Вестник ВГУИТ/ Proceedings of VSUET ISSN 2226-910X E-ISSN 2310-1202
DOI: http://doi.org/10.20914/2310-1202-2026-3-238-251 Оригинальная статья/Research article
УДК 640 Open Access Available online at vestnik-vsuet.ru

Оценка биологической активности пептидов конопли, полученных с использованием растительных ферментов

Денис И. Алексаночкин [1] aleksanochkindi@list.ru 0009-0000-7677-6583
Игорь А. Фоменко [1] iv.fomenko@mail.ru 0000-0003-2478-1705
Наталья Г. Машенцева [1] natali-mng@ya.ru 0000-0002-9287-0585
Даниил И. Мухтаров [1] muhtarovdaniil87@gmail.com 0009-0002-1213-0729

1 Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., 11

Аннотация. В работе проведено комплексное исследование биологически активных пептидов, полученных при ферментативном гидролизе белка промышленной конопли протеазами растительного происхождения (бромелаином и папаином). Целью исследования являлась идентификация пептидных последовательностей и оценка их потенциальной биологической активности методом молекулярного докинга. С использованием ВЭЖХ LC-MS/MS были идентифицированы 2381 и 2752 пептидов в гидролизатах белка конопли, обработанных бромелаином и папаином, соответственно. Прогнозирование с помощью базы данных BIOPEP-UWM показало, что все полученные последовательности обладают ингибирующей активностью в отношении АПФ и ДПП4. Также некоторые пептиды ингибировали ренин, α-глюкозидазу, глутаматкарбоксипептидазу II и неприлизин, дополнительно были выявлены антиоксидантные, иммуностимулирующие и нейропротекторные свойства. *In silico* оценка физико-химических параметров подтвердила высокую растворимость, отсутствие токсичности и умеренную стабильность в условиях, имитирующих кишечную среду и кровь: средний период полураспада пептидов в кишечнике, полученных с использованием бромелаина, составлял 1,2 с, а у папаиновых последовательностей – 1,25 с; средний период полураспада в крови составил 13,6 мин для всех пептидов. Результаты молекулярного докинга в AutoDock Vina выявили высокую ингибирующую способность пептидов к активным центрам белков-мишеней (с энергией связывания от -5,749 до -11,120 ккал/моль). В качестве пептидов с наименьшей энергией взаимодействия были выбраны: YGRDEISVF с АПФ (-9,569 ккал/моль); FDERIRE с ДПП4 (-7,995); NPHEDFPQSRR с МПО (-11,120); ARFDERIRE с ренином (-7,728); GNPEDEFEQLRR с альфа-глюкозидазой (-6,535); YGRDEISVF с GCP2 (-9,702); AREPDTRVE с неприлизином (-9,333). Была выявлена зависимость между величиной энергии связывания и количеством контактов с ключевыми карманами (активными центрами) белков-мишеней. Полученные данные указывают на перспективность пептидов конопли как биоактивных агентов. Выбранный нами подход позволяет выбрать пептиды, которые в дальнейшем будут исследоваться *in vitro* и *in vivo*.

Ключевые слова: промышленная конопля, биологически активные пептиды, молекулярный докинг, ангиотензинпревращающий фермент, дипептидилпептидаза-4, антиоксидантные свойства, ренин, альфа-глюкозидаза, глутамат карбоксипептидаза-2, неприлизин.

Assessment of the Biological Activity of Hemp Peptides Produced Using Plant-Derived Enzymes

Denis I. Aleksanochkin [1] aleksanochkindi@list.ru 0009-0000-7677-6583
Igor A. Fomenko [1] iv.fomenko@mail.ru 0000-0003-2478-1705
Natalia G. Mashentseva [1] natali-mng@ya.ru 0000-0002-9287-0585
Daniil I. Mukhtarov [1] muhtarovdaniil87@gmail.com 0009-0002-1213-0729

1 Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoye Shosse, Moscow, 125080, Russian Federation.

Abstract. A comprehensive study of biologically active peptides obtained by enzymatic hydrolysis of industrial hemp protein by proteases of plant origin (bromelain and papain) has been carried out. The aim of the study was to identify peptide sequences and evaluate their potential biological activity by molecular docking. Using LC-MS/MS HPLC, 2381 and 2752 peptides were identified in hemp protein hydrolysates treated with bromelain and papain, respectively. Prediction using the BIOPEP-UWM database showed that all the obtained sequences have inhibitory activity against ACE and DPP4. Also, some peptides inhibited renin, α-glucosidase, glutamate carboxypeptidase II and neprilysin, additionally antioxidant, immunostimulating яand neuroprotective properties were revealed. *In silico*, the evaluation of physico-chemical parameters confirmed high solubility, no toxicity, and moderate stability under conditions simulating the intestinal environment. The average half–life of peptides in the intestine obtained using bromelain was 1.2 s, and that of papain sequences was 1.25 s. The average blood half-life was 13.6 minutes for all peptides. The results of molecular docking in AutoDock Vina revealed a high inhibitory ability of peptides to the active sites of target proteins (with binding energies from -5.749 to -11.120 kcal/mol). The following peptides with the lowest interaction energy were selected: YGRDEISVF with ACE (-9.569 kcal/mol); FDERIRE with DPP4 (-7.995); NPHEDFPQSRR with MPO (-11.120); ARFDERIRE with renin (-7.728); GNPEDEFEQLRR with alpha-glucosidase (-6.535); YGRDEISVF with GCP2 (-9.702); AREPDTRVE with non-lysine (-9.333). A relationship was revealed between the amount of binding energy and the number of contacts with key pockets of target proteins. The data obtained indicate the prospects of cannabis peptides as bioactive agents. The approach we have chosen allows us to select peptides that will be further studied *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: industrial hemp, bioactive peptides, molecular docking, angiotensin-converting enzyme, dipeptidyl peptidase-4, antioxidant properties, renin, α-glucosidase, glutamate carboxypeptidase II, neprilysin.

Для цитирования
Алексаночкин Д.И., Фоменко И.А., Машенцева Н.Г., Мухтаров Д.И. Оценка биологической активности пептидов конопли, полученных с использованием растительных ферментов // Вестник ВГУИТ. 2026. Т. 88. № 3. С. 238–251. doi:10.20914/2310-1202-2026-3-238-251

For citation
Aleksanochkin D.I., Fomenko I.A., Mashentseva N.G., Mukhtarov D.I. Assessment of the Biological Activity of Hemp Peptides Produced Using Plant-Derived Enzymes. Vestnik VGUIT [Proceedings of VSUET]. 2026. vol. 88. no. 3. pp. 238–251. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2026-3-238-251

© 2026, Алексаночкин. Д.И. и др. / Aleksanochkin D.I. et al.
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

Введение

Пептиды растительного происхождения получают при гидролизе белковых фракций зерновых, бобовых, масличных культур и побочных продуктов их переработки [21, 23]. После расщепления белка образуются короткие аминокислотные последовательности, которые связываются с ферментами и способны их ингибировать. В научной литературе для таких пептидов описано ингибирование ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), дипептидилпептидазы 4 (ДПП4), ренина, альфа-глюкозидазы, глутаматкарбоксипептидазы II (GCP2) и неприлизина [21, 22, 24, 29, 30]. АПФ играет центральную роль в регуляции артериального давления и водно-солевого баланса в организме. ДПП4 – фермент из класса экзопептидаз, который играет важнейшую роль в регуляции углеводного обмена и уровня глюкозы в крови. GCP2 или простатспецифический мембранный антиген относится к металлозависимым ферментам; он гидролизует N-ацетиласпартилглутамат и участвует в обмене фолатных соединений. Поэтому ингибиторы GCP2 рассматривают в исследованиях, связанных с нейробиологическими процессами и опухолевыми мишенями [28]. Неприлизин является цинксодержащей эндопептидазой. Один из его субстратов – натрийуретические пептиды, участвующие в сердечно-сосудистой регуляции. По этой причине ингибирование неприлизина используют как отдельное направление при изучении соединений, влияющих на метаболизм [30].

Активность пептида зависит от длины цепи, аминокислотного состава, заряда, гидрофобности и положения отдельных остатков. Для пептидов, которые ингибируют АПФ и ДПП4, особое значение имеют ароматические и гидрофобные алифатические аминокислоты, а также специфические циклические аминокислоты (пролин, аланин) [22, 24]. При оценке антиоксидантных свойств учитывают ароматические и серосодержащие аминокислоты, а также аминокислоты-хелаторы (гистидин, аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты), способные связывать активные формы кислорода или стабилизировать продукты окислительных реакций. В исследованиях *in silico* миелопероксидаза (МПО) широко применяется в качестве белка-мишени, позволяющего прогнозировать потенциальные антиоксидантные свойства исследуемых пептидов.

