

УДК 577.122.8

DOI: <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.98.38-41>

Сергій ЩИПАНСЬКИЙ, асп.

ORCID ID: 0000-0002-6259-7784

e-mail: shchipansky.s@ukr.net

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Олексій САВЧУК, студ.

ORCID ID: 0009-0005-3743-4763

e-mail: oleksiisavchuk@knu.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Тетяна ГАЛЕНОВА, канд. біол. наук, ст. дослідник

ORCID ID: 0000-0003-2973-2646

e-mail: galenovatanya@knu.ua

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВПЛИВ ПЕПТИДІВ ЛУШПИННЯ КВАСОЛІ ЗВИЧАЙНОЇ НА РІВЕНЬ ГЛЮКОЗИ У КРОВІ ЩУРІВ

Вступ. Пептиди з рослин, особливо з квасолі, мають величезний потенціал для терапії. Вони доступні, виробляються без використання тварин і мають багато переваг над традиційними ліками. Дослідження показують їхні антимікробні, антиоксидантні та антиглікемічні властивості. Лушпиння квасолі, що зазвичай викидається, є цінним джерелом біоактивних речовин. Доступність та низька вартість роблять їх привабливими для біотехнологій. Було виділено та досліджено пептиди із лушпиння квасолі, зокрема їхні гіпоглікемічні властивості.

Методи. Для отримання пептидної фракції, було підготовано водний екстракт сухого лушпиння, після чого проведено кислотний гідроліз білок-вмісного розчину, і його подальший діаліз. Для оцінювання впливу пептидів на рівні глюкози у крові щурів проведено пероральний глюкозо-толерантний тест з подальшим порівнянням результатів експериментальних тварин, яким вводили пептиди, із контрольними тваринами, яким вводили воду.

Результати. У дослідженні пептиди з лушпиння квасолі тимчасово підвищили рівень глюкози у щурів (на 26 %), але після введення глюкози, рівень глюкози в експериментальній групі (що отримала пептиди) зріс значно менше – лише на 4,6 %, ніж у контрольній групі (зростання на 50 %). Через 90 хв після введення глюкози в обох групах рівень глюкози повернувся до одного рівня.

Висновки. Спочатку рівень глюкози у щурів, яким ввели пептиди, зріс. Це може бути пов'язано з наявністю вуглеводів у розчині пептидів. Однак після введення глюкози рівень глюкози в експериментальній групі зріс набагато повільніше, ніж у контрольній. Це свідчить про те, що пептиди можуть впливати на утилізацію глюкози, наприклад, на транспортери глюкози або на секрецію інсуліну. Ефект пептидів може бути пов'язаний з їх гідролізом у шлунку та кишечнику, що вивільняє біологічно активні фрагменти. Результати показують, що пептиди з лушпиння квасолі можуть пом'якшувати різке підвищення рівня глюкози, що може бути корисним для людей з порушенням толерантності до глюкози. Подальші дослідження допоможуть розкрити механізм дії пептидів та їх потенційне застосування.

Ключові слова: квасоля звичайна, біоактивні пептиди, глюкоза, глюкозо-толерантний тест.

Вступ

Біоактивні пептиди з рослинних джерел, зокрема ті, що отримані з квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*), привертають значну увагу завдяки своїм потенційним терапевтичним застосуванням. Ці пептиди мають кілька переваг над традиційними фармацевтичними препаратами, включаючи доступність, виробництво без використання тварин та відсутність етичних обмежень. Численні дослідження довели антимікробну, антиоксидантну, антиглікемічну та інші корисні властивості пептидів рослинного походження (Fan et al., 2022).

Стручки квасолі звичайної, давно відомі своїми лікувальними властивостями в традиційній медицині, є добре відомим джерелом біоактивних пептидів. Багато дослідників уже охарактеризували ці пептиди, а також їхні амінокислотні послідовності, біологічну активність та потенційні взаємодії з рецепторами (de Fátima García, de Barros, & de Souza Rocha, 2021; Hu et al., 2023). Особливу увагу пептидам із квасолі приділяють завдяки широковідомим гіпоглікемічним властивостям. У дослідженні (Mojica et al., 2024) унаслідок ферментативного протеолізу бобів квасолі звичайної було отримано суміш із близько 20 пептидів, які мали істотні глюкозо-знижувальні властивості у клінічних дослідженнях на добровольцях. Крім того, в іншому дослідженні було виявлено, що пептиди розміром до 1 кДа мали властивість знижувати накопичення жирів в адипо-

цитах, а також стимулювати секрецію інсуліну у клітин інсуліноми (Oseguera Toledo et al., 2016). Сьогодні всі дослідження пептидів з *P. vulgaris* стосуються саме пептидів, що були отримані з гідролізатів білків бобів (плодів) квасолі, проте майже відсутні роботи по дослідженню інших частин стручка, наприклад лушпиння. Незважаючи на те, що лушпиння стручків квасолі зазвичай викидаються як неістівні, вони є потенційно цінним джерелом біоактивних сполук. Їхня велика кількість та низька вартість роблять їх привабливими для біотехнологічних застосувань (Tassoni et al., 2020).

