [21].

Оптимальная стабильность пептидной спирали, достигнутая сшиванием по Lys-Lys положительно коррелирует с поперечными связями, обладающими достаточной жёсткостью и длиной. Подобно Lys-Lys в качестве сшивающих остатков, парные остатки Glu-Glu, закреплённые на пептиде, также могут образовывать билактамиды путём формирования бисамида (рисунок 2G) [22].

Кольцевая метатеза образует макроцикл, соединённый двойной связью, при этом теряется молекула этилена (рисунок 2C) [23]. Эта стратегия также широко используется для повышения биоактивности и стабильности пептидов к действию ферментов [18].

Реакция активации C-H используется для создания связи C(sp<sup>3</sup>)-C(sp<sup>2</sup>) между арильными группами в йодсодержащем фенилаланине и β-углеродом в аланине, с фталатной защитой аминокислоты (рисунок 2E). Циклизация различных тетрапептидов с использованием C-концевого м-йодсодержащего фенилаланина и N-концевого аланина в жидкой фазе показала, что реакция активации C-H подходит почти для всех природных аминокислот, содержащих защищённые или незащищённые группы и хорошо протекает в твёрдой фазе при переносе из раствора. Кроме того, с помощью реакции активации C-H на смоле можно получить сшивки длиной в 6 или 7 атомов, где парные остатки аланина и фенилаланина не находятся на N-конце или C-конце соответственно. Эта стратегия позволяет напрямую сшивать сложные пептиды с помощью реакции активации C-H и закладывает основу для получения новых пептидов сшиванием [24]. Стратегия сшивания, инициализированная двумя фрагментами цистеина, в основном включает Cys-алкилирование и Cys-арилирование, которые могут быть легко и удобно получены путём сшивания двух тиолов подходящими бифункциональными агентами (рисунок 2F).

Синтез пептидов, скреплённых Cys-Cys, обычно начинается с обычной твердофазной сборки и расщепления с общим снятием защиты для получения незащищённого предшественника пептида, за которым следуют две циклизации тиола в растворах с подходящими бифункциональными линкерами. Восстанавливающие реагенты обычно инкубируют с линейными пептидными предшественниками, содержа-

щими цистеин, перед сшиванием, чтобы избежать дополнительного окисления. Хотя для стратегии сшивания с использованием цистеина-цистеина может потребоваться дополнительный этап синтеза и, возможно, один дополнительный этап очистки, этот подход позволяет избежать использования дорогостоящих ненатуральных аминокислот или аминокислот, содержащих ортогональные защитные группы. Ещё одним преимуществом стратегии сшивания Cys-Cys является возможность модифицировать и функционализировать сшитые пептиды с помощью легко модифицируемого сшивающего агента [25].

Но, прежде чем синтезировать новый пептид, целесообразно спрогнозировать его свойства и биологическую активность.

Цель исследования – проектирование нового сшитого биопептида и прогнозирование его физико-химических и биологических свойств в качестве физиологически функционального ингредиента.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объекта исследований использовали синтезированный нами сшитый пептид GD-20 с последовательностью аминокислот GRCTSGPGPTCPPICFFD. Пептид был получен на основе циклического пептида [Nphe5]SFTI-1(100) из базы данных циклических пептидов (<https://cybase.org.au/>). Синтез сшитого пептида проводился в компании Pepmic (Китай) твердофазным методом Fmoc, после чего осуществлялась очистка пептида посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с применением хроматографической колонки SHIMADZU Inertsil ODS-SP (SHIMADZU, Япония). Прогнозирование токсичности и биологических свойств пептида выполнено на основе данных ресурсов: Peptide Ranker (<http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/>), APD (<https://aps.unmc.edu/home/>), Peptide Property Calculator (<http://pepcalc.com/>) (Awesome Labs LLC, США) и платформы ADMET (<https://admetmesh.scbdd.com/>). Антигенность (аллергенность) пептида оценивали по программе Токсипред (<http://imed.med.ucm.es/Tools/antigenic.pl>). Идентификацию пептида проводили по базе данных EROP-Moscow (<http://erop.inbi.ras.ru/index.html>). Прогнозирование токсичности, биологических свойств, метаболизма, распределения в организме, выведения нового пептида проводили на платформе ADMET1 ab 3 (<https://admetlab3.scbdd.com/documentation/#/>).

