

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДЫ СЕМЯН *Cannabis sativa*: СОСТАВ, СВОЙСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ (обзор)*

И.М. ЧЕРНУХА^{1, 2}, Н.Г. МАШЕНЦЕВА¹, Д.И. АЛЕКСАНОЧКИН¹ ✉,
И.А. ДЕТИНКИН¹, И.А. ФОМЕНКО¹

В последние годы интерес к биологически активным пептидам (БАП) промышленной конопли значительно возрос в связи с их потенциальным применением в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности (D. Montesano с соавт., 2020). Промышленная конопля (*Cannabis sativa* L.) — одна из самых перспективных масличных культур для получения белковых препаратов (Д.И. Алексаночкин с соавт., 2024). Преимущество конопли заключается в высоком содержании белка (от 20 до 30 % от массы семени), а также в сбалансированном аминокислотном профиле. Белки семян конопли представлены в основном глобулинами и альбуминами, среди которых преобладает структурный запасной белок эдестин, составляющий от 60 до 80 % общего содержания белков (A. Pihlanto с соавт., 2020). В геноме конопли были идентифицированы три типа эдестина: *CsEde1*, *CsEde2* и *CsEde3* (T. Docimo с соавт., 2014). Альбумины составляют около 25 % всех запасных белков семян конопли (A. Pihlanto с соавт., 2020). Они отличаются меньшим количеством дисульфидных связей и более гибкой структурой по сравнению с глобулинами. Представителем этой группы служит 2S-альбумин (Cs2S) с молекулярной массой ~ 16 кДа (X. Sun с соавт., 2021). Кроме того, в семенах конопли был обнаружен 7S-вицилиноподобный белок (Cs7S), относящийся к менее распространенным запасным белкам (E. Ponzoni с соавт., 2019; X. Sun с соавт., 2021). Конопляный белок рассматривается как ценный источник для получения БАП с широким спектром функциональных свойств. Наиболее изучены антиоксидантная, противовоспалительная, антигипертензивная и нейропротективная активность таких пептидов. Особое внимание уделено антигипертензивным пептидам конопли (WVYY, PSLPA, SVYT, IPAGV, IVY и LIY), ингибирующим ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) и ренин, которые демонстрируют эффективность как в исследованиях *in vitro*, так и в экспериментах *in vivo* на животных моделях гипертензии (A.T. Girgih с соавт., 2014; S.P. Samaei с соавт., 2021). Пептиды с DPP-IV-ингибирующей активностью (FNVDTE, EAQPST и VAMP) перспективны для лечения сахарного диабета 2-го типа. Антиоксидантные (H2 и H3), противовоспалительные (MAEKEGFVWSF и GLHLPSTNTPLVYIVK) и гипохолестеринемические (IGFLIIWV) пептиды способствуют снижению оксидативного стресса, воспаления и содержания липопротеинов низкой плотности (A. Thongtak с соавт., 2024; H. Chen с соавт., 2024; J. Gao с соавт., 2021; C. Bollati с соавт., 2022; S. Montserrat-de la Paz с соавт., 2023). Также известны пептиды, обладающие ингибирующей активностью в отношении α -глюкозидазы и ацетилхолинэстеразы (L. Cai с соавт., 2023; S.A. Malomo с соавт., 2016; S.A. Malomo с соавт., 2019). Тем самым БАП конопли способствуют профилактике таких заболеваний, как сахарный диабет, гиперхолестеринемия, болезнь Альцгеймера, почечная недостаточность, а также различных воспалительных процессов. В настоящей статье обобщены современные тенденции исследований в области получения биологически активных пептидов с использованием технологии ферментативной биотрансформации белка конопли, а также оценки их биологической активности. Продемонстрированы структурно-функциональные особенности пептидов, механизмы действия и перспективы практического использования гидролизатов конопли в различных отраслях промышленности и сельскохозяйственного производства.

Ключевые слова: промышленная конопля, белок семян конопли, белковые препараты, гидролизаты белка, пептиды, биологическая активность, ферментные препараты, протеолиз.

Тема биологически активных веществ продолжает оставаться в центре внимания исследователей в области нутрициологии и функционального питания (1). Особый интерес вызывают биоактивные пептиды — короткие цепочки аминокислот, обладающие положительным влиянием на организм человека (2). В последние годы значительное число исследований сосредоточено на получении таких пептидов из животного сырья, особенно из молочных, мясных и яичных продуктов, которые традиционно используются в питании человека (2, 3).

Пептиды и гидролизаты животного происхождения хорошо изучены

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

как по способам их получения, так и по функциональным свойствам. Разработаны эффективные методы обработки, позволяющие целенаправленно получать биоактивные фракции с заданными свойствами. Однако аналогичная тема в отношении растительного сырья остается недостаточно раскрытой (3). Несмотря на разнообразие потенциальных источников растительного белка, включая сою, горох, нут и другие культуры, исследования, посвященные получению и характеристике биоактивных пептидов из этих источников, находятся на начальной стадии. Это открывает широкие возможности для дальнейших научных разработок и создания новых функциональных пищевых ингредиентов на растительной основе.

Обработка протеолитическими ферментами (протеолиз) — наиболее перспективный способ получения биологически активных молекул из растительного белка. Такая обработка приводит к полному или частичному расщеплению пептидных связей в белке и позволяет получить сложную смесь олигопептидов, короткоцепочечных пептидов и свободных аминокислот, которую называют гидролизатом (4-6). Тип белков и ферментов влияет на процесс модификации и, следовательно, на размер, аминокислотную последовательность, усвояемость, функционально-технологические свойства и биологическую активность полученных гидролизатов (7, 8).

Понимание взаимодействия между различными типами ферментов и их субстратами необходимо для оптимизации процессов гидролиза, адаптированных к конкретным сферам применения в различных областях промышленности. Протеолиз позволяет модифицировать структуру белков, что приводит к изменению их функционально-технологических свойств, а также решению проблем, связанных с органолептическими особенностями и аллергенностью нативных белков (8). Исследование биологически активных пептидов — одно из самых перспективных направлений изучения протеолиза растительных белков (6, 9, 10). Сообщается, что эти вещества демонстрируют широкий спектр биологической активности благодаря способности всасываться в кишечнике и попадать в кровеносную систему в неизменном виде (10). На сегодняшний день в качестве источников растительного белка исследуют орехи, злаковые, бобовые, псевдозлаковые культуры (11). Перспективным источником пищевого белка служат масличные культуры: соя, рапс, подсолнечник, конопля, кунжут и другие (12, 13).

Конопля (*Cannabis sativa* L.) — важная масличная культура. Продукты, получаемые из этого растения, такие как масло, растительные напитки и мука, приобретают все большую популярность. Кроме того, промышленная конопля может применяться в текстильной промышленности, производстве биотоплива, косметики, бумаги, строительных материалов (14, 15). Наибольшее внимание к конопле связано с ее уникальными биологическими характеристиками — быстрым ростом, высокой устойчивостью к различным климатическим условиям, низкими затратами на возделывание и разнообразным применением (16). Мировой рынок промышленной конопли в 2021 году оценивался в 4,13 млрд долларов США, а в период с 2022 по 2030 годы прогнозируется его среднегодовой темп роста 16,8 % (15). К 2030 году в России ожидается увеличение посевных площадей промышленной конопли до 60 тыс. га (17). По данным РОССТАТА, посевные площади этой культуры в 2024 году выросли более чем на 30 % в сравнении с цифрами 2023 года (18). Мировой рынок промышленной конопли составляет более 25000 продуктов, которые представлены в пищевой, деревообрабатывающей и текстильной промышленности, автомобилестроении, сельском хозяйстве (19).

Конопля стала ценной кормовой культурой за счет высокого содержания белка и клетчатки в ее зеленой массе и жмыхе после переработки семян, что позволяет включать их в рационы сельскохозяйственных животных. Кроме того, конопля эффективно очищает и рекультивирует деградированные почвы благодаря развитой корневой системе, фитостабилизирующему действию и способности снижать содержание тяжелых металлов и пестицидов в грунте (16). Сообщается, что белок семян конопли обладает хорошо сбалансированным профилем аминокислот и высокой усвояемостью, что делает коноплю перспективным источником для производства белковых ингредиентов (20). На сегодняшний день активно изучаются и оптимизируются способы извлечения белка из семян конопли (21, 22), а также анализируются изоляты белка из семян конопли различных сортов (23).

На рисунке 1 представлен графический реферат изучения биологической активности пептидов белка конопли.

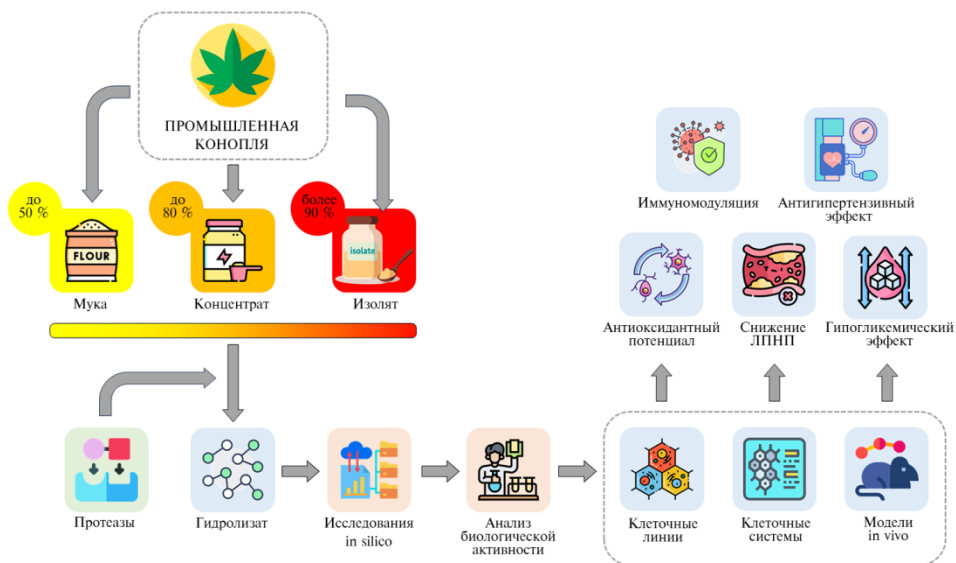


Рис. 1. Инфографика изучения гидролизатов белка конопли (*Cannabis sativa* L.). ЛПНП — липопротеины низкой плотности.

