

СИСТЕМАТИЗАЦИЯ НАУЧНЫХ ЗНАНИЙ О ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

С. Л. Тихонов, Н. В. Тихонова, Н. А. Кольберг, Л. С. Кудряшов

В статье рассмотрены технологии получения пептидов на примере органического синтеза, микроволновой экстракции, химического и ферментативного гидролиза белка и их последующей очистки с помощью мембранной фильтрации, гельэлектрофореза, ионообменной колоночной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена систематизация механизмов действия биологически активных пептидов. Рассмотрены противовирусные или мембраноактивные пептиды, которые разделяют на различные категории в соответствии с механизмами действия, включая ингибиторы связывания/присоединения, ингибиторы слияния и проникновения, ингибиторы вирусных ферментов, ингибиторы репликации и пептиды с прямым и косвенным воздействием на вирусы. Показаны новые стратегии в разработке пептидов-ингибиторов ВИЧ-1. Приведены данные о противогрибковых пептидах, которые способны связываться с клеточной стенкой, проникать через мембраны и вызывать гибель бактериальных клеток. Показана возможность иммунотерапии онкологических заболеваний пептидами, путем их взаимодействия с гексокиназой (HK), Bcl-2 и Bcl-xL, что приводит к разрушению раковых клеток при лейкемии и глиобластоме. Рассмотрены другие механизмы действия на опухолевые клетки. В представленном обзоре показано, что пептиды могут быть выбраны в качестве потенциальных биомаркеров при ранней диагностике онкологии.

Ключевые слова: технология получения пептидов, механизм действия, противовирусная, антибактериальная и противоопухолевая активность, биомаркеры.

Пептиды состоят из аминокислот и являются строительным материалом живого организма. Это соединения, в которых остатки аминокислот связаны друг с другом пептидной связью за счет карбоксильной группы одной и аминогруппы другой аминокислоты. Пептиды в организме выполняют роль «информационных носителей» – они переносят биологическую информацию от одной клетки к другой. При правильно работающей клетке орган функционирует корректно. Если клетка дает сбой в работе клетки, это, как правило, приводит к заболеваниям. Пептиды можно получать из растений, живых организмов, а также искусственно синтезировать.

Известно, что пептиды ингибируют ферменты вирусов, способны проникать в клетки путем встраивания в мембрану клетки, блокируют проникновение вирусов в клетку хозяина, что позволяет считать пептиды альтернативой противовирусным препаратам. Пептиды обладают антимикробным бактерицидным действием при наноконцентрациях [2]. Они вызы-

вают гибель опухолевых клеток и используются как биомаркеры в онкологии.

Биоактивные пептиды различались в зависимости от их вида, аминокислотного состава и последовательности, и их можно было получать различными методами, в частности, органическим синтезом, микроволновой экстракцией, химическим и ферментативным гидролизом. Более того, некоторые методы также влияют на биологическую активность пептидов [3].

Органический синтез пептидов. Органический синтез проводят методом твердофазного синтеза с использованием растворителей, а полученные пептиды идентифицируют масс-спектрометрией, путем определения молекулярной массы. Однако метод органического синтеза является трудоемким и дорогостоящим.

Микроволновая экстракция пептидов

В последнее десятилетие микроволновая экстракция успешно применяется для извлечения многочисленных биологически активных соединений из самых разнообразных при-



родных ресурсов [4]. Этот метод предполагает использование электромагнитного излучения в диапазоне частот от 300 МГц до 300 ГГц для нагрева растворителей, контактирующих с сырьем, с целью отделения интересующих соединений от матрицы образца [5]. Механизм экстракции с помощью микроволн заключается в межмолекулярном и внутримолекулярном трении, а также в движении и столкновении очень большого количества заряженных ионов, вызывающих быстрый нагрев реакционной системы и приводящих к разрушению клеточных стенок и выходу пептидов [6].

Кроме того, микроволновая технология подходит для деградации специальных организмов, таких как водоросли, клетки которых окружены динамичной, сложной и богатой углеводами клеточной стенкой, что делает разрушение клеточных стенок особенно важным [7]. Пептиды извлекаются более избирательно и быстрее с помощью этого метода по сравнению с традиционными способами экстракции. Между тем, этот метод также использует меньше энергии и объема растворителя, имеет меньшие затраты, чем традиционные процессы экстракции [8].

