

УДК 543.645.6

Исследование биологически активных пептидов, полученных из гидролизатов изолята белков нута и рапса

А. А. Мижева, И. А. Фоменко, И. М. Чернуха, Ф. В. Подобуев*

*Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Россия;
e-mail: fedorpod@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9551-2824>

Информация о статье Реферат

Поступила
в редакцию
28.05.2026;

получена
после доработки
24.06.2026;

принята
к публикации
29.06.2026

Ключевые слова:

пептиды,
гидролиз,
рапс,
нут,
ферменты,
биологическая
активность,
протеомика

Растительные белки являются перспективным источником биологически активных пептидов, обладающих широким спектром физиологического действия, что обуславливает актуальность их изучения для получения функциональных продуктов и фармацевтических препаратов. В работе представлены результаты ферментативного гидролиза изолятов белков нута и рапса с использованием коммерческих ферментных препаратов "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L", "Flavourzyme 1000 L", "Пепсин" и "Трипсин". Установлено, что наиболее интенсивная деградация обоих субстратов происходит в первые 60 минут протеолиза, при этом максимальная степень гидролиза наблюдается при использовании "Alcalase 2.4 L FG". Методом ВЭЖХ-МС/МС суммарно идентифицировано 56 635 пептидов в нуте и 48 780 последовательностей в рапсе. Из общего пула в зависимости от фермента было отобрано от 22 до 37 мажорных пептидов в нуте и от 24 до 60 последовательностей для рапса. Биоинформатический анализ показал, что доминирующими классами биологической активности являются ингибиторы АПФ и DPP-IV, были выявлены противоопухолевая, антиоксидантная и антибактериальная активности. С использованием программы "ЭкспТеоПеп" проведено экспериментальное сравнение сходности экспериментальных пептидных профилей с теоретическими *in silico* гидролизатами. Средний процент сходности составил 19,4 % для нута и 23,4 % для рапса. Выявлено 6 пептидов с процентом сходности более 80 %, причем один из них показал сходность 100 %. Оценка воспроизводимости пептидного состава на примере двух независимых гидролизатов рапса, полученных в идентичных условиях с применением "Alcalase 2.4 L FG", выявила сходность 82 % и полную идентичность 21 мажорной последовательности из 32, что подтверждает высокую воспроизводимость основного пептидного профиля. Полученные результаты будут использованы для последующего молекулярного докинга, химического синтеза отобранных пептидов и подтверждения их биологической активности на клеточных системах.

Для цитирования

Мижева А. А. и др. Исследование биологически активных пептидов, полученных из гидролизатов изолята белков нута и рапса. Вестник МГТУ. 2026. Т. 29, № 3. С. 335–346. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2026-29-3-335-346>.

Analysis of bioactive peptides derived from hydrolysates of chickpea and rapeseed protein isolates

Aislu A. Mizheva, Ivan A. Fomenko, Irina M. Chernukha, Fedor V. Podobuev*

*Russian University of Biotechnology (ROSBIOTECH), Moscow, Russia;
e-mail: fedorpod@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9551-2824>

Article info

Received
28.05.2026;

received
in revised form
24.06.2026;

accepted
29.06.2026

Key words:

peptides,
hydrolysis,
rapeseed,
chickpea,
enzymes,
biological activity,
proteomics

Abstract

Plant proteins are a promising source of bioactive peptides with a wide range of physiological effects, which makes their study relevant for functional foods and pharmaceuticals. This paper presents the results of enzymatic hydrolysis of chickpea and rapeseed protein isolates using commercial enzymes Alcalase 2.4 L FG, Neutrase 0.8 L, Flavourzyme 1000 L, Pepsin, and Trypsin. The most intensive degradation of both substrates occurs during the first 60 minutes of proteolysis, with the maximum degree of hydrolysis achieved with Alcalase 2.4 L FG. Using HPLC–MS/MS, total of 56,635 peptides have been identified in chickpea hydrolysates and 48,780 in rapeseed hydrolysates. Depending on the enzyme, 22 to 37 major peptides are selected from chickpea and 24 to 60 from rapeseed. Bioinformatic analysis has shown that the dominant classes of biological activity are ACE and DPP-IV inhibitors; anticancer, antioxidant, and antibacterial activities are detected. Using ExpTeoPep software, experimental peptide profiles have been compared with theoretical *in silico* hydrolysates. The average matching rate is 19.4 % for chickpea and 23.4 % for rapeseed. Six peptides show more than 80 % matching, one reaching 100 %. Reproducibility of the peptide composition is assessed using two independent rapeseed hydrolysates obtained under identical conditions with Alcalase 2.4 L FG; the matching rate was 82 %, with 21 out of 32 major sequences completely identical, confirming high reproducibility of the core peptide profile. The results will be used for subsequent molecular docking, chemical synthesis of selected peptides, and validation of their biological activity in cell-based systems.

For citation

Mizheva, A. A. et al. 2026. Analysis of bioactive peptides derived from hydrolysates of chickpea and rapeseed protein isolates. *Vestnik of MSTU*, 29(3), pp. 335–346. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2026-29-3-335-346>.

Введение

Биологически активные пептиды (БАП) представляют собой низкомолекулярные вещества, получаемые из животных или растительных белков путем гидролиза, они обладают гипогликемической, иммуномодулирующей, противовоспалительной (Fan et al., 2022), антиоксидантной, противомикробной и антигипертензивной активностью (Akbarian et al., 2022), могут улучшать память и повышать когнитивные способности (Katayama et al., 2021). Благодаря этим свойствам БАП рассматриваются в качестве функциональных пищевых добавок и средств для лечения и профилактики хронических заболеваний (Cruz-Casas et al., 2021).

Большинство биологически активных пептидов проявляют активность только после высвобождения из белков, поэтому наиболее распространенными и простыми методами их получения являются ферментативный гидролиз и микробная ферментация (Görgüç et al., 2020). Эффективность гидролиза и свойства получаемых пептидов зависят от типа фермента, параметров процесса и исходного сырья (Begum et al., 2023). Ферментативный гидролиз безопасен и управляем: изменение температуры, pH, времени, соотношения фермент/субстрат и использование специфических протеаз позволяет получать пептиды с требуемой активностью. Чаще всего для получения БАП используют ферменты "Пепсин", "Трипсин" и "Алкалаза" (Cruz-Casas et al., 2021), а также "Папаин" и "Бромелаин" (Purohit et al., 2024).

В последние десятилетия растительное сырье привлекает к себе внимание как перспективный источник биологически активных пептидов (Akbarian et al., 2022; Fan et al., 2022; Görgüç et al., 2020). Нут (*Cicer arietinum* L.) и рапс (*Brassica napus* L.) рассматриваются как перспективные субстраты для получения БАП.

