

Оригинальная статья / Original paper

<https://doi.org/10.47370/2072-0920-2026-22-3-40-55>

УДК 637.631:612.015.11



Антиоксидантные свойства гидролизатов куриного пера

К.Э. Бетехтин, Н.А. Большев✉, В.В. Ядерец, Н.Г. Машенцева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»;

г. Москва, Российская Федерация,

✉nickolai.bolshev@yandex.ru

Аннотация. Цель. Исследование антиоксидантных свойств пептидов, полученных при микробиологической ферментации перьевых отходов кератинолитическими штаммами *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2. Методы. Мажорные пептидные последовательности (17 идентифицированных методом ЖХ-МС/МС с относительным содержанием >1 %) анализировали в базе BIOPEP-UWM для прогнозирования биоактивных профилей. Взаимодействие перспективных пептидов с Kelch-доме-ном белка Keap1 (PDB ID: 2FLU) оценивали методами молекулярного докинга (HPEPDOCK 2.0) и расчета термодинамических параметров комплексов (PRODIGY). Экспериментальную оценку об-щей антиоксидантной емкости (ОАЕ) гидролизатов проводили методами FRAP, DPPH и ORAC. Ре-зультаты. По данным *in silico*-анализа, большинство исследованных пептидов содержали фраг-менты с прогнозируемой антиоксидантной активностью и формировали стабильные комплексы с Keap1. Наибольшую аффинность показал пептид GGGDIPRQPLYPLPPRPG, для которого рассчи-таны $\Delta G = -9,8$ ккал·моль⁻¹ и $K_d = 6,6 \times 10^{-8}$ М; данный пептид взаимодействовал с ключевыми остат-ками связывающего центра (GLU216, ARG146, GLN239), конкурируя с эндогенным лигандом Nrf2. В тестах FRAP и DPPH активность образцов находилась ниже предела обнаружения, что обуслов-лено дефицитом реакционноспособных аминокислот (Cys, Trp) в пептидных фракциях, тогда как по методу ORAC гидролизаты БАЛ-1 и БАЛ-2 превосходили исходное перо в 25,5 и 31,3 раза, достигая значений $812,68 \pm 32,62$ и $997,46 \pm 66,04$ мкмоль-экв. кверцетина/л соответственно. Заключение. По-лученные результаты подтверждают перспективность ферментированных гидролизатов куриного пера как источника биоактивных пептидов с двойным механизмом антиоксидантного действия (пря-мое гашение радикалов и активация Nrf2-пути) для дальнейшей разработки функциональных кор-мовых добавок. Практическая значимость работы заключается в обосновании возможности исполь-зования полученных гидролизатов в качестве компонента функциональных кормовых добавок для повышения резистентности сельскохозяйственной птицы к факторам окислительного стресса, что позволит снизить зависимость отрасли от синтетических антиоксидантов.

Ключевые слова: биоактивные пептиды; антиоксидантная активность; гидролизаты куриного пера; кератинсодержащие отходы; микробиологическая ферментация; *Bacillus licheniformis*; моле-кулярный докинг; Keap1/Nrf2; ORAC.

Для цитирования: Бетехтин К.Э., Большев Н.А., Ядерец В.В., Машенцева Н.Г. Антиоксидантные свойства гидролизатов куриного пера. *Новые технологии / New technologies*. 2026; 22(3): 40-55. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2026-22-3-40-55>

Финансирование: исследования проводились в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» FSMF-2026-0002.

Antioxidant properties of chicken feather hydrolysates

K.E. Betekhtin, N.A. Bolshev✉, V.V. Yaderets, N.G. Mashenzeva

Russian Biotechnology University (ROSBIOTECH);
Moscow, the Russian Federation,
✉nickolai.bolshev@yandex.ru

Abstract. The goal of the research was to study the antioxidant properties of peptides obtained during microbiological fermentation of feather waste with keratinolytic strains of *Bacillus licheniformis* BAL-1 and BAL-2. **The methods.** The major 17 peptide sequences identified by LC-MS/MS with a relative content of >1% were analyzed in the BIOPEP-UWM database to predict bioactive profiles. The interaction of promising peptides with the Kelch domain of the Keap1 protein (PDB ID: 2FLU) was assessed using molecular docking (HPEPDOCK 2.0) and calculation of the thermodynamic parameters of the complexes (PRODIGY). Experimental assessment of the total antioxidant capacity (TAC) of the hydrolysates was performed using the FRAP, DPPH, and ORAC methods. **The results.** According to the *in silico* -analysis, most of the studied peptides contained fragments with the predicted antioxidant activity and formed stable complexes with Keap1. The highest affinity was demonstrated by the GGGDI-PRQPLYPLPPRPG peptide, for which $\Delta G = -9.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ and $K_d = 6.6 \times 10^{-8} \text{ M}$ were calculated; this peptide interacted with the key residues of the binding site (GLU216, ARG146, GLN239), competing with the endogenous ligand Nrf2. In the FRAP and DPPH tests, the activity of the samples was below the detection limit, which was due to the deficiency of reactive amino acids (Cys, Trp) in the peptide fractions. Whereas, according to the ORAC method, the BAL-1 and BAL-2 hydrolysates exceeded the original feather by 25.5 and 31.3 times, reaching values of 812.68 ± 32.62 and $997.46 \pm 66.04 \text{ } \mu\text{mol-eq. quercetin/L}$, respectively. **Conclusion.** The obtained results confirm the potential of fermented chicken feather hydrolysates as a source of bioactive peptides with a dual mechanism of antioxidant action (direct radical scavenging and Nrf2 pathway activation) for the further development of functional feed additives. The practical significance of the research lies in substantiating the possibility of using the obtained hydrolysates as a component of functional feed additives to enhance the resistance of poultry to oxidative stress factors, thereby reducing the dependence of the industry on synthetic antioxidants.

Keywords: bioactive peptides; antioxidant activity; chicken feather hydrolysates; keratin-containing waste; microbiological fermentation; *Bacillus licheniformis*; molecular docking; Keap1/Nrf2; ORAC

For citation: Betekhtin K.E., Bolshev N.A., Yaderets V.V., Mashenzeva N.G. Antioxidant properties of chicken feather hydrolysates. *Novye tehnologii / New Technologies*. 2026; 22(3):40-55. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2026-22-3-40-55>

Funding: The research was conducted within the state assignment FSMF-2026-0002 to “ROSBIO-OTEKH”

Введение. Окислительный стресс определяется как дисбаланс между образованием активных форм кислорода (АФК), активных форм азота (АФА) и других свободных радикалов, с одной стороны, и способностью биологической системы нейтрализовать эти соединения или восстанавливать причиненный ими ущерб, с другой [1, с. 180]. В условиях современного интенсивного животноводства и птицеводства, характеризующихся высоким уровнем продуктивности и ускоренным метаболизмом,