Молекулярный докинг (метод *in silico*) применяют для прогнозирования биологической активности различных компонентов. В ходе процесса определяют положение лиганда в активном центре, энергетические параметры связывания и контакты с аминокислотными остатками белка [25, 26]. Применительно к пептидам этот подход позволяет выявить какие именно остатки пептидной цепи образуют специфические взаимодействия с участками активного центра белка (его карманами – областями наилучшего связывания). Данный подход применяется в виртуальном скрининге, поиске мишеней, прогнозировании побочных эффектов лекарств и определении биологической активности [19]. Для проведения молекулярного докинга используют следующие инструменты: AutoDock Vina, GOLD, Glide, MOE, ICM и FlexX, которые входят в число популярных используемых программ [20]. Однако данный метод не заменяет исследований *in vitro* и *in vivo*, при этом сокращает число пептидов, которые затем нужно анализировать лабораторно, что упрощает поиск значимых последовательностей [25, 27].

Цель работы – идентификация аминокислотных последовательностей в гидролизате белка конопли, обработанных бромелаином и папаином, с последующим определением биологической активности *in si-lico* для отбора наиболее перспективных пептидов в качестве объектов будущих исследований *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

Изолят белка конопли получали из жмыха, образованного холодным отжимом масла семян сорта «Вера», Пензенская область. Жмых обезжиривали органическим растворителем н-гексаном, проводили деструкцию некрахмальных полисахаридов целлюлолитическим ферментным препаратом и далее осуществляли щелочную экстракцию белка с изоэлектрическим осаждением и лиофильной сушкой [5].

Гидролизаты белка конопли получали ферментативным гидролизом изолята препаратами растительного происхождения – бромелаином и папаином («Sigma-Aldrich», США). Для бромелаина были выбраны следующие параметры гидролиза – температура 55 °С и pH 7,5, для папаина – 60 °С и pH 7,0. Протеолитическую активность измеряли по ГОСТ 34430–2018 ед. ПС/см^3.

Для удаления солей пептидные фракции очищали на микроколонках StageTip с сорбентом SDB-RPS. Образцы центрифугировали (300 g), промывали 0,2% ТФУ и элюировали 40% ацетонитрилом в 0,1% ТФУ. Элюат лиофилизировали, хранили при -80 °С и перед анализом ресуспендировали в 2% ацетонитриле / 0,1% ТФУ.

Хроматографическое разделение проводили на нано-ЖХ системе Ultimate 3000 («Thermo Fisher Scientific», США), соединенной с масс-спектрометром Orbitrap Lumos Tribrid («Thermo Fisher Scientific», США). Пептиды разделяли на колонке ReproSil-Pur C18-AQ (1,9 мкм)

при линейном градиенте ацетонитрила (3–99% за 71 мин) в присутствии 0,1% муравьиной кислоты и скорости потока 500 нл/мин. Ионизация осуществлялась методом ESI; фрагментация – только на этапе MS/MS с использованием HCD (30% энергии).

Масс-спектрометрические параметры: MS1 – разрешение 60 000, m/z 350–1600; MS2 – разрешение 15 000, время накопления 80 мс. Идентификацию пептидов выполняли в PEAKS Studio 11.0 по базе UniProt (https://www.uniprot.org/) с FDR ≤ 1%, допуском массы 10 ppm (прекурсоры) и 0,05 Да (фрагменты). Учитывалась постоянная модификация Cys – карбамидометилирование, переменные модификации – деамидирование Asn/Gln, окисление Met и ацетилирование N-концевой аминогруппы, уровень ложноположительных идентификаций составлял 0,01. При идентификации пептидов допускалось отклонение экспериментально полученной массы от теоретической до 10 м.д., а отклонение массы фрагментов – до 0,05 Да. Для прогнозирования биологической активности пептидов использовали биоинформатическую базу данных «BIOPEP-UWM» [1]. Использовали инструмент calculations с оценкой коэффициента A, обозначающего частоту встречаемости аминокислотных последовательностей в пептиде, обладающим активностью. Принимали условие, что если коэффициент A больше 0,1, то активность присутствует.

Физико-химические свойства пептидов, включая изоэлектрическую точку и водорастворимость, были предсказаны с помощью онлайн-программы «Peptide Property Calculator» (https://pepcalc.com/ppc.php). Токсичность пептидов определяли в программе «ToxinPred» (http://crdd.osdd.net/raghava/toxinpred/). Прогнозирование периода полураспада пептидов в среде, моделирующей кишечник, проводили в программном обеспечении «HLP» (http://crdd.osdd.net/raghava/hlp/) [6, 7]. Период полураспада <0,1 с означает низкую устойчивость, от 0,1 до 1,0 с – среднюю, а более 1,0 с – высокую [33]. Прогнозирование периода полураспада пептидов в крови проводили в программе «PlifePred» (https://webs.iiitd.edu.in/raghava/plifepred/). Период полураспада до 6 мин являлся низкой устойчивостью, от 6 до 12 – средней, а более 12 – высокой [31].

Молекулярный докинг мажорных пептидов с белками-мишенями / ферментами проводили в программном обеспечении «AutoDock Vina». Модели белков мишеней брали в базе данных «Protein Data Bank» (https://www.rcsb.org/). В качестве ферментов использовали: АПФ – 1O8A, ДПП4 – 1J2E; МПО – 1CXP; ренин – 2V0Z; альфа-глюкозидаза – 5NN3; GCP2 – 2OOT; неприлизин – 5JMY. Лиганды и белки-мишени переводили в формат FASTA и готовили в программном обеспечении «PyMOL» и «AutoDockTools 1.5.7». Осуществляли удаление молекул воды, добавляли атомы водорода и назначали атомам необходимые заряды. В «AutoDockTools 1.5.7» определяли активный центр белка, размер области задавали через «GridBox» 50 × 50 × 50. Для АПФ область – 40.604 × 37.368 × 43.693, ДПП4 – 76.522 × 57.4 × 35.538, МПО – 26.068 × 0.178 × 14.976, ренина – 23.279 × 29.398 × 75.158, альфа-глюкозидазы – 1.263 ×-26.753 • 86.856, GCP2 – 17.577 × 49.914 × 45.160 и для неприлизина – 14.589 ×-19.903×-31.49. 3D и 2D модель молекулярного докинга получали в «Discovery Studio 2025 Client». После чего в данной программе анализировали образовавшиеся взаимодействия пептид-белок через функцию «non bond».

Результаты и обсуждение

Ферментативный протеолиз является одним из инструментов в получении биологически активных пептидов. Ферментативная активность для бромелаина составила 310,2 ед. ПС/см^3, а для папаина – 197,1 ед. ПС/см^3. Степень гидролиза (DH) для образца, обработанного бромелаином, составила 9,13% (при 2% концентрации ФП) и 7,71% для папаина (при 1,5% концентрации ФП) за 4 ч гидролиза. DH определяли по соотношению аминного азота к общему азоту. Протеолиз является одним из инструментов в получении растительных пептидов. На рисунке 1 представлены масс-спектры гидролизатов белка конопли.

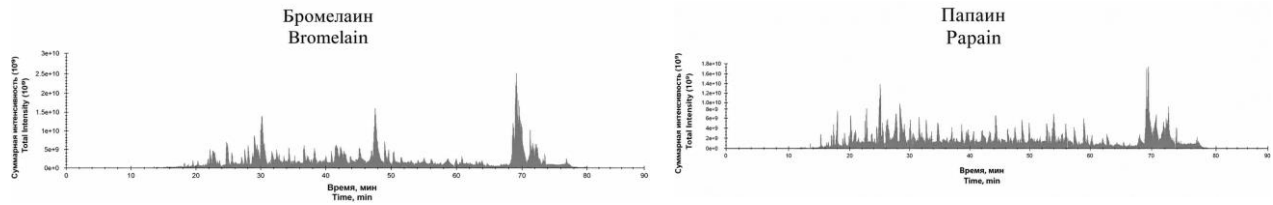


Рисунок 1. Масс-спектры гидролизатов белка конопли, обработанные бромелаином и папаином

Figure 1. Mass spectra of hemp protein hydrolysates obtained using bromelain and papain

Каждый пик на хроматограмме соответствует пептидам, которые элюируются в разное время из-за различий в гидрофобности, заряде и размере пептидов. Гидролизаты бромелаина и папаина характеризуются схожим профилем масс-спектров. В таблице 1 представлены мажорные аминокислотные последовательности, содержание которых в гидролизате составляло более 2%. Всего в образце, обработанном бромелаином, было идентифицировано 2381 пептида, для папаина – 2752.

Таблица 1.

Идентифицированные пептидные последовательности в гидролизатах белка конопли

Table 1.