Содержание белка в нуте варьируется от 16 до 27 % (Grasso et al., 2022), что позволяет рассматривать его в качестве богатого источника для получения БАП. Ферментативным гидролизом из него могут быть получены пептиды с антигипертензивной, антидиабетической, антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностями (Begum et al., 2023). Особый интерес представляет способность пептидов нута к ингибированию ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и дипептидилпептидазы IV (DPP-IV), что позволяет рассматривать их как потенциальные средства для профилактики и лечения гипертензии и сахарного диабета 2 типа.

Рапсовый жмых и шрот, остающийся после переработки семян и являющийся отходом сельского хозяйства, рассматривается как дешевый источник растительных нутриентов. Содержание белка в таком сырье достигает 30–35 % (Bompart et al., 2026). В ходе исследований в рапсе были выявлены пептиды, обладающие антигипертензивной (Duan et al., 2023) и гиполипидемической (Yang et al., 2023) активностями, благодаря чему они имеют потенциал в качестве средств профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Применение *in silico* методов совместно с эмпирическими исследованиями открывает новые возможности для эффективного скрининга БАП из растительного сырья (Villaró-Cos et al., 2023). Несмотря на значительный прогресс в исследовании биологически активных пептидов, данные о механизмах их действия *in vivo* остаются недостаточно изученными. Необходимы дальнейшие исследования биодоступности и безопасности, а также клинические испытания для подтверждения их терапевтического потенциала.

Научная новизна исследования заключалась в том, что впервые проводилось сопоставление экспериментально идентифицированных последовательностей с теоретическими *in silico* пептидами для оценки сходности расчетных и экспериментальных профилей.

Целью исследования являлось исследование пептидного профиля ферментативных гидролизатов изолятов белков нута и рапса, полученных с использованием коммерческих ферментных препаратов, а также прогнозирование биологической активности образующихся пептидов с помощью *in silico* методов в качестве инструмента предварительного скрининга.

Материалы и методы

Для проведения исследования изолят белка рапса получали в соответствии с патентом РФ № 2815553 (Способ получения..., 2023). Белковый изолят нута был получен согласно патенту РФ № 2803851 (Способ получения..., 2023). Ферментные препараты, использовавшиеся для проведения ферментативного гидролиза изолята белков, а также их основные характеристики представлены в табл. 1.

Гидролиз проводили в 5 % суспензии изолятов белков нута и рапса в течение 40–60 мин с использованием ферментных препаратов в дозировке 1,5 % от массы сухого вещества при температуре и pH, рекомендуемых производителями ФП.

Определение степени гидролиза проводили путем расчета отношения содержания аминного азота к содержанию общего азота в навеске. Аминный азот определяли методом формольного титрования в соответствии с ОФС.1.2.3.0022.15¹, общий азот измеряли по ГОСТ 13496.4-2019².

¹ ОФС.1.2.3.0022.15. Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования. М., 2015.

² ГОСТ 13496.4–2019. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. М., 2019.

Для идентификации пептидного состава полученных гидролизатов образцы предварительно обессоливали на микроколонках SDB-RPS StageTip. Обессоленные образцы в объеме 2 мкл загружали на предколону размером 50×0,1 мм, заполненную сорбентом Reprosil-Pur 200 C18-AQ с размером частиц 5 мкм (Dr. Maisch Matrix, Германия), в подвижной фазе, содержащей 98 % воды, 2 % ацетонитрила и 0,1 % ТФУ при скорости потока 4,2 мкл/мин. Обращенно-фазную хроматографию проводили с использованием системы Ultimate 3000 Nano LC System (Thermo Fisher Scientific, США), соединенной с масс-спектрометром Orbitrap Lumos Tribrid Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific, США). Перед анализом образцов и между ними для верификации воспроизводимости времени выхода пептидов с колонки и чувствительности масс-спектрометра вносили триптический гидролизат цитохрома С в количестве 100 фмоль. Хроматографическое разделение осуществляли с помощью двух растворителей: А (99,9 % воды и 0,1 % муравьиной кислоты) и Б (19,9 % воды, 0,1 % муравьиной кислоты и 80 % ацетонитрила).

Таблица 1. Перечень ферментных препаратов, используемых для ферментативного гидролиза изолята белков
Table 1. List of enzyme preparations used for enzymatic hydrolysis of protein isolates

Коммерческое название ФП	Наименование компании	рН действия	Температура действия, °С	Активность по ГОСТ 34430-2018 ³ , ед. ПС/г
"Alcalase 2.4 L FG"	Novonesis A/S	8,0	45	640 ± 32
"Neutrase 0.8 L"	Novonesis A/S	7,0	45	612 ± 30
"Flavourzyme 1000 L"	Novonesis A/S	7,0	50	607 ± 30
"Пепсин"	HiMedia Laboratories Private Limited	3,0	37	395 ± 20
"Трипсин"	HiMedia Laboratories Private Limited	7,5	37	242 ± 18

Полученные данные масс-спектрометрии обрабатывали с помощью программного обеспечения Peaks studio 11.0 (Bioinformatics Solutions Inc., Канада).

Для прогнозирования потенциальной биологической активности полученных пептидов использовали БД Peptide Ranker (Mooney *et al.*, 2012), позволяющие оценить вероятность пептидов проявлять биологическую активность, БД BIOPEP-UWM (Minkiewicz *et al.*, 2019) для предсказания антиоксидантной активности и ингибирования АНТ и DPP-IV, АНТpin (Kumar *et al.*, 2015) для оценки антигипертензивной активности, ToxinPred (Gupta *et al.*, 2013) для прогнозирования токсичности и AlgPreg2 (Sharma *et al.*, 2021) для аллергенности, AntiCP 2.0 (Agrawal *et al.*, 2021) для оценки противоопухолевой активности, AntiBP3 (Bajjiya *et al.*, 2024) для идентификации потенциальных антибактериальных пептидов, AntiTbPred (Usmani *et al.*, 2018) для поиска пептидов с противотуберкулезной активностью и AntiFP (Agrawal *et al.*, 2018) для противогрибковых пептидов. Все прогнозы носили предварительный характер и требуют дальнейшей экспериментальной проверки.

Сравнение экспериментальных и теоретических пептидных последовательностей проводили с использованием программы "ЭкспТеоПеп", выполняющей локальное выравнивание последовательностей по алгоритму Смита – Ватермана. Для каждого экспериментального пептида в отфильтрованной по источнику белка, наименованию белка и ферменту теоретической базе осуществлялся поиск наилучшего совпадения с учетом допустимого числа замен и гэпов. Рассчитывались процент идентичности, покрытие, число замен и гэпов, балл выравнивания. По пулу пептидов определялась общая сходимость (доля экспериментальных пептидов, имеющих соответствие) и средние метрики.