организм животных становится особенно восприимчивым к развитию данного состояния. Проблемой также является то, что в период стресса потребление корма снижается, вследствие чего поступление необходимых для поддержания антиоксидантного статуса алиментарных нутриентов резко падает. Одновременно с этим скорость образования свободных радикалов многократно возрастает, что приводит к быстрому истощению эндогенной антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы,

каталазы, глутатионпероксидазы). В результате запускается каскад перекисного окисления липидов, повреждаются клеточные мембраны и нарушаются метаболические процессы, что напрямую ведет к снижению продуктивности, ухудшению качества продукции и падению сохранности поголовья [2, с. 1; 3, с. 3]. Традиционным методом профилактики окислительного стресса является введение в рацион синтетических антиоксидантов (например, этоксилина, ионола, сантохина). Однако их бесконтрольное или избыточное применение может приводить к обратному эффекту – «антиоксидантному стрессу». В этом состоянии избыток антиоксидантов начинает подавлять иммунную систему и нарушать естественную клеточную сигнализацию [4, с. 464]. В связи с этим возрастает актуальность поиска натуральных и безопасных альтернатив, в рамках которого одной из наиболее перспективных групп выступают биологически активные пептиды (БАП). Биологически активные пептиды представляют собой короткие пептидные последовательности, содержащие от 2 до 40 аминокислотных остатков, которые обладают физиологической активностью, выходящей за рамки обеспечения базовых потребностей организма в питании [5, с. 143]. Например, есть исследования, которые доказывают антиоксидантное [6, с. 1], противовоспалительное, иммуномодулирующее, антимикробное действия [7, с. 1]. Для получения БАП используют различные способы – ферментативный гидролиз, обработка нативного белка щелочами и кислотами, ферментация микроорганизмами, а также менее распространенные ввиду высокой стоимости химический синтез и рекомбинантные технологии [8, с. 1]. Источниками БАП могут служить побочные продукты пищевой и перерабатывающей промышленности [9, с. 1]. Особый интерес среди БАП представляет группа антиоксидантных пептидов. Доказано, что пептиды из белковых гидролизатов могут реализовывать защитные функции через следующие меха-

низмы: инактивацию активных форм кислорода (АФК), удаление свободных радикалов, ингибирование перекисного окисления липидов (ПОЛ), хелатирование ионов переходных металлов (Fe^{2+} , Cu^{2+}), катализирующих образование радикалов, или комбинации этих механизмов [10, с. 1]. Особенностью антиоксидантных пептидов является большой процент содержания таких аминокислот, как пролин, гистидин, тирозин и триптофан [11, с. 1]. Однако антиоксидантное действие БАП не ограничивается прямым поглощением свободных радикалов. В последние годы накоплены данные о способности биоактивных пептидов активировать эндогенную антиоксидантную защиту через сигнальный путь Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) [12, с. 31]. Nrf2 является ключевым фактором транскрипции, который при активации перемещается в ядро клетки и связывается с антиоксидантным ответным элементом (ARE) в промоторных областях генов. Это запускает экспрессию широкого спектра цитопротекторных ферментов, включая супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, глутатионпероксидазу, гемоксигеназу-1 и глутатион-S-трансферазу [13, с. 1; 14, с. 1727]. В отличие от экзогенных антиоксидантов, которые непосредственно нейтрализуют свободные радикалы, Nrf2-активирующие пептиды усиливают собственную антиоксидантную систему организма, обеспечивая более устойчивую и физиологичную защиту от окислительного стресса [15, с. 1]. Keap1 в данной системе является ключевым негативным регулятором транскрипционного фактора Nrf2, обеспечивая его убиквитин-зависимую деградацию в фоновых (без стресса) условиях и тем самым репрессировав антиоксидантный ответ. Ингибирование взаимодействия Keap1-Nrf2 рассматривается как перспективная стратегия для активации эндогенной антиоксидантной защиты и нашло экспериментальное подтверждение в ряде исследований как *in vitro*, так и *in vivo* на различных моделях патологических состояний, включая острые

повреждения легких [16, с. 4889], инфаркт миокарда [17, с. 1] и нейродегенеративные процессы. В частности, пептидные ингибиторы, связывающиеся с Kelch-доменом Keap1, конкурентно блокируют участок посадки Nrf2, что приводит к накоплению последнего и последующей активации транскрипции генов антиоксидантной защиты. Этот механизм был подтвержден *in vivo* для таких соединений, как циклический пептид ZC9 [16, с. 4889] и бициклический липопептид LAS200813 [18, с. 1]. Данный механизм действия согласуется с современным подходом в биохимии стресса, направленным на стимуляцию эндогенных защитных систем, а не на прямое введение антиоксидантов [19, с. 401]. Таким образом, биоактивные пептиды представляют перспективный инструмент для использования в животноводстве и птицеводстве в качестве агентов для профилактики и коррекции окислительного стресса, поскольку они обладают двойным механизмом действия: прямым (поглощение радикалов, хелатирование металлов) и опосредованным (активация Nrf2-пути и усиление эндогенной антиоксидантной защиты). Отдельного внимания заслуживает переработка отходов пищевых производств в ценные биоактивные соединения. Успешным примером такой переработки является получение коллагеновых пептидов из побочных продуктов животноводства и рыбной промышленности – кожи, костей, хрящей, чешуи. Коллагенсодержащие отходы, которые ранее рассматривались как балластные, сегодня служат ценным сырьем для производства биологически активных пептидов с доказанной антиоксидантной, иммуномодулирующей и регенеративной активностью [20, с. 1]. Ферментативный гидролиз коллагена с использованием протеаз (пепсина, папаина, щелочной протеазы) позволяет получать низкомолекулярные пептиды с высокой биодоступностью, которые могут применяться в качестве функциональных ингредиентов в кормах для животных [20, с. 1]. Более сложным объектом для перера-

ботки является кератинсодержащее сырье. Основную массу таких отходов представляют собой куриные перья, которые образуются в количестве 5–7% от живой массы птицы и составляют значительную долю твердых отходов птицеперерабатывающих предприятий [21, с. 5]. Перо является ценным источником белка (до 90% по сухому веществу), однако он представлен в форме β -кератина – фибриллярного белка с трехмерной структурой, стабилизированной многочисленными дисульфидными связями, водородными связями и гидрофобными взаимодействиями [22, с. 372]. Эта плотная организация делает нативный кератин практически недоступным для действия стандартных пищеварительных ферментов (пепсина, трипсина, папаина), что обуславливает крайне низкую усвояемость традиционной перьевой муки. Гидролиз щелочами, в свою очередь, обладает существенными недостатками: высокая энергоемкость, частичная деструкция незаменимых аминокислот (лизина, метионина, цистеина) и образование токсичных побочных продуктов, таких как лизиноаланин [22, с. 372]. В связи с этим в современной биотехнологии все большее значение приобретают альтернативные методы переработки – микробиологическая ферментация и ферментативный гидролиз с использованием специфических кератиназ. Например, представители рода *Bacillus* (*B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*) способны использовать перьевые отходы как единственный источник углерода и азота. В процессе ферментации бактерии секретируют комплекс ферментов: кератиназы, разрушающие дисульфидные мостики β -кератина, и протеазы, гидролизующие денатурированный белок до низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот [21, с. 5]. При оптимизированных параметрах глубинной ферментации кератинолитическая активность достигает максимума через 5–7 суток, обеспечивая гидролиз до 90–95% кератинового субстрата [21, с. 5]. В настоящем исследовании проведена оценка

антиоксидантного потенциала пептидных фракций, полученных при ферментации штаммов *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 (ВКПМ В-14243) и БАЛ-2 (ВКПМ В-14244) на среде, где в качестве единственного источника азота и углерода использована перьевая мука. Для комплексной оценки в работе применена комбинация методов *in silico* и *in vitro*.