Интерес к производству белковых препаратов из семян конопли в совокупности с перспективностью изучения гидролизатов растительных белков делает актуальными исследования по применению протеолиза белка семян конопли и изучению свойств полученных пептидов и гидролизатов (24).

В настоящем обзоре рассмотрен белковый профиль семян конопли и исследования, посвященные протеолизу этих белков. Основной целью работы был анализ и систематизация научных данных о биологически активных пептидах и гидролизатах белка семян конопли, а также определение перспектив дальнейших исследований в этой области.

Белковый профиль семян конопли. Белки конопли представлены преимущественно глобулинами и альбуминами. Основным белком — эдестин, на долю которого приходится около 60–80 % всех белков конопли (25). Первоначально в геноме *C. sativa* были обнаружены гены эдестина двух типов — CsEde1 и CsEde2, общее сходство аминокислотных последовательностей между которыми составляет около 50 %. В незрелых семенах конопли количество CsEde1 примерно в 4,5 раза больше, чем CsEde2. Количественный состав аминокислот в этих типах эдестина схож, однако в CsEde2 содержится особенно много остатков метионина (превышение более

чем в 2,5 раза по сравнению с CsEde1) (26). Позднее идентифицировали третий тип эдестина семян конопли (CsEde3), богатый остатками серосодержащих аминокислот, экспрессия которых была близка к таковой CsEde1 (27).

Кристаллографические исследования демонстрируют, что молекула эдестина состоит из шести идентичных субъединиц, каждая из которых состоит из аминокислотной цепи, имеющей молекулярную массу ~ 34 кДа, и основной цепи с молекулярной массой ~ 18-20 кДа, которые связаны дисульфидной связью (28, 29). Молекулярная масса эдестина в форме гексамера — около 300 кДа (29).

Альбумины составляют примерно 25 % запасных белков семян конопли. Фракция альбуминов содержит мало белков с дисульфидными связями, имеет менее компактную структуру с большей гибкостью, чем фракция глобулина (25). В белках конопли *S. Odani* с соавт. (30) обнаружили 2S-альбумин (Cs2S) с высокой долей серосодержащих аминокислот, состоящий из 2 полипептидных цепей с 27 и 61 аминокислотными остатками. При исследовании генома конопли были обнаружены гены двух изоформ предшественников 2S-альбумина, аминокислотные последовательности которых отличались от выделенной *S. Odani* с соавторами, что указывает на посттрансляционную модификацию этого белка, которая присуща и другим 2S-альбуминам растений (27). Молекулярная масса 2S-альбумина семян конопли составляет около 16 кДа (31).

В конопле также обнаружен 7S-вицилиноподобный белок (Cs7S), экспрессия которого была самой низкой для запасующих белков конопляного семени (27, 31). Результаты прогнозирования третичной структуры показали, что наиболее похожим на Cs7S по структуре белком был вицилин из баклажана (*Solanum melongena*) (31). Прогнозируемая молекулярная масса, полученная при анализе гена этого белка, составляет 53,5-55,3 кДа. В электрофоретических профилях был обнаружен белок с молекулярной массой 47-48 кДа, вероятно, кодируемый геном *Cs7S* (27, 31).

На рисунке 2 представлены трехмерные структуры запасных белков семян конопли (по одной изоформе субъединицы эдестина каждого типа, 2S-альбумина и 7S-вицилиноподобного белка).

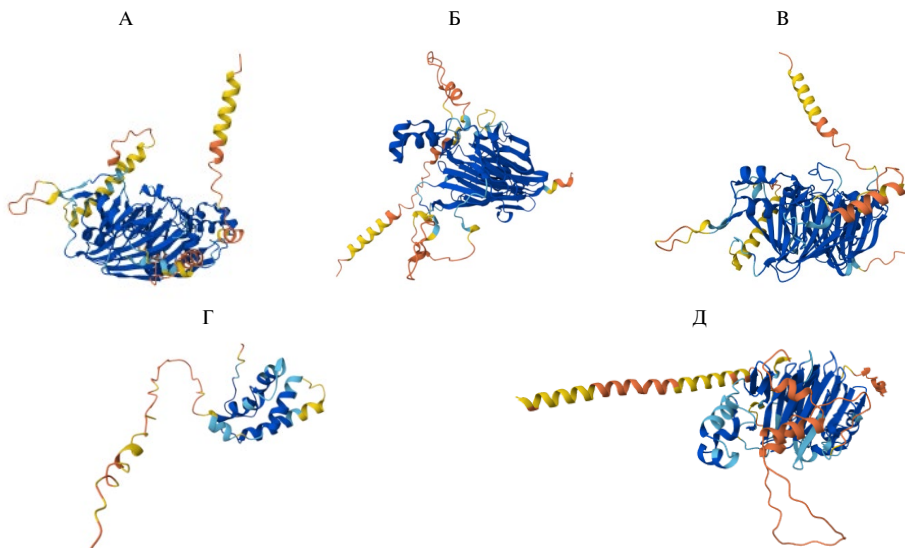


Рис. 2. Трехмерные структуры запасных белков семян конопли (*Cannabis sativa* L.): А — эдестин (ген *Ede1A*), Б — эдестин (ген *Ede2A*), В — эдестин (ген *Ede3A*), Г — 2S-альбумин (ген *Cs2S*-

l), D — 7S-вицилиноподобный белок семян конопли (ген Cs7S). Изображения получены из базы данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Для обозначения достоверности модели базы данных UniProt применяются цветовые маркеры: синий цвет соответствует очень высокой достоверности ($pLDDT > 90$), голубой — высокой достоверности ($90 > pLDDT > 70$), желтый — низкой достоверности ($70 > pLDDT > 50$), красный — очень низкой достоверности ($pLDDT < 50$). Шкала pLDDT оценивает точность модели в пределах от 0 до 100.

Исследование аминокислотной последовательности, вторичной, третичной и четвертичной структуры запасных белков семян конопли важно для понимания процесса получения биологически активных пептидов и гидролизатов на их основе. Особенно полезной эта информация может быть при прогнозировании активности пептидов методами биоинформатики.

Биологические активные пептиды конопли. *Пептиды с антигипертензивной активностью.* Ингибиторы ренина и ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) играют ключевую роль в терапии повышенного артериального давления (32). Гидролизаты белка семян конопли рассматриваются как потенциальный источник пептидов с антигипертензивной активностью. Сообщается, что антигипертензивными свойствами обладает гидролизат белка семян конопли, полученный при последовательном действии пепсина и панкреатина. *In vitro* он демонстрировал ингибирующую активность в отношении АПФ и ренина, причем различные пептидные фракции, вероятно, обладают синергетическим антигипертензивным эффектом. Об этом свидетельствовала меньшая ингибирующая активность в отношении АПФ и ренина у отдельных фракций полученного гидролизата. В эксперименте *in vivo* на крысах со спонтанной гипертензией пероральный прием гидролизата в дозе 200 мг/кг массы тела привел к значительному снижению артериального давления. Максимальный эффект наблюдался через 8 ч: давление снизилось на 30 мм рт. ст., что сравнимо с действием синтетического антигипертензивного препарата каптоприла (3 мг/кг массы тела) (33). Было установлено, что потребление гидролизатов приводит к долгосрочному снижению артериального давления, а также уменьшению активности АПФ и ренина в плазме крови у крыс. Таким образом, гидролизат белка конопли перспективен в качестве терапевтического средства для профилактики и лечения гипертензии (34).

Известны идентифицированные пептидные последовательности с АПФ-ингибирующей активностью, обнаруженные в гидролизатах белка семян конопли. Так, при гидролизе пепсином и панкреатином были получены ингибиторы АПФ — WVYY и PSLPA. В экспериментах *in vivo* после их перорального введения в количестве 30 мг/кг массы тела крысам со спонтанной гипертензией артериальное давление у животных быстро снижалось. Три других пептида (WYT, SVYT и IPAGV), кроме способности ингибировать АПФ, обладали ренин-ингибирующей активностью, что было обнаружено *in vitro*. Эти пептиды также демонстрировали антигипертензивные свойства в исследовании *in vivo*. Исключением был трипептид WYT, который слабо проявил свои антигипертензивные свойства в экспериментах на крысах (35). Пептиды WVYY, WYT, SVYT и IPAGV использовались для изучения кинетики ингибирования ферментов и молекулярного докинга. WVYY обладал наиболее эффективным АПФ-ингибирующим действием ($IC_{50} = 0,027$ мМ), а пептиды WYT и SVYT — высокой способностью ингибировать ренин (IC_{50} соответственно 0,054 мМ и 0,063 мМ). Результаты молекулярного докинга продемонстрировали, что высокая антигипертензивная активность пептидов WVYY и SVYT обусловлена большей степенью взаимодействия с АПФ и ренином на основе нековалентных (особенно

водородных) связей с остатками активного центра ферментов (36).

Есть исследование (37), в котором гидролиз белкового препарата, полученного из конопляного жмыха ферментным препаратом Alcalase («Novonesis», Дания), способствовал высвобождению ингибирующих АПФ пептидов. Причем фракции пептидов гидролизата 1–3 кДа и < 1 кДа демонстрировали наибольшую активность. В гидролизате идентифицированы 35 пептидов со способностью ингибировать АПФ, при этом наиболее мощный эффект демонстрировали IVY и LIY (37).

В таблице 1 представлены идентифицированные в гидролизатах белка конопли пептиды, их биологическая активность, ферментные препараты, с помощью которых были получены гидролизаты, а также белок, при гидролизе которого получались указанные пептиды.