Зважаючи на все вищесказане, наше дослідження було спрямоване на виділення та характеристику пептидів із лушпиння *P. vulgaris* в аспекті їхніх потенційних гіпоглікемічних властивостей. Задля одержання пептидних фракцій було застосовано методику кислотного гідролізу для отримання пептидів, які є складовими поліпептидів та білків, присутніх у клітинах лушпиння.

Методи

Для екстракції біоактивних сполук 132 г сухого подрібненого лушпиння квасолі ми змішали з 1 л киплячої дистильованої води. Потім суміш герметично закрили та дали настоятися протягом 15 хв. Після охолодження суміш профільтрували та центрифугували за 1000 г протягом 10 хв. Отриманий супернатант зібрали та ліофілізували, отримавши приблизно 8 г сухої речовини.

Для отримання пептидів методом кислотного гідролізу до 8 г ліофілізованого екстракту лушпиння квасолі було додано 250 мл 1 М оцтової кислоти. Потім суміш гідролізували протягом 1 год, постійно перемішуючи. Після цього розчин нагрівали до 100 °С, кип'ятили протягом 1 год та охолоджували до кімнатної температури. Потім суспензію центрифугували за 5000 об./хв протягом 45 хв, а зібраний супернатант ліофілізували. Для видалення низькомолекулярних домішок небілкової природи, зокрема фенолів, моносахаридів, які могли б вплинути на результати дослідження, було проведено діаліз розчину отриманих пептидів проти дистильованої води, після чого отриману фракцію ліофілізували.

Пероральний глюкозо-толерантний тест проводили на лабораторних щурах. Всього для експерименту було випадковим чином обрано самців нелінійних щурів-альбіносів (180 ± 3 г). Кожна тварина перебувала в індивідуальній клітці у стандартних умовах віварію (20–24 °С, 30–70 % вологості, 12-годинний світловий день). Тварин було умовно поділено на 2 групи – контрольна та експериментальна. За день до проведення експерименту щурів залишали без доступу до корму на 1 ніч, і наступного дня проводили експеримент. На початку дослідження було проведено замір рівня глюкози із хвостової вени за допомогою глюкометра ACCU Chek Active (Roche Diagnostics, Швейцарія). Після цього, контрольні щури перорально отримали 2 мл води перорально, а експериментальна група отримувала 2 мл розчину попередньо отриманих пептидів із лушпиння квасолі (100 мг/кг маси тіла). Через 30 хв після цього у обох груп було виміряно концентрацію глюкози та перорально введено 2 мл розчину глюкози (2 г/кг маси тіла). Подальше вимірювання рівня глюкози відбувалось через 30 хв та 90 хв від моменту введення глюкози щурам.

Для забезпечення вищої точності результатів усі зразки готували та вимірювали в трьох повторях.

Отримані результати потім усереднювали та представляли як середнє ± стандартна помилка середнього ($M \pm m$). Статистичну значущість визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) за допомогою онлайн-програмного забезпечення OpenEpi. Різниці між двома групами пептидів вважалися статистично значущими, якщо значення p було менше 0,05 ($p < 0,05$).

Результати

Пероральний глюкозо-толерантний тест (ПГТТ) є корисним методом не тільки для первинного визначення порушень вуглеводного обміну, але й для оцінювання ефективності сполук, які здатні знижувати рівень глюкози або підвищувати рівень інсуліну у плазмі (Bartoli, Fra, & Schianca, 2011). Цей метод ми обрали для визначення потенціалу пептидів із лушпиння квасолі, щоб знижувати рівень глюкози в крові щурів, яким перорально вводили розчин глюкози. Згідно з результатами, які відображено на рис. 1, пероральне введення розчину пептидів спричинило тимчасове зростання рівня глюкози (приблизно на 26 ± 0,5 % порівняно з рівнем глюкози на початку експерименту) у крові, ще до введення розчину глюкози. Проте після введення глюкози обом групам щурів рівень глюкози у контрольній групі зріс на 50 ± 9 % (з 4,05 ммоль/л до 6,1 ммоль/л), а в експериментальній групі – зріс лише на 4,6 ± 0,1 % порівняно з періодом після введення пептидів та на 34,9 ± 0,4 % порівняно з рівнем на початку експерименту. Станом на період 90 хв після введення глюкози щурам рівень їх глюкози в крові знизився на 11 ± 3 % від попереднього вимірювання в контрольній групі та на 6,25 ± 0,55 % в експериментальній групі, тож на цей період рівні глюкози у цих групах повернулися до однакових значень у межах статистичної похибки.