Результаты и обсуждение

Ферментные препараты "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L" и "Flavourzyme 1000 L" выбраны ввиду их высокой гидролитической активности, перспективности получения с их помощью новых биологически активных пептидов, широкой представленностью в аналогичных научных работах и высоким спросом на рынке ферментных препаратов.

Использование трипсина и пепсина обусловлено их ключевой ролью в пищеварении. Это дает возможность косвенно оценить эффективность гидролиза изучаемых белковых изолятов *in vivo*, охарактеризовать пептидный профиль, предсказать потенциальную биоактивность и сопоставить результаты с данными для других коммерческих ФП. Получение гидролизатов с выбранными ферментами осуществляли согласно условиям, представленным в табл. 2.

³ ГОСТ 34430-2018. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения протеолитической активности. М., 2018.

На основании динамики гидролиза наиболее эффективным ферментом оказался "Alcalase 2.4 L FG". При его использовании степень гидролиза нута и рапса составила 18,0 и 19,5 % соответственно. Наиболее интенсивно деструкция изолятов происходила в течение первых 60 мин, после чего реакция замедлялась, при этом рапс лучше подвергался гидролизу.

Таблица 2. Условия получения белковых гидролизатов нута и рапса
Table 2. Conditions for obtaining protein hydrolysates of chickpea and rapeseed

Наименование ФП	Дозировка ФП, %	pH	Температура, °C	Длительность, ч
Нут				
"Alcalase 2.4 L FG"	1,5	8,0	45	0,5–4
"Neutrase 0.8 L"	1,5	7,0	45	0,5–4
"Flavourzyme 1000 L"	1,5	7,0	45	0,5–4
"Пепсин"	1,5	3,0	37	0,5–4
"Трипсин"	1,5	7,5	37	0,5–4
Рапс				
"Alcalase 2.4 L FG"	1,5	8,0	45	0,5–4
"Neutrase 0.8 L"	1,5	7,0	45	0,5–4
"Flavourzyme 1000 L"	1,5	7,0	45	0,5–4
"Пепсин"	1,5	3,0	37	0,5–4
"Трипсин"	1,5	7,5	37	0,5–4

На рис. 1 представлены данные, характеризующие процесс ферментативного гидролиза изолятов белков нута и рапса с использованием выбранных коммерческих ферментных препаратов.

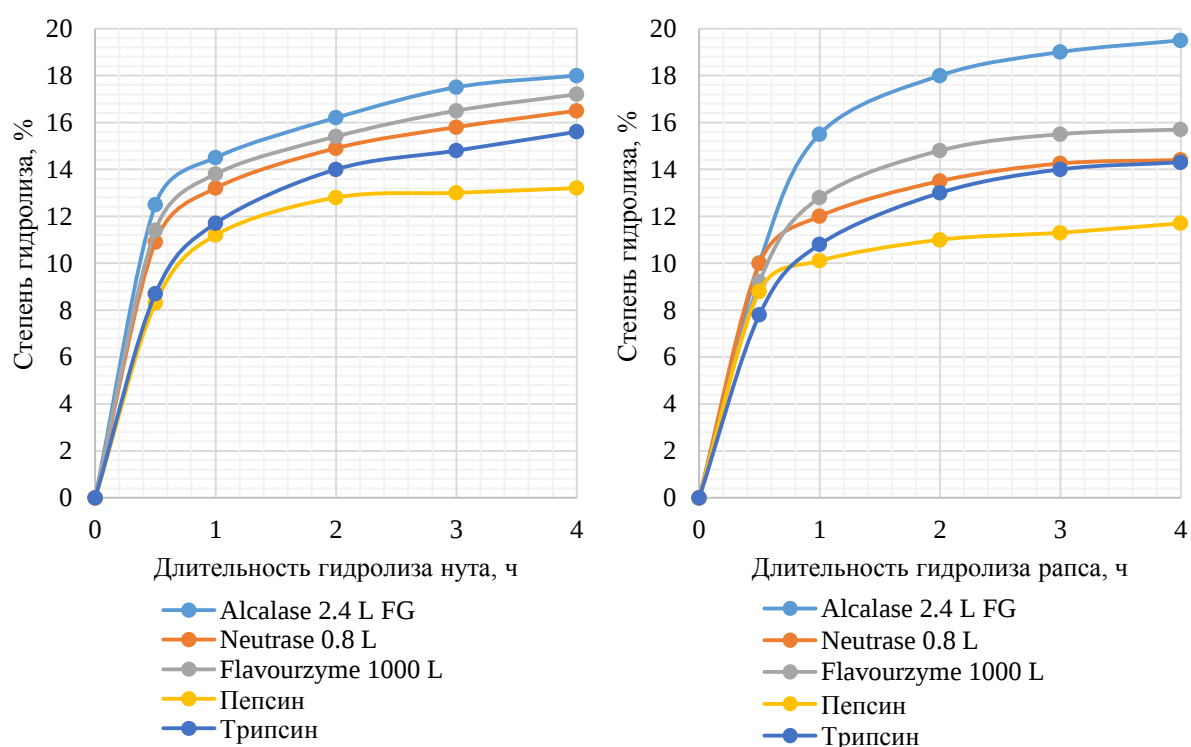
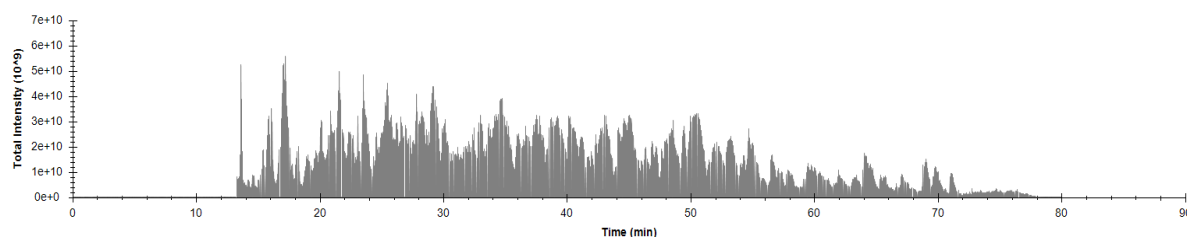


Рис. 1. Динамика ферментативной деструкции изолятов белков нута и рапса с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L", "Flavourzyme 1000 L", "Пепсин" и "Трипсин"