1. Биологически активные пептиды, полученные из белков конопли (*Cannabis sativa* L.)

Исходный белок (ферментный препарат): пептид	Биологическая активность пептида	Ссылка
Эдестин (пепсин, «Sigma-Aldrich», США): WVYY PSLPA SVYT IPAGV WYT	Ингибитор АПФ Ингибитор АПФ Ингибитор АПФ и ренина Ингибитор АПФ и ренина Ингибитор АПФ и ренина	(35, 36)
Эдестин (Alcalase, «Novozymes», Дания): IVY LIY	Ингибитор АПФ Ингибитор АПФ	(37)
Эдестин (пепсин in silico) FNVDTE	DPP-IV-ингибирующая активность	(42)
Вицилиноподобный белок (пепсин in silico): EAQPST	DPP-IV-ингибирующая активность	(43)
Эдестин и вицилиноподобный белок (термолизин, изготовитель не указан): VAMP	DPP-IV-ингибирующая активность и модулирование микробиоты кишечника	(46)
Эдестин и IIS глобулин (Alcalase + Flavourzyme, «Novozymes», Дания): KNAIYTRH EERPGHF KNGMMAPH	Антиоксидантная активность Антиоксидантная активность Антиоксидантная активность	(47)
Эдестин (Protamex, «Novozymes», Дания): LDLVKPKQ YGRDEISV	Антиоксидантная активность Антиоксидантная активность	(49)
Белок PTST — изоформа белка XI (Alcalase, «Novozymes», Дания): NHAV HVRETALV	Антиоксидантная активность Антиоксидантная активность	(51)
STICHEL-подобный белок 3 (Alcalase, «Novozymes», Дания) LR PLMLP	Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы	(52)
Эдестин (щелочная протеаза, «Shanghai Macklin Biochemical Technology Co.», Китай): AGFLGVDEFR AGLFNSR LAFDR	Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы	(53)
GDT1-подобный белок 4 (Novozym 37071, «Novozymes», Дания): TGLGR SPVI FY FR	Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы Ингибитор α -глюкозидазы	(56)
Эдестин и IIS глобулин (Alcalase, «Novozymes, Дания) MAEKEGFVWSF	Противовоспалительная активность	(56)
Эдестин и IIS глобулин (Alcalase + Flavourzyme, «Novozymes», Дания) GLHLPSYNTNPQLVYIVK	Противовоспалительная активность	(48, 57)
Эдестин (пепсин, изготовитель не указан): WVSPLAGRT (H2)	Антиоксидантная и противовоспалительная активность	

Белок биогенеза цитохрома С (пепсин, изготовитель не указан):

IGFLPWV (H3)

Антиоксидантная и противовоспалительная активность, гипохолестеринемический эффект на линии клеток печени человека

Примечание. АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Было проведено двойное слепое рандомизированное перекрестное исследование потребления белка семян конопли и гидролизата белка семян конопли при гипертонии с участием 35 человек с артериальной гипертензией в возрасте 18–75 лет. Исследование проводили в течение 22 нед, оно состояло из трех этапов лечения по 6 нед с перерывами длительностью 2 нед. В периоды лечения участники получали ежедневно по 50 г казеина, 50 г изолята белка семян конопли (ИБ) или 45 г изолята белка семян конопли и 5 г гидролизата белка семян конопли (ГБ), полученного в результате последовательного гидролиза пепсином и панкреатином (38). Употребление ГБ привело к наибольшему снижению 24-часового систолического и диастолического артериального давления. Изолят и гидролизат снижали активность АПФ, концентрацию ренина и повышали концентрацию NO (медиатор расширения сосудов) в плазме крови участников по сравнению с казеином. Однако существенной разницы между ИБ и ГБ с точки зрения их влияния на биомаркеры артериального давления в плазме крови не наблюдалось (39). Исследование продемонстрировало, что включение гидролизатов белка семян конопли в рацион потенциально может способствовать лечению легкой гипертонии у взрослых людей.

Пептиды с DPP-IV-ингибирующей активностью. К 2030 году ожидается рост заболеваемости диабетом 2-го типа до 430 млн человек. Один из подходов к контролю этого заболевания — ингибирование фермента дипептидилпептидазы-IV. Показано, что белки, аминокислоты, пептиды и гидролизаты белков могут сыграть важную роль в решении этой задачи (40).

Впервые о DPP-IV-ингибирующей активности гидролизатов белка конопли сообщили A.B. Nongonierma с соавт. (41). Они обнаружили, что обработка белкового изолята конопли ферментными препаратами Protamex («Novozymes», Дания), Corolase L10 («AB Enzymes GmbH», Германия) и Promod 144MG («Biocatalysts Ltd.», Великобритания) позволила получить гидролизаты с IC₅₀ в диапазоне 1,84–5,71 мг/мл. При этом была проведена *in vitro* симуляция переваривания в желудочно-кишечном тракте исходного белкового препарата и его гидролизатов. Установлено, что степень ингибирования DPP-IV после переваривания существенно выше у гидролизатов, чем у исходного белка, что подтверждает полезность ферментативной обработки белка семян конопли для получения продуктов с повышенной биологической активностью (41).

In silico был проведен ферментативный гидролиз запасных белков семян конопли (альбумин, эдестин и вицилиноподобный белок) с использованием пепсина, трипсина и химотрипсина. В процессе анализа с применением различных методов биоинформатики были выделены пептиды FNVDTE и EAQPST — наиболее многообещающие кандидаты на роль ингибиторов DPP-IV (42).

Гидролизаты белка конопли, полученные под действием термолизина, могут оказывать существенное DPP-IV-ингибирующее воздействие. Методами молекулярного докинга и виртуального скрининга на основе машинного обучения в гидролизате был выявлен тетрапептид VAMP, который сильно ингибирует DPP-IV (IC₅₀ = 1,00 мкМ).

В исследованиях *in vivo* было выявлено, что VAMP улучшает метаболизм глюкозы у мышей с ожирением, повышая содержание активного глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1). Кроме того, этот пептид проявлял существенное модулирующее действие на микробиоту мышей, приводя к увеличению численности бактерий, регулирующих гомеостаз глюкозы (43).

Пептиды с антиоксидантной активностью. Пептиды растительных белков считаются натуральными и безопасными защитными средствами, способными уменьшать окислительные повреждения и связанные с ними заболевания в организме человека. Гидролизаты белка конопли активно изучаются с точки зрения их антиоксидантных свойств. Было продемонстрировано, что при гидролизе пепсином и панкреатином образуются гидролизаты с высокой антиоксидантной активностью, причем при ультрафильтрационном фракционировании наибольший эффект оказывают низкомолекулярные пептиды (< 1 кДа), что можно объяснить большим количеством в них гидрофобных аминокислот (44). В исследовании *in vivo* было оценено влияние этих гидролизатов на крыс со спонтанной гипертензией. Выявлено, что диета с добавлением гидролизатов белка конопли приводила к дозозависимому увеличению активности супероксиддисмутазы и каталазы, а также снижению общего содержания пероксидов (маркер степени перекисного окисления липидов) в плазме крови (45).

В другой работе также подтверждается антиоксидантная активность гидролизатов белка конопли, полученных под действием ферментных препаратов Alcalase и Flavourzyme. Гидролизаты, полученные при последовательной обработке обеими протеазами, показали способность активно поглощать радикалы DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил), тогда как наилучшую защиту β -каротина от окисления и способность восстанавливать железо продемонстрировали гидролизаты, полученные при 10-20-минутной обработке ферментным препаратом Alcalase. Были изучены пептидомы полученных гидролизатов и на основе молекулярных характеристик и прогнозов *in silico* идентифицированы пептиды KNAIYTPH, EERPGHF и KNGMMAPH, вероятно, вносящие значительный вклад в биологическую активность гидролизатов белка конопли (46).

Пептиды с аминокислотными последовательностями LDLVKPQ и YGRDEISV были идентифицированы в гидролизате белков конопли (ферментный препарат Protamex, «Novozymes», Дания). Для этих пептидов провели молекулярный докинг: предполагаемый антиоксидантный эффект обоих пептидов был связан с блокированием входа в активную полость миелопероксидазы. Сам гидролизат обладал высокой способностью к нейтрализации катион-радикалов ABTS ($52,3 \pm 0,1$ %) и гидроксильных радикалов ($50,9 \pm 1,3$ %), хелатирующей активностью Fe^{2+} ($52,9 \pm 0,9$ %). Гидролизат повышал жизнеспособность клеток HepG2 (с $55,7 \pm 1,2$ до $80,0 \pm 2,0$ %) и предотвращал образование активных форм кислорода, сопровождавшееся повышением активности антиоксидантных ферментов (47). Также сообщается, что степень поглощения радикалов DPPH уже упомянутыми пептидами WVYY и PSLPA составляет соответственно 67 и 58 %, подтверждая их антиоксидантные свойства (35). Два других пептида — WVSPLAGRT (H2) и IGFLIIWV (H3), полученные при гидролизе белка семян конопли пепсином, также демонстрируют высокую антиоксидантную активность. H2 поглощал радикал DPPH на 24,8-36,1 %, тогда как H3 снижал содержание радикала DPPH на 29,6-33,6 % в диапазоне концентраций 10-200 мкМ. Кроме того, оба пептида смогли уменьшить образование активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления липидов, оксида азота (NO) в клетках HepG2 (48). В гидролизатах изолята белка семян конопли, полу-

ченных под действием ферментного препарата Alcalase, были идентифицированы пептиды NHAV и HVRETALV. Для их выделения использовали методы адсорбции на макропористой смоле, гель-фильтрацию и обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). На клетках феохромоцитомы крыс линии PC12 было изучено защитное действие очищенных пептидов против апоптоза, индуцированного переизбытком водорода. Установлено, что пептиды в концентрации 10 мкг/мл оказывают защитный эффект, предотвращая гибель клеток и окислительный апоптоз (49).