Объекты и методы. Методологический подход включал несколько последовательных этапов. На первом этапе осуществляли ферментацию куриного пера с использованием штаммов *Bacillus licheniformis* и идентифицировали образовавшиеся пептидные последовательности методом ЖХ-МС/МС, после чего проводили их *in silico* скрининг в базе данных BIOPEP-UWM [23, с. 10635] для прогнозирования потенциальных биоактивных профилей. На втором этапе выполняли экспериментальную верификацию антиоксидантной активности полученных гидролизатов *in vitro*: для этого у исследуемых образцов культуральной жидкости определяли общую антиоксидантную емкость (ОАЕ) методами Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), радикала DPPH и Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). На заключительном этапе для определения у пептидов потенциальных клеточных механизмов борьбы с окислительным стрессом проводили молекулярный докинг с белком-мишенью Keap1.

Гидролизаты куриного пера были получены при культивировании штаммов *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 (по отдельности) в питательной среде, где перо бройлеров являлось единственным источником углерода. Штаммы культивировали в течение 72 ч при 37 °С при постоянном перемешивании. Культуральную жидкость отделяли от биомассы центрифугированием и использовали для протеомного анализа методом ЖХ-МС/МС. Мажорные пептидные последовательности, то есть содержащие более 1%, в полученных гидролизатах пера, идентифицировали методом ЖХ-МС/МС с

использованием Orbitrap Lumos Tribrid и программного обеспечения PEAKS Studio 11.0. Для оценки мажорных последовательностей учитывали относительное содержание пептидов (>1 %) [24, с. 166].

Для оценки потенциальной активности полученных пептидов использовалась база данных BIOPEP-UWM [23, с. 10635]. Антиоксидантный потенциал исследуемых образцов оценивали по общей антиоксидантной емкости (ОАЕ) методами FRAP, DPPH и ORAC. Перед анализом образцы центрифугировали при 4 °С и 10000 об/мин в течение 8 мин. Метод FRAP проводили на спектрофотометре СФ-2000 при 594 нм с использованием реактива, содержащего ацетатный буфер, ТРТЗ и хлорид железа (III); реакцию смесь инкубировали 30 мин при 37 °С в темноте. Метод DPPH выполняли на спектрофотометре СФ-2000 при 517 нм после 30-минутной инкубации образца с этанольным раствором радикала DPPH при 22±2 °С в темноте. Метод ORAC проводили на флуориметре-люминометре Fluoroskan Ascent FL с использованием флуоресцеина натрия и ААРН при длинах волн возбуждения и эмиссии 485 и 535 нм соответственно; измерение флуоресценции выполняли при 37 °С в течение 60 мин с интервалом 5 мин. Все измерения проводили в четырех повторях, ОАЕ рассчитывали по градуировочным графикам с кверцетином, значения получили в мкмоль-экв. кверцетина / л образца. Для обоснования потенциальной антиоксидантной активности на клеточном уровне провели молекулярный докинг мажорных пептидных последовательностей с мишенью PDB ID: 2FLU, то есть белком Keap1.

Для проведения молекулярного докинга использован веб-сервис HPERDOCK 2.0 [25, с. W443]. Выбор данного веб-сервиса обусловлен тем, что подготовка лиганда и рецептора осуществляется в автоматическом режиме, а также высокой точностью предсказания за счет проведения множественных стыковок. Например, при валидации на тестовых наборах данных попадание правильного комплекса в топ-10 про-

гнозов для HPERDOCK составило в среднем 0,912, тогда как для другого популярного сервиса perATTRACT – лишь 0,614 [25, с. W443]. Алгоритм портала проводит 100 независимых стыковок, оценивает их между собой и предоставляет в качестве результата 10 наиболее вероятных моделей комплекса. Для ранжирования результатов применяется оценочный балл (dock-score); этот показатель не отражает аффинность комплекса или биологическую активность и служит исключительно как способ оценки и сравнения моделей между собой.

Для количественной оценки биологической значимости полученных моделей комплексов применен веб-сервис PRODIGY (PROtein binDIng enerGY prediction) [26]. Данный инструмент предсказывает свободную энергию связывания (ΔG) и константу диссоциации (K_d) на основе анализа трехмерной структуры комплекса, используя контактно-зависимый алгоритм, валидированный на наборах данных белок-белок и белок-лиганд, что позволяет оценить биологическую значимость комплекса белок-лиганд.

Для подготовки моделей к анализу в сервисе PRODIGY использовано программное обеспечение Discovery Studio (версия 2021, Dassault Systèmes). Подготовка моделей включала удаление молекул кристаллизационной воды (за исключением структурно важных), добавление атомов водорода, оптимизацию протонирования при физиологическом значении pH, а также формирование из двух файлов (рецептор и лиганд) единого комплекса с последующим сохранением результата в формате .pdb. Визуализация контактов была выполнена с помощью Discovery Studio и LigPlot, который позволяет построить двухмерную модель связывания.

Результаты. Методом ЖХ-МС/МС в гидролизатах перьевых отходов, полученных ферментацией штаммами *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2, был идентифицирован ряд мажорных пептидных последовательностей (относительное содержание >1 %). Результаты первичного скри-

нинга данных последовательностей в базе BIOPEP-UWM представлены в таблице 1.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что большинство идентифицированных мажорных пептидных последовательностей обладают прогнозируемой антиоксидантной активностью либо содержат фрагменты с доказанной антиоксидантной активностью. Также следует отметить, что большинство пептидов способно проявлять ингибирующую активность в отношении ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), что указывает на их многофункциональный характер.

Для оценки способности наиболее перспективных антиоксидантных пептидов взаимодействовать с Keap1 и, предположительно, активировать Nrf2-зависимый путь антиоксидантной защиты был проведен молекулярный докинг с использованием веб-сервиса HPERDOCK 2.0. В качестве мишени выбрана кристаллографическая структура 2FLU – комплекс Kelch-домена Keap1 с пептидом Nrf2, содержащим мотив ETGE. Результаты докинга представлены в таблице 2.

Анализ межмолекулярных взаимодействий показал, что все исследованные пептиды способны формировать стабильные комплексы с Kelch-доменом Keap1. Наибольшее число контактов и наиболее разнообразный характер взаимодействий характерен для пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG (штамм БАЛ-2), который образует связи с семью аминокислотными остатками рецептора, включая водородные, электростатические и гидрофобные взаимодействия.