Identified peptide sequences in hemp protein hydrolysates

Аминокислотная последовательность пептида | Peptide amino acid sequence	m/z	Белок-предшественник (UniProt) | Precursor protein (UniProt)	Содержание пептида в гидролизате, % | Peptide content in hydrolysate, %
Бромелаин | Bromelain			
FDERIRE	964,48	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	14,38
AGNPEDEFEQLRR	780,87	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	10,05
NPHEDFPQSRR	346,42	11S-глобулин, F8388_009441, CsEde3B	5,02
ARFDERIRE	397,88	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	3,75
EDLQIIAPSRIQEEERRH	444,64	11S-глобулин, G4B88_018866, G4B88_003149, ede2C, CsEde2A, CsEde2B, ede2B, F8388_004164, ede2A, F8388_004168, G4B88_003162	3,12
SNVNNQLDDNPRR	771,37	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	2,92
GNPEDEFEQLRR	497,24	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	2,4
Папаин | Papain			
NRDDMRERIVR	365,69	11S-глобулин, G4B88_018866, G4B88_003149, ede2C, CsEde2A, CsEde2B, ede2B, F8388_004164, ede2A, F8388_004168, G4B88_003162	4,65
FDERIR	418,22	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	3,79
AREPDTRVE	358,18	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	3,79
GQNDDRNSIIR	429,88	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	2,66
YGRDEISVF	1085,53	11S-глобулин, G4B88_018866, G4B88_003149, ede2C, CsEde2A, CsEde2B, ede2B, F8388_004164, ede2A, F8388_004168, G4B88_003162	2,51
AGNPEDEFEQLR	702,82	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	2,5
VVDDNGRNVFDGELR	568,95	11S-глобулин, G4B88_018866, G4B88_003149, ede2C, CsEde2A, CsEde2B, ede2B, F8388_004164, ede2A, F8388_004168, G4B88_003162	2,15
NPEDEFEQLR	638,79	11S-глобулин, ede1D, ede1B, G4B88_024695, F8388_009441, F8388_009442, ede1A, CsEde1A, CsEde1B, ede1C, G4B88_024690	2,03

По результатам идентификации аминокислотных последовательностей в гидролизате белка конопли, обработанного бромелаином, доминировали два пептида: FDERIRE – 14,38% и AGNPEDEFEQLRR – 10,05%. В гидролизате, полученном с папаином, доминировал пептид NRDDMRERIVR – 4,65%, остальные последовательности находились в диапазоне от 2,03 до 3,79%. В литературе уже были описаны пептиды № 7, 10, 12 и 14, полученные из белка конопли. Однако в данных источниках идентифицированные пептиды были получены в гидролизатах с Alcalase, Flavourzyme, пепсином и трипсином [2–4]. В свою очередь это указывает на высокую воспроизводимость ферментативного гидролиза. Также выявлено, что пептид № 9 совпадает с 1 и 4, а пептид 13 с 2. Аминокислотная последовательность пептида № 15 была обнаружена в составе более длинных пептидов 13, 7 и 2, что может указывать на схожесть протеолитических систем двух ферментов (бромелаина и папаина). Для всех гидролизатов белком предшественником являлся эдестин, включая его изоформы. Наиболее часто идентифицировались мономеры (субъединицы эдестина), кодируемые генами *ede1A, ede1B* и *ede1C*.

Далее нами была спрогнозирована биологическая активность пептидов с использованием биоинформатической базы данных «BIOPEP-UWM». Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Прогнозируемая биологическая активность пептидов по базе данных BIOPEP-UWM

Table 2.

Predicted biological activity of peptides according to the BIOPEP-UWM database

Аминокислотная последовательность пептида | Peptide amino acid sequence	Биологическая активность | Biological activity
Бромелаин | Bromelain	
FDERIRE	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCP2, неприлизина; антиоксидантный эффект | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, neprilysin; antioxidant effect
AGNPEDEFEQLRR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, GCP2; иммуностимулирующее действие | Inhibitor of ACE, DPP4, GCPII; immunostimulatory effect
NPHEDFPQSRR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCP2, альфа-глюкозидазы; антиоксидантный эффект; нейропротекция | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, α-glucosidase; antioxidant effect; neuroprotection
ARFDERIRE	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCPII, неприлизина; антиоксидантный эффект | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, and neprilysin; antioxidant effect
EDLQIIAPSRIQEEERRH	Ингибитор: АПФ, ДПП4, GCPII | Inhibitor of ACE, DPP4, and GCPII
SNVNNQLDDNPRR	Ингибитор: АПФ, ДПП4 | Inhibitor of ACE and DPP4
GNPEDEFEQLRR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCPII, альфа-глюкозидазы | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, and α-glucosidase
Папаин | Papain	
NRDDMRERIVR	Ингибитор: АПФ, ДПП4 | Inhibitor of ACE and DPP4
FDERIR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCPII, неприлизина; антиоксидантный эффект | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, and neprilysin; antioxidant effect
AREPDTRVE	Ингибитор: АПФ, ДПП4, неприлизина, альфа-глюкозидазы; антиоксидантный эффект | Inhibitor of ACE, DPP4, neprilysin, and α-glucosidase; antioxidant effect
GQNDDRNSIIR	Ингибитор: АПФ, ДПП4 | Inhibitor of ACE and DPP4
YGRDEISVF	Ингибитор: АПФ, ДПП4, GCPII; иммуностимулирующее действие | Inhibitor of ACE, DPP4, and GCPII; immunostimulatory effect
AGNPEDEFEQLR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCPII, альфа-глюкозидазы | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, and α-glucosidase
VVDDNGRNVFDGELR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, GCPII, неприлизина; антиоксидантный эффект | Inhibitor of ACE, DPP4, GCPII, and neprilysin; antioxidant effect
NPEDEFEQLR	Ингибитор: АПФ, ДПП4, ренина, GCPII, альфа-глюкозидазы; антиоксидантный эффект; нейропротекция | Inhibitor of ACE, DPP4, renin, GCPII, and α-glucosidase; antioxidant effect; neuroprotection

Все пептиды обладали прогнозируемой ингибирующей активностью по отношению к АПФ и ДПП4. Кроме того, потенциальная антиоксидантная активность была выявлена у трех пептидов из бромелаинового гидролизата и у четырех – из папаинового. Большинство аминокислотных последовательностей показали способность ингибировать глутаматкарбоксипептидазу II. Пептиды YGRDEISVF и NPEDEFEQLR обладали иммуностимулирующем действием и нейропротекторной активностью соответственно.

В литературе были описаны пептиды MAEKEGFEWVSF и GLHLPSYTNTPQ LVYIVK, идентифицированные в гидролизате белка конопли, полученные с ФП Alcalase и Flavourzyme. Montserrat-de la Paz, S. и соавт. описывали, что данные последовательности проявляли наибольшую иммуномодулирующую активность *in silico* [4]. Gao, J. и соавт. получили пептиды YGRDEISV и LDLVKPQ, обладающие высокой антиоксидантной активностью [8]. Необходимо отметить, что пептид YGRDEISV в исследовании Gao, J. и соавт. совпадает с нашим пептидом YGRDEISVF, за исключением фенилаланина на конце. В работе Cruz-Chamorro, I. и соавт. у пептидов WVSPLAGRT и IGFLIIWV были описаны высокие противовоспалительные свойства на клетках HepG2 [9].

В таблице 3 представлен анализ физико-химический свойств, токсичности и стабильность периода полураспада пептидов в среде, моделирующей кишечник и крови.

Таблица 3.

Физико-химические свойства, токсичность и стабильность пептидов

Table 3.

Physicochemical properties, toxicity, and stability of peptides

Аминокислотная последовательность пептида | Peptide amino acid sequence	pI	Водорастворимость | Water solubility	Токсичность | Toxicity	Стабильность в кишечнике | Stability in the intestine	Стабильность в крови | Stability in the blood
Бромелаин | Bromelain					
FDERIRE	4,32	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,232 с) | High (1.232 s)	Высокая (833,5 с) | High (833,5 s)
AGNPEDEFEQLRR	4,04	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,676 с) | High (1.676 s)	Средняя (675,5 с) | High (675,5 s)
NPHEDFPQSRR	7,39	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,512 с) | High (1.512 s)	Высокая (889,4 с) | High (889,4 s)
ARFDERIRE	7,11	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Средняя (0,600 с) | Moderate (0.600 s)	Высокая (833,6 с) | High (833,6 s)
EDLQIIAPSRIQEEERRH	4,66	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Низкая (0,000 с) | Low (0.000 s)	Высокая (937,4 с) | High (937,4 s)
SNVNNQLDDNPRR	6,53	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,687 с) | High (1.687 s)	Высокая (967,0 с | High (967,0 s)
GNPEDEFEQLRR	4,04	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,689 с) | High (1.689 s)	Высокая (933,6 с | High (933,6 s)
Папаин | Papain					
NRDDMRERIVR	10,11	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Средняя (0,801 с) | Moderate (0.801 s)	Высокая (847,1 с | High (847,1 s)
FDERIR	6,69	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,385 с) | High (1.385 s)	Высокая (837,2 с | High (837,2 s)
AREPDTRVE	4,32	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Средняя (0,581 с) | Moderate (0.581)	Высокая (810,6 с | High (810,6 s)
GQNDDRNSIIR	6,79	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (3,056 с) | High (3.056)	Высокая (875,4 с | High (875,4 s)
YGRDEISVF	3,93	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Средняя (0,557 с) | Moderate (0.557)	Средняя (485,8 с | Moderate (485,8 s)
AGNPEDEFEQLR	3,54	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,666 с) | High (1.666)	Средняя (670,7 с | Moderate (670,7 s)
VVDDNGRNVFDGELR	3,82	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Средняя (0,257 с) | Moderate (0.257)	Высокая (776,3 с | High (776,3 s)
NPEDEFEQLR	3,54	Хорошая | Good	Отсутствует | Absent	Высокая (1,657 с) | High (1.657)	Высокая (860,5 с | High (860,5 s)