В другом исследовании гидролиз ферментным препаратом Alcalase белка конопли позволил получить пептиды с высокой антиоксидантной активностью. Фракция пептидов 5-25 кДа обладала наибольшей способностью поглощать радикалы ABTS и DPPH, хелатировать Fe^{2+} и восстанавливать Fe^{3+} по сравнению с исходным белковым препаратом, нефракционированным гидролизатом и фракциями пептидов меньшей молекулярной массы. Таким образом, белок конопли — перспективный источник для получения пептидов с антиоксидантной активностью, которые могут быть применимы в разработке продуктов питания и фармацевтической промышленности (37).

Также обнаружена биологическая активность гидролизатов белков конопляного семени, полученных под действием пепсина, в частности антиоксидантные свойства (97,95 мМ ТЕ/г гидролизата в отношении радикалов ABTS). Эти результаты подчеркивают потенциальную роль пептидов из конопляного семени в диетических стратегиях, направленных на снижение воспаления при аутоиммунных заболеваниях (50).

Пептиды, ингибирующие α -глюкозидазу. Под действием ферментного препарата Alcalase был получен гидролизат с высокой активностью ингибирования α -глюкозидазы, в котором были выделены и идентифицированы два новых ингибирующих α -глюкозидазу пептида — LR и PLMLP. Полученные гидролизаты могут принести пользу при регулировании количества глюкозы в крови при сахарном диабете, что делает их перспективными в разработке новых противодиабетических пептидных нутрицевтиков (51). Сообщается, что при обработке щелочной протеазой («Shanghai Macklin Biochemical Technology Co., Ltd.», Китай) был получен гидролизат, из которого методами ультрафильтрации и хроматографии был выделен пептидный компонент с высокой антиоксидантной активностью и высокой активностью ингибирования α -глюкозидазы. Пептиды AGFLGVDEFR, AGLFNSR и LAFDR предположительно способствуют проявлению биологической активности гидролизата и могут служить сырьем для производства натуральных антиоксидантов и гипогликемических препаратов (52).

Из гидролизата неочищенных семян конопли, полученного под действием ферментного препарата Novozym 37071 («Novozymes», Дания), были выделены биологически активные пептиды с гипогликемической активностью (53). Идентифицированы шесть перспективных пептидов — TGLGR, SPVI, FY, FR, INPLL и IAF, продемонстрировавших высокое сродство к активному центру α -глюкозидазы. *In vitro* тестирование подтвердило, что TGLGR, SPVI, FY и FR обладают значительной ингибирующей активностью, причем FY показал наибольшую эффективность ингибирования при 10 мг/мл — 30,66 %. Эксперименты *in vivo* на крысах с диабетом выявили способность этих пептидов достоверно снижать содержание глюкозы в крови, улучшать липидный профиль и уменьшать инсулинорезистентность, что делает их перспективными для разработки новых антидиабетических препаратов и функциональных пищевых продуктов (53).

Пептиды с противовоспалительной активностью. Сообщается о двух гидролизатах, полученных из изолята конопляного белка (первый — 20 мин гидролиза ферментным препаратом Alcalase, второй — 60 мин гидролиза ферментным препаратом Alcalase и 15 мин гидролиза ферментным препаратом Flavourzyme), которые продемонстрировали противовоспалительные свойства в клетках микроглии мыши BV-2, заключающиеся в снижении транскрипции мРНК провоспалительных медиаторов TNF- α , IL-1 β и IL-6. Также гидролизаты вызывали повышение экспрессии гена противовоспалительного цитокина IL-10. Это исследование впервые показало, что гидролизаты белка конопли могут улучшать нейровоспалительные состояния (54).

Аналогичные гидролизаты в другом исследовании подтвердили свой противовоспалительный эффект на клетках моноцитов человека CD14+: они снижали содержание провоспалительных медиаторов TNF- α , IL-1 β и IL-6 и повышали количество IL-10 и IL-4. Эти гидролизаты, по-видимому, способны положительно влиять на восстановление тканей, модулируя поляризацию моноцитов человека в макрофаги M2 (55).

Противовоспалительные свойства вышеупомянутых гидролизатов были подтверждены и на клеточной линии Caco-2. При этом биоинформатический анализ пептидомов различных гидролизатов конопли позволил выявить более 30 аминокислотных последовательностей, потенциально отвечающих за противовоспалительный эффект гидролизатов. Олигопептиды MAEKEGFVWSF и GLHLPSTNTPQLVYIVK были предложены в качестве наиболее активных (56).

Уже упомянутые в настоящем обзоре пептиды белков конопли H2 и H3 в клетках HerG2 проявляют противовоспалительную активность посредством модуляции синтеза про- и противовоспалительных соединений (57).

Пептиды, предотвращающие прогрессирование мышечной атрофии. Мышечная атрофия — это синдром, связанный с потерей массы скелетных мышц и нарушением работы опорно-двигательного аппарата. Потребление белковых продуктов (концентратов, изолятов и гидролизатов) может способствовать синтезу мышечного белка и предотвращать мышечную атрофию (58).

Y. Hwangbo с соавт. (59) продемонстрировали, что гидролизаты белка конопли, полученные под действием ферментного препарата Alcalase, способны снижать проявления мышечной атрофии у мышей, индуцированной дексаметазоном, за счет регуляции механизмов деградации мышечных белков. Также они могут поддерживать здоровье скелетных мышц, способствуя восстановлению их массы и нормализации структуры мышечных волокон (59).

Дополнительно выявлено, что гидролизаты белков семян конопли стимулируют формирование миотрубок и усиливают экспрессию ключевых регуляторных факторов, отвечающих за синтез мышечных белков. Они обладают протективным эффектом в отношении миотрубок C2C12, предотвращая развитие дексаметазон-индуцированной атрофии за счет повышения экспрессии белков миогенной дифференцировки и тяжелых цепей миозина (60).

Пептиды, ингибирующие ацетилхолинэстеразу. Такие неизлечимые патологии, как деменция или болезнь Альцгеймера, связанные с потерей знаний и практических навыков, остаются глобальной проблемой мирового здравоохранения. Фермент ацетилхолинэстераза (АХЭ) играет важную роль в работе головного мозга, отвечая за функционирование нервной системы (61). Этот фермент катализирует гидролиз нейромедиатора ацетилхолина (АХ) на метаболиты холина и остатки уксусной кислоты. Сам АХ образуется

в процессе нейротрансмиссии из холина и молекулы ацетил-КоА под действием фермента холинацетилтрансферазы (62). Однако чрезмерное количество АХЭ и его высокая активность по отношению к ацетилхолину, вызванная старением, нездоровым питанием, стрессом и другими заболеваниями, может привести к деградации АХ, порождая недостаточную передачу сигналов в головной мозг, что приводит к ухудшению памяти. Для лечения деменции, включая болезнь Альцгеймера, применяется ряд препаратов, действие которых направлено на подавление активности фермента АХЭ, например мемантин. Однако их использование сопряжено с риском возникновения побочных эффектов, таких как головная боль, тошнота, снижение аппетита и другие нежелательные реакции.

По этой причине популярность набирают исследования по изучению пептидов, способных к ингибированию АХЭ (63). Так, S.A. Malomo с соавт. (64) оценивали влияние шести протеолитических ферментов (пепсин, папаин, термолизин, Flavourzyme, Alcalase и комбинация пепсина с панкреатином) на гидролиз изолятов белка семян конопли с последующим анализом их способности ингибировать АХЭ. Наивысшая ингибирующая активность была зарегистрирована для гидролизата, полученного с использованием 1 % пепсина, с IC_{50} 5,95 мкг/мл. Также высокие значения АХЭ-ингибирующей активности получены для гидролизатов 3 % пепсина (8,04 мкг/мл), 3 % папаина (8,97 мкг/мл) и 4 % Alcalase (11,62 мкг/мл). Масс-спектрометрический анализ подтвердил преобладание низкомолекулярных пептидов (< 1200 Да) во всех образцах. Однако обработка пепсином обеспечила наиболее широкое распределение молекулярных масс пептидов (244-1009 Да), тогда как папаин и Alcalase генерировали фракции с диапазонами соответственно 246-758 и 246-607 Да. Предполагается, что повышенная АХЭ-ингибирующая активность пепсиновых гидролизатов может быть обусловлена их более гетерогенной пептидной структурой, характеризующейся расширенным спектром молекулярных масс (64).

В другой работе гидролизат белка конопли, полученный под действием пепсина в концентрации 1 %, был дополнительно фракционирован методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выделена наиболее активная с точки зрения ингибирования АХЭ фракция, состоящая в основном из низкомолекулярных пептидов, содержащих менее 11 аминокислотных остатков. Большинство из них содержало по меньшей мере одну гидрофобную аминокислоту (65). Полученные данные указывают на ключевую роль протеолитической специфичности ферментов в модуляции биоактивных свойств полученных гидролизатов, а также способность гидролизатов конопли, обработанных 1 % пепсином, ингибировать АХЭ.

Пептиды, снижающие почечную недостаточность. Хроническая болезнь почек — это патологическое состояние, способное привести к развитию почечной недостаточности, сердечно-сосудистых патологий и летальному исходу. Это заболевание становится одной из основных причин смертности по всему миру, затрагивая около 600 млн человек. Оно характеризуется постепенным снижением функциональной активности почек (66). Болезнь связана с повреждением почек, что приводит к нарушению выведения мочевины и креатинина — продуктов метаболизма белка (67).

Почки у крыс, страдавших заболеванием и получавших диеты с соевым/конопляным белком, по сравнению с казеиновой диетой содержали меньшее количество жидкости, имели меньший объем кисты, менее выраженный фиброз, сниженное содержание хемокинового рецептора 2 (CCR2) при нормализованной концентрации креатинина в крови (68). Добавление

белка семян конопли в рацион крыс при поликистозе почек приводило к снижению патологической интенсивности почечной недостаточности и улучшению состояния при связанной с ней сердечно-сосудистой недостаточностью (69).

Гипохолестеринемические пептиды. Высокое содержание холестерина приводит к возникновению гиперхолестеринемии, связанной с нарушением липидного обмена, что становится основным патогенетическим фактором сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа (70).