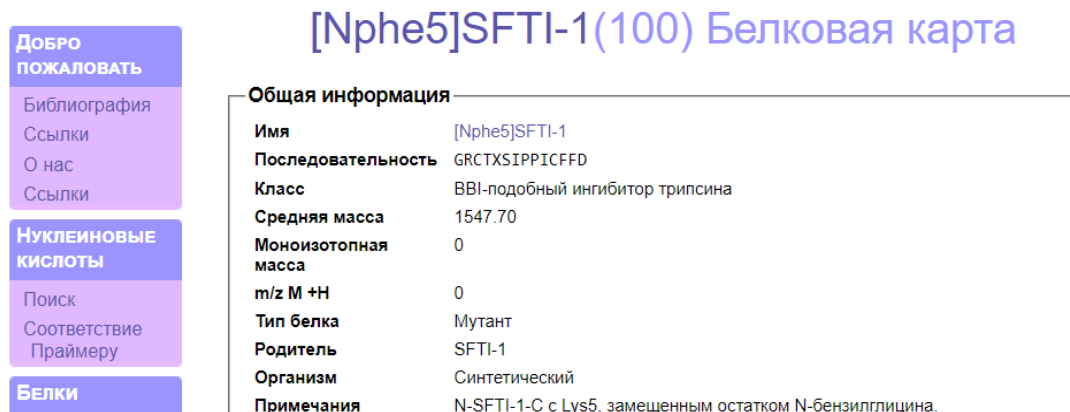


Рисунок 3 – Протеомная карта пептида [Nphe5]SFTI-1(100) (<https://cybase.org.au/>)

Figure 3 – Proteomic map of the peptide [Nphe5]SFTI-1(100) (<https://cybase.org.au/>)

## РАЗРАБОТКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО БИОПЕПТИДА ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения нового сшитого пептида в аминокислотную последовательность циклического пептида [Nphe5]SFTI-1(100) (рисунок 3) с помощью молекулярной пептидной трансплантации была последовательно встроена GPGPT, усиленная двумя дисульфидными мостиками по стратегии сшивания Cys-Cys [25], что позволило придать пептиду функциональность за счет обеспечения аминокислотной последовательности GPGPT, имеющей свойства агониста рецепторов глюконоподобного пептида 1 (GLP-1) и перорального ингибитора натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT-2) [26]. Включение выше указанной последовательности дает возможность создать пептид для профилактики и лечения сахарного диабета 2 типа (СД 2). Последовательность GPGPT входит в состав сшитого, длительно действующего пептида xGLP/GCG-13, двойного агониста рецепторов GLP-1/глюкагона, проявляющего высокую терапевтическую эффективность при метаболических заболеваниях [27].

Прежде чем синтезировать вышеуказанный пептид, нами проведено прогнозирование его токсичности по программе определения антигенности (аллергенность) пептида (рисунок 4). Согласно прогнозной оценке, новый пептид не содержит антигенных детерминант и, соответственно, не аллергенен для применения в качестве биологически активного вещества направленного действия. Такой пептид можно рассматривать в качестве функционального ингредиента для продуктов питания, направленных на профилактику СД 2.

При прогнозировании биологической активности пептида по пептидному калькулятору (<http://pepcalc.com>) нами установлено, что она является высокой: составля-

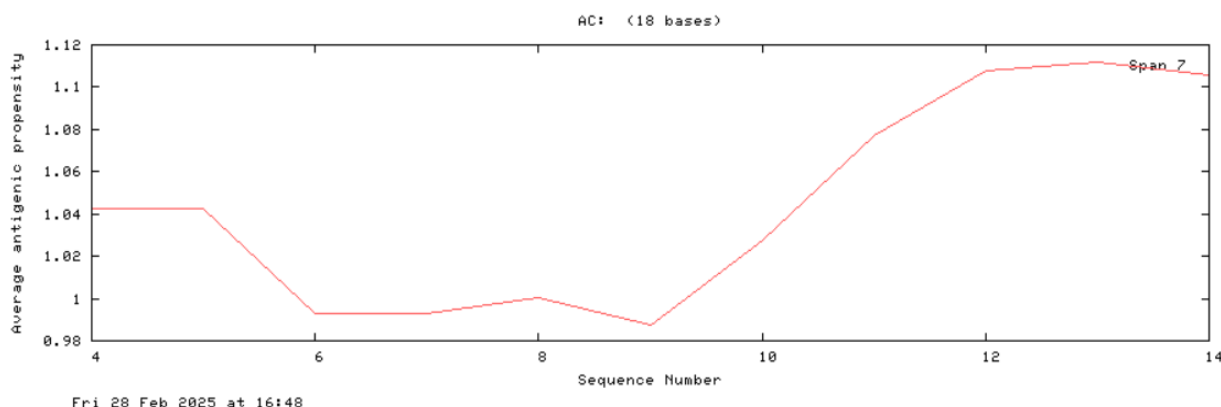
ет 0,916819 ед. при максимальной 1,0 (рисунок 5). Поиск пептидов по протеомной базе данных EROP-Москва результатов не дал, что свидетельствует об уникальности разработанного пептида (рисунок 6).