По результатам физико-химического анализа выявлена средняя изоэлектрическая точка: для пептидов бромелаина – 5,63, для пептидов папаина – 5,34. Все пептидные последовательности обладали хорошей растворимостью. Анализ с использованием базы данных ToxinPred не выявил токсичности ни у одного из пептидов.

Модель HLP (Half-Life Prediction) основана на экспериментальных данных о периодах полураспада множества пептидов, определенных *in vivo* в кишечнике мышей. Веб-сервер HLP может использоваться для *in silico* дизайна пептидов, пригодных для перорального введения [7]. Согласно результатам прогноза, средний период полураспада пептидов бромелаинового гидролизата в кишечнике составил 1,2 с, а папаинового – 1,25 с. Наибольшую устойчивость к деградации (период полураспада 3,056 с) продемонстрировал пептид GQNDDRNSIIR из папаинового гидролизата. В работе Gorris H.H. и соавт., период полураспада пептидов определялся в условиях высокой концентрации кишечных протеаз, что обусловило измерение стабильности в секундах. Следовательно, пороговое значение > 1 с отражает не абсолютное время стабильности пептида *in vivo*, а его относительную устойчивость к протеолизу, которая в условиях кишечника может соответствовать периоду полураспада от нескольких минут до часов [33]. В среднем скорость полураспада на моделях *in vivo* и *in vitro* в 100–500 раз выше относительно кишечника человека, из-за его сложного многокомпонентного состава и низких концентраций ферментов [34]. Кроме того, нами установлено отсутствие строгой корреляции между длиной пептида и его стабильностью: как короткие (фрагменты № 1 и 9),

так и более длинные (фрагменты № 2 и 6) пептиды могут демонстрировать высокую устойчивость в кишечнике. Период полураспада наших пептидов на модели в крови в среднем составил 815,6 с или 13,6 мин. Данный показатель в 3 раза выше чем у инсулина (4–6 мин). Также полученные данные сравнимы с научной литературой, где стабильность пептидов животного происхождения в кишечнике составляла 2,68 с, а в крови 17,3 мин [32]. Результаты *in silico* скрининга подтверждают перспективность перорального использования большинства изученных пептидов в качестве биоактивных компонентов.

Далее методом молекулярного докинга была оценена аффинность (сродство) связывания пептидов с белками-мишенями. В таблице 4 представлен анализ молекулярного докинга пептидов с белками-мишенями.

Таблица 4.

Минимальная энергия связывания пептидов с белками-мишенями

Table 4.

Minimum binding energy of peptides with target proteins

Аминокислотная последовательность пептида | Peptide amino acid sequence	Минимальная энергия связывания, ккал / моль | Minimum binding energy, kcal/mol						
	АПФ | ACE	ДПП4 | DPP4	МПО | MPO	Ренин | Renin	Альфа-глюкозидаза | α-Glucosidase	GCP2	Неприлизин | Neprilysin
	1O8A	1J2E	1CXP	2V0Z	5NN3	2OOT	5JMY
	1	2	3	4	5	6	7
Бромелаин | Bromelain							
FDERIRE	-8,504	-7,995	-9,859	-7,480	–	-7,977	-8,091
AGNPEDEFEQLRR	-9,309	-6,862	–	-7,380	-6,310	-7,511	–
NPHEDFPQSRR	-8,922	-7,390	-11,120	–	–	-7,763	–
ARFDERIRE	-8,163	-7,223	-10,490	-7,728	–	-7,862	-8,379
EDLQIIAPSRIQEEERRH	-9,527	-5,891	–	–	–	-7,358	–
SNVNNQLDDNPRR	-9,520	-5,950	–	–	–	–	–
GNPEDEFEQLRR	-8,625	-7,261	–	-7,446	-6,535	-7,896	–
Папаин | Papain							
NRDDMRERIVR	-8,286	-6,407	–	–	–	–	–
FDERIR	-7,982	-7,870	-9,511	-7,599	–	-8,902	-8,157
AREPDTRVE	-7,991	-5,749	-10,120	–	-5,894	–	-9,333
GQNDDRNSIIR	-7,484	-6,649	–	–	–	–	–
YGRDEISVF	-9,569	-7,576	–	–	–	-9,702	–
AGNPEDEFEQLR	-9,485	-6,523	–	-6,943	-6,530	-9,286	–
VVDDNGRNVFDGELR	-9,200	-7,135	-9,401	–	–	-7,885	-9,150
NPEDEFEQLR	-8,818	-7,210	-9,614	-7,584	-6,172	-7,220	–

Энергия связывания играет ключевую роль во взаимодействиях лиганда с ферментом, поскольку меньшая энергия связывания отражает более сильную стабильность комплекса пептид-белок. Поэтому молекулярный докинг часто используется для быстрого скрининга ингибиторов, включая АПФ, ДПП4, ксантиноксидазу и тирозиназу и др. [10]. В данном исследовании все выбранные пептиды демонстрировали отрицательную энергию связывания ниже -5,0 ккал / моль, что свидетельствует о сильном и стабильном взаимодействии с белком-мишенью. В процессе молекулярного докинга нами были выявлены пептиды с наименьшей энергией взаимодействия для каждого белка-мишени: YGRDEISVF с АПФ (-9,569 ккал / моль); FDERIRE с ДПП4 (-7,995); NPHEDFPQSRR с МПО (-11,120); ARFDERIRE с ренином (-7,728); GNPEDEFEQLRR с альфа-глюкозидазой (-6,535); YGRDEISVF с GCP2 (-9,702); AREPDTRVE с неприлизином (-9,333). Также присутствовали пептиды, которые проявляли высокую способность взаимодействия с большинством ферментов – FDERIR, VVDDNGRNVFDGELR и ARFDERIRE. В таблице 5 представлены результаты образовавшихся связей у белков-мишеней. На рисунке 2 представлены модели визуализации молекулярного докинга.

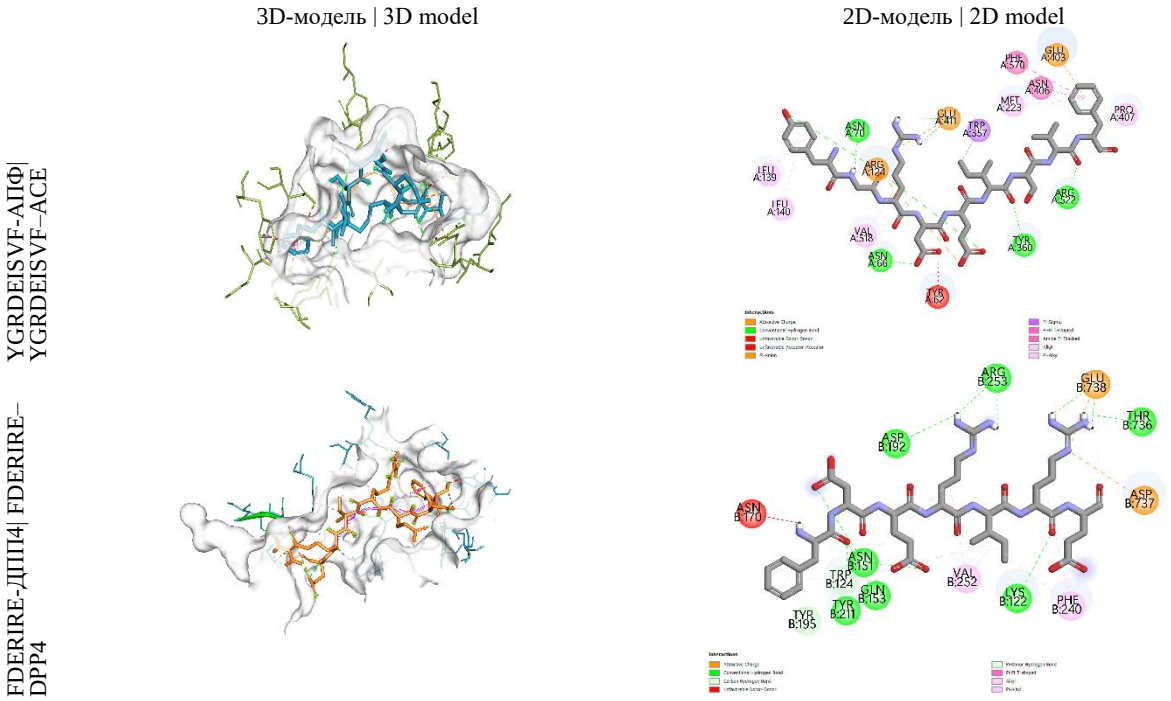
Таблица 5.