Ключевым для понимания механизма действия является тот факт, что в структуре 2FLU сайт связывания Nrf2 образован преимущественно остатками GLU216, ARG146, TYR248, ARG415 и GLN239, формирующими полярный карман на поверхности Kelch-домена. Именно с этими остатками эндогенный лиганд – пептид Nrf2 с мотивом ETGE – образует сеть электростатических и водородных связей, обеспечивающих высокую аффинность ком-

плекса Keap1–Nrf2. В случае пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG наблюдается прямое взаимодействие с GLU216, ARG146 и GLN239 – тремя ключевыми элементами связывающего центра. Это указывает на то, что исследуемый пептид занимает ту же нишу, что и эндогенный лиганд (Nrf2), что

позволяет предположить конкурентный механизм ингибирования.

Для количественной оценки прочности связывания пептидов с Keap1 рассчитаны значения свободной энергии связывания (ΔG) и константы диссоциации (K_d) с использованием сервиса PRODIGY (табл. 3).

Таблица 1. Прогнозируемая биологическая активность мажорных пептидов гидролизатов по данным BIOPEP-UWM

Table 1. Predicted biological activity of major peptide hydrolysates according to BIOPEP-UWM data

№	Пептидная последовательность	Прогнозируемая активность	Фрагменты с известной активностью
<i>Пептиды штамма B. licheniformis БАЛ-1</i>			
1	PTLLQPVHVEID	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4, антиоксидантная, стимулирующая	LQP; QP; VE; LL
2	PTLLQPVHVEI	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4, антиоксидантная, стимулирующая	LQP; QP; VE; LL
3	SLPLSVKFLHNPД	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	PL; LHN; LP
4	LGEDSLPLSVKFLHNPД	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	VK; LHN; NP
5	VIFENYIQNLRRQLD	АПФ-ингибитор, антибактериальная, ингибитор ДПП-4, противовирусная	IF; RR; IQ
6	PQIQQVKNQEKQIKTLNNQFASFID	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4	VK; FA
7	ILIANMGD	АПФ-ингибитор, стимулирующая	IA; IL
8	KQFYPNVVKEGSVMLQID	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	YP; FY; VV
9	IAGTSLKLSDLHANHLRVD	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	IA; LH; HA
10	SGLLSTNEKLTMQNLNDRLASYMD	АПФ-ингибитор, стимулирующая, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	LA; LL; LT
<i>Пептиды штамма B. licheniformis БАЛ-2</i>			
1	GVPISGGF	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4	VP; GF
2	TIPGPILS	АПФ-ингибитор, стимулирующая, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	GP; IL; IP
3	TLPGPILS	АПФ-ингибитор, стимулирующая, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	LPG; IL; GP; PG
4	VPISSGGF	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4	VP; GG
5	GGGDIPRQPLYPPLPPRPG	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	PLP; LY; PP
6	KGLEPIEPNPE	АПФ-ингибитор, ингибитор ДПП-4	GL; EP
7	QPLYPPLPPRPG	АПФ-ингибитор, антиоксидантная, ингибитор ДПП-4	PL; LY; PP

Таблица 2. Межмолекулярные взаимодействия пептидов с Kelch-доменом Keap1 (2FLU)
Table 2. Intermolecular interactions of peptides with the Kelch domain of Keap1 (2FLU)

Лиганд	Аминокислотный остаток рецептора (цепь А)	Тип взаимодействия (число контактов)
GGGDIPRQPLYPPLPPRPG	GLU216	Водородная (2), электростатическая (1)
	ASP25	Электростатическая (1), водородная (1)
	GLN239	Водородная (2)
	PRO23	Водородная (1), гидрофобная (1)
	ARG146	Гидрофобная (2)
	SER24	Водородная (1)
	LEU147, HIS192, HIS238, VAL237	Гидрофобная (по 1)
TIPGPILS	ARG91	Электростатическая (1)
	GLY43, ILE92	Водородная (по 1)
	ALA42, VAL45, CYS44, ILE92, VAL96	Гидрофобная (по 1–2)
SLPLSVKFLHNPD	ARG12	Электростатическая (3)
	ASP294, GLU295	Электростатическая / водородная
	TYR248, GLY250	Водородная (по 1)
	TYR201, LEU293	Электростатическая / гидрофобная
KGLEPIEPNPE	GLU295	Водородная (1), электростатическая (1)
	HIS251	Водородная (2)
	TYR248	Водородная (1), гидрофобная (1)
	GLY298, PHE11, ARG12, LEU293	Водородная / гидрофобная
KQFYPNVVKEGSMVLQID	GLU218	Электростатическая (2), водородная (2)
	ARG146	Гидрофобная (2)
	VAL143, LEU49, VAL215	Гидрофобная (по 1)
PQIQQVKNQEKEQIKTLN NQFASFID	GLU218	Смешанная (водородная + электростатическая) (2)
	ARG146	Гидрофобная (2)
	VAL143, LEU49, VAL215	Гидрофобная (по 1)

Таблица 3. Термодинамические параметры связывания пептидов с Kelch-доменом Keap1
Table 3. Thermodynamic parameters of peptide binding to the Keap1 Kelch domain

Последовательность	ΔG , ккал·моль ⁻¹	Kd, M (25 °C)
GGGDIPRQPLYPPLPPRPG	–9,8	$6,6 \times 10^{-8}$
TIPGPILS	–8,8	$3,4 \times 10^{-7}$
SLPLSVKFLHNPD	–8,2	$9,3 \times 10^{-7}$
KGLEPIEPNPE	–8,1	$1,1 \times 10^{-6}$
KQFYPNVVKEGSMVLQID	–7,8	$1,8 \times 10^{-6}$
PQIQQVKNQEKEQIKTLN NQFASFID	–7,6	$1,2 \times 10^{-7}$

Наиболее отрицательное значение свободной энергии связывания ($\Delta G = -9,8$ ккал·моль⁻¹) и наименьшая константа диссоциации ($K_d = 6,6 \times 10^{-8}$ M) характерны для пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG, что свидетельствует о формировании наиболее стабильного комплекса с Keap1. Значения ΔG для остальных пептидов находятся в диапазоне от $-7,6$ до $-8,8$ ккал·моль⁻¹, что также указывает на высокую аффинность связывания. Полученные значения могут указывать на биологическую значимость белок-лигандных взаимодействий.

Трехмерная модель комплекса пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG с Kelch-доменом Keap1 представлена на рисунке 1.