Согласно протеомной базе APD, аминокислотный состав пептида включает гидрофобные аминокислоты: I, C; отрицательно заряженные: D, положительно заряженные: R. Суммарный заряд пептида – нейтральный. Молекулярная масса составляет 2071,458 Да. Поскольку такая последовательность содержит четное количество Cys, она может образовывать связанную дильсульфидной связью дефениноподобную бета-структуру; спиральные структуры, содержащие связи S-S, обеспечивая устойчивость нового пептида к протеолизу.

К важным показателям прогнозной оценки эффективности клинического применения новых веществ в фармацевтической практике относится Fsp<sup>3</sup> – количество sp<sup>3</sup>-гибридизованных атомов углерода / общее количество атомов углерода, используемое для определения насыщенности молекул углеродом и характеристики пространственной структуры молекул. Высокая насыщенность, измеряемая с помощью Fsp<sup>3</sup>, и количество хиральных центров в молекуле свидетельствуют о потенциальной эффективности клинического применения полученного пептида, что связано с повышенной растворимостью и тем, что трёхмерные характеристики позволяют небольшим молекулам занимать больше места в мишени. Fsp<sup>3</sup> более 0,42 ед. считается высоким значением и позволяет эффективно применять вещество в клинической практике [28]. У исследуемого пептида рассматриваемый показатель составляет 0,78 ед., что свидетельствует о его высокой потенциальной клинической эффективности.

Средняя антигенная активность этого белка составляет 1,0421

Антигенный график для определения последовательности



В вашей последовательности 0 антигенных детерминант:

Рисунок 4 – Результаты оценки антигенности пептида

Figure 4 – Results of the peptide antigenicity assessment

## Пептидный очиститель

Ваш запрос (ID 174075470938870) обработан

Ответ:

0,916819 GRCT5ICGPGPTCPPICFFD

Рисунок 5 – Результаты предсказания биологической активности пептида GD-20

Figure 5 – Results of predicting the biological activity of the GD-20 peptide

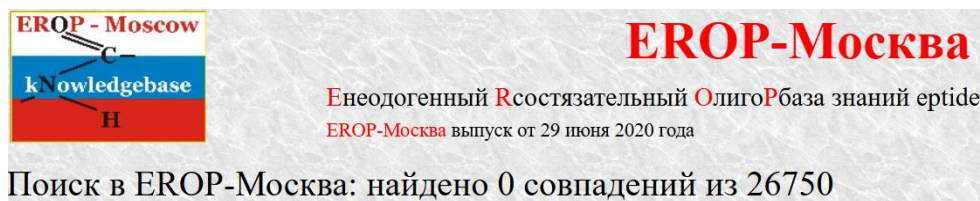


Рисунок 6 – Результаты идентификации пептида GD-20 по базе данных EROP-Москва

Figure 6 – Results of identification of the GD-20 peptide from the EROP-Moscow database

Прежде чем перорально применяемый пептид попадает в системный кровоток, он должен пройти через клеточные мембраны кишечника путем пассивной диффузии, опосредованной переносчиками поглощения или процессов активного транспорта. Для оценки проницаемости пептида *in vivo* используются клеточные линии аденокарциномы толстой кишки человека (Caco-2) из-за их морфологического и функционального сходства. Прогнозируемая проницаемость Caco-2 измеряется в логарифмических сантиметрах в секунду. Исследуемое вещество обладает необходимой проницаемостью клеток Caco-2, если его прогнозируемое значение превышает 5,15 логарифмических сантиметров в секунду. У нашего пептида данное значение составляет 7,94 логарифмических сантиметра в секунду. Следовательно, новый пептид способен всасываться в стенки кишечника и проникать в кровоток.