Химический гидролиз

Химический гидролиз белков достигается путем расщепления пептидных связей кислотой или щелочью. Этот метод широко использовался в прошлом для промышленности, потому что он недорог и прост в проведении. Однако химический гидролиз имеет ряд недостатков: трудный процесс контроля гидролиза и тенденция получения модифицированных аминокислот [9], а также образование продуктов с переменным химическим составом и функциональными свойствами. Кислотный гидролиз является важной химической модификацией, которая может существенно изменить структуру и функциональные свойства пептидов [10]. Кислотный гидролиз предпочтителен по сравнению с другими предварительными обработками из-за его низкой стоимости и эффективности [11]. Наиболее распространенным типом используемой разбавленной кислоты является серная кислота (H_2SO_4). Однако были также исследованы азотная кислота (HNO_3), соляная кислота (HCl), фосфорная кислота (H_3PO_4) и другие кислоты [12]. Кислотный гидролиз обычно требует высокой температуры, а гидролизат содержит большое количество

соли. Кроме того, кислотный гидролиз может разрушать триптофан, который является незаменимой аминокислотой [13].

Ферментативный гидролиз

Ферментативная модификация белков с использованием отборных протеолитических ферментных препаратов для расщепления специфических пептидных связей широко применяется в пищевой промышленности [14]. Для гидролиза часто используют ферменты бактериального происхождения, включая алкалазу [15], нейтразы [16] и флавоурзима [17], а также растительного и животного происхождения, включая трипсин [18], пепсин [19], папаин [20], бромелайн [21] и субтилизин [22]. Кроме того, добавление экзогенных ферментов может сделать гидролитический процесс более контролируемым и воспроизводимым. Существует пять независимых переменных ферментативного гидролиза, включая следующие: концентрацию фермента, pH, температуру экстракции, время экстракции и соотношение вода / материал, причем каждый фермент имеет различные условия гидролиза [23].

После выделения пептидов необходимо провести их очистку и идентифицировать структуру.

В типичной процедуре обнаружения биоактивных пептидов пептиды сначала экстрагируются из сырья, экстракт подвергается скринингу на биоактивность, фракционируется с использованием технологии фракционирования, управляемой биоанализом, и, наконец, очищается с получением одного биоактивного пептида. Кроме того, для разработки эффективного процесса очистки используют мембранные системы фильтрации, гельхроматографию, ионообменную колоночную хроматографию и высокоэффективную жидкостную хроматографию [24–27].

Противовирусные или мембраноактивные пептиды. На протяжении всей истории человечества вирусные инфекционные заболевания приводили к миллионам смертей и создавали значительную нагрузку на общественное здравоохранение. В настоящее время научные сообщества, должностные лица здравоохранения и правительственные организации прилагают огромные усилия для выявления, лечения и профилактики вирусной инфекции. Однако сложный жизненный цикл и быстрые генетические мутации вирусов требуют непрерывной разработки новых лекарственных средств

с высокой эффективностью. По данным исследователей [28], пептиды являются перспективными средствами борьбы с распространением и повторным возникновением вирусной инфекции.

Одной из проблем мирового здравоохранения является распространение коронавирусной инфекции. Известные коронавирусы, заражающие человека, такие как: коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV), коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), новый SARS-CoV-2, коронавирус человека (HCoV)-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HKU1 вызывают респираторные инфекции легкой и тяжелой степени. Заболевания, вызываемые вирусами млекопитающих и птиц семейства *Corona viridae*, представляют собой значительную нагрузку для экономики и общественного здравоохранения. Из-за участившихся сообщений о вирусной резистентности, сопутствующих инфекциях и появлении вирусных эпидемий, таких как COVID-19, доступные противовирусные препараты демонстрируют низкую эффективность или вообще неэффективны [29], а производство новых эффективных препаратов или вакцин также является сложной задачей. Учитывая эти обстоятельства, значительно возросла потребность в разработке новых противовирусных препаратов. В последние годы противовирусные пептиды животного происхождения вызывают все больший интерес, поскольку они являются высокоспецифичными и эффективными и обладают активностью широкого спектра действия с минимальными побочными эффектами [30]. Противовирусные пептиды, обладающие активностью против вирусов семейства *Corona viridae*, разделяют на различные категории в соответствии с механизмами их действия, включая ингибиторы связывания/присоединения, ингибиторы слияния и проникновения, ингибиторы вирусных ферментов, ингибиторы репликации и пептиды с прямым и косвенным воздействием на вирусы [31].