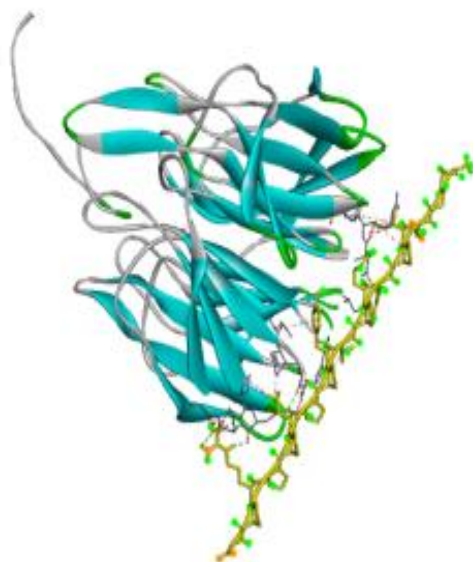
Для экспериментального подтверждения антиоксидантного потенциала исследуемых образцов была определена их общая антиоксидантная емкость методами FRAP, DPPH и ORAC. Полученные данные показали, что при использовании методов FRAP и DPPH антиоксидантная активность всех образцов находилась ниже предела обнаружения. При этом методом ORAC была выявлена выраженная антиоксидантная емкость у гидролизатов штаммов БАЛ-1 и БАЛ-2, тогда как для исходного пера данный показатель был существенно ниже.

Наибольшее значение ОАЕ по методу ORAC было установлено для гидролизата штамма БАЛ-2 – $997,46 \pm 66,04$ мкмоль-экв.

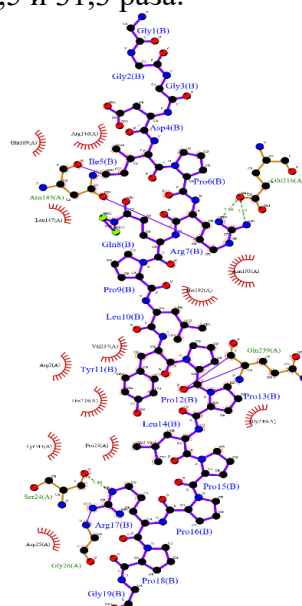
кверцетина/л образца. Для гидролизата штамма БАЛ-1 данный показатель составил $812,68 \pm 32,62$ мкмоль-экв. кверцетина/л образца. Минимальная антиоксидантная емкость была отмечена для исходного пера – $31,85 \pm 4,40$ мкмоль-экв. кверцетина/л образца. Таким образом, ферментированные образцы БАЛ-1 и БАЛ-2 характеризовались более высокой антиоксидантной емкостью по сравнению с исходным перьевым субстратом.

Обсуждение. Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что микробиологическая ферментация

перьевых отходов штаммами *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 приводит к существенному увеличению антиоксидантной емкости гидролизатов в сравнении с нативным пером. Значения данного показателя, определенные методом ORAC, составили $812,68 \pm 32,62$ и $997,46 \pm 66,04$ мкмоль-экв. кверцетина/л для гидролизатов БАЛ-1 и БАЛ-2 соответственно, тогда как для нативного перьевого субстрата этот показатель находился на уровне $31,85 \pm 4,40$ мкмоль-экв. кверцетина/л, что соответствует увеличению антиоксидантной емкости в 25,5 и 31,3 раза.



а. Keap1 (цепь А) и пептид GGGDIPRQPLYPPLPPRPG, общий план



б. Keap1 (цепь А) и пептид GGGDIPRQPLYPPLPPRPG, детализация контактов (LigPlot)

Рис. 1. Трехмерная и двухмерная модель комплекса пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG с Kelch-доменом Keap1 (PDB ID: 2FLU)

Fig. 1. Three-dimensional and two-dimensional model of the complex of the GGGDIPRQPLYPPLPPRPG peptide with the Keap1 Kelch domain (PDB ID: 2FLU)

Таблица 4. Общая антиоксидантная емкость исследуемых образцов по методу ORAC, мкмоль-экв. кверцетина/л

Table 4. Total antioxidant capacity of the studied samples according to the ORAC method, $\mu\text{mol-eq quercetin/l}$

Повторность	Гидролизат штамма БАЛ-1	Гидролизат штамма БАЛ-2	Перо
1	774,31	950,55	28,12
2	853,90	939,18	36,65
3	814,10	1081,32	28,12
4	808,42	1018,78	34,52
Среднее	$812,68 \pm 32,62$	$997,46 \pm 66,04$	$31,85 \pm 4,40$

Примечание: значения приведены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение.

Стоит отметить, что исследования антиоксидантных свойств пептидных гидролизатов затруднены, так как существует огромное разнообразие единиц измерения, используемых в литературных источниках, что затрудняет прямое сравнение полученных данных. Для перевода результатов из кверцетин-эквивалентов в тролокс-эквиваленты, принятые в большинстве международных исследований, могут быть использованы коэффициенты пересчета, предложенные в работе [28, с. 1496]. С учетом того, что кверцетин обладает приблизительно в 2,07 раза более высокой антиоксидантной активностью в системе ORAC по сравнению со стандартным водорастворимым аналогом токоферола – тролоксом, пересчет полученных значений в тролокс-эквиваленты дает показатели 1682 ± 68 и 2065 ± 137 мкмоль ТЕ/л для гидролизатов БАЛ-1 и БАЛ-2 соответственно.

Данные величины находятся в диапазоне, сопоставимом с результатами, представленными в литературе для пептидных антиоксидантов из различных белковых субстратов. В частности, для антиоксидантного пептида RR4, выделенного из молозива крупного рогатого скота, значение FRAP составило $2,08 \pm 0,07$ ммоль-экв. тролокса/л [29, с. 174], что близко к показателям, полученным в настоящем исследовании методом ORAC.

Вместе с тем необходимо отметить, что при использовании методов FRAP и

DRPH антиоксидантная активность всех исследованных образцов находилась ниже предела обнаружения. Данное расхождение результатов, полученных различными аналитическими подходами, может быть объяснено спецификой химических механизмов, лежащих в основе каждого из методов, а также особенностями аминокислотного состава пептидных фракций гидролизатов.

Согласно современным представлениям, антиоксидантная активность пептидов определяется реакционной способностью отдельных аминокислотных остатков, при этом общая активность пептида может варьировать от нуля до суммы активностей составляющих его аминокислот [27, с. 1]. Значения антиоксидантной активности могут быть меньше, чем математически рассчитанная сумма, поскольку трехмерная структура пептида может ограничивать доступ реакционных центров аминокислотных остатков к радикалам. В работе [27, с. 1] продемонстрировано, что в общую антиоксидантную емкость наибольший вклад вносят цистеин, тирозин и триптофан, тогда как гистидин, аргинин и цистин проявляют умеренную активность (табл. 5).

Анализ мажорных пептидов, идентифицированных методом ЖХ-МС/МС, показал следующее распределение реакционноспособных остатков, представленных в таблице 6.