В таблице 2 представлена информация о влиянии гидролизатов белка конопли на липопротеины низкой плотности (ЛПНП).

2. Гипохолестеринемические эффекты, оказываемые гидролизатами белка конопли (*Cannabis sativa* L.) на липопротеины низкой плотности (ЛПНП)

Ферментный препарат	Время гидролиза, ч	Температура, °С	pH	Эффект	Ссылка
Исследования на линиях клеток НерG2					
Пепсин	16	37	2	Активность HMGCoAR ингибировалась со значениями IC ₅₀ — 59 мкМ; увеличение АМФК на 171,2 %; увеличение поглощения ЛПНП на 226,9 %	(71)
Пепсин	16	37	2	Снижение HMGCoAR на 80,0 %; увеличение АМФК на 120,3 %; увеличение поглощения ЛПНП на 221,5 %	(73)
Исследование без использования линий клеток					
Пепсин	16	37	2	Снижение HMGCoAR на 80,0 %	(72)
Трипсин	16	37	8	Снижение HMGCoAR на 93,3 %	
Панкреатин	16	37	8	Снижение HMGCoAR на 11,7 %	

Использование гидролизатов белка конопли может способствовать снижению гиперхолестеринемии у больных. Пептид НЗ (IGFLIIWV), уже упомянутый в настоящем обзоре, представляет собой многофункциональный октапептид, полученный в результате гидролиза белков конопляного семени с использованием пепсина (48). При концентрации 59 мкМ он ингибирует фермент синтеза холестерина HMGCoA-редуктазу (HMGCoAR) *in vitro* с IC₅₀, что делает его более эффективным по сравнению с рядом других растительных пептидов, например LILPKHSDAD люпина, IAVPTGVA, IAVPGEVA и LPYP сои. Исследования на клетках печени НерG2 (основные линии клеток, участвующие в клиренсе холестерина ЛПНП в плазме крови) показали, что НЗ активирует АМФК (5'АМФ-активируемая протеинкиназа), и это приводит к фосфорилированию и последующему ингибированию HMGCoAR. Как следствие, повышается экспрессия рецепторов ЛПНП, усиливая их способность связывать и выводить «плохой» холестерин из крови. В результате пептид НЗ улучшает клиренс ЛПНП, не оказывая негативного побочного эффекта, характерного для лекарственных препаратов (71). Таким образом, пептид IGFLIIWV демонстрирует антигиперхолестеринемическое действие, включая модуляцию ключевых метаболических путей и белков, ответственных за регуляцию липидного профиля.

В аналогичных исследованиях G. Aiello с соавт. (72) установили, что использование гидролизата белка семян конопли при низких концентрациях (1 мг/мл) показало их способность снижать активность фермента HMGCoAR. Наиболее выраженный ингибирующий эффект наблюдался у гидролизатов, обработанных трипсином (93,3±9,3 %) и пепсином (80,0±4,0 %). Гидролизат, обработанный панкреатином, демонстрировал лишь умеренное ингибирование (11,7±6,4 %) при высокой концентрации (72). Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной антигиперхолестеринемической активности гидролизатов белка конопли за счет влияния на мишень

HMGCoAR синтеза холестерина.

Другие биологически активные пептиды и гидролизаты белка конопли. В гидролизатах белка конопли содержатся хелатирующие цинк пептиды. Так, были исследованы гидролизаты белка конопли, полученные при использовании шести протеаз, и проведен анализ образования комплексов полученных пептидов с ионами Zn^{2+} . Пептидная фракция, полученная с использованием ферментного препарата Flavourzyme, обладала самой высокой Zn^{2+} -связывающей активностью, а пептиды, полученные при гидролизе пепсином, демонстрировали максимальную растворимость (74). Таким образом, гидролизаты белков конопли могут стать перспективными носителями для повышения биодоступности цинка.

Белковый гидролизат конопли, полученный посредством гидролиза нейтральной протеазой и папаином, был исследован на онкостатическую активность в клетках рака печени человека Hep3В. Было показано, что повышение количества активных форм кислорода в клетках служит важнейшим механизмом, с помощью которого гидролизаты белков семян конопли оказывают онкостатическое действие. Установлено, что они модулируют активность сигнального пути Akt/GSK/ β -катенин. Полученные гидролизаты увеличивают апоптоз, снижают жизнеспособность и миграцию клеток рака печени человека Hep3В, не влияя при этом на нормальную линию клеток печени L02 (75).

Перспективы применения гидролизатов белка конопли и изучения механизмов их биологической активности. Белки семян конопли все чаще становятся объектом внимания как в научных исследованиях, так и в пищевой промышленности благодаря своей высокойнутрицевтической ценности, высокой усвояемости и функционально-технологическим свойствам (76). Они содержат все незаменимые аминокислоты в сбалансированном соотношении, что делает их полноценным источником растительного белка. Особое значение уделяется высокому содержанию аргинина и серосодержащих аминокислот, превышающему аналогичные показатели у традиционных растительных источников, таких как соя (77). Эти особенности позволяют использовать белки семян конопли в качестве функциональных ингредиентов в продуктах питания. Также белок конопли характеризуется низкой аллергенностью по сравнению с другими растительными белками, что делает его более безопасным для широкого круга потребителей (15).

На сегодняшний день белки семян конопли и их гидролизаты находят применение в различных категориях пищевых продуктов: хлебобулочные изделия, экструдированные продукты, напитки, напитки на растительной основе, детские смеси и т.д. (78). Однако наиболее перспективным направлением остается получение из этих белков биоактивных пептидов, обладающих антиоксидантной, иммуномодулирующей, противовоспалительной, антигипертензивной и рядом других биологически активных свойств (79).

Важнейшим направлением дальнейших исследований представляется изучение механизмов действия пептидов, полученных из белка семян конопли. Активность пептидов напрямую связана с их длиной, аминокислотной последовательностью и физико-химическими характеристиками. Высокую антиоксидантную активность демонстрируют короткие пептиды, в которых содержатся гидрофобные, ароматические (F, W, Y) или серосодержащие (C, M) аминокислоты (35, 48, 71). Кроме того, обогащение кислотами аминокислотами и их амидами (глутаминовой кислотой, глутамином, аспарагиновой кислотой и аспарагином) может частично объяснять антиоксидантный эффект в различных пептидных фракциях гидролизатов,

наблюдаемый из-за наличия избыточных электронов, которые могут быть отданы во время взаимодействия с свободными радикалами (35). Так, пептид H3, содержащий два ароматических остатка (W и F), характеризуется высокой антиоксидантной активностью, что подтверждает важность определенных структурных особенностей для проявления биологических свойств (48, 69). Способность пептидов ингибировать АПФ также может быть связана с наличием гидрофобных и ароматических аминокислот на их С-конце и определенных аминокислот (G, I, L, R, V) на N-конце (35). Например, сильное ингибирование АПФ пептидом SVYT может быть связано с наличием в его составе валина — аминокислоты с разветвленной цепью, обладающей высоким средством к активным субъединицам АПФ (33).

Гидрофобные аминокислоты вносят свой вклад и в ингибирующую активность α -глюкозидазы и DPP-IV (35, 50, 51, 54). Установлено, что на способность ингибировать α -глюкозидазу влияет наличие в пептидах остатков пролина и лейцина. Также на это свойство влияет молекулярная масса пептидов: более низкая молекулярная масса, вероятно, положительно коррелирует со способностью ингибировать α -глюкозидазу (51). Сообщается, что гидрофобные аминокислоты на N-конце и основные аминокислоты на С-конце пептидов способствуют их гипогликемической, а также противовоспалительной активности (52, 56). Для DPP-IV-ингибирующего пептида VAMP было установлено, что он имеет конкурентный механизм действия, вероятно, связанный с наличием пролина в аминокислотной последовательности (43).

Важной составляющей свойств пептидов ингибировать ферменты служит способность вступать с ними в прочные водородные взаимодействия. Для их изучения подходят *in silico* инструменты, такие как молекулярный докинг, с помощью которого было выдвинуто предположение, что подобный механизм ингибирования DPP-IV характерен для пептидов FNVDTE и EAQPST (42). Кроме того, молекулярный докинг подтверждает и вероятную важность гидрофобных взаимодействий при ингибировании фермента α -глюкозидазы (53). Сообщается, что пептиды, проявляющие высокую АХЭ-ингибирующую активность, содержат гидрофобные аминокислоты и обладают низкой молекулярной массой (65).

Несмотря на значительные достижения в изучении биологически активных пептидов, взаимосвязь структура—функция недостаточно изучена, что открывает широкие перспективы для дальнейших исследований. Особое внимание следует уделить наличию в пептидах гидрофобных аминокислот, влиянию молекулярной массы на биологическую активность, *in silico* исследованиям пептидов для лучшего понимания межмолекулярных взаимодействий. Разработка инновационных функциональных продуктов питания и биологически активных добавок на основе гидролизатов белка конопли представляет собой перспективное направление современной пищевой и сельскохозяйственной биотехнологии.

При этом ценность конопли как биоэкономической культуры выходит далеко за рамки ее пищевого и фармацевтического потенциала. Конопля, наряду с мискантусом, эффективно секвестрирует углерод благодаря мощной корневой системе, высокой биомассе и длительному вегетационному циклу, что способствует накоплению углерода в почве и снижению парниковых газов (80, 81). Конопля и мискантус — взаимодополняющие культуры, они улучшают физико-химические свойства почвы: повышают содержание органики, улучшают структуру, пористость, водоудержание и устойчивость к эрозии, усиливая продуктивность агроэкосистем и их климатическую устойчивость. Кроме того, эти культуры снижают биодоступность

и миграцию тяжелых металлов за счет секвестрации в почве, изменения pH и микробной активности, что уменьшает токсичность и повышает экологическую безопасность (82).