Взаимодействия пептидов с белками-мишенями по результатам молекулярного докинга

Table 5.

Interactions of peptides with target proteins based on molecular docking results

Лиганд-фермент | Ligand-enzyme	Аминокислотные остатки, участвующие в водородных связях (количество связей*) | Amino acid residues involved in hydrogen bonds (number of bonds*)	Аминокислотные остатки, участвующие в электростатических взаимодействиях (количество связей) | Amino acid residues involved in electrostatic interactions (number of interactions)	Аминокислотные остатки, участвующие в гидрофобных взаимодействиях (количество связей) | Amino acid residues involved in hydrophobic interactions (number of interactions)
YGRDEISVF с АПФ | YGRDEISVF with ACE	Asn66; Arg124; Tyr360; Arg522; Asn70; Glu411 (9)	Arg124; Glu411; Glu403 (3)	Trp357; Phe570; Asn406; Val518; Leu139; Leu140; Met223; Pro407 (9)
FDERIRE с ДПП4 | FDERIRE with DPP4	Lys122; Asn151; Gln153; Tyr211; Asp192; Arg253; Glu738; Thr736; Trp124; Tyr195 (14)	Asp737; Glu738 (2)	Trp124; Tyr195; Val252; Val252; Phe240 (9)
NPHEDFPQSRR с МПО | NPHEDFPQSRR with MPO	Arg31; Asn162; Arg323; Ile160; Trp32 (10)	Arg31; Arg323 (2)	Arg31; Ala28; Ile160; Ala35 (5)
ARFDERIRE с ренином | ARFDERIRE with renin	Ala272; Asp273; Asp158; Asp158; Gln277; Asn8; Ser159; Ser160; Gln160; Gly162 (18)	Asp11; Gln160 (3)	Ala272; Pro253; Tyr280 (4)
GNPEDEFEQLRR с альфа-глюкозидазой | GNPEDEFEQLRR with α-glucosidase	Ser864; Ser349; Glu721; Gln352; Tyr360; Arg608; Glu866; His717 (10)	Glu721; His717 (5)	Arg608; Ala719; Val718; Leu868; His584 (5)
YGRDEISVF с GCPII | YGRDEISVF with GCPII	Glu424; Asp387; Val208; Gln254; Tyr700; Arg463; Asn519; Arg534; Arg536; Thr538; Gly548; Asn698; Ser513; Lys539 (20)	Glu424; Asp387; Glu425; Asp453; Arg534; Arg536 (7)	Arg463; Glu424; Lys539; Arg511; Tyr552; Tyr700 (7)
AREPDTRVE с неприлизином | AREPDTRVE with neprilysin	Asp111; Glu98; Thr99; Tyr103; Ala405; Trp90; Asn94; Tyr103; Tyr103; Arg408; Val95; Asn71; Thr404 (19)	Asp111; Arg408 (2)	Val95; Val115; Ile108 (3)
* некоторые связи дублируются, их полное количество представлено в скобках * some bonds are repeated; the total number of bonds is shown in parentheses			



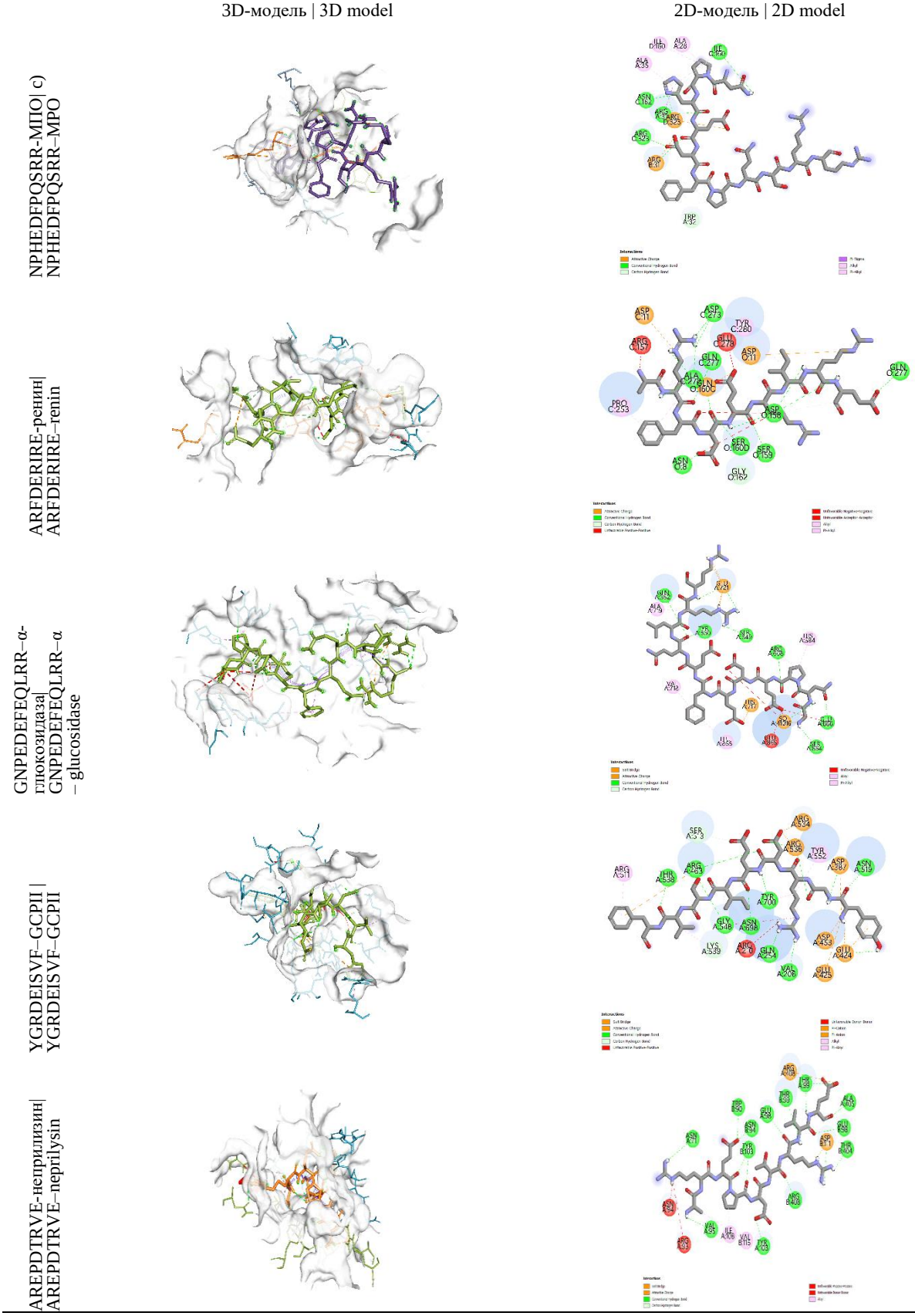


Рисунок 1. 3D- и 2D-модели молекулярного докинга отобранных пептидов с белками-мишенями

Figure 1. 3D and 2D molecular docking models of selected peptides with receptors

Основными участками активного центра АПФ являются карманы S1 (остатки Ala354, Glu384 и Tyr523), S2 (Gln281, Tyr520, Lys511, His513 и His353) и S1' (Glu162). Также Zn (II) играет важную роль в связывании АПФ с остатками His383, His387 и Glu411 через координационные связи, образуя более стабильный цинк-связывающий мотив HEXXH (тетраэдрическая структура) [11]. Кроме того, остаток Arg522 усиливает ингибирующую активность к АПФ благодаря взаимодействию с лигандом Cl на месте связывания лизиноприла и субстрата [12]. По результатам молекулярного докинга нашего пептида YGRDEISVF с АПФ были установлены контакты именно с ключевыми остатками Glu411 и Arg522. Водородный комплекс формировался из девяти классических водородных связей с длинами от 1,90 до 2,88 Å. Электростатическое связывание обеспечивалось тремя контактами на расстояниях от 2,93 до 4,77 Å. Также было выявлено девять гидрофобных взаимодействий.