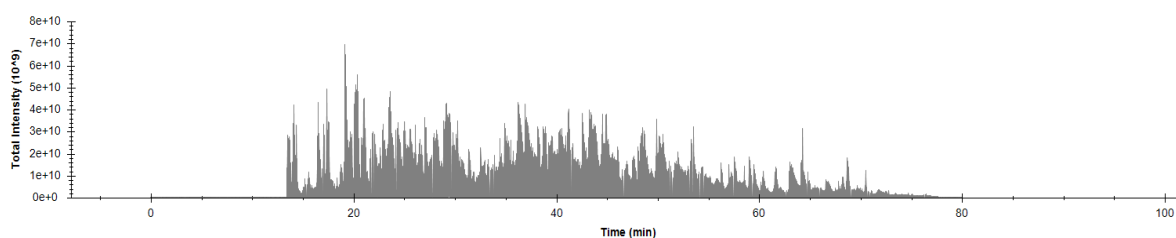
Fig. 1. Dynamics of enzymatic hydrolysis of chickpea and rapeseed protein isolates with Alcalase 2.4 L FG, Neutrase 0.8 L, Flavourzyme 1000 L, Pepsin, and Trypsin

Методом ВЭЖХ-МС/МС в гидролизатах нута и рапса суммарно было идентифицировано 56 635 и 48 780 последовательностей соответственно. В составе гидролизата белка нута было определено 13 123 пептида, полученных с использованием "Alcalase 2.4 L FG", 10 888 пептидов с ФП "Neutrase 0.8 L", 17 018

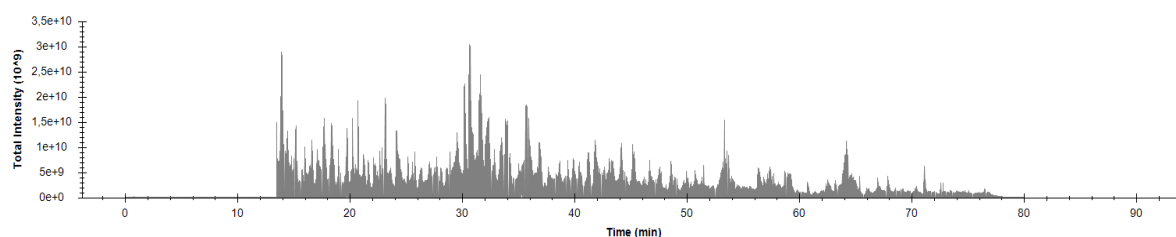
последовательностей с ФП "Flavourzyme 1000 L", 13236 пептидов с использованием ФП "Пепсин" и 2370 пептидов с ФП "Трипсин". Для гидролизата белка рапса наблюдалось следующее распределение: 8606 пептидов – "Alcalase 2.4 L FG", 12533 пептида – "Neutrase 0.8 L", 12625 последовательностей – "Flavourzyme 1000 L", 12355 пептидов – "Пепсин" и 2661 пептид – "Трипсин". Результаты масс-спектрометрии образцов гидролизатов белков нута и рапса представлены на рис. 2 и 3.



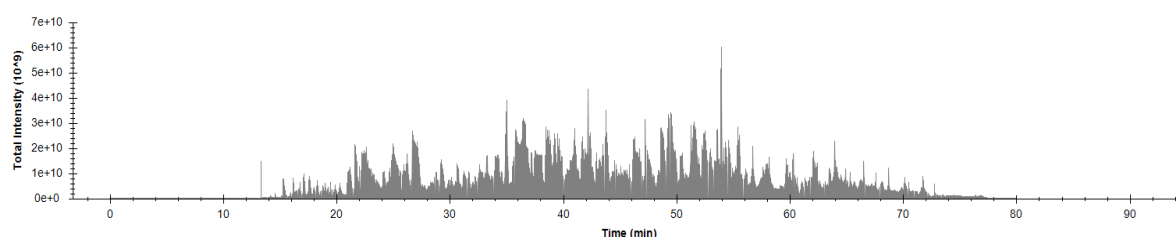
Гидролизат белка нута, полученный с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG"



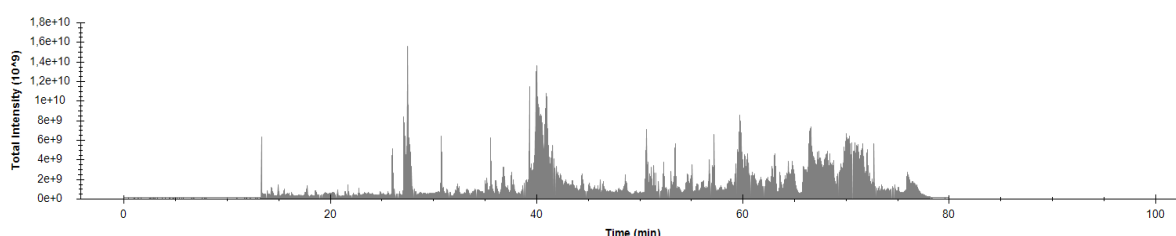
Гидролизат белка нута, полученный с использованием ФП "Neutrase 0.8 L"



Гидролизат белка нута, полученный с использованием ФП "Flavourzyme 1000 L"



Гидролизат белка нута, полученный с использованием ФП "Пепсин"

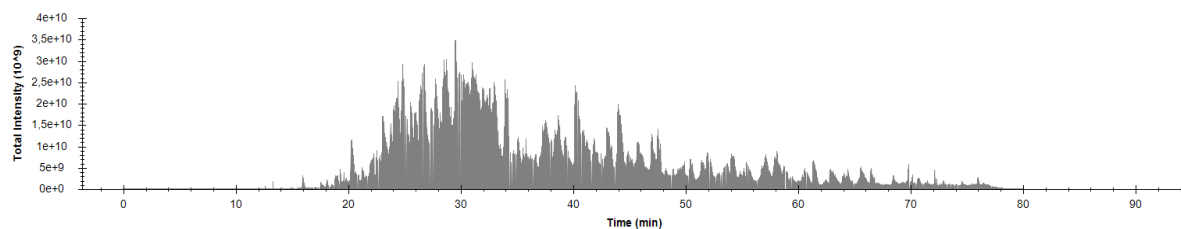


Гидролизат белка нута, полученный с использованием ФП "Трипсин"

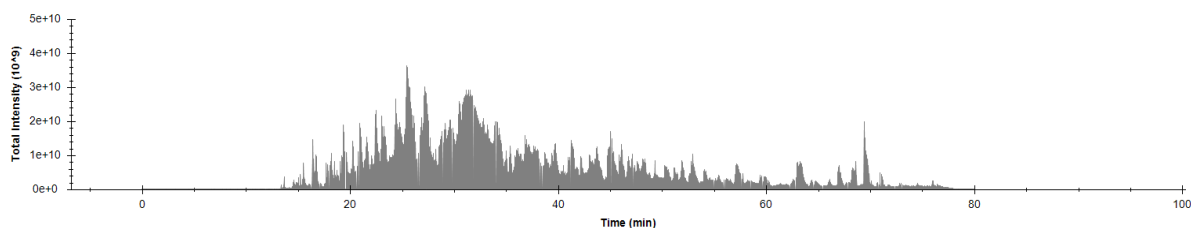
Рис. 2. Профили образцов гидролизатов белка нута, полученных с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L", "Flavourzyme 1000 L", "Пепсин" и "Трипсин"
Fig. 2. Profiles of chickpea protein hydrolysate samples obtained using enzyme preparations Alcalase 2.4 L FG, Neutrase 0.8 L, Flavourzyme 1000 L, Pepsin, and Trypsin