Итак, конопля обладает уникальным биохимическим потенциалом, что делает ее ценным растительным источником для разработки терапевтических средств против многих социально значимых заболеваний. В частности, белки семян конопли могут служить сырьем для получения биологически активных пептидов, которые проявляют широкий спектр полезных свойств. Изучение биологически активных пептидов (БАП), полученных из белка семян конопли, становится все более перспективной темой. Ферментативный гидролиз белка протеазами — одна из многообещающих стратегий получения гидролизатов, содержащих БАП. В отличие от химического гидролиза, который часто приводит к разрушению некоторых аминокислот и образованию побочных токсичных продуктов, обработка ферментными препаратами обеспечивает более мягкие условия реакции и сохраняет структурную целостность аминокислот. Протеолиз позволяет эффективно получать из белка конопли короткие пептиды, способные проявлять выраженные терапевтические эффекты. В ряде работ были идентифицированы конкретные пептиды, такие как WVYY, PSLPA, SVYT, IPAGV, VAMP, H3 (IGFLIIWV), которые демонстрируют ингибирующую активность в отношении ключевых ферментов, регулирующих артериальное давление, содержание глюкозы и холестерина, воспалительные реакции и окислительный стресс. При этом важным этапом служит углубленное изучение механизмов действия таких пептидов. Клинические исследования подтверждают возможность использования гидролизатов конопляного белка для пациентов с артериальной гипертензией, метаболическими синдромами и другими хроническими заболеваниями. Кроме того, эти соединения проявляют протективное действие при мышечной атрофии, почечной недостаточности, нейропротективных патологиях и онкологических заболеваниях. Это позволит расширить применение гидролизатов конопляного белка в качестве натуральных биоактивных компонентов, способствующих улучшению здоровья населения и профилактике хронических заболеваний. Кроме того, перспективны исследования применения гидролизатов из белка конопли в ветеринарии и в качестве биологически активных добавок в корма для животных

¹ФГБОУ ВО Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ),
125080 Россия, г. Москва, Волоколамское ш., 11,
e-mail: imcher@inbox.ru, natali-mng@yandex.ru, aleksanochkindi@list.ru ✉, detinkin02@gmail.com, fomenkoia@mgupp.ru;

²ФГБНУ ФНЦ пищевых систем
им. В.М. Горбатова РАН,
109316 Россия, г. Москва, ул. Талалихина, 26

Поступила в редакцию
3 июля 2025 года
Принята к публикации
8 августа 2025 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2025, V. 60, № 6, pp. 955-974

BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES OF *Cannabis sativa* SEEDS: COMPOSITION, PROPERTIES AND APPLICATION PROSPECTS (review)

*I.M. Chernukha^{1, 2}, N.G. Mashentseva¹, D.I. Aleksanochkin¹ ✉, I.A. Detinkin¹,
I.A. Fomenko¹*

¹Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), 11, Volokolamskoe sh., Moscow, 125080 Russia, e-mail imcher@inbox.ru, natali-mng@yandex.ru, aleksanochkindi@list.ru ✉ (corresponding author), detinkin02@gmail.com, fomenkoia@mgupp.ru;

²Gorbatov Federal Research Center for Food Systems RAS, 26, ul. Talalikhina, Moscow, 109316 Russia

ORCID:Chernukha I.M. orcid.org/0000-0003-4298-0927Mashentseva N.G. orcid.org/0000-0002-9287-0585Aleksanochkin D.I. orcid.org/0009-0000-7677-6583Detinkin I.A. orcid.org/0009-0004-0985-9505Fomenko I.A. orcid.org/0000-0003-2478-170

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation (project No. 25-16-00178)

Final revision received July 3, 2025

doi: 10.15389/agrobiology.2025.6.955eng

Accepted August 08, 2025

Abstract

In recent years, interest in biologically active peptides (BAP) from industrial hemp has increased significantly due to their potential use in the food, cosmetics and pharmaceutical industries (D. Montesano et al., 2020). Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) is one of the most promising oilseeds for the production of protein preparations (D.I. Aleksanochkin et al., 2024). The advantage of cannabis is its high protein content (from 20 to 30 % of the seed weight), as well as its balanced amino acid profile. Hemp seed proteins are mainly represented by globulins and albumins, among which the structural reserve protein edestin predominates, accounting for 60 to 80 % of the total protein content (A. Pihlanto et al., 2020). Three types of edestin have been identified in the cannabis genome: CsEde1, CsEde2, and CsEde3 (T. Docimo et al., 2014). Albumins account for about 25 % of all reserve proteins in cannabis seeds (A. Pihlanto et al., 2020). They have fewer disulfide bonds and a more flexible structure compared to globulins. A representative of this group is 2S-albumin (Cs2S) with a molecular weight of ~16 kDa (X. Sun et al., 2021). In addition, 7S-vicilin-like protein (Cs7S) was found in cannabis seeds, which belongs to less common reserve proteins (E. Ponzoni et al., 2019; X. Sun et al., 2021). Hemp protein is considered as a valuable source for the production of BAP with a wide range of functional properties. The antioxidant, anti-inflammatory, antihypertensive, and neuroprotective activities of such peptides have been most studied. Special attention is paid to the antihypertensive peptides of cannabis (WVYY, PSLPA, SVYT, IPAGV, IVY, and LIY), which inhibit angiotensin converting enzyme (ACE) and renin, which demonstrate efficacy both in vitro and in vivo experiments in animal models of hypertension (A.T. Girgih et al., 2014; S.P. Samaei et al., 2021). Peptides with DPP-IV inhibitory activity (FNVDTE, EAQPST, and VAMP), promising for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Antioxidant (H2 and H3), anti-inflammatory (MAEKEGFEWVSF and GLHLPSYTNTPLVYIVK), and hypocholesterolemic (IGFLIIWV) peptides contribute to reducing oxidative stress, inflammation, and low-density lipoprotein levels. (A. Thongtak et al., 2024; H. Chen et al., 2024; J. Gao et al., 2021; C. Bollati et al., 2022; S. Montserrat-de la Paz et al., 2023). Peptides with inhibitory activity against -glucosidase and acetylcholinesterase are also known (L. Cai et al., 2023; S.A. Malomo et al., 2016; S.A. Malomo et al., 2019). Thus, cannabis supplements contribute to the prevention of diseases such as diabetes, hypercholesterolemia, Alzheimer's disease, kidney failure, as well as various inflammatory processes. This article summarizes current research trends in the production of biologically active peptides using the technology of enzymatic biotransformation of cannabis protein, as well as assessments of their biological activity. The structural and functional features of peptides, mechanisms of action, and prospects for the practical use of cannabis hydrolysates in various industries are demonstrated.

Keywords: technical hemp, hemp seed protein, protein preparations, protein hydrolysates, peptides, biological activity, enzyme preparations, proteolysis.

REFERENCES

1. Montesano D., Gallo M., Blasi F., Cossignani L. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences. *Current Opinion in Food Science*, 2020, 31: 31-37 (doi: 10.1016/j.cofs.2019.10.008).
2. Apostolopoulos V., Bojarska J., Chai T.T., Elnagdy S., Kaczmarek K., Matsoukas J., New R., Parang K., Lopez O. P., Parhiz H., Perera C.O., Pickholz M., Remko M., Saviano M., Skwarczynski M., Tang Y., Wolf W. M., Yoshiya T., Zabrocki J., Zielenkiewicz P., Al Khazindar M., Barriga V., Kelaidonis K., Sarasia E.M., Toth I. A global review on short peptides: frontiers and perspectives. *Molecules*, 2021, 26(2): 430 (doi: 10.3390/molecules26020430).
3. Mahgoub S., Alagawany M., Nader M., Omar S.M., Abd El-Hack M.E., Swelum A., Elnesr S.S., Khafaga A.F., Taha A.E., Farag M.R., Tiwari R., Marappan G., El-Sayed A.S., Patel S.K., Pathak M., Michalak I., Al-Ghamdi E.S., Dhama K. Recent development in bioactive peptides from plant and animal products and their impact on the human health. *Food Reviews International*, 2023, 39(1): 511-536 (doi: 10.1080/87559129.2021.1923027).
4. Madhu M., Kumar D., Sirohi R., Tarafdar A., Dhewa T., Aluko R.E., Badgajar P.C., Awasthi M.K. Bioactive peptides from meat: Current status on production, biological activity, safety, and regulatory framework. *Chemosphere*, 2022, 307(Part 1): 135650 (doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135650).
5. Hou Y., Wu Z., Dai Z., Wang G., Wu G. Protein hydrolysates in animal nutrition: industrial