Таблица 5. Реакционная способность аминокислот в различных методах оценки антиоксидантной активности [27, с. 1]

Table 5. Reactivity of amino acids in various methods for assessing antioxidant activity [27, p. 1]

Аминокислота	ABTS• [моль ТЕ/моль]	FRAP [моль ТЕ/моль]	CUPRAC [моль ТЕ/моль]
Цистеин (Cys)	$2,07 \pm 0,24$	$0,725 \pm 0,065$	$1,775 \pm 0,110$
Тирозин (Tyr)	$4,07 \pm 0,86$	$0,260 \pm 0,022$	$1,656 \pm 0,215$
Триптофан (Trp)	$3,32 \pm 0,52$	$0,385 \pm 0,007$	$0,401 \pm 0,042$
Цистин (Cys-Cys)	$0,15 \pm 0,02$	$0,045 \pm 0,003$	Нет реакции
Гистидин (His)	$0,50 \pm 0,10$	Нет реакции	Нет реакции
Аргинин (Arg)	$0,40 \pm 0,04$	Нет реакции	Нет реакции

Таблица 6. Анализ аминокислот в исследуемых пептидах
Table 6. Analysis of amino acids in the studied peptides

Штамм	Пептидные последовательности	Присутствующие аминокислотные остатки	Отсутствующие антиоксидантные аминокислотные остатки
БАЛ-1	PTLLQPVHVEID; PTLLQPVHVEI	гистидин (1 остаток)	цистеин, тирозин, триптофан
БАЛ-1	SLPLSVKFLHNP; LGEDSLPLSVKFLHNP	гистидин (1 остаток), фенилаланин (1 остаток)	цистеин, тирозин, триптофан
БАЛ-1	VIFENYIQNLRRQLD	тирозин (1 остаток)	цистеин, триптофан, гистидин
БАЛ-1	KQFYPNVVKESVMLQI D	тирозин (1 остаток), фенилаланин (1 остаток), метионин (1 остаток)	цистеин, триптофан, гистидин
БАЛ-1	SGLLSTNEKLTMQNLNDR LASYMD	тирозин (1 остаток), метионин (2 остатка)	цистеин, триптофан, гистидин
БАЛ-1	IAGTSLKSLDLHANLRLV D	гистидин (2 остатка)	цистеин, тирозин, триптофан
БАЛ-2	GVPISSGGF; TIPGPILS; TLPGPILS; VPISSGGF	отсутствуют	цистеин, тирозин, триптофан, гистидин, метионин
БАЛ-2	GGGDIPRQPLYPPLPPRPG	тирозин (1 остаток)	цистеин, триптофан, гистидин, метионин
БАЛ-2	QPLYPPLPPRPG	тирозин (1 остаток)	цистеин, триптофан, гистидин, метионин
БАЛ-2	KGLEIPEPNPE	отсутствуют	цистеин, тирозин, триптофан, гистидин, метионин

Как можно увидеть из таблицы 6, из 17 идентифицированных мажорных пептидов только 8 содержат хотя бы одну антиоксидантную аминокислоту (тирозин, Гистидин, метионин), при этом в большинстве случаев представлен лишь единственный остаток. Полное отсутствие цистеина и триптофана во всех пептидах является критическим фактором, поскольку именно эти аминокислоты обладают наибольшей реакционной способностью в методах FRAP и CUPRAC [27, с. 1]. Единичные остатки тирозина и гистидина не обеспечивают достаточной восстановительной емкости для детекции в методах FRAP и DPPH, что и объясняет получение результатов ниже предела обнаружения. Результаты молекулярного докинга позволяют предположить наличие у выявленных пептидов, наряду с прямым действием, опосредованный клеточный механизм действия через систему Keap1/Nrf2. Рассчитанная высокая аффинность пептида GGGDIPRQPLYPPLPPRPG к Kelch-домену Keap1 ($\Delta G = -9,8$ ккал·моль⁻¹; $K_d = 6,6 \times 10^{-8}$ М) и пространственное перекрытие его связывающего сайта с мотивом ETGE эндогенного лиганда Nrf2 указывают на потенциальную способность пептида конкурентно ингибировать взаимодействие Keap1-Nrf2,

предотвращая убиквитин-зависимую деградацию транскрипционного фактора. Следует подчеркнуть, что *in silico*-прогноз взаимодействия с Keap1 и *in vitro*-оценка антиоксидантной емкости отражают принципиально различные механизмы: первый характеризует потенциал клеточной сигнальной активации Nrf2-пути, второй – прямую химическую способность к гашению свободных радикалов. Отсутствие прямой корреляции между указанными параметрами является ожидаемым и согласуется с данными [30, с. 20062], продемонстрировавшими, что антиоксидантные пептиды, выделенные из кератина пера, реализуют свою активность в клеточных моделях преимущественно через активацию сигнального пути Keap1/Nrf2. Способность пищевых пептидов напрямую ингибировать взаимодействие Keap1-Nrf2 была ранее показана для пептидов яичного белка [31, с. 34963], что подтверждает обоснованность исследования данного подхода. Следует отметить ряд ограничений настоящего исследования. Во-первых, суммарный показатель ORAC-активности не может быть однозначно связан с конкретными пептидными последовательностями, поскольку определяется совокупным действием множества пептидных фрак-

ций и сопутствующих низкомолекулярных компонентов гидролизата. Во-вторых, для подтверждения опосредованного действия выявленных пептидов через систему Keap1/Nrf2 необходимы исследования на клеточных моделях. В-третьих, для установления количественного вклада отдельных пептидов в общую антиоксидантную емкость требуется фракционирование гидролизатов по молекулярной массе и характеристика очищенных пептидных фракций. Указанные направления планируется реализовать в дальнейших исследованиях.

Заключение. В результате исследования показано, что микробиологическая ферментация куриного пера штаммами *B. licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2 приводит к формированию пептидных фракций с антиоксидантным потенциалом. По данным BIOPER-UWM, мажорные пептиды содержали фрагменты с прогнозируемой антиоксидантной активностью, а молекулярный

докинг подтвердил возможность их взаимодействия с Kelch-доменом Keap1; наибольшую аффинность показал пептид GGGDIPRQPLYPLPPRPG ($\Delta G = -9,8$ ккал·моль⁻¹; $K_d = 6,6 \times 10^{-8}$ М). Экспериментально установлено, что показатели FRAP и DPPH для всех образцов находились ниже предела обнаружения, что обусловлено особенностями методов измерения и специфическим аминокислотным составом, полученным в результате ферментации; в то же время показатель ORAC был существенно выше у гидролизатов БАЛ-1 и БАЛ-2, чем у исходного пера. Максимальный показатель выявлен у гидролизата БАЛ-2 – $997,46 \pm 66,04$ мкмоль-экв. кверцетина/л образца; для БАЛ-1 он составил $812,68 \pm 32,62$, для пера – $31,85 \pm 4,40$. Полученные данные подтверждают перспективность гидролизатов *B. licheniformis* для дальнейшего изучения как основы функциональных кормовых добавок.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflict of interests

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // Redox Biology. 2015. No. 4. P. 180-183. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.005.
2. Poljsak B., Milisav I. The Neglected Significance of «Antioxidative Stress» // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2012. P. 1-11. DOI: 10.1155/2012/459835.
3. Surai P.F., Fisinin V. Modern anti-stress technologies in poultry farming: from antioxidants to vitagenes // Agricultural Biology. 2012. No. 4. P. 3-13.
4. Salganik R.I. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population // Journal of the American College of Nutrition. 2001. Vol. 20, No. 5. P. 464S-472S. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719171.
5. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development / Fan H. [et al.] // Journal of Future Foods. 2022. No. 2 (2). P. 143-159. DOI: 10.1016/j.jfut.2022.06.001.
6. A comprehensive review of shellfish peptides: Extraction, characterization, biological activity, and commercial potential / Guo S. [et al.] // Journal of Functional Foods. 2026. Vol. 140. P. 107252.
7. Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review / Liu W. [et al.] // Foods. 2022. No. 11 (15). P. 2361. DOI: 10.3390/foods11152361.
8. Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action / Akbarian M. [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, No. 3. P. 1445. DOI: 10.3390/ijms23031445.