В последнее время особое внимание уделяется пептидам, влияющим на развитие ВИЧ-1 [32]. Новые стратегии в разработке ингибиторов слияния/проникновения основаны на создании пептидов двойного назначения с синергическими противовирусными эффектами. Современные исследования направлены на создание пептидов двойного применения,

состоящих из пептидных доменов белков оболочки E2 и E1 из пегивируса человека, с целью их действия на слитые пептидные домены ВИЧ-1 gp41. Отмечена высокая ингибирующая роль фрагмента белка E1 (домен 139–156), взаимодействующего с пептидом слияния ВИЧ-1 на мембранном уровне. В результате исследований были химически синтезированы [33] два различных пептида двойного нацеливания, где пептид E1 расположен на N- или C-конце соответственно, и отличаются высокой противовирусной активностью к ВИЧ. Изучение функционального поведения пептидов в мембранной среде, связанной с распознаванием пептидов сайтов-мишеней на gp41, конформацией пептида, а также средством пептида к мембране, показывает, что противовирусная активность пептидов двойного назначения напрямую связана со средством пептида и его последующей сборкой в мембрану. В результате исследований доказано, что пептиды-ингибиторы слияния взаимодействуют с N-концевой областью gp41, встраиваются в мембрану и приводят к гибели вируса [34].

Высокие противовирусные свойства проявляют мембраноактивные пептиды. Проникающие в клетки пептиды (CPPs) представляют собой группу мембраноактивных пептидов, которые в основном функционируют как переносчики грузов, хотя они также могут проявлять противовирусную активность, в частности, АМФ мелиттин и CPP pVEC. Пептидомембранные взаимодействия изучаются с помощью биофизических оптических методов с последующей обработкой изображения. Структурное исследование мембраноактивных пептидов в присутствии мембраны свидетельствует о влиянии мембранной среды на конформации пептидов. Методы визуализации в реальном времени позволяют исследовать действие пептидов на уровне одной клетки или одной молекулы. В дополнение к этим экспериментальным биофизическим методам моделирование молекулярной динамики дает представление о пептиднолипидных взаимодействиях и динамике процесса проникновения в клетку с атомарной детализацией [35].

Многочисленные пептиды препятствуют проникновению вирусов через оболочку в клетку. Установлено, что некоторые из этих пептидов ингибируют множество неродственных вирусов и обладают широким спектром действия, называемым межфазной активно-



стью. Они в некоторой степени гидрофобны и амфипатичны, со склонностью взаимодействовать с межфазными зонами липидных двухслойных мембран. Авторы [36] разделили пептиды по способности разделяться и нарушать целостность мембраны, но не обладающих известной противовирусной активностью. Различные семейства межфазноактивных пептидов вызывали мощное ингибирование всех вирусов в оболочке, протестированных при низких и субмикромольных концентрациях, значительно ниже диапазона, в котором они токсичны для клеток млекопитающих. Эти мембраноактивные пептиды блокируют поглощение и слияние с клеткой-хозяином, быстро и непосредственно взаимодействуя с вирионами, дестабилизируя вирусную оболочку и стимулируя агрегацию вируса и/или слияние межвирионной оболочки. Следовательно, молекулярные характеристики, общие для этих пептидов, могут быть использованы для разработки, оптимизации или молекулярной эволюции новых противовирусных терапевтических средств широкого спектра действия [36].