Полученные профили характеризовались высокой плотностью сигналов, равномерно распределенных по всей оси времени, что свидетельствовало о значительном разнообразии полученных пептидов. Для каждой последовательности было рассчитано процентное соотношение ее площади к суммарной площади

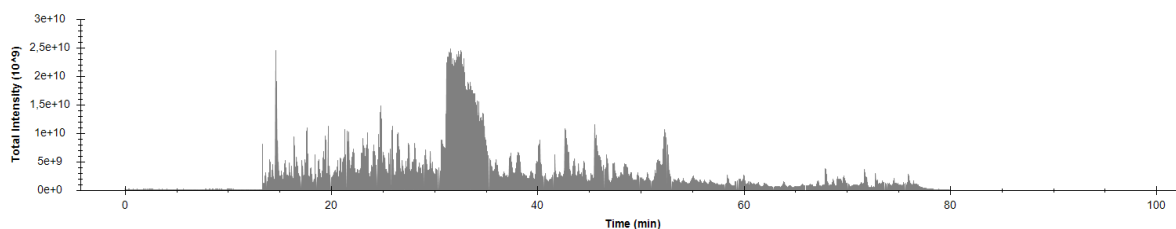
всех пептидов. К мажорным были отнесены пептиды, доля площади под пиком которых превышала условный порог в 0,5 % от общей площади всех пептидов образца.



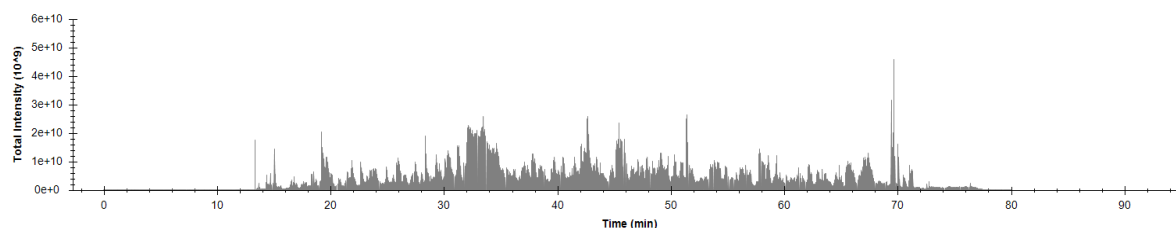
Гидролизат белка рапса, полученный с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG"



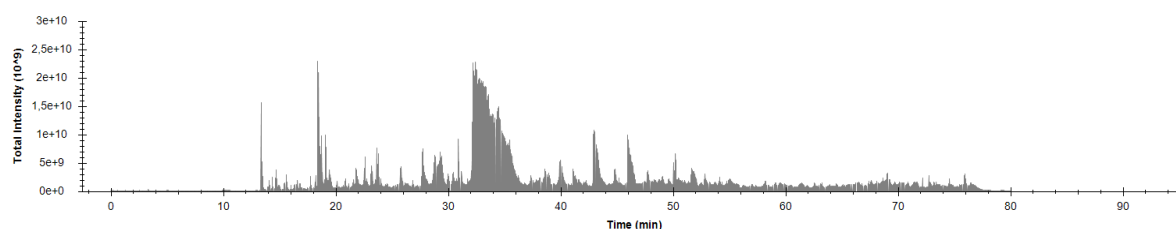
Гидролизат белка рапса, полученный с использованием ФП "Neutrase 0.8 L"



Гидролизат белка рапса, полученный с использованием ФП "Flavourzyme 1000 L"



Гидролизат белка рапса, полученный с использованием ФП "Пепсин"



Гидролизат белка рапса, полученный с использованием ФП "Трипсин"

Рис. 3. Профили образцов гидролизатов белка рапса, полученных с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L", "Flavourzyme 1000 L", "Пепсин" и "Трипсин"

Fig. 3. Profiles of rapeseed protein hydrolysate samples obtained using enzyme preparations Alcalase 2.4 L FG, Neutrase 0.8 L, Flavourzyme 1000 L, Pepsin, and Trypsin

Для гидролизата белка нута отобрано 36 ("Alcalase 2.4 L FG"), 37 ("Neutrase 0.8 L"), 27 ("Flavourzyme 1000 L"), 32 ("Пепсин") и 22 ("Трипсин") пептида, а также 34, 36, 24, 40, 31 последовательности из белка рапса в том же порядке ферментов. Прогноз потенциальной биологической активности проводился с использованием баз данных, указанных в разделе Материалы и методы. Полученные данные позволяют предварительно оценить целесообразность использования того или иного ФП в зависимости от субстрата и требуемого профиля биологической активности пептидов. Следовательно, выбор ФП должен определяться

не только степенью гидролиза, но и преобладанием в полученном гидролизате пептидов с заданной активностью. Результаты исследования представлены на рис. 4.

В исследованиях *Гаравири и др. (2025)*, *Gharaviri et al. (2026)* и *Garbacz et al. (2025)* доминирующими классами биологически активных пептидов являются ингибиторы АПФ и DPP-IV. Во всех работах наблюдалось присутствие пептидов с предсказанной противоопухолевой активностью. Пептиды с антибактериальной активностью присутствовали в нашем эксперименте в незначительном количестве, при этом в ходе гидролиза рапса ФП "Alcalase 2.4 L FG" было отмечено их полное отсутствие (рис. 4). В работе *Гаравири и др. (2025)* в ходе *in silico* гидролиза антибактериальная активность была предсказана только для одного пептида рапса, полученного папаином, а *Garbacz et al. (2025)* обнаружили единичную антибактериальную последовательность лишь в гидролизате, полученном с использованием фицина. Вероятнее всего, наличие данной активности в большей степени зависит от выбранного фермента, а не от источника белка.