В процессе молекулярной стыковки пептида FDERIRE с ДПП4 было образовано 14 водородных связей, 2 электростатических, 9 гидрофобных взаимодействий. Наиболее прочные связи (менее 2,1 Å) были выявлены при взаимодействии с GLN153, ARG6 и GLU738, что соответствует пространственной ориентации N-концевой и центральной частей пептида. Также были образованы пи-донорные водородные связи с остатками TRP124 и TYR195 фермента с ароматическими кольцами лиганда, что усиливает расположение фенилаланина лиганда в активном центре. Для молекулы ДПП4 в качестве участков активного центра выступает каталитическая триада, состоящая из Ser630, Asp708 и His740 [13]. Однако Juillerat-Jeanneret, L. и соавт. указываю на наличие двух активных карманов гидрофобный S1 – Tyr631, Val656, Trp659, Tyr662, Tyr666 и Val711 и заряженный S2 – Arg125, Glu205, Glu206, Phe357, Ser209 и Arg358 [14].

Молекулярный докинг пептида NPHEDFPQSRR с МПО выявил образование 10 водородных, 2 электростатических и 5 гидрофобных связей. Сайты связывания нашего пептида с ферментом МПО включали – Arg31, Asn162, Arg323, Ile160, Trp32, Ala28 и Ala35 с длинами от 2,00 до 5,40 Å. Также в структуре самого пептида выявлено 7 внутримолекулярных водородных связей (HIS3-ASN1, ASP5-HIS3, SER9-SER9, ARG11-ARG11, PRO2-ILE160, HIS3-ALA35 и HIS3-ILE160). Три основных аминокислотных остатка в сайтах связывания с активным центром являются Arg31, Arg323 и Lys505, что указывает на их наиболее доминирующие аминокислотные остатки, играющие важную роль во взаимодействии идентифицированного пептида с белком-мишенью. В научной литературе также описываются аминокислотные остатки Arg323, Cys153, Ile160, Lys505, Thr159, Trp32, Phe439, Pro34, которые также присутствуют в данном исследовании [15].

В процессе молекулярного докинга пептида ARFDERIRE с ренином было образовано 18 водородных, 3 электростатических и 4 гидрофобных связей. В активном центре ренина основными аминокислотами связывания являются Asp38 и Asp226 [16]. Также в литературе описываются карман S1 – Asp32 и Asp215, S2 – Ser222, Gly223 и Met289, кармане S3 с Gln13, Pro111 и Ser219 и карман S4, который включает Tyr220, Tyr270 и His287 [17]. Ключевые пары нашей стыковки включают множественные контакты ARG2 с ALA272 и ASP273, а также взаимодействия боковых цепей GLU5 и GLU9 с ASP158.

Ингибирующий эффект пептида GNPEDEFEQLRR с альфа-глюкозидазой был обусловлен образованием 10 водородных связей на расстоянии от 1,92 до 2,95 Å. Также было получено 5 электростатических и гидрофобных взаимодействий. Наиболее прочные контакты (<2,0 Å) зафиксированы для ASN2 с сульфат-ионом (SO41016) и GLU866 с ASN2. В научной литературе ингибирующий эффект пептидов α-глюкозидазы обусловлен образованием различных связей: His674, Asp518, Arg600, Asp616 и Asp282 [18].

Взаимодействие пептида YGRDEISVF с GCP2 выявило 20 водородных, 7 электростатических и 7 гидрофобных связей. Наиболее сильные связи наблюдались у N-концевого тирозина лиганда (TYR1) с карбоксильными группами глутаматов и аспарагинов фермента (GLU424, ASP387, GLU425, ASP453) на расстояниях от 2,20 до 4,84 Å. Для GCP2 основными карманами взаимодействия являются S1 с заряженными остатки Arg463, Arg534, Arg536 и S1' – Phe209, Arg210, Asn257, Glu424, Gly427, Leu428, Gly518, Lys699 и Tyr700 [19]. В нашем исследовании также присутствовали основные участки связывания лиганда с ферментом (Arg463, Arg534, Glu424 и Tyr700).

Пептид AREPDTRVE с неприлизином образовал 19 водородных связей, а также 2 электростатических и 3 гидрофобных взаимодействия. Наиболее значимым является солевой мостик между ARG7 лиганда и ASP111 фермента на расстоянии 2,36 Å, что указывает на высокую электростатическую связь центральной части пептида. Ключевые межмолекулярные пары включают прочные контакты TYR103 с остатками GLU3 и PRO4 лиганда.

Результаты молекулярного докинга выявили четкую закономерность: чем более отрицательное значение имеет энергия связывания лиганда с белком-мишенью, тем большее число аминокислотных остатков пептида вовлекается во взаимодействие с активным центром (ключевыми карманами) фермента. Следовательно, формирование более прочного и стабильного комплекса коррелирует с высокой ингибирующей активностью пептида. Таким образом, проведенное *in silico* исследование подтверждает потенциал пептидов конопляного белка в качестве биоактивных агентов.

Заключение

В ходе проведенного исследования комплексно охарактеризован пептидный профиль гидролизатов белка промышленной конопли, полученных с помощью растительных протеаз (бромелаина и папаина), и оценена их ингибирующая активность в отношении ключевых ферментов-мишеней. Выявлено, что идентифицированные пептиды способны эффективно связываться с активными центрами АПФ, ДПП-4, МПО, ренина, α-глюкозидазы, GCP2 и неприлизина. Результаты молекулярного моделирования подтвердили высокую стабильность образующихся комплексов (наиболее отрицательное значение энергии связывания достигало -11,120 ккал/моль) и продемонстрировали специфическое взаимодействие пептидов с каталитическими карманами ферментов. Скрининг *in silico* показал отсутствие токсичности пептидов, их хорошую растворимость, а также умеренную / высокую стабильность ряда последовательностей в условиях кишечной среды и крови. Совпадение идентифицированных последовательностей с данными, полученными другими исследователями, подтверждает высокую воспроизводимость ферментативного гидролиза белка конопли. Полученные результаты могут служить основой для химического синтеза наиболее перспективных пептидов и их последующей экспериментальной верификации *in vitro* и *in vivo*. Исследование подчеркивает высокий потенциал гидролизатов белка конопли для создания функциональных пищевых ингредиентов и терапевтических агентов с широким спектром биологического действия.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25–16–00178). Соглашение № 25–16–00178 подписано 29.05.2025.

Литература

1 Minkiewicz P., Iwaniak A., Darewicz M. BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: current opportunities // International Journal of Molecular Sciences. 2019. V. 20. № 23. P. 5978. doi: 10.3390/ijms20235978

2 Mengyuan Z., Chen C., Feng W. et al. Identification and molecular mechanism of novel α-glucosidase inhibitory peptides from the hydrolysate of hemp seed proteins: peptidomic analysis, molecular docking, and dynamics simulation // International Journal of Molecular Sciences. 2025. V. 26. № 5. P. 2222. doi: 10.3390/ijms26052222

3 Zhang Z., Ge J., Wei L. et al. Isolation and identification of novel hemp seed protein-derived pancreatic lipase inhibitory peptides // Food Bioscience. 2025. V. 63. P. 105834. doi: 10.1016/j.fbio.2025.105834

4 Montserrat-de la Paz S., Villanueva-Lazo A., Millan F. et al. Production and identification of immunomodulatory peptides in intestine cells obtained from hemp industrial by-products // Food Research International. 2023. V. 174. P. 113616. doi: 10.1016/j.foodres.2023.113616

5 Алексаночкин Д.И., Фоменко И.А., Детинкин И.А. и др. Оптимизация щелочной экстракции и изоэлектрического осаждения белка конопли для использования в пищевой промышленности // Техника и технология пищевых производств. 2026. Т. 56. № 2. С. 220–232. doi: 10.21603/2074-9414-2026-2-2633

6 Gupta S., Kapoor P., Chaudhary K. et al. In silico approach for predicting toxicity of peptides and proteins // PLoS ONE. 2013. V. 8. № 9. P. e73957. doi: 10.1371/journal.pone.0073957

7 Sharma A., Singla D., Rashid M., Raghava G.P.S. Designing of peptides with desired half-life in intestine-like environment // BMC Bioinformatics. 2014. V. 15. № 1. P. 282. doi: 10.1186/1471-2105-15-282

8 Gao J., Li T., Chen D. et al. Identification and molecular docking of antioxidant peptides from hemp seed protein hydrolysates // LWT. 2021. V. 147. P. 111453. doi: 10.1016/j.lwt.2021.111453