Кроме этого, проведен анализ проницаемости пептидом искусственной мембраны (PAMPA). Этот метод используется для имитации пассивной диффузии биологически активных веществ в ЖКТ. Проницаемость выражается в единицах  $10^{-6}$  см/с. Рассматривая PAMPA в сочетании с исследованием Caco-2, можно получить более точный прогноз характеристик проникновения и всасывания пептида в организме. Полученные экспериментальные данные на платформе ADMET ab 3 преобразовываются в логарифмическую форму (log). Молекулы со значениями log ниже 2,0 относятся к категории с низкой проницаемостью (категория 0), от 2,0 до 2,5 – средней проницаемостью, а молекулы со значениями log более 2,5 – с высокой проницаемостью (категория 1). Исследуемый пептид по показателю PAMPA относится к веществам с высокой проницаемостью ЖКТ, так как имеет значение 2,9 ед.

Клетки Madin–Darby Canine Kidney (MDCK) используются в качестве модели для оценки проницаемости ЖКТ в моделях *in vitro*. На клетках MDCK определяют коэффициент проницаемости (Papp), принятый за «золотой стандарт» в оценке эффективности поглощения химических веществ организмом *in vitro*. Единица измерения прогнозируемой проницаемости MDCK – см/с. Соединение считается обладающим высокой пассивной проницаемостью MDCK, если  $Papp > 20 \times 10^{-6}$  см/с, средней проницаемостью – при

$2-20 \times 10^{-6}$  см/с, низкой проницаемостью – если  $< 2 \times 10^{-6}$  см/с. Papp у исследуемого пептида составляет  $24 \times 10^{-6}$  см/с, что свидетельствует о его высокой проницаемости ЖКТ. То есть, полученные результаты согласуются с исследованиями показателя PAMPA и проницаемостью клеток Caco-2.

К критериям оценки клинической эффективности пептида относятся показатели биодоступности. Плазменный клиренс (*CL plasma*) является наиболее важным фармакокинетическим параметром, так как выражает способность организма выводить вещество, масштабируя скорость выведения п (количество за единицу времени) на соответствующий уровень концентрации в плазме. Эмпирические диапазоны для *CL plasma* определяются следующим образом: более 15 мл/мин/кг означает высокий клиренс, 5–15 мл/мин/кг означает умеренный (средний) клиренс, а менее 5 мл/мин/кг означает низкий клиренс. *CL plasma* у разработанного нами пептида на уровне 5,3 мл/мин/кг позволяет рассчитать его дозировку в качестве функционального ингредiente, но при этом необходимо учитывать минимальную концентрацию для проявления биологического действия.

Одним из важных показателей метаболизма пептидов является период полувыведения ( $T_{1/2}$ ) – гибридный показатель, включающий клиренс и объем распределения. Единица измерения прогнозируемого  $T_{1/2}$  – п часов. У веществ с коротким периодом полувыведения  $T_{1/2}$  менее 1 часа; веществ с коротким периодом полувыведения  $T_{1/2}$  от 1 до 4 часов; веществ с промежуточным коротким периодом полувыведения  $T_{1/2}$  от 4 до 8 часов; веществ с длительным периодом полувыведения  $T_{1/2}$  – более 8 часов. У разработанного пептида период полувыведения составляет 4,7 часа.

Таким образом, комплекс свойств нового пептида свидетельствует, что он обладает высокой биодоступностью и необходимыми характеристиками проницаемости через стенки ЖКТ, метаболизма и выведения.

Методом трехфазного синтеза в лабораторных условиях получен новый пептид. Хроматограмма и масс-спектр пептида GD-20 представлены на рисунках 7 и 8, свидетельствующие о том, что синтезированный пептид соответствует разработанному: состоит из 20 аминокислот в заданной последовательности.

## РАЗРАБОТКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО БИОПЕПТИДА ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований предложен новый циклический биологически активный и устойчивый к протеолизу в ЖКТ пептид. В состав пептида встроен биологически активный фармакофор антидиабетической направленности.