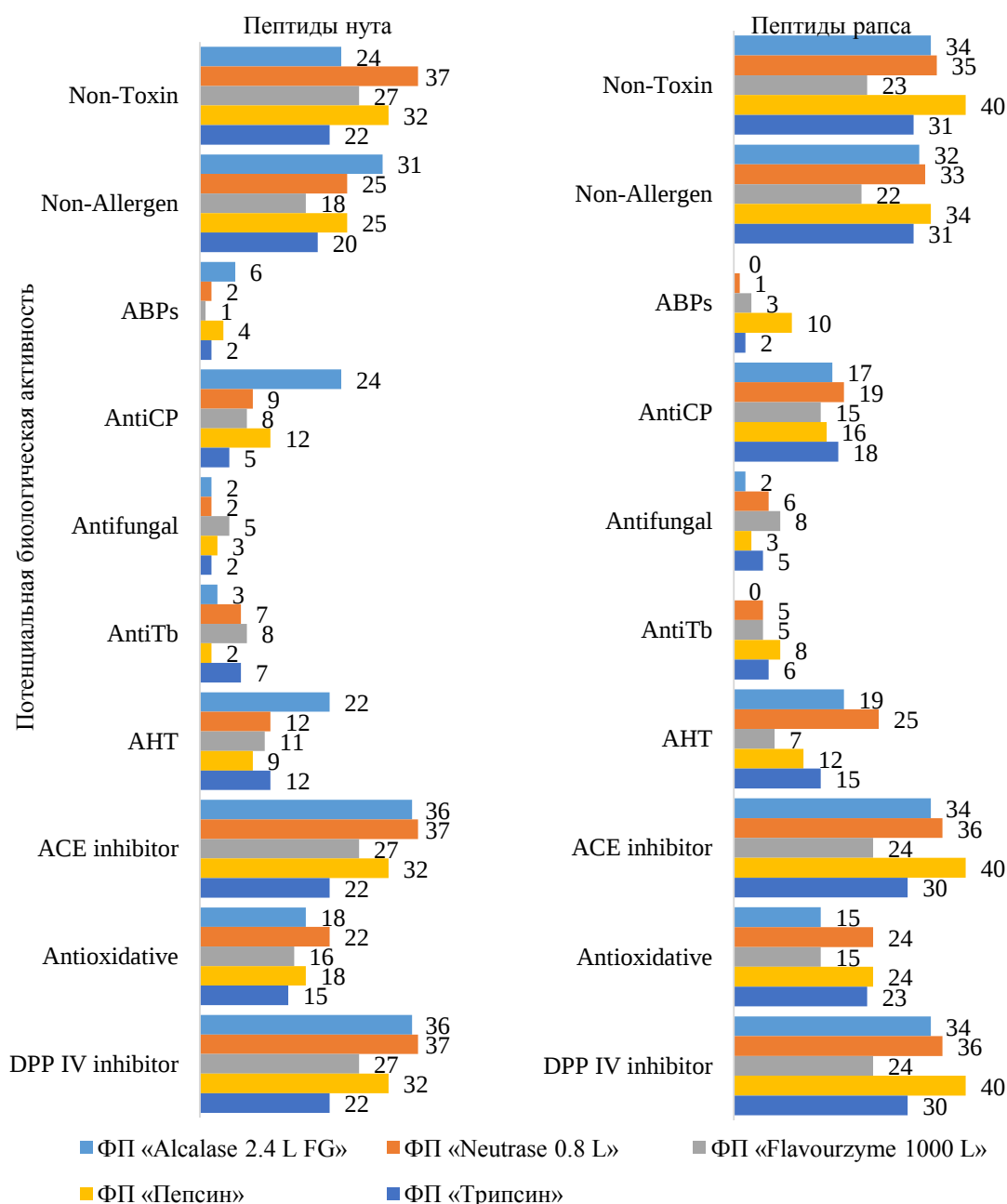


Рис. 4. Распределение пептидов белков нута и рапса, полученных с использованием ФП "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L", "Flavourzyme 1000 L", "Пепсин" и "Трипсин", в соответствии с их предсказанной биологической активностью
Fig. 4. Distribution of chickpea and rapeseed protein peptides obtained using enzyme preparations Alcalase 2.4 L FG, Neutrase 0.8 L, Flavourzyme 1000 L, Pepsin, and Trypsin according to their predicted biological activity

В результате экспериментального протеолиза, проводившегося с использованием тех же ферментов, суммарно было идентифицировано значительно больше пептидов. Это объясняется тем, что в эксперименте гидролизу подвергалась вся белковая фракция изолята, тогда как *in silico* протеолиз ограничивался референсными последовательностями запасных белков. Кроме того, ВЭЖХ-МС/МС выявляет пептиды, образующиеся при неспецифическом расщеплении, частичном протеолизе и неферментативных модификациях, что невозможно смоделировать в BIOPEP-UWM.

В программном обеспечении "ЭкспТеоПеп" было проведено сравнение пептидного профиля теоретических и экспериментальных последовательностей пептидов гидролизатов изолятов белков нута и рапса. На рис. 5 показан пример результата определения сходимости теоретических и экспериментальных данных.

[illegible]

Рис. 5. Пример работы программы "ЭкспТеоПеп" для сравнения образцов
Fig. 5. Example of the "ExpTеоPep" software operation for sample comparison

Средний процент сходимости составил 19,4 % для гидролизатов нута и 23,4 % для гидролизатов рапса (рис. 6). Наибольшее совпадение наблюдалось для образцов, гидролизованных ферментами "Alcalase 2.4 L FG", "Neutrase 0.8 L" и "Flavourzyme 1000 L" (рис. 7). Было выявлено 6 пептидов с процентом сходимости более 80 %, при этом сходимость одного из них составила 100 %, что указывает на высокую воспроизводимость пептидного профиля при использовании ферментов с неспецифическим действием.

Наблюдаемый процент сходимости обуславливается тем, что в ходе теоретического гидролиза выбранный фермент осуществляет полный гидролиз. В рамках экспериментальных работ степень ферментативного гидролиза составляла приблизительно 10 %. В реальных условиях, что подтверждается графиками динамики ферментативной деструкции, основной процесс осуществляется в первый час, и с увеличением длительности ферментативной обработки не наблюдается интенсивного прироста формального числа. По этой причине с технологической точки зрения не имеет смысла проводить процесс для достижения

степени гидролиза более 10 %. В практических условиях достичь степени гидролиза более 50 %, а также 100 % не представляется возможным.