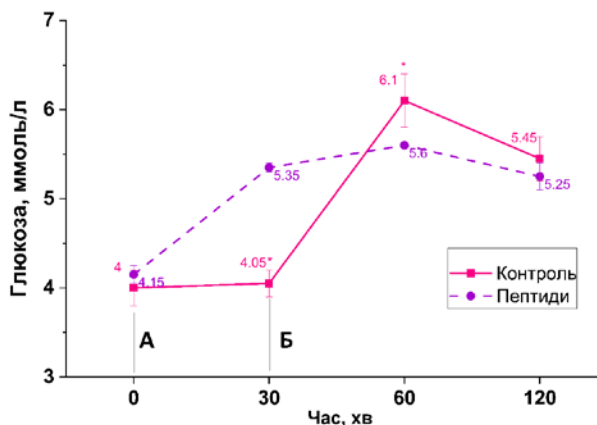


Рис. 1. Хронометрія концентрації глюкози у крові щурів впродовж ПГТТ

(А – період перорального введення контрольним тваринам питної води, експериментальним тваринам – розчину пептидів; Б – період перорального введення обом групам тварин 2 мл розчину глюкози (2 г/кг маси тіла). * $p < 0,05$ ($n = 3$))

Дискусія і висновки

Розлади вуглеводного обміну, особливо цукровий діабет 2-го типу, є проблемою, масштаб якої зростає з кожним роком. На противагу терапевтичним лікарським препаратам, білкові та пептидні сполуки з рослинних джерел можуть стати дешевою та натуральною альтернативою для боротьби з діабетом та суміжними патологіями. У дослідженні, у якому був проведений глюкозо-толерантний тест на щурах, ми показали, що пептиди з гідролізату лушпиння *P. vulgaris* має ефект на концент-

рацію глюкози в крові щурів у період 30 хв після введення пептидів квасолі, а також 30 хв після введення тваринам глюкози.

Початкове зростання рівня глюкози у щурів, яким ввели пептиди, може бути пов'язаний із певним вмістом сполук вуглеводної природи у складі гідролізату, які і спричинили це зростання. Оскільки виділена нами фракція пептидів не підлягала додатковій ретельній очистці, то наявність вуглеводів у цьому розчині не виключається. Однак після перорального введення

глюкози темп зростання глюкози в крові експериментальної групи був значно нижчим – всього 4,6 % порівняно з 50 % у контрольній групі. Ці дані можуть свідчити про те, що є певний механізм утилізації глюкози, на який і діють пептиди, наприклад вплив останніх на білки-транспортери глюкози, зокрема SGLT-1 або GLUT2 (Chen, Tuo, & Dong, 2016). Крім того, не виключається прямий чи опосередкований вплив на панкреатичні β-клітини з подальшою посиленою секрецією інсуліну (Antony, & Vijayan, 2021). Відсутність такого ж ефекту на початку експерименту, коли експериментальній групі ввели розчин пептидів, може пояснюватись тим, що отримані пептиди мають активність лише після їх обмеженого гідролізу шлунковими і панкреатичними протеазами. Тобто спостерігаємо певну лаг-фазу, упродовж якої відбувається гідроліз пептидів із вивільненням їх фрагментів, які мають біоактивні властивості. І саме в період 30+ хвилин від введення пептидів активність останніх спостерігається якнайскраніше. Отже, графік концентрації глюкози в крові експериментальної групи має більш плавний вигляд, без занадто різких піків, що можна назвати "буферним ефектом" пептидів. Така дія пептидів може бути корисною для осіб із порушеною толерантністю до глюкози, у яких за різким зростанням концентрації глюкози не слідє швидке її зниження, що може призводити до таких хвороб, як ретинопатія (Baron, 2001).

Отже, у цьому дослідженні ми вперше показали, що пептиди з гідролізату лушпиння квасолі звичайної мають здатність нівелювати різке збільшення концентрації глюкози після її перорального введення щурам. Детальний механізм дії даних пептидів поки що не вивчений, проте подальше вивчення цих пептидів, включаючи їхні молекулярні маси, амінокислотні послідовності та паттерни гідролізу, дозволить більш детально