9 Cruz-Chamorro I., Santos-Sánchez G., Bollati C. et al. Hempseed (Cannabis sativa) peptides WVSPLAGRT and IGFLIIWV exert anti-inflammatory activity in the LPS-stimulated human hepatic cell line // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2022. V. 70. № 2. P. 577–583. doi: 10.1021/acs.jafc.1c07520

10 Li Y., Fan Y., Liu J. et al. Identification, characterization and in vitro activity of hypoglycemic peptides in whey hydrolysates from rubing cheese by-product // Food Research International. 2023. V. 164. P. 112382. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112382

11 Nong N.T.P., Sutopo C.C.Y., Hung W.T. et al. The molecular docking and inhibition kinetics of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from soft-shelled turtle yolk // Applied Sciences. 2022. V. 12. № 23. P. 12340. doi: 10.3390/app122312340

12 Liu C., Fang L., Min W. et al. Exploration of the molecular interactions between angiotensin-I-converting enzyme (ACE) and the inhibitory peptides derived from hazelnut (Corylus heterophylla Fisch.) // Food Chemistry. 2018. V. 245. P. 471–480. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.095

13 Thoma R., Löffler B., Stihle M. et al. Structural basis of proline-specific exopeptidase activity as observed in human dipeptidyl peptidase-IV // Structure. 2003. V. 11. № 8. P. 947–959. doi: 10.1016/S0969-2126(03)00152-7

14 Juillerat-Jeanneret L. Dipeptidyl peptidase IV and its inhibitors: therapeutics for type 2 diabetes and what else? // Journal of Medicinal Chemistry. 2014. V. 57. № 6. P. 2197–2212. doi: 10.1021/jm400658e

15 Luan J., Wang L., Yang J. et al. Identification, molecular docking, and protective effects on H2O2 induced HEK 293 cell oxidative damage of antioxidant peptides from Pacific saury (Cololabis saira) // Food & Function. 2023. V. 14. № 1. P. 160–170. doi: 10.1039/D2FO02910C

16 Yan Y., Zhou A., Carrell R.W., Read R.J. Structural basis for the specificity of renin-mediated angiotensinogen cleavage // Journal of Biological Chemistry. 2019. V. 294. № 7. P. 2353–2364. doi: 10.1074/jbc.RA118.006608

17 Li Y., Gu M., Shi F. et al. Identification of novel renin inhibitory peptides from tartary buckwheat albumin hydrolysates by molecular docking // Process Biochemistry. 2024. V. 138. P. 120–129. doi: 10.1016/j.procbio.2024.01.014

18 Lu H., Xie T., Wu Q. et al. Alpha-glucosidase inhibitory peptides: sources, preparations, identifications, and action mechanisms // Nutrients. 2023. V. 15. № 19. P. 4267. doi: 10.3390/nu15194267

19 Bařinka C., Rovenská M., Mlcochová P. et al. Structural insight into the pharmacophore pocket of human glutamate carboxypeptidase II // Journal of Medicinal Chemistry. 2007. V. 50. № 14. P. 3267–3273. doi: 10.1021/jm070133w

20 Sarkar A., Concilio S., Sessa L. et al. Advancements and novel approaches in modified AutoDock Vina algorithms for enhanced molecular docking // Results in Chemistry. 2024. V. 7. P. 101319. doi: 10.1016/j.rechem.2024.101319

21 Muhammed M.T., Aki-Yalcin E. Molecular docking: principles, advances, and its applications in drug discovery // Letters in Drug Design & Discovery. 2024. V. 21. № 3. P. 480–495.

22 Fan H., Liu H., Zhang Y. et al. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development // Journal of Future Foods. 2022. V. 2. № 2. P. 143–159. doi: 10.1016/j.jfutfo.2022.03.003

23 Sánchez A., Vázquez A. Bioactive peptides: a review // Food Quality and Safety. 2017. V. 1. № 1. P. 29–46. doi: 10.1093/fqsafe/fyx006

24 Sun L., Liu J., He Z., Du R. Plant-derived as alternatives to animal-derived bioactive peptides: a review of the preparation, bioactivities, structure–activity relationships, and applications in chronic diseases // Nutrients. 2024. V. 16. № 19. P. 3277. doi: 10.3390/nu16193277

25 Avilés-Gaxiola S., García-Aguiar I., Jiménez-Ortega L.A. et al. Bioactive plant peptides: physicochemical features, structure-function insights and mechanism of action // Molecules. 2025. V. 30. № 18. P. 3683. doi: 10.3390/molecules30183683

26 Pinzi L., Rastelli G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery // International Journal of Molecular Sciences. 2019. V. 20. № 18. P. 4331. doi: 10.3390/ijms20184331

27 Meng X.Y., Zhang H.X., Mezei M., Cui M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery // Current Computer-Aided Drug Design. 2011. V. 7. № 2. P. 146–157. doi: 10.2174/157340911795677602

28 Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: a review // Biophysical Reviews. 2017. V. 9. № 2. P. 91–102. doi: 10.1007/s12551-016-0247-1

29 Bařinka C., Rojas C., Slusher B., Pomper M. Glutamate carboxypeptidase II in diagnosis and treatment of neurologic disorders and prostate cancer // Current Medicinal Chemistry. 2012. V. 19. № 6. P. 856–870. doi: 10.2174/092986712799034888

30 Bayés-Genís A., Barallat J., Richards A.M. A test in context: neprilysin: function, inhibition, and biomarker // Journal of the American College of Cardiology. 2016. V. 68. № 6. P. 639–653. doi: 10.1016/j.jacc.2016.04.060

31 Mathur D., Singh S., Mehta A. et al. In silico approaches for predicting the half-life of natural and modified peptides in blood // PLoS ONE. 2018. V. 13. № 6. P. e0196829. doi: 10.1371/journal.pone.0196829

32 Gopinatth V., Mendez R.L., Ballinger E., Kwon J.Y. Therapeutic Potential of Tuna Backbone Peptide and Its Analogs: An In Vitro and In Silico Study // Molecules. 2021. V. 26. № 7. P. 2064. doi: 10.3390/molecules26072064

33 Gorris H.H., Bade S., Röckendorf N. et al. Rapid profiling of peptide stability in proteolytic environments // Analytical Chemistry. 2009. V. 81. № 4. P. 1580–1586. doi: 10.1021/ac802324f

34 Minekus M., Alminger M., Alvito P. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus // Food & Function. 2014. V. 5. № 6. P. 1113–1124. doi: 10.1039/c3fo60702j

References

1 Minkiewicz P., Iwaniak A., Darewicz M. BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: current opportunities. International Journal of Molecular Sciences. 2019. vol. 20. no. 23. article 5978. doi: 10.3390/ijms20235978.

2 Mengyuan Z., Chen C., Feng W. et al. Identification and molecular mechanism of novel α-glucosidase inhibitory peptides from the hydrolysate of hemp seed proteins: peptidomic analysis, molecular docking, and dynamics simulation. International Journal of Molecular Sciences. 2025. vol. 26. no. 5. article 2222. doi: 10.3390/ijms26052222.

3 Zhang Z., Ge J., Wei L. et al. Isolation and identification of novel hemp seed protein-derived pancreatic lipase inhibitory peptides. Food Bioscience. 2025. vol. 63. article 105834. doi: 10.1016/j.fbio.2025.105834.

4 Montserrat-de la Paz S., Villanueva-Lazo A., Millan F. et al. Production and identification of immunomodulatory peptides in intestine cells obtained from hemp industrial by-products. Food Research International. 2023. vol. 174. Article 113616. doi: 10.1016/j.foodres.2023.113616.

5 Aleksanochkin D.I., Fomenko I.A., Detinkin I.A. et al. Optimization of alkaline extraction and isoelectric precipitation of hemp protein for use in the food industry. Technique and Technology of Food Production. 2026. vol. 56. no. 2. pp. 220–232. doi: 10.21603/2074-9414-2026-2-2633 (in Russian).

6 Gupta S., Kapoor P., Chaudhary K. et al. In silico approach for predicting toxicity of peptides and proteins. PLoS ONE. 2013. vol. 8. no. 9. article e73957. doi: 10.1371/journal.pone.0073957.

7 Sharma A., Singla D., Rashid M., Raghava G.P.S. Designing of peptides with desired half-life in intestine-like environment. BMC Bioinformatics. 2014. vol. 15. no. 1. article 282. doi: 10.1186/1471-2105-15-282.

8 Gao J., Li T., Chen D. et al. Identification and molecular docking of antioxidant peptides from hemp seed protein hydrolysates. LWT. 2021. vol. 147. article 111453. doi: 10.1016/j.lwt.2021.111453.

9 Cruz-Chamorro I., Santos-Sánchez G., Bollati C. et al. Hempseed (Cannabis sativa) peptides WVSPLAGRT and IGFLIIWV exert anti-inflammatory activity in the LPS-stimulated human hepatic cell line. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2022. vol. 70. no. 2. pp. 577–583. doi: 10.1021/acs.jafc.1c07520.