9. Emerging proteins as precursors of bioactive peptides/ hydrolysates with health benefits / Wang S. [et al.] // *Current Opinion in Food Science*. 2022. Vol. 48. P. 100914. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100914.
10. Ovchinnikova T.V. Marine Peptides: Structure, Bioactivities, and a New Hope for Therapeutic Application // *Marine Drugs*. 2021. Vol. 19, No. 8. P. 407. DOI: 10.3390/md19080407.
11. A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species / Guha S. [et al.] // *Food Production, Processing and Nutrition*. 2021. No. 3v(1). P. 2. DOI: 10.1186/s43014-020-00046-6.
12. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences / Montesano D. [et al.] // *Current Opinion in Food Science*. 2020. Vol. 31. P. 31-37. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.12.004.
13. The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins / Zou T.B. [et al.] // *Molecules*. 2016. Vol. 21, No. 1. P. 72. DOI: 10.3390/molecules21010072.
14. Tonelli C., Chio I.I.C., Tuveson D.A. Transcriptional Regulation by Nrf2 // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2018. Vol. 29, No. 17. P. 1727-1745. DOI: 10.1089/ars.2017.7342.
15. Advances on the Antioxidant Peptides from Nuts: A Narrow Review / Zhao F. [et al.] // *Antioxidants*. 2022. No. 11(10). P. 2020. DOI: 10.3390/antiox11102020.
16. Cyclic Peptide Keap1–Nrf2 Protein–Protein Interaction Inhibitors: Design, Synthesis, and In Vivo Treatment of Acute Lung Injury / Zou J. [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2024. Vol. 67, No. 6. P. 4889-4903. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c02263.
17. Protein-Like Polymers Targeting Keap1/Nrf2 as Therapeutics for Myocardial Infarction / Mesfin J.M [et al.] // *Advanced Materials*. 2025. Vol. 37 (27). P. 2417885.
18. Pharmacological characterization of a novel peptide inhibitor of the Keap1-Nrf2 protein-protein interaction / Aparici M. [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. 2022. Vol. 204. P. 115226. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115226.
19. Ma Q. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2013. Vol. 53. P. 401-426. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.
20. Ma C., Chuang Y., Zhang J. Progress in Research on Animal Collagen Peptides: Preparation, Bioactivity, and Application // *Molecules*. 2025. Vol. 30 (15). P. 3061.
21. Пискаева А.И. Биотехнологические аспекты утилизации отходов птицеперерабатывающих предприятий // *Уникальные исследования XXI века*. 2016. № 10 (22). С. 5-12.
22. Daroit D.J., Brandelli A. A current assessment on the production of bacterial keratinases // *Critical Reviews in Biotechnology*. 2014. Vol. 34, No. 4. P. 372-384. DOI: 10.3109/07388551.2013.838215.
23. Minkiewicz P., Darewicz M., Iwaniak A. BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current State and Perspectives // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. Vol. 67 (38). P. 10635-10646. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03064.
24. Бетехтин К.Э., Машенцева Н.Г., Зиганшин Р.Х. Образование биологически активных пептидов в гидролизатах пера, полученных с использованием *Bacillus licheniformis* БАЛ-1 и БАЛ-2. // *Биотехнология: научные исследования и связь с производством*. М., 2025. С. 166-170 DOI: 10.47804/978-5-89904-038-2-2024-170-173.
25. HPEPDOCK: a web server for blind peptide–protein docking based on a hierarchical algorithm / Zhou P. [et al.] // *Nucleic Acids Research*. 2018. Vol. 46(W1). P. W443-W450. DOI: 10.1093/nar/gky498.
26. Vangone A., Bonvin A.M.J.J. Contacts-based prediction of binding affinity in protein-protein complexes // *eLife*. 2015. No. 4. P. e07454. DOI: 10.7554/eLife.07454.
27. Kut K., Bartosz G., Sadowska-Bartosz I. Denaturation and Digestion Increase the Antioxidant Capacity of Proteins // *Processes*. 2023. No. 11(5). P. 1362. DOI: 10.3390/pr11051362.
28. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay / Apak R. [et al.] // *Molecules*. 2007. No. 12(7). P. 1496-1547. DOI: 10.3390/molecules12071496.
29. Выделение, характеристика и перспективы использования пептидов молозива коров / Тихонов С.Л. [и др.] // *Ползуновский вестник*. 2022. № 4. С. 174-186.
30. Novel Antioxidant Peptides Derived from Feather Keratin Alleviate H₂O₂-Induced Oxidative Damage in HepG2 Cells via Keap1/Nrf2 Pathway / Pei X.D. [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2023. Vol. 71, No. 50. P. 20062-20072. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c04567.

31. Direct inhibition of Keap1–Nrf2 interaction by egg-derived peptides DKK and DDW revealed by molecular docking and fluorescence polarization / Li L. [et al.] // RSC Advances. 2017. No. 7(56). P. 34963-34971. DOI: 10.1039/c7ra05934a.