- production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(1): 24 (doi: 10.1186/s40104-017-0153-9).
6. Kumar M., Tomar M., Punia S., Dhakane-Lad J., Dhupal S., Changan S., Senapathy M., Berwal M.K., Sampathrajan V., Sayed A.A.S., Chandran D., Pandiselvam R., Rais N., Mahato D.K., Udikeri S.S., Satankar V., Anitha T., Reetu, Radha, Singh S., Amarowicz R., Kennedy J.F. Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. *Lwt*, 2022, 154: 112620 (doi: 10.1016/j.lwt.2021.112620).
 7. Akharume F.U., Aluko R.E., Adedeji A.A. Modification of plant proteins for improved functionality: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(1): 198-224 (doi: 10.1111/1541-4337.12688).
 8. Gasparre N., Rosell C.M., Boukid F. Enzymatic hydrolysis of plant proteins: tailoring characteristics, enhancing functionality, and expanding applications in the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, 2025, 18(4): 3272-3287 (doi: 10.1007/s11947-024-03648-x).
 9. Czelej M., Garbacz K., Czernecki T., Wawrzykowski J., Waśko A. Protein hydrolysates derived from animals and plants—a review of production methods and antioxidant activity. *Foods*, 2022, 11(13): 1953 (doi: 10.3390/foods11131953).
 10. Fan H., Liu H., Zhang Y., Zhang S., Liu T., Wang D. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2022, 2(2): 143-159 (doi: 10.1016/j.jfutfo.2022.03.003).
 11. Langyan S., Yadava P., Khan F.N., Dar Z.A., Singh R., Kumar A. Sustaining protein nutrition through plant-based foods. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 8: 772573 (doi: 10.3389/fnut.2021.772573).
 12. Zhang M., Wang O., Cai S., Zhao L., Zhao L. Composition, functional properties, health benefits and applications of oilseed proteins: a systematic review. *Food Research International*, 2023, 171: 113061 (doi: 10.1016/j.foodres.2023.113061).
 13. Toutirais L., Walrand S., Vaysse C. Are oilseeds a new alternative protein source for human nutrition? *Food & Function*, 2024, 15(5): 2366-2380 (doi: 10.1039/D3FO05370A).
 14. Visković J., Zheljajzkov V.D., Sikora V., Noller J., Latković D., Ocamb C.M., Koren A. Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) agronomy and utilization: a review. *Agronomy*, 2023, 13(3): 931 (doi: 10.3390/agronomy13030931).
 15. Yano H., Fu W. Hemp: a sustainable plant with high industrial value in food processing. *Foods*, 2023, 12(3): 651 (doi: 10.3390/foods12030651).
 16. Kamalova A.R., Danilova N.V., Kuryntseva P.A., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. Technical hemp *Cannabis sativa* L. growth and functional diversity of soil microbiota in a model cultivation under elevated air temperatures. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 60(1): 110-124 (doi: 10.15389/agrobiol.2025.1.110rus).
 17. Serkov V.A., Kabunina I.V. *Mezhdunarodnyy sel'skokhozyaystvennyy zhurnal*, 2023, 2(392): 188-191 (in Russ.).
 18. Federal'naya sluzhba gosudarstvennoy statistiki (Rosstat). *Ofitsial'naya statistika Rossiyskoy Federatsii* [Official statistics of the Russian Federation]. Available: <https://rosstat.gov.ru>. Accessed: 02.12.2024 (in Russ.).
 19. Crini G., Lichtfouse E., Chanut G., Morin-Crini N. Applications of hemp in textiles, paper industry, insulation and building materials, horticulture, animal nutrition, food and beverages, nutraceuticals, cosmetics and hygiene, medicine, agrochemistry, energy production and environment: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2020, 18(5): 1451-1476 (doi: 10.1007/s10311-020-01029-2).
 20. Chen H., Xu B., Wang Y., Li W., He D., Zhang Y., Xing X. Emerging natural hemp seed proteins and their functions for nutraceutical applications. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(4): 929-941 (doi: 10.1016/j.fshw.2022.10.016).
 21. Potin F., Lubbers S., Husson F., Saurel R. Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein extraction conditions affect extraction yield and protein quality. *Journal of Food Science*, 2019, 84(12): 3682-3690 (doi: 10.1111/1750-3841.14850).
 22. Givonetti A., Cattaneo C., Cavaletto M. What you extract is what you get: different methods of protein extraction from hemp seeds. *Separations*, 2021, 8(12): 231 (doi: 10.3390/separations8120231).
 23. Liu M., Toth J.A., Childs M., Smart L.B., Abbaspourrad A. Composition and functional properties of hemp seed protein isolates from various hemp cultivars. *Journal of Food Science*, 2023, 88(3): 942-951 (doi: 10.1111/1750-3841.16467).
 24. Aleksanochkin D.I., Fomenko I.A., Alekseeva E.A., Chernukha I.M., Mashentseva N.G. *Pishchevie sistemi*, 2024, 7(2): 188-197 (doi: 10.21323/2618-9771-2024-7-2-188-197) (in Russ.).
 25. Pihlanto A., Nurmi M., Mäkinen S. Hempseed protein: processing and functional properties. In: *Sustainable Agriculture Reviews, vol. 42. Hemp Production and Applications*. G. Crini, E. Lichtfouse (eds.). Springer, Cham, 2020: 223-237 (doi: 10.1007/978-3-030-41384-2_7).
 26. Docimo T., Caruso I., Ponzoni E., Mattana M., Galasso I. Molecular characterization of edestin gene family in *Cannabis sativa* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 84: 142-148 (doi: 10.1016/j.plaphy.2014.09.011).
 27. Ponzoni E., Brambilla I. M., Galasso I.J.B.P. Genome-wide identification and organization of

- seed storage protein genes of *Cannabis sativa*. *Biologia Plantarum*, 2018, 62: 693-702 (doi: 10.1007/s10535-018-0810-7).
28. Patel S., Cudney R., McPherson A. Crystallographic characterization and molecular symmetry of edestin, a legumin from hemp. *Journal of Molecular Biology*, 1994, 235(1): 361-363 (doi: 10.1016/S0022-2836(05)80040-3).
 29. Wang X.-S., Tang C.-H., Yang X.-Q., Gao W.-R. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. *Food Chemistry*, 2008, 107(1): 11-18 (doi: 10.1016/j.foodchem.2007.06.064).
 30. Odani S., Odani S. Isolation and primary structure of a methionine-and cystine-rich seed protein of *Cannabis sativa*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1998, 62(4): 650-654 (doi: 10.1271/bbb.62.650).
 31. Sun X., Sun Y., Li Y., Wu Q., Wang L. Identification and characterization of the seed storage proteins and related genes of *Cannabis sativa* L. *Frontiers in Nutrition*, 2021, 8: 678421 (doi: 10.3389/fnut.2021.678421).
 32. Turner J.M., Kodali R. Should angiotensin-converting enzyme inhibitors ever be used for the management of hypertension? *Current Cardiology Reports*, 2020, 22: 95 (doi: 10.1007/s11886-020-01352-8).
 33. Girgih A.T., Udenigwe C.C., Li H., Adebisi A.P., Aluko R.E. Kinetics of enzyme inhibition and antihypertensive effects of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88(11): 1767-1774 (doi: 10.1007/s11746-011-1841-9).
 34. Girgih A.T., Alashi A., He R., Malomo S., Aluko R.E. Preventive and treatment effects of a hemp seed (*Cannabis sativa* L.) meal protein hydrolysate against high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Nutrition*, 2014, 53(5): 1237-1246 (doi: 10.1007/s00394-013-0625-4).
 35. Girgih A.T., He R., Malomo S., Offengenden M., Wu J., Aluko R.E. Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *Journal of Functional Foods*, 2014, 6: 384-394 (doi: 10.1016/j.jff.2013.11.005).
 36. Girgih A.T., He R., Aluko R.E. Kinetics and molecular docking studies of the inhibitions of angiotensin converting enzyme and renin activities by hemp seed (*Cannabis sativa* L.) peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(18): 4135-4144 (doi: 10.1021/jf5002606).
 37. Samaei S.P., Martini S., Tagliazucchi D., Gianotti A., Babini E. Antioxidant and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides obtained from alcalase protein hydrolysate fractions of hemp (*Cannabis sativa* L.) bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(32): 9220-9228 (doi: 10.1021/acs.jafc.1c01487).
 38. Samsamikor M., Mackay D., Mollard R.C., Aluko R.E. A double-blind, randomized, crossover trial protocol of whole hemp seed protein and hemp seed protein hydrolysate consumption for hypertension. *Trials*, 2020, 21: 354 (doi: 10.1186/s13063-020-4164-z).
 39. Samsamikor M., Mackay D.S., Mollard R.C., Alashi A.M., Aluko R.E. Hemp seed protein and its hydrolysate compared with casein protein consumption in adults with hypertension: a double-blind crossover study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2024, 120(1): 56-65 (doi: 10.1016/j.ajcnut.2024.05.001).
 40. Chatterjee S., Khunti K., Davies M.J. Type 2 diabetes. *The Lancet*, 2017, 389(10085): 2239-2251 (doi: 10.1016/S0140-6736(17)30058-2).
 41. Nongonierma A.B., FitzGerald R.J. Investigation of the potential of hemp, pea, rice and soy protein hydrolysates as a source of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides. *Food Digestion: Research and Current Opinion*, 2015, 6: 19-29 (doi: 10.1007/s13228-015-0039-2).
 42. Thongtak A., Yutisayanuwat K., Harnkit N., Noikaew T., Chumnanpuen P. Computational screening for the dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides from putative hemp seed hydrolyzed peptidome as a potential antidiabetic agent. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(11): 5730 (doi: 10.3390/ijms25115730).
 43. Chen H., Li W., Hu W., Xu B., Wang Y., Liu J., Zhang C., Zhang C., Zhang X., Nie Q., Xing X. A novel bifunctional peptide VAMP mined from hemp seed protein hydrolysates improves glucose homeostasis by inhibiting intestinal DPP-IV and increasing the abundance of *Akkermansia muciniphila*. *bioRxiv*, 2024 (doi: 10.1101/2024.07.22.604525).
 44. Girgih A.T., Udenigwe C.C., Aluko R.E. In vitro antioxidant properties of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate fractions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88(3): 381-389 (doi: 10.1007/s11746-010-1686-7).
 45. Girgih A.T., Alashi A.M., He R., Malomo S.A., Raj P., Netticadan T., Aluko R.E. A novel hemp seed meal protein hydrolysate reduces oxidative stress factors in spontaneously hypertensive rats. *Nutrients*, 2014, 6(12): 5652-5666 (doi: 10.3390/nu6125652).
 46. Montserrat-de la Paz S., Rivero-Pino F., Villanueva A., Toscano-Sanchez R., Martin M.E., Millan F., Millan-Linares M.C. Nutritional composition, ultrastructural characterization, and peptidome profile of antioxidant hemp protein hydrolysates. *Food Bioscience*, 2023, 53: 102561 (doi: 10.1016/j.fbio.2023.102561).
 47. Gao J., Li T., Chen D., Gu H., Mao X. Identification and molecular docking of antioxidant peptides