10 Li Y., Fan Y., Liu J. et al. Identification, characterization and in vitro activity of hypoglycemic peptides in whey hydrolysates from rubing cheese by-product. Food Research International. 2023. vol. 164. article 112382. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112382.

11 Nong N.T.P., Sutopo C.C.Y., Hung W.T. et al. The molecular docking and inhibition kinetics of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from soft-shelled turtle yolk. Applied Sciences. 2022. vol. 12. no. 23. Article 12340. doi: 10.3390/app122312340.

12 Liu C., Fang L., Min W. et al. Exploration of the molecular interactions between angiotensin-I-converting enzyme (ACE) and the inhibitory peptides derived from hazelnut (Corylus heterophylla Fisch.). Food Chemistry. 2018. vol. 245. pp. 471–480. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.095.

13 Thoma R., Löffler B., Stihle M. et al. Structural basis of proline-specific exopeptidase activity as observed in human dipeptidyl peptidase-IV. Structure. 2003. vol. 11. no. 8. pp. 947–959. doi: 10.1016/S0969-2126(03)00152-7.

14 Juillerat-Jeanneret L. Dipeptidyl peptidase IV and its inhibitors: therapeutics for type 2 diabetes and what else? Journal of Medicinal Chemistry. 2014. vol. 57. no. 6. pp. 2197–2212. doi: 10.1021/jm400658e.

15 Luan J., Wang L., Yang J. et al. Identification, molecular docking, and protective effects on H2O2 induced HEK 293 cell oxidative damage of antioxidant peptides from Pacific saury (Cololabis saira). Food & Function. 2023. vol. 14. no. 1. pp. 160–170. doi: 10.1039/D2FO02910C.

16 Yan Y., Zhou A., Carrell R.W., Read R.J. Structural basis for the specificity of renin-mediated angiotensinogen cleavage. Journal of Biological Chemistry. 2019. vol. 294. no. 7. pp. 2353–2364. doi: 10.1074/jbc.RA118.006608.

17 Li Y., Gu M., Shi F. et al. Identification of novel renin inhibitory peptides from tartary buckwheat albumin hydrolysates by molecular docking. Process Biochemistry. 2024. vol. 138. pp. 120–129. doi: 10.1016/j.procbio.2024.01.014.

18 Lu H., Xie T., Wu Q. et al. Alpha-glucosidase inhibitory peptides: sources, preparations, identifications, and action mechanisms. Nutrients. 2023. vol. 15. no. 19. article 4267. doi: 10.3390/nu15194267.

19 Bařinka C., Rovenská M., Mlcochová P. et al. Structural insight into the pharmacophore pocket of human glutamate carboxypeptidase II. Journal of Medicinal Chemistry. 2007. vol. 50. no. 14. pp. 3267–3273. doi: 10.1021/jm070133w.

20 Sarkar A., Concilio S., Sessa L. et al. Advancements and novel approaches in modified AutoDock Vina algorithms for enhanced molecular docking. Results in Chemistry. 2024. vol. 7. article 101319. doi: 10.1016/j.rechem.2024.101319.

21 Muhammed M.T., Aki-Yalcin E. Molecular docking: principles, advances, and its applications in drug discovery. Letters in Drug Design & Discovery. 2024. vol. 21. no. 3. pp. 480–495.

22 Fan H., Liu H., Zhang Y. et al. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. Journal of Future Foods. 2022. vol. 2. no. 2. pp. 143–159. doi: 10.1016/j.jfutfo.2022.03.003.

23 Sánchez A., Vázquez A. Bioactive peptides: a review. Food Quality and Safety. 2017. vol. 1. no. 1. pp. 29–46. doi: 10.1093/fqsafe/fyx006.

24 Sun L., Liu J., He Z., Du R. Plant-derived as alternatives to animal-derived bioactive peptides: a review of the preparation, bioactivities, structure–activity relationships, and applications in chronic diseases. Nutrients. 2024. vol. 16. no. 19. article 3277. doi: 10.3390/nu16193277.

25 Avilés-Gaxiola S., García-Aguiar I., Jiménez-Ortega L.A. et al. Bioactive plant peptides: physicochemical features, structure-function insights and mechanism of action. Molecules. 2025. vol. 30. no. 18. article 3683. doi: 10.3390/molecules30183683.

26 Pinzi L., Rastelli G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. International Journal of Molecular Sciences. 2019. vol. 20. no. 18. article 4331. doi: 10.3390/ijms20184331.

27 Meng X.Y., Zhang H.X., Mezei M., Cui M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. Current Computer-Aided Drug Design. 2011. vol. 7. no. 2. pp. 146–157. doi: 10.2174/157340911795677602.

28 Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. Biophysical Reviews. 2017. vol. 9. no. 2. pp. 91–102. doi: 10.1007/s12551-016-0247-1.

29 Bařinka C., Rojas C., Slusher B., Pomper M. Glutamate carboxypeptidase II in diagnosis and treatment of neurologic disorders and prostate cancer. Current Medicinal Chemistry. 2012. vol. 19. no. 6. pp. 856–870. doi: 10.2174/092986712799034888.

30 Bayés-Genís A., Barallat J., Richards A.M. A test in context: neprilysin: function, inhibition, and biomarker. Journal of the American College of Cardiology. 2016. vol. 68. no. 6. pp. 639–653. doi: 10.1016/j.jacc.2016.04.060.

31 Mathur D., Singh S., Mehta A. et al. In silico approaches for predicting the half-life of natural and modified peptides in blood. PLoS ONE. 2018. vol. 13. no. 6. article e0196829. doi: 10.1371/journal.pone.0196829.

32 Gopinatth V., Mendez R.L., Ballinger E., Kwon J.Y. Therapeutic Potential of Tuna Backbone Peptide and Its Analogs: An In Vitro and In Silico Study. Molecules. 2021. vol. 26. no. 7. article 2064. doi: 10.3390/molecules26072064.

33 Gorris H.H., Bade S., Röckendorf N. et al. Rapid profiling of peptide stability in proteolytic environments. Analytical Chemistry. 2009. vol. 81. no. 4. pp. 1580–1586. doi: 10.1021/ac802324f.

34 Minekus M., Alminger M., Alvito P. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. Food & Function. 2014. vol. 5. no. 6. pp. 1113–1124. doi: 10.1039/c3fo60702j.

Сведения об авторах

Денис И. Алексаночкин Инженер-исследователь, аспирант, кафедра Биотехнологии и биоорганического синтеза, Российский биотехнологический университет, Волоколамское шоссе, д. 11 г. Москва, 125080, Россия, aleksanochkindi@list.ru
https://orcid.org/0009-0000-7677-6583

Игорь А. Фоменко к.т.н., доцент, кафедра Биотехнологии и биоорганического синтеза, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Волоколамское шоссе, д. 11 г. Москва, 125080, Россия, iv.fomenko@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-2478-1705

Наталья Г. Машенцева д.т.н., профессор, кафедра Биотехнологии и биоорганического синтеза, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Волоколамское шоссе, д. 11 г. Москва, 125080, Россия, natali-mng@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-9287-0585

Даниил И. Мухтаров бакалавр, студент, кафедра Биотехнологии и биоорганического синтеза, Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Волоколамское шоссе, д. 11 г. Москва, 125080, Россия, muhtarovdaniil87@gmail.com
https://orcid.org/0009-0002-1213-0729

Information about authors

Denis I. Aleksanochkin Research Engineer, Postgraduate Student, Department of Biotechnology and Bioorganic Synthesis, Russian Biotechnological University, Volokolamskoye Shosse 11, Moscow, 125080, Russian Federation, aleksanochkindi@list.ru
https://orcid.org/0009-0000-7677-6583

Igor A. Fomenko Cand. Sci. Associate Professor, department of biotechnology and bioorganic synthesis, Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoye Shosse, Moscow, 125080, Russian Federation, iv.fomenko@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-2478-1705

Natalia G. Mashentseva Cand. Sci. (Econ.), engineer, department of biotechnology and bioorganic synthesis, Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoye Shosse, Moscow, 125080, Russian Federation, natali-mng@ya.ru
https://orcid.org/0000-0002-9287-0585

Daniil I. Mukhtarov Undergraduate Student, department of biotechnology and bioorganic synthesis, Russian Biotechnological University, 11 Volokolamskoye Shosse, Moscow, 125080, Russian Federation, muhtarovdaniil87@gmail.com
https://orcid.org/0009-0002-1213-0729

Вклад авторов

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

Contribution

All authors are equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 29/06/2026	**После редакции** 18/07/2026	**Принята в печать** 20/08/2026
Received 29/06/2026	**Accepted in revised** 18/07/2026	**Accepted** 20/08/2026