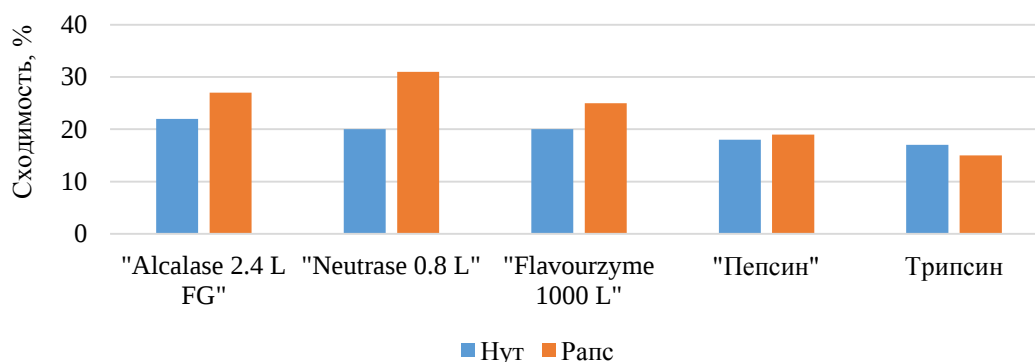


Рис. 6. Средний процент сходимости теоретических и экспериментальных данных гидролиза белков нута и рапса

Fig. 6. Average matching percentage of theoretical and experimental data from hydrolysis of chickpea and rapeseed proteins

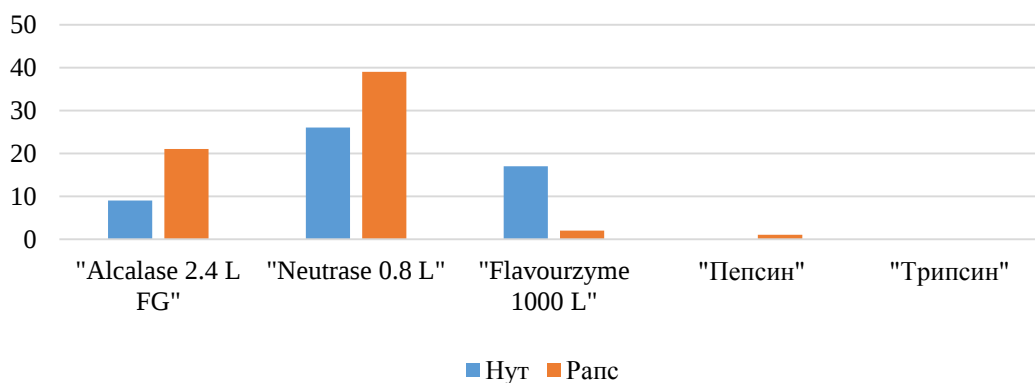


Рис. 7. Количество пептидов, процент сходимости которых равен или превышает 50 %

Fig. 7. Number of peptides with a matching percentage equal to or exceeding 50 %

Логика программы "ЭкспТеоПеп" подразумевает сравнение относительного количества аминокислот в найденном мотиве. Пептиды, полученные в ходе экспериментального гидролиза, характеризуются большей длиной последовательности, тогда как пептиды, полученные в рамках теоретического гидролиза, чаще всего значительно короче.

Для оценки воспроизводимости пептидного профиля в этой же программе были сопоставлены два независимых гидролизата белка рапса, полученных с использованием фермента "Alcalase 2.4 L FG": первый образец из настоящего исследования и второй, полученный в предыдущей работе при тех же условиях (5 % суспензия, дозировка 1,5 %, pH 8,0, 45 °C, 40 мин). В ходе этого гидролиза количество идентифицированных пептидов составило 6 667 против 8 606 последовательностей в настоящем исследовании, что примерно в 1,3 раза меньше. Сравнение проводили путем сопоставления мажорных пептидов, для этого в гидролизате из прошлой работы по аналогичному критерию отбора были определены 32 мажорные последовательности. Общий процент сходимости сравниваемых гидролизатов *in silico* составил 82 %. При этом 21 последовательность оказалась полностью идентичной.

На основе полученных данных можно сделать вывод, что проведенный в ходе данного исследования гидролиз не является специфичным, высокий процент сходимости говорит о том, что основной пептидный профиль при аналогичных условиях получения является постоянным.

Заключение

В результате проведенных исследований гидролиза изолятов белка нута и рапса пятью ферментными препаратами было установлено, что максимальная степень гидролиза для обоих субстратов была достигнута при использовании "Alcalase 2.4 L FG". Наиболее интенсивная деструкция обоих изолятов происходит в первые 60 мин, после чего скорость процесса заметно снижается.

Методом ВЭЖХ-МС/МС в гидролизатах нута и рапса суммарно было идентифицировано 56 635 и 48 780 последовательностей соответственно. Суммарное число идентифицированных в ходе эксперимента последовательностей значительно превышает теоретические прогнозы, что может объясняться учетом всех изоформ, посттрансляционных модификаций и неспецифического расщепления, не моделируемых в базах данных.

Результаты биоинформатического анализа показывают высокий потенциал нута и рапса в качестве ингибиторов АПФ и DPP-IV, а также свидетельствуют о наличии противоопухолевой, антиоксидантной и антибактериальной активностей. Сравнение полученных экспериментальных данных с результатами других исследований подтвердило высокую степень соответствия предсказываемой биологической активности полученных пептидов.

В программе "ЭкспТеоПеп" были сопоставлены экспериментальные данные с теоретическими *in silico* гидролизатами, а также оценена воспроизводимость пептидного состава на примере двух независимых гидролизатов рапса, полученных в идентичных условиях с использованием "Alcalase 2.4 L FG". Средний процент сходимости в первом случае составил 19,4 % для нута и 23,4 % для рапса, при этом было выявлено 6 пептидов со сходимостью более 80 %. Во втором случае сходимость составила 82 %, причем 21 последовательность из предыдущего гидролизата полностью совпала с мажорными последовательностями настоящего исследования. Полученные данные свидетельствуют о высокой воспроизводимости основного пептидного профиля. Продемонстрированная эффективность программы делает ее перспективным инструментом для сравнения и отбора последовательностей.

Дальнейшие исследования будут направлены на проведение молекулярного докинга и отбора перспективных последовательностей с заданной биологической активностью для проведения химического синтеза пептидов и подтверждения их биологической активности на клеточных системах.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00178).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

References

- Agrawal, P., Bhagat, D., Mahalwal, M., Sharma, N. et al. 2021. AntiCP 2.0: An updated model for predicting anticancer peptides. *Briefings in Bioinformatics*, 22(3). Article number: bbaa153. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa153>.
- Agrawal, P., Bhalla, S., Chaudhary, K., Kumar, R. et al. 2018. *In silico* approach for prediction of antifungal peptides. *Frontiers in Microbiology*, 9. Article number: 323. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00323>.
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., Uversky, V. N. 2022. Bioactive peptides: Synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). Article number: 1445. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>.
- Bajiya, N., Choudhury, S., Dhall, A., Raghava, G. P. S. 2024. AntiBP3: A method for predicting antibacterial peptides against gram-positive/negative/variable bacteria. *Antibiotics*, 13(2). Article number: 168. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020168>.
- Begum, N., Khan, Q. U., Liu, L. G., Li, W. et al. 2023. Nutritional composition, health benefits and bio-active compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Nutrition*, 10. Article number: 1218468. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1218468>.
- Bompart, C., Walrand, S., Gueugneau, M. 2026. Nutritional quality of proteins from major oilseeds – a review. *OCL*, 33. DOI: <https://doi.org/10.1051/ocl/2025036>.
- Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R. et al. 2021. Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3. Article number: 100047. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>.
- Degtyarev, I. A., Fomenko, I. A., Ivanova, L. A., Mizheva, A. A. et al. Russian University of Biotechnology. 2023. Method of obtaining protein isolate from rapeseed cake, Russian Federation, Pat. 2815553. = Способ получения изолята белка из жмыха рапса : пат. № 2815553 Рос. Федерация / И. А. Дегтярев, И. А. Фоменко, Л. А. Иванова, А. А. Мижева [и др.]. № 2023121367 ; заявл. 16.08.2023; опубл. 18.03.2024, Бюл. № 8. (In Russ.)
- Duan, X., Dong, Y., Zhang, M., Li, Z. et al. 2023. Identification and molecular interactions of novel ACE inhibitory peptides from rapeseed protein. *Food Chemistry*, 422. Article number: 136085. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136085>.

- Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S. et al. 2022. Review on plant-derived bioactive peptides: Biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2(2), pp. 143–159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.003>.
- Garbacz, K., Wawrzykowski, J., Czelej, M., Waśko, A. 2025. *In silico* proteomic profiling and bioactive peptide potential of rapeseed meal. *Foods*, 14(14). Article number: 2451. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods14142451>.
- Gharaviri, M., Aleksanochkin, D. I., Ahangaran, M., Fomenko, I. A. et al. 2026. Chickpea protein hydrolysates: Production, bioactivity, functional profile, and technological properties. *Foods and Raw Materials*, 14(1), pp. 198–213. DOI: <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2026-1-666>.
- Gharaviri, M., Degtyarev, I. A., Aleksanochkin, D. I., Fomenko, I. A. et al. 2025. Modeling of the process of enzymatic hydrolysis of plant proteins *in silico* and prediction of the biological activity of the resulting peptides. *Food Systems*, 8(4), pp. 472–478. = Гаравири М., Дегтярев И. А., Алексаночкин Д. И., Фоменко И. А. [и др.]. Моделирование процесса ферментативного гидролиза растительных белков *in silico* и прогнозирование биологической активности образующихся пептидов // Пищевые системы. 2025. Т. 8, № 4. С. 472–478. DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2025-8-4-472-478>. EDN: VKTDQR. (In Russ.)
- Görgüç, A., Gençdağ, E., Yılmaz, F. M. 2020. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review. *Food Research International*, 136. Article number: 109504. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109504>.
- Grasso, N., Lynch, N. L., Arendt, E. K., O'Mahony, J. A. 2022. Chickpea protein ingredients: A review of composition, functionality and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21, pp. 435–452. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12878>.
- Gupta, S., Kapoor, P., Chaudhary, K., Gautam, A. et al. 2013. *In silico* approach for predicting toxicity of peptides and proteins. *PLoS ONE*, 8(9). Article number: e73957. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073957>.
- Katayama, S., Corpuz, H. M., Nakamura, S. 2021. Potential of plant-derived peptides for the improvement of memory and cognitive function. *Peptides*, 142. Article number: 170571. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170571>.
- Kumar, R., Chaudhary, K., Chauhan, J. S., Nagpal, G. et al. 2015. An *in silico* platform for predicting, screening and designing of antihypertensive peptides. *Scientific Reports*, 5. Article number: 12512. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep12512>.
- Mashentseva, N. G., Fomenko, I. A., Afanasiev, D. A., Gharaviri, M. et al. Russian University of Biotechnology. 2023. Method of obtaining protein isolate from chickpeakes of desi or kabuli type, Russian Federation, Pat. 2803851. = Способ получения белкового изолята из бобов нута типа Дези или Кабули : пат. № 2803851 Рос. Федерация / Н. Г. Машенцева, И. А. Фоменко, Д. А. Афанасьев, М. Гаравири [и др.]. № 2023119096 ; заявл. 19.07.2023; опубл. 21.09.2023, Бюл № 27. (In Russ.)
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A., Darewicz, M. 2019. BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23). Article number: 5978. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>.
- Mooney, C., Haslam, N. J., Pollastri, G., Shields, D. C. 2012. Towards the improved discovery and design of functional peptides: Common features of diverse classes permit generalized prediction of bioactivity. *PLoS ONE*, 7(10). Article number: e45012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045012>.
- Purohit, K., Reddy, N., Sunna, A. 2024. Exploring the potential of bioactive peptides: From natural sources to therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3). Article number: 1391. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25031391>.
- Sharma, N., Patiyal, S., Dhall, A., Pande, A. et al. 2021. AlgPred 2.0: An improved method for predicting allergenic proteins and mapping of IgE epitopes. *Briefings in Bioinformatics*, 22(4). Article number: bbba294. DOI: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa294>.
- Usmani, S. S., Bhalla, S., Raghava, G. P. S. 2018. Prediction of antitubercular peptides from sequence information using ensemble classifier and hybrid features. *Frontiers in Pharmacology*, 9. Article number: 954. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00954>.
- Villaró-Cos, S., Lafarga, T. 2023. Online tools to support teaching and training activities in chemical engineering: Enzymatic proteolysis. *Frontiers in Education*, 8. Article number: 1290287. DOI: <https://doi.org/10.3389/educ.2023.1290287>.
- Yang, F., Huang, J., He, H., Ju, X. et al. 2023. Study on the hypolipidemic activity of rapeseed protein-derived peptides. *Food Chemistry*, 423. Article number: 136315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136315>.

Сведения об авторах

Мижева Айслу Альбертовна – Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, Россия, 125080;
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), аспирант;
e-mail: mizheva.aislu@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0847-0819>

Aislu A. Mizheva – 11 Volokolamsk Highway, Moscow, Russia, 125080;
State University ROSBIOTECH, PhD Student;
e-mail: mizheva.aislu@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0847-0819>

Фоменко Иван Андреевич – Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, Россия, 125080;
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), канд. техн. наук, доцент;
e-mail: iv.fomenko@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2478-1705>

Ivan A. Fomenko – 11 Volokolamsk Highway, Moscow, Russia, 125080;
State University ROSBIOTECH, Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor;
e-mail: iv.fomenko@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2478-1705>

Чернуха Ирина Михайловна – Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, Россия, 125080;
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), д-р техн. наук, профессор, академик РАН;
e-mail: imcher@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4298-0927>

Irina M. Chernukha – 11 Volokolamsk Highway, Moscow, Russia, 125080;
State University ROSBIOTECH, Dr Sci. (Engineering), Professor,
Member of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: imcher@inbox.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4298-0927>

Подобуев Федор Васильевич – Волоколамское шоссе, 11, г. Москва, Россия, 125080;
Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), бакалавр;
e-mail: fedorpod@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9551-2824>

Fedor V. Podobuev – 11 Volokolamsk Highway, Moscow, Russia, 125080;
State University ROSBIOTECH, Bachelor;
e-mail: fedorpod@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9551-2824>