Следует отметить, что современные методы оценки эффективности пептидов против вирусов, находящихся в оболочке, на основе липосом или гемолиза затруднены искусственной природой липосом или особым составом мембран используемых эритроцитов. Авторы [37] предложили новую систему анализа эффективности противовирусных пептидов, основанную на ферментативных частицах, подобных вирусу Эбола, содержащих чувствительный репортер люциферазы. Исследования подтверждены несколькими катионными и анионными пептидами и в сравнении с исследованиями по инаktivации лентивируса и гемолитическими анализами. Предложенная система оценки эффективности противовирусной активности пептидов отличается высокой чувствительностью и доступностью при выполнении в стандартной лаборатории уровня биобезопасности с возможностью использования высокопроизводительных экранов. Применение вирусоподобных частиц в анализе обеспечивает систему, максимально близкую к естественным вирусам, устраняя некоторые проблемы, связанные с другими, более искусственными установками.

Авторами [38] установлено, что пептид CAM-W (KWKLWKKIEKWGQGIGAVLKWLT-TWL) обладает высокой противовирусной ак-

тивностью против инфекционных лентивирусных векторов и филовиральных вирусоподобных частиц.

Пептиды животного происхождения проявляют широкий спектр антибактериальной активности по сравнению с пептидами, продуцируемыми бактериями, в то время как последние демонстрируют высокую эффективность даже при крайне низких концентрациях. Большинство противомикробных пептидов содержат 50 аминокислот и менее; около 50% из них являются гидрофобными аминокислотами и часто образуют амфипатические трехмерные структуры [38].

Некоторые исследователи [39] выделили из крови и мяса крупного рогатого скота пептиды с антимикробными свойствами против кишечной и синегнойной палочки, сальмонеллеза и золотистого стафилококка (*Bacillus cereus* и *Listeria monocytogenes*).

Противогрибковые пептиды. *Candida albicans* – широко распространенный в окружающей среде одноклеточный дрожжевой гриб. Будучи сапрофитами, они содержатся в почве, некоторых продуктах, остатках органических веществ. Небольшое содержание грибов обнаружено на слизистых поверхностях носа, глотки, влагалища, органов пищеварения. При сбое иммунной системы и интенсивном росте грибы оказывают негативное влияние на организм и могут стать причиной развития ряда заболеваний: молочницы, поражения кожи у лиц, страдающих сахарным диабетом, вызывают инфекции у пациентов с постоянными катетерами и могут спровоцировать заражение крови при иммунодефиците. Клетки *Candida* образуют сообщества биопленок, устойчивых к большинству доступных в настоящее время противогрибковых средств. Увеличение числа тяжелых инфекций, приводящих к грибковому септическому шоку у пожилых пациентов или пациентов с ослабленным иммунитетом, наряду с появлением штаммов, устойчивых к лекарственным средствам, настоятельно требует разработки альтернативных противогрибковых средств. В поисках новых противогрибковых препаратов авторы [40] доказали, что две рибонуклеазы человека из суперсемейства специфичных для позвоночных РНК, hRNase3 и hRNase7, проявляют высокую противогрибковую активность. N-концевой области РНКаз было достаточно для воспроизведения большей части

бактерицидной активности родительского белка. Пептиды RN3 и RN7 проявляли наиболее мощный ингибирующий эффект с механизмом действия, характеризующимся связыванием с клеточной стенкой, проницаемостью мембран и активностью по уничтожению биопленок. Оба пептида способны уничтожать планктонные и сидячие клетки и изменять экспрессию их генов [40].

Пептиды при онкологических заболеваниях. В настоящее время иммунотерапия рака достигла больших положительных клинических результатов и постоянно совершенствуется. Однако иммунотерапия рака до сих пор не смогла улучшить результаты для большинства «холодных опухолей», которые характеризуются низкой инфильтрацией иммунных клеток и иммуносупрессивным микроокружением опухоли. Повышение чувствительности холодных опухолей к иммунотерапии рака путем стимуляции компонентов микроокружения опухоли является стратегией, проводимой в последнее десятилетие. В настоящее время большинство агентов, используемых для модификации микроокружения опухоли, представляют собой небольшие молекулы или антитела. Малые молекулы проявляют низкое сродство и специфичность к мишени, а антитела имеют такие недостатки, как плохое проникновение в ткани и высокая стоимость производства. Пептиды не имеют таких недостатков и, следовательно, являются перспективными материалами для иммуномодулирующих агентов [41].