- from hemp seed protein hydrolysates. *Lwt*, 2021, 147: 111453 (doi: 10.1016/j.lwt.2021.111453).
48. Bollati C., Cruz-Chamorro I., Aiello G., Li J., Bartolomei M., Santos-Sánchez G., Ranaldi G., Ferruzza S., Sambuy Y., Arnoldi A., Lammi C. Investigation of the intestinal trans-epithelial transport and antioxidant activity of two hempseed peptides WVSPLAGRT (H2) and IGFLIIWV (H3). *Food Research International*, 2022, 152: 110720 (doi: 10.1016/j.foodres.2021.110720).
 49. Lu R.R., Qian P., Sun Z., Zhou X.H., Chen T.P., He J.F., Wu J. Hempseed protein derived antioxidative peptides: purification, identification and protection from hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells. *Food Chemistry*, 2010, 123(4): 1210-1218 (doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.089).
 50. Givonetti A., Tonello S., Cattaneo C., D'Onghia D., Vercellino N., Sainaghi P.P., Cavaletto M. Hempseed water-soluble protein fraction and its hydrolysate display different biological features. *Life*, 2025, 15(2): 225 (doi: 10.3390/life15020225).
 51. Ren Y., Liang K., Jin Y., Zhang M., Chen Y., Wu H., Lai F. Identification and characterization of two novel α -glucosidase inhibitory oligopeptides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein. *Journal of Functional Foods*, 2016, 26: 439-450 (doi: 10.1016/j.jff.2016.07.024).
 52. Guo Q., Wang W., Shi Z., Zhao M., Li J., Wang D., Sun L., Qi L. Purification, structural characterization, antioxidative and hypoglycemic activities of the peptides from hemp seeds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2025, 19: 3229-3243 (doi: 10.1007/s11694-025-03174-0).
 53. Cai L., Wu S., Jia C., Cui C., Sun-Waterhouse D. Active peptides with hypoglycemic effect obtained from hemp (*Cannabis sativa* L) protein through identification, molecular docking, and virtual screening. *Food Chemistry*, 2023, 429: 136912 (doi: 10.1016/j.foodchem.2023.136912).
 54. Rodriguez-Martin N.M., Toscano R., Villanueva A., Pedroche J., Millan F., Montserrat-de la Paz S., Millan-Linares M.C. Neuroprotective protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Food & Function*, 2019, 10(10): 6732-6739 (doi: 10.1039/c9fo01904a).
 55. Rodriguez-Martin N.M., Montserrat-de La Paz S., Toscano R., Grao-Cruces E., Villanueva A., Pedroche J., Millan F., Millan-Linares M.C. Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates promote anti-inflammatory response in primary human monocytes. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 803 (doi: 10.3390/biom10050803).
 56. Montserrat-de la Paz S., Villanueva-Lazo A., Millan F., Martin-Santiago V., Rivero-Pino F., Millan-Linares M.C. Production and identification of immunomodulatory peptides in intestine cells obtained from hemp industrial by-products. *Food Research International*, 2023, 174: 113616 (doi: 10.1016/j.foodres.2023.113616).
 57. Cruz-Chamorro I., Santos-Sánchez G., Bollati C., Bartolomei M., Li J., Arnoldi A., Lammi C. 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, 70(2): 577-583 (doi: 10.1021/acs.jafc.1c07520).
 58. Yin L., Li N., Jia W., Wang N., Liang M., Yang X., Du G. Skeletal muscle atrophy: from mechanisms to treatments. *Pharmacological Research*, 2021, 172: 105807 (doi: 10.1016/j.phrs.2021.105807).
 59. Hwangbo Y., Pan J.H., Lee J.J., Kim T., Kim J.H. Production of protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed and its protective effects against dexamethasone-induced muscle atrophy. *Food Bioscience*, 2024, 59: 104046 (doi: 10.1016/j.fbio.2024.104046).
 60. Hwangbo Y., Kim J.H., Kim T., Kim J.H. Effects of hemp seed protein hydrolysates on the differentiation of C2C12 cells and muscle atrophy. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2023, 52(12) (doi: 10.3746/jkfn.2023.52.12.1225).
 61. Vecchio I., Sorrentino L., Paoletti A., Marra R., Arbitrio M. The state of the art on acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Central Nervous System Disease*, 2021, 13 (doi: 10.1177/11795735211029113).
 62. Aluko R.E. Food-derived acetylcholinesterase inhibitors as potential agents against alzheimer's disease. *Efood*, 2021, 2(2): 49-58 (doi: 10.2991/efood.k.210318.001).
 63. Santos-Sánchez G., Álvarez-López A.I., Ponce-España E., Carrillo-Vico A., Bollati C., Bartolomei M., Lammi C., Cruz-Chamorro I. Hempseed (*Cannabis sativa*) protein hydrolysates: a valuable source of bioactive peptides with pleiotropic health-promoting effects. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 127: 303-318 (doi: 10.1016/j.tifs.2022.06.005).
 64. Malomo S.A., Aluko R.E. In vitro acetylcholinesterase-inhibitory properties of enzymatic hemp seed protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2016, 93(3): 411-420 (doi: 10.1007/s11746-015-2779-0).
 65. Malomo S.A., Aluko R.E. Kinetics of acetylcholinesterase inhibition by hemp seed protein-derived peptides. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43(7): e12897 (doi: 10.1111/jfbc.12897).
 66. Tawalbeh D., Al-U'datt M.H., Wan Ahmad W.A.N., Ahmad F., Sarbon N.M. Recent advances in in vitro and in vivo studies of antioxidant, ACE-inhibitory and anti-inflammatory peptides from legume protein hydrolysates. *Molecules*, 2023, 28(6): 2423 (doi: 10.3390/molecules28062423).
 67. Hidayat M., Prahastuti S., Riany D.U., Soemardji A.A., Suliska N., Garmana A.N., Assidiq B.F., Hasan K. Kidney therapeutic potential of peptides derived from the bromelain hydrolysis

- of green peas protein. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2019, 22(9): 1016 (doi: 10.22038/ijbms.2019.33945.8075).
68. Aukema H.M., Gauthier J., Roy M., Jia Y., Li H., Aluko R.E. Distinctive effects of plant protein sources on renal disease progression and associated cardiac hypertrophy in experimental kidney disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55(7): 1044-1051 (doi: 10.1002/mnfr.201000558).
 69. Aluko R.E. Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) proteins: composition, structure, enzymatic modification, and functional or bioactive properties. In: *Sustainable Protein Sources*. S.R. Nadathur, J.P.D. Wanasundara, L. Scanlin (eds.). Academic Press, 2017: 121-132 (doi: 10.1016/B978-0-12-802778-3.00007-X).
 70. Jiang J., Wu C., Zhang C., Zhao J., Yu L., Zhang H., Narbad A., Chen W., Zhai Q. Effects of probiotic supplementation on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Functional Foods*, 2020, 74: 104177 (doi: 10.1016/j.jff.2020.104177).
 71. Li J., Bollati C., Bartolomei M., Mazzolari A., Arnoldi A., Vistoli G., Lammi C. Hempseed (*Cannabis sativa*) peptide H3 (IGFLIIWV) exerts cholesterol-lowering effects in human hepatic cell line. *Nutrients*, 2022, 14(9): 1804 (doi: 10.3390/nu14091804).
 72. Aiello G., Lammi C., Boschin G., Zanoni C., Arnoldi A. Exploration of potentially bioactive peptides generated from the enzymatic hydrolysis of hempseed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(47): 10174-10184 (doi: 10.1021/acs.jafc.7b03590).
 73. Zanoni C., Aiello G., Arnoldi A., Lammi C. Hempseed peptides exert hypocholesterolemic effects with a statin-like mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(40): 8829-8838 (doi: 10.1021/acs.jafc.7b02742).
 74. Wang Q., Xiong Y.L. Zinc-binding behavior of hemp protein hydrolysates: soluble versus insoluble zinc-peptide complexes. *Journal of Functional Foods*, 2018, 49: 105-112 (doi: 10.1016/j.jff.2018.08.019).
 75. Wei L.-H., Dong Y., Sun Y.-F., Mei X.-S., Ma X.-S., Shi J., Yang Q., Ji Y.-R., Zhang Z.-H., Sun H.-N., Sun X.-R., Song S.-M. Anticancer property of hemp bioactive peptides in Hep3B liver cancer cells through Akt/GSK3 β / β -catenin signaling pathway. *Food Science & Nutrition*, 2021, 9(4): 1833-1841 (doi: 10.1002/fsn3.1976).
 76. Tănase Apetroaei V., Pricop E.M., Istrati D.I., Vizireanu C. Hemp seeds (*Cannabis sativa* L.) as a valuable source of natural ingredients for functional foods — a review. *Molecules*, 2024, 29(9): 2097 (doi: 10.3390/molecules29092097).
 77. Axentii M., Codin G.G. Exploring the nutritional potential and functionality of hemp and rapeseed proteins: a review on unveiling anti-nutritional factors, bioactive compounds, and functional attributes. *Plants*, 2024, 13(9): 1195 (doi: 10.3390/plants13091195).
 78. Papatzimos G., Kasapidou E. Review of hemp components as functional feed and food ingredients: impact on animal product quality traits and nutritional value. *Exploration of Foods and Foodomics*, 2024, 2(6): 626-650 (doi: 10.37349/eff.2024.00055).
 79. Capcanari T., Covaliov B.E., Negoita C. Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds nutritional aspects and food production perspectives: a review. *Food Systems*, 2024, 7(1): 52-58 (doi: 10.21323/2618-9771-2024-7-1-52-58).
 80. Kapustyanchik S.Yu., Danilova A.A. Cultivation of *Miscanthus sacchariflorus* in Siberia: application of nitrogen fertilizers. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2025, 60(1): 125-137 (doi: 10.15389/agrobology.2025.1.125rus).
 81. Anjum Z., Min Q., Riaz L., Waqar-Un-Nisa, Qadeer S., Saleem A.R. Employment of *Cannabis sativa* biochar to improve soil nutrient pool and metal immobilization. *Frontiers in Environmental Science*, 2022, 10: 1011820 (doi: 10.3389/fenvs.2022.1011820).
 82. Zheng Z., Fiddes K., Yang L. A narrative review on environmental impacts of cannabis cultivation. *Journal of Cannabis Research*, 2021, 3(1): 35 (doi: 10.1186/s42238-021-00090-0).