REFERENCES

1. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // Redox Biology. 2015. No. 4. P. 180-183. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.005.
2. Poljsak B., Milisav I. The Neglected Significance of «Antioxidative Stress» // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2012. P. 1-11. DOI: 10.1155/2012/459835.
3. Surai P.F., Fisinin V. Modern anti-stress technologies in poultry farming: from antioxidants to vitagenes // Agricultural Biology. 2012. No. 4. P. 3-13.
4. Salganik R.I. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population // Journal of the American College of Nutrition. 2001. Vol. 20, No. 5. P. 464S-472S. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719171.
5. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development / Fan H. [et al.] // Journal of Future Foods. 2022. No. 2 (2). P. 143-159. DOI: 10.1016/j.jfut.2022.06.001.
6. A comprehensive review of shellfish peptides: Extraction, characterization, biological activity, and commercial potential / Guo S. [et al.] // Journal of Functional Foods. 2026. Vol. 140. P. 107252.
7. Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review / Liu W. [et al.] // Foods. 2022. No. 11 (15). P. 2361. DOI: 10.3390/foods11152361.
8. Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action / Akbarian M. [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, No. 3. P. 1445. DOI: 10.3390/ijms23031445.
9. Emerging proteins as precursors of bioactive peptides/ hydrolysates with health benefits / Wang S. [et al.] // Current Opinion in Food Science. 2022. Vol. 48. P. 100914. DOI: 10.1016/j.cofs.2022.100914.
10. Ovchinnikova T.V. Marine Peptides: Structure, Bioactivities, and a New Hope for Therapeutic Application // Marine Drugs. 2021. Vol. 19, No. 8. P. 407. DOI: 10.3390/md19080407.
11. A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species / Guha S. [et al.] // Food Production, Processing and Nutrition. 2021. No. 3v (1). P. 2. DOI: 10.1186/s43014-020-00046-6.
12. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences / Montesano D. [et al.] // Current Opinion in Food Science. 2020. Vol. 31. P. 31-37. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.12.004.
13. The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins / Zou T.B. [et al.] // Molecules. 2016. Vol. 21, No. 1. P. 72. DOI: 10.3390/molecules21010072.
14. Tonelli C., Chio I.I.C., Tuveson D.A. Transcriptional Regulation by Nrf2 // Antioxidants & Redox Signaling. 2018. Vol. 29, No. 17. P. 1727-1745. DOI: 10.1089/ars.2017.7342.
15. Advances on the Antioxidant Peptides from Nuts: A Narrow Review / Zhao F. [et al.] // Antioxidants. 2022. No. 11(10). P. 2020. DOI: 10.3390/antiox11102020.
16. Cyclic Peptide Keap1–Nrf2 Protein–Protein Interaction Inhibitors: Design, Synthesis, and In Vivo Treatment of Acute Lung Injury / Zou J. [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. 2024. Vol. 67, No. 6. P. 4889-4903. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c02263.
17. Protein-Like Polymers Targeting Keap1/Nrf2 as Therapeutics for Myocardial Infarction / Mesfin J.M [et al.] // Advanced Materials. 2025. Vol. 37 (27). P. 2417885.
18. Pharmacological characterization of a novel peptide inhibitor of the Keap1–Nrf2 protein-protein interaction / Aparici M. [et al.] // Biochemical Pharmacology. 2022. Vol. 204. P. 115226. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115226.
19. Ma Q. Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2013. Vol. 53. P. 401-426. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.
20. Ma C., Chuang Y., Zhang J. Progress in Research on Animal Collagen Peptides: Preparation, Bioactivity, and Application // Molecules. 2025. Vol. 30 (15). P. 3061.

21. Piskaeva, A.I. Biotechnological aspects of waste disposal at poultry processing plants // Unique research of the 21st century. 2016. No. 10 (22). P. 5-12. [In Russ.].
22. Daroit D.J., Brandelli A. A current assessment on the production of bacterial keratinases // Critical Reviews in Biotechnology. 2014. Vol. 34, No. 4. P. 372-384. DOI: 10.3109/07388551.2013.838215.
23. Minkiewicz P., Darewicz M., Iwaniak A. BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current State and Perspectives // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2019. Vol. 67 (38). P. 10635-10646. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03064.
24. Betekhtin K.E., Mashenzeva N.G., Ziganshin R.Kh. Formation of biologically active peptides in feather hydrolysates obtained using *Bacillus licheniformis* BAL-1 and BAL-2. // Biotechnology: research and production links. Moscow, 2025. P. 166-170 DOI: 10.47804/978-5-89904-038-2-2024-170-173 [In Russ.].
25. HPEPDOCK: a web server for blind peptide-protein docking based on a hierarchical algorithm / Zhou P. [et al.] // Nucleic Acids Research. 2018. Vol. 46(W1). P. W443-W450. DOI: 10.1093/nar/gky498.
26. Vangone A., Bonvin A.M.J.J. Contacts-based prediction of binding affinity in protein-protein complexes // eLife. 2015. No. 4. P. e07454. DOI: 10.7554/eLife.07454.
27. Kut K., Bartosz G., Sadowska-Bartos I. Denaturation and Digestion Increase the Antioxidant Capacity of Proteins // Processes. 2023. No. 11(5). P. 1362. DOI: 10.3390/pr11051362.
28. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay / Apak R. [et al.] // Molecules. 2007. No. 12(7). P. 1496-1547. DOI: 10.3390/molecules12071496.
29. Isolation, characteristics and prospects for the use of bovine colostrum peptides / Tikhonov S.L. [et al.] // Polzunovsky Bulletin. 2022. No. 4. P. 174-186. [In Russ.].
30. Novel Antioxidant Peptides Derived from Feather Keratin Alleviate H₂O₂-Induced Oxidative Damage in HepG2 Cells via Keap1/Nrf2 Pathway / Pei X.D. [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2023. Vol. 71, No. 50. P. 20062-20072. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c04567.
31. Direct inhibition of Keap1-Nrf2 interaction by egg-derived peptides DKK and DDW revealed by molecular docking and fluorescence polarization / Li L. [et al.] // RSC Advances. 2017. No. 7(56). P. 34963-34971. DOI: 10.1039/c7ra05934a.

Информация об авторах / Information about the authors

Бетехтин Кирилл Эдуардович, аспирант, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1687-9801>

Большев Николай Алексеевич, магистрант, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3781-4410>, e-mail: nikolai.bolshev@yandex.ru

Ядерец Вера Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии и биоорганического синтеза, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5220-7877>

Машенцева Наталья Геннадьевна, доктор технических наук, профессор, профессор РАН, профессор кафедры биотехнологии и биоорганического синтеза, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский

биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)»; 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>

Kirill E. Betekhtin, Postgraduate student, Russian Biotechnology University (ROSBIO-OTECH); 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoe Shosse, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1687-9801>

Nikolai A. Bolshev, Master student, Russian Biotechnology University (ROSBIO-OTECH); 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoe Shosse, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3781-4410>, e-mail: nickolai.bolshev@yandex.ru

Vera V. Yaderets, PhD (Biology), Associate Professor, the Department of Biotechnology and Bioorganic Synthesis, Russian Biotechnology University (ROSBIO-OTECH); 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoe Shosse, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5220-7877>

Natalya G. Mashenzeva, Dr Sci. (Eng.), Professor, the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Bioorganic Synthesis, Russian Biotechnology University (ROSBIO-OTECH); 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoe Shosse, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9287-0585>

Заявленный вклад авторов

Бетехтин Кирилл Эдуардович – проведение эксперимента, работа с базами данных.

Большев Николай Алексеевич – оформление работы по требованиям журнала, проведение молекулярного докинга.

Ядерев Вера Владимировна – подбор литературных источников, работа с введением и обсуждением результатов.

Машенцева Наталья Геннадьевна – разработка дизайна исследования, критическая редакция текста работы.

Claimed contribution of the authors

Kirill E. Betekhtin – conducting the experiment, database management.

Nikolai A. Bolshev – formatting the manuscript according to the Journal requirements, conducting molecular docking.

Vera V. Yaderets – selection of literary sources, presentation, and discussion of the results.

Natalya G. Mashenzeva – design, critical editing.

Поступила в редакцию 02.07.2026

Поступила после рецензирования 06.08.2026

Принята к публикации 07.08.2026

Received 02.07.2026

Revised 06.08.2026

Accepted 07.08.2026