Авторами [41] получены проникающие в клетки пептиды, которые взаимодействуют с гексокиназой (HK), Vcl-2 и Vcl-xL и индуцируют гибель раковых клеток при лейкемии и глиобластоме. Установлена чувствительность панели генетически охарактеризованных линий раковых клеток, различающихся по происхождению и несущих мутации, к индуцированному пептидом апоптозу на основе VDAC1. Нераковые клеточные линии в меньшей степени подвергались воздействию пептидов. Сконструированные пептиды на основе VDAC1 с целью улучшения нацеливания, селективности и клеточной стабильности, включая R-Tf-D-LP4, содержащий последовательность интернализации рецептора трансферрина (Tf), которая позволяет нацеливать пептид на раковые клетки, которые, как известно, сверхэкспрессируют рецептор трансферрина. Способ действия пептидов на основе VDAC1 включает отделение

HK, препятствующее действию антиапоптотических белков и, таким образом, активирующее множество путей, приводящих к нарушению гомеостаза энергии и метаболизма клеток и индукции апоптоза. В мышинных моделях ксенотрансплантата глиобластомы, рака легких и молочной железы R-Tf-D-LP4 ингибировал рост опухоли, одновременно вызывая массовую гибель раковых клеток, в том числе раковых стволовых клеток. Таким образом, пептиды на основе VDAC1 предлагают инновационную новую концептуальную основу для терапии рака.

В настоящее время имеется множество данных о секвенировании всего генома/экзома опухолей, и многие опухолевые антигены, особенно мутантные антигены (неоантигены), были идентифицированы для иммунотерапии рака. Однако лишь небольшая часть пептидов из этих антигенов индуцирует цитотоксические Т-клеточные реакции. Поэтому эффективные методы идентификации этих антигенных пептидов имеют решающее значение. Современные модели связывания основного комплекса гистосовместимости (МНС) и антигенного прогнозирования все еще неточны. В исследовании авторов [42] 360 9-мерных пептидов с подтвержденной иммунологической активностью были отобраны для построения модели прогнозирования неоантигена опухоли (POTN), модели иммуногенного прогнозирования, специфичной для аллеля антигена лейкоцитов человека-A2. Основываясь на физико-химических свойствах аминокислот, таких как склонность к остаткам, гидрофобность и соотношение органический растворитель/вода, авторы использовали POTN для скрининга пептидов на антиген рака яичек, расположенный на X-хромосоме, и идентифицировали несколько пептидов, которые могут вызывать иммуногенность. Определение свойств, связанных с Т-клеточным ответом или иммуногенностью, открывает путь к пониманию комплекса рецепторов МНС / пептид / Т-клетка. POTN является эффективной моделью прогнозирования для скрининга высокоаффинных иммуногенных пептидов из опухолевых антигенов и, таким образом, предоставляет полезную информацию для разработки иммунотерапии рака [42].

Исследованиями, приведенными в [43], установлено, что пептиды R-DIM-P-LF11-322 и DIM-LF11-318, полученные из лактоферрицина, проявляют противоопухолевую активность в отношении меланомы человека. В то



время как R-DIM-P-LF11-322 специфически взаимодействует с раковыми клетками, неспецифический DIM-LF11-318 проявляет также активность в отношении неопухолевых клеток. Установлено, что раковые клетки экспонируют отрицательно заряженный липид фосфатидилсерин (PS) во внешнем листе плазматической мембраны, в то время как нераковые клетки просто экспонируют нейтральные липиды, такие как фосфатидилхолин (PC) или холестерин. Исследования калориметрического и дзета-потенциала с использованием R-DIM-P-LF11-322 и липосом, имитирующих рак, состоящих из PS, PC и холестерина, показывают, что специфичный для рака пептид специфически взаимодействует с PS. Пептид R-DIM-P-LF11-322 проникает в раковую клетку специфически через PS и достигает внутриклеточных органелл, разрушают комплекс Гольджи, вызывают набухание митохондрий и апоптоз.

Авторами [43] использованы библиотеки пептидов с фаговым дисплеем и одним шариком с одним соединением (ОВОС), для обнаружения пептидов, нацеленных на опухоль.