Результаты прогнозирования метаболизма, выве-

дения и биодоступности позволяют заключить, что пептид можно использовать для перорального применения и вводить в рецептуру пищевой продукции диетического и профилактического назначения, но при условии предварительного подтверждения его клинической эффективности в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

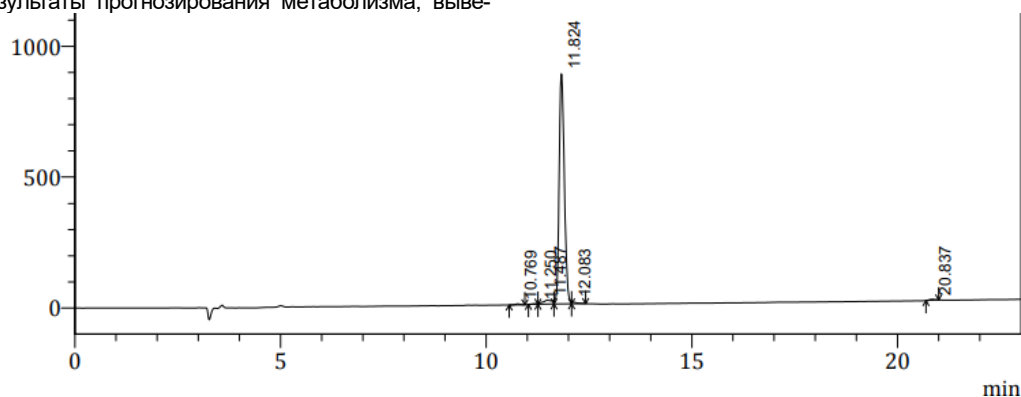


Рисунок 7 – Хроматограмма пептида GD-20

Figure 7 – Chromatogram of the GD-20 peptide

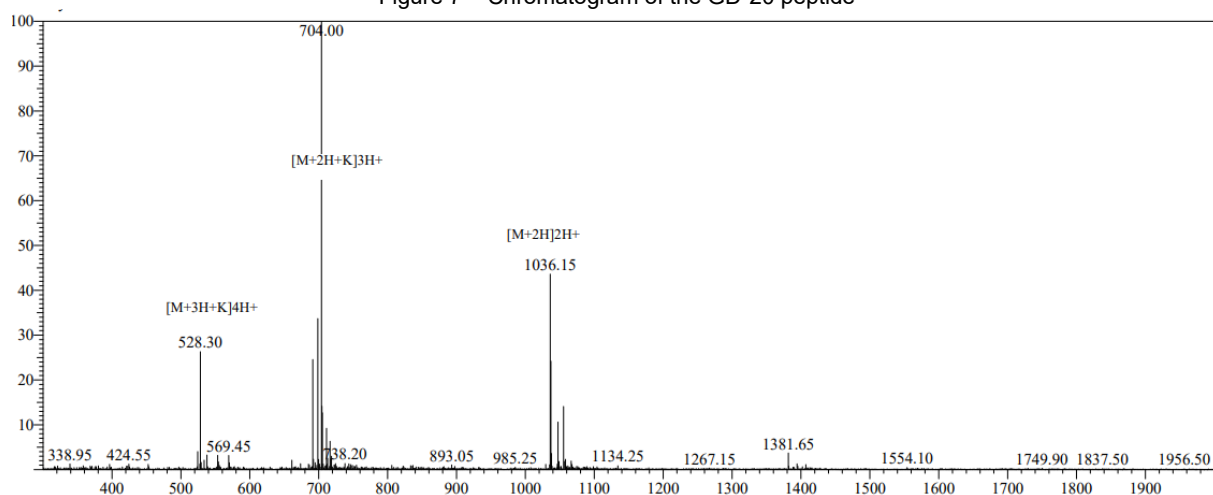


Рисунок 8 – Масс-спектр пептида GD-20

Figure 8 – Mass spectrum of the GD-20 peptide

Для внедрения в производство пептида как функционального ингредиента для пищевых продуктов также следует экспериментально определить его дозировку, чему и будут посвящены дальнейшие исследования.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. A. Henninot, J.C. Collins, J.M. Nuss. The current state of peptide drug discovery: back to the future? *J. Med Chem.* 61 (2018). 1382-1414. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00318>.
2. M. Muttenthaler, G.F. King, D.J. Adams, [et al.]. Trends in peptide drug discovery, *Nat. Rev. Drug Discov.* 20 (2021). 309-325. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00135-8>.
3. F.J. Chen, N. Pinnette, F. Yang, [et al.]. A cysteine-directed proximity-driven crosslinking method for native peptide bicyclization, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 62 (2023). e202306813. <https://doi.org/10.1002/anie.202306813>.
4. D.J. Drucker. Advances in oral peptide therapeutics, *Nat. Rev. Drug Discov.* 19 (2020). 277-289. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0053-0>.
5. L. Liu, X. Fan, B. Wang, [et al.]. P(III) - Directed

Late-Stage Ligation and Macrocyclization of Peptides with Olefins by Rhodium Catalysis, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 61 (2022). e202206177. <https://doi.org/10.1002/anie.202206177>.

6. A.S. Mackay, J.W.C. Maxwell, M.J. Bedding, [et al.]. Electrochemical modification of polypeptides at selenocysteine, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 62 (2023). e202313037. <https://doi.org/10.1002/anie.202313037>.

7. D. Garcia Jimenez, V. Poongavanam, J. Kihlberg. Macrocycles in drug discovery-learning from the past for the future, *J. Med Chem.* 66 (2023) 5377-5396. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00134>.

8. D. Sethio, V. Poongavanam, R. Xiong, [et al.]. Simulation reveals the chameleonic behavior of macrocycles, *J. Chem. Inf. Model* 63 (2023). 138-146. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c01093>.

9. H.Y. Chow, Y. Zhang, E. Matheson, [et al.]. Ligation technologies for the synthesis of cyclic peptides, *Chem. Rev.* 119 (2019). 9971-10001. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00657>.

10. J. Iegre, J.S. Gaynor, N.S. Robertson, [et al.]. Two-component stapling of biologically active and conformationally constrained peptides: past, present, and future, *Adv. Ther.* 1 (2018). 1800052. <https://doi.org/10.1002/adtp.201800052>.

11. X. Li, Y. Zou, H.G. Hu. Different stapling-based peptide drug design: mimicking  $\alpha$  helix as inhibitors of protein-protein interaction, *Chin. Chem. Lett.* 29 (2018). 1088-1092. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2018.01.018>.
12. Y.W. Zhang, J.B. Guo, J.J. Cheng, [et al.]. High-throughput screening of stapled helical peptides in drug discovery, *J. Med. Chem.* (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01541>.
13. X. Li, S. Chen, W.D. Zhang, [et al.]. Stapled helical peptides bearing different anchoring residues, *Chem. Rev.* 120 (2020). 10079-10144. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00532>.
14. M. Buyanova, D. Pei. Targeting intracellular protein-protein interactions with macrocyclic peptides, *Trends Pharm. Sci.* 43 (2022). 234-248. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.11.008>.
15. M.G. Ricardo, A.M. Ali, J. Plewka, [et al.]. Multi-component peptide stapling as a diversity-driven tool for the development of inhibitors of protein-protein interactions, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 59 (2020). 5235-5241. <https://doi.org/10.1002/anie.201916257>.
16. A.M. Ali, J. Atmaj, N. Van Oosterwijk, [et al.]. Stapled peptides inhibitors: a new window for target drug discovery, *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 17 (2019). 263-281. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.01.012>.
17. W. Li, F. Separovic, N.M. O'Brien-Simpson, [et al.]. Chemically modified and conjugated antimicrobial peptides against superbugs, *Chem. Soc. Rev.* 50 (2021) 4932-4973. <https://doi.org/10.1039/d0cs01026j>.
18. M.H. Wu, Q. Chen, Y.D. Wang, [et al.]. Structural modification and antitumor activity of antimicrobial peptide HYL, *Chin. Chem. Lett.* 31 (2020). 1288-1292. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2019.10.013>.
19. A.M. Felix, E.P. Heimer, C.T. Wang, [et al.]. Synthesis, biological activity and conformational analysis of cyclic GRF analogs, *Int. J. Pept. Protein Res.* 32 (1988). 441-454. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1988.tb01375.x>.
20. J.W. Taylor. The synthesis and study of side-chain lactam-bridged peptides, *Biopolymers* 66 (2002). 49-75. <https://doi.org/10.1002/bip.10203>.
21. Yulei Li, Minghao Wu, Yinxue Fu, Jingwen Xue, Fei Yuan, Tianci Qu, Anastassia N. Rissanou, Yilin Wang, Xiang Li, Honggang Hu. Therapeutic stapled peptides: Efficacy and molecular targets, *Pharmacological Research*, Volume 203, 2024, 107137, ISSN 1043-6618. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107137>.
22. S. Mahesh, V. Adebomi, Z.P. Muneeswaran, [et al.]. Bioinspired nitroalkylation for selective protein modification and peptide stapling, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 59 (2020). 2793-2801. <https://doi.org/10.1002/anie.201908593>.
23. M. Moiola, M.G. Memeo, P. Quadrelli, stapled peptides-a useful improvement for peptide-based drugs, *Molecules* 24 (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24203654>.
24. J. Liu, P. Wang, Z. Yan, [et al.]. Recent advances in late-stage construction of stapled peptides via C-H activation, *Chembiochem* 22 (2021) 2762-2771. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100044>.