Пептиды как биомаркеры. Мультиформная глиобластома (GBM) является наиболее агрессивной опухолью головного мозга с плохим прогнозом для большинства пациентов. Иммуноterapia GBM считается потенциально полезным вариантом лечения, оптимальная реализация которого может зависеть от знакомства с опухоле-специфическими антигенами, представленными клетками GBM в виде пептидов HLA. Кроме того, раннее выявление GBM, например, с помощью обычного анализа крови, может улучшить выживаемость даже при существующих методах лечения. Авторами [44] проведено исследование по анализу пептидома HLA (иммунопептидома) растворимых в плазме молекул HLA (sHLA) 142 образцов плазмы и мембранного HLA опухолей GBM 10 образцов опухолей этих пациентов. Образцы опухоли были свежзаморожены сразу после операции, а образцы плазмы были взяты до и после операции. В общей сложности этот анализ пептидома HLA включал 52 различных аллотипа HLA и привел к идентификации более 35 000 различных пептидов HLA. Отмечены сильные корреляции в интенсивности сигнала и в репертуаре идентифицированных пептидов между опухолями и растворимыми в плазме пептидомами HLA отдельных пациентов, тогда как наблюдались низкие корреляции между этими пептидомами HLA и протеомами опухолей. Пеп-

тиды HLA, полученные из антигенов рака яичек (СТА), были выбраны на основе их присутствия среди пептидомов HLA пациентов и отсутствия экспрессии их исходных генов в здоровых тканях человека. Кроме того, пептиды были выбраны в качестве потенциальных биомаркеров, если их уровни в пептидоме плазмы-sHLA были значительно снижены после удаления опухолевой массы. СТА, выявленные среди проанализированных пептидомов HLA, предоставляют новые возможности для персонализированной иммунотерапии и ранней диагностики GBM. 9.

Выводы

В обзоре приведены данные о том, что пептиды животного происхождения вызывают большой интерес, поскольку они обладают высокоспецифичным и эффективным противовирусным действием с минимальными побочными эффектами. Пептиды могут быть получены с помощью органического синтеза, микроволновой экстракцией, химическим и ферментативным гидролизом с последующей очисткой с помощью ионообменной колоночной и высокоэффективной жидкостной хроматографией. Пептиды животного происхождения проявляют широкий спектр антибактериальной активности по сравнению с пептидами, продуцируемыми бактериями. При систематизации научных исследований показано, что культуры опухолевых клеток, различающихся по происхождению, чувствительны к пептидам. С помощью биотехнологических методов могут быть сконструированы пептиды со способностью нацеливания только на раковые клетки. Такие пептиды нарушают гомеостаз опухолевых клеток и вызывают их гибель. Пептиды могут быть использованы в качестве потенциальных биомаркеров для персонализированной иммунотерапии и ранней диагностики онкологических заболеваний. Пептиды обладают большим потенциалом и могут широко использоваться в качестве действующих начал в составе биологически активных добавок и лекарственных препаратов.

Список литературы

1. Bolatchiev A. Antibacterial activity of human defensins against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* // *Biology, Medicine*. 2020. Vol. 25. P. 1–14. DOI:10.7717/peerj.10455.
2. Agyei D., Ongkudon C. M., Wei C. Y. Danquah, Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides // *Food and Bioprocess Processing*. 2016. Vol. 98. P. 244–256.

3. Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products / S. Perino-Issartie, Zill-e-Huma, M. Abert-Vian, F. Chemat // *Food and Bioprocess Technology*. 2011. Vol. 4. № 6. P. 1020–1028.
4. Cell viability assays / T. L. Riss, R. A. Moravec, A. L. Niles, L. Minor // *Assay Guidance Manual*. 2016. Vol. 3. № 5. P. 1031–1049.
5. Alternative and efficient extraction methods for marine-derived compounds / C. Grosso, P. Valentao, F. Ferreres, P. B. Andrade // *Marine Drugs*. 2015. Vol. 13. № 5. P. 3182–3230.
6. Evolution and diversity of plant cell walls: from algae to flowering plants / Z. A. Popper [et al.] // *Annual Review of Plant Biology* Eds. 2011. Vol. 62. P. 567–588.
7. Belanger J. M. R., Par J. R. J. Applications of microwave-assisted processes (MAP) to environmental analysis // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2006. Vol. 386. № 4. P. 1049–1058.
8. Vijaykrishnaraj M., Prabhasankar P. Marine protein hydrolysates: their present and future perspectives in food chemistry – a review // *RSC Advances*. 2015. Vol. 5. № 44. P. 34864–34877.
9. Lee J., Jeffries T. W. Efficiencies of acid catalysts in the hydrolysis of lignocellulosic biomass over a range of combined severity factors // *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102. № 10. P. 5884–5890.
10. Typical conversion of lignocellulosic biomass into reducing sugars using dilute acid hydrolysis and alkaline pretreatment / Y.-L. Loow [et al.] // *Cellulose*. 2016. Vol. 23. № 3. P. 1491–1520.
11. Xu Z., Huang F. Pretreatment methods for bioethanol production // *Applied biochemistry and biotechnology*. 2014. Vol. 174. № 1. P. 43–62.
12. Kristinsson H. G., Rasco B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2000. Vol. 40. № 1. P. 43–81.
13. Proteolytic and peptidolytic activities in commercial pancreatic protease preparations and their relationship to some whey protein hydrolysate characteristics / M. M. Mullally [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1994. Vol. 42. № 12. P. 2973–2981.
14. Selective induction of cancer cell death by VDAC1-based peptides and their potential use in cancer therapy / A. Shteinfein-Kuzmine [et al.] // *Mol Oncol*. 2018. № 12 (7). P. 1077–1103.
15. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis / J.-Y. Je, K.-H. Lee, M. H. Lee, C.-B. Ahn // *Food Research International*. 2009. Vol. 42. № 9. P. 1266–1272.
16. Study on the Preparation of Oyster Antioxidant Hydrolysates with Different Enzymatic Methods / V. Y. Liu [et al.] // *Proceedings of the 4th International Conference on Energy and Environmental Protection (Icep '15)*. 2015. P. 4225–4233.
17. Hydrolysis and purification of ACE inhibitory peptides from the marine microalga *Isochrysis galbana* / H. Wu [et al.] // *Journal of Applied Phycology*. 2014. Vol. 27. № 1. P. 351–361.
18. Ko S.-C., Kim D., Jeon Y.-J. Protective effect of a novel antioxidative peptide purified from a marine *Chlorella ellipsoidea* protein against free radical-induced oxidative stress // *Food and Chemical Toxicology*. 2012. Vol. 50. № 7. P. 2294–2302.
19. In vitro antiviral activities of enzymatic hydrolysates extracted from byproducts of the Atlantic holothurian *Cucumaria frondosa* / L. Tripoteau, G. Bedoux, J. Gagnon, N. Bourgoignon // *Process Biochemistry*. 2015. Vol. 50. № 5. P. 867–875.
20. Functional and potential therapeutic ACE-inhibitory peptides derived from bromelain hydrolysis of trevally proteins / J. Salampeyy, N. Reddy, K. Kailasapathy, M. Phillips // *Journal of Functional Foods*. 2015. Vol. 14. P. 716–725.
21. Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with fish protein hydrolysates / P. J. Garc'ia-Moreno, A. Guadix, E. M. Guadix, C. Jacobsen // *Food Chemistry*. 2016. Vol. 203. P. 124–135.
22. Optimization of the extraction and stability of antioxidative peptides from mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) protein / X. Wang [et al.] // *BioMed Research International*. 2017. Vol. 2017. P. 14.
23. Recent advances in separation of bioactive natural products / Q. Ren [et al.] // *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2013. Vol. 21. № 9. P. 937–952.
24. Separation of chito-oligomers with several degrees of polymerization and study of their antioxidant activity / K. Li [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. 2012. Vol. 88. № 3. P. 896–903.
25. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin / Y. Zhang, X. Duan, Y. Zhuang // *Peptides*. 2012. Vol. 38. № 1. P. 13–21.
26. Partial purification and identification of three antioxidant peptides with hepatoprotective effects from blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate by peptic hydrolysis / S. Y. Park, Y.-S. Kim, C.-B. Ahn, J.-Y. Je // *Journal of Functional Foods*. 2016. Vol. 20. P. 88–95.



27. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean / B. P. Singh, S. Vij, S. Hati // *Peptides*. 2014. Vol. 54. P. 171–179.
28. Peptides to combat viral infectious diseases / S. Al-Azzam [et al.] // *Peptides*. 2020. № 134. P. 170402.
29. Antiviral peptides against Coronaviridae family: A review / H. Heydari [et al.] // *Peptides*. 2021. № 139. P. 170526.
30. Peptide Assembly on the Membrane Determines the HIV-1 Inhibitory Activity of Dual-Targeting Fusion Inhibitor Peptides / M. J. Gomara [et al.] // *Sci Rep*. 2019. № 9 (1). P. 3257.
31. Membrane Active Peptides and Their Biophysical Characterization / F. G. Avci, B. S. Akbulut, E. Ozkirimli // *Biomolecules*. 2018. № 8 (3). P. 77.
32. Broad-Spectrum Antiviral Entry Inhibition by Interfacially Active Peptides / A. R. Hoffmann [et al.] // *J Virol*. 2020. № 94 (23). P. e01682-20.
33. An enzymatic assay based on luciferase Ebola virus-like particles for evaluation of virolytic activity of antimicrobial peptides / M. Peskova [et al.] // *Peptides*. 2017. № 88. P. 87–96.
34. Lantibiotics: insight and foresight for new paradigm / J. I. Nagao [et al.] // *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2006. № 102 (3). P. 139–149. Access mode : <https://doi.org/10.1263/jbb.102.139>.
35. Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides // *Food Chemistry*. № 107 (1). P. 327–336. Access mode : <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.036>.
36. Insight into the Antifungal Mechanism of Action of Human RNase N-terminus Derived Peptides / V. A. Salazar [et al.] // *Int J Mol Sci*. 2019. № 20 (18). P. 4558.
37. Insight into the Antifungal Mechanism of Action of Human RNase N-terminus Derived Peptides / V. A. Salazar [et al.] // *Int J Mol Sci*. 2019. № 20 (18). P. 4558.
38. Furukawa N., Popel A. S. Peptides that immunoinactivate the tumor microenvironment // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021. № 1875 (1). P. 188486.
39. Selective induction of cancer cell death by VDAC1-based peptides and their potential use in cancer therapy / A. Shteinifer-Kuzmine [et al.] // *Mol Oncol*. 2018. № 12 (7). P. 1077–1103.
40. POTN: A Human Leukocyte Antigen-A2 Immunogenic Peptides Screening Model and Its Applications in Tumor Antigens Prediction / Q. Meng [et al.] // *Front Immunol*. 2020. № 11. P. 02193.
41. POTN: A Human Leukocyte Antigen-A2 Immunogenic Peptides Screening Model and Its Applications in Tumor Antigens Prediction / Q. Meng [et al.] // *Front Immunol*. 2020. № 11. P. 02193.
42. Interaction of two antitumor peptides with membrane lipids – Influence of phosphatidylserine and cholesterol on specificity for melanoma cells / C. Wodlej [et al.] // *PLoS One*. 2019. № 14 (1). P. e0211187.
43. Tumor-targeting peptides from combinatorial libraries / R. Liu, X. Li, W. Xiao, K. S. Lam // *Published correction appears Adv Drug Deliv Rev*. 2017. № 110–111. P. 13–37.
44. Identification of Tumor Antigens Among the HLA Peptidomes of Glioblastoma Tumors and Plasma / Shraibman [et al.] // *Molecular & cellular proteomics : MCP*. 2019. Vol. 18,6. P. 1255–1268.

Тихонов Сергей Леонидович, д-р техн. наук, профессор, заведующий кафедрой пищевой инженерии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет».

E-mail: tihonov75@bk.ru.

Тихонова Наталья Валерьевна, д-р техн. наук, профессор, профессор кафедры пищевой инженерии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет».

E-mail: tihonov75@bk.ru.

Кольберг Наталья Александровна, канд. ветеринар. наук, доцент, доцент кафедры пищевой инженерии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет».

E-mail: innomed13@mail.ru.

Кудряшов Леонид Сергеевич, д-р техн. наук, профессор, ФГНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

E-mail: lskudryashov@yandex.ru.

* * *