25. X. Li, W.D. Tolbert, H.G. Hu, [et al.]. Dithiocarbamate-inspired side chain stapling chemistry for peptide drug design, *Chem. Sci.* 10 (2019) 1522-1530. <https://doi.org/10.1039/c8sc03275k>.
26. Jing Han, Xinyu Chen, Yiyun Wang, Yingying Fei, Feng Zhou, Ying Zhang, Lin Liu, Pengbin Si, Junjie Fu, Xenopus GLP-1-inspired discovery of novel GLP-1 receptor agonists as long-acting hypoglycemic and insulinotropic agents with significant therapeutic potential, *Biochemical Pharmacology*, Volume 142, 2017, Pages 155-167. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.06.132>.
27. Chun Han, Yuqing Sun, [et al.]. Stapled, Long-Acting Xenopus GLP-1-Based Dual GLP-1/Glucagon Receptor Agonists with Potent Therapeutic Efficacy for Metabolic Disease *Mol. Pharmaceutics* 2021, 18, 8, 2906-2923.
28. Lovering F., Becker J., Hamblett K. Breaking the deadlock: increasing saturation to improve clinical outcomes [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(21): 6752-6.

#### Информация об авторах

С. Л. Тихонов – доктор технических наук, профессор, профессор кафедры пищевой инженерии и аграрного производства Уральского государственного аграрного университета; профессор высшей школы биотехнологии Уральского государственного лесотехнического университета.

Н. В. Тихонова – доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой пищевой инженерии и аграрного производства Уральского государственного аграрного университета.

О. О. Бабич – доктор технических наук, директор Научно-образовательного центра «Промышленные биотехнологии» Балтийского федерального университета им. И. Канта.

С. А. Сухих – заведующий лабораторией микробиологии и биотехнологий, Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта.

Е. Б. Сысеев – руководитель филиала «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Росздравнадзора, г. Екатеринбург.

Д. А. Зверева – бакалавр 4-го года обучения кафедры – высшей школы биотехнологии Химикотехнологического института, Уральский государственный лесотехнический университет.

#### Information about the authors

S.L. Tikhonov - Doctor of Technical Sciences, Professor, Professor of the Department of Food Engineering and Agricultural Production of the Ural State Agrarian University.

N.V. Tikhonova - Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Food Engineering and Agricultural Production of the Ural State Agrarian University.

O.O. Babich - Doctor of Technical Sciences, Director of the Scientific and Educational Center "Industrial Biotechnologies" of the I. Kant Baltic Federal University.

S.A. Sukhih - Head of the Laboratory of Microbiology and Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University.

Ye.B. Sysuev - Head of the Head of the branch of the All-Russian Scientific Research and Testing Institute of Medical Equipment of the Russian Health Supervision in Yekaterinburg.

D.A. Zvereva - Bachelor of the 4th year of study at the Department of the Higher School of Biotechnology of the Institute of Chemical Technology, Ural State Forestry University.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 07 июня 2024; одобрена после рецензирования 24 июня 2025; принята к публикации 10 июля 2025.

The article was received by the editorial board on 07 June 2024; approved after editing on 24 June 2025; accepted for publication on 10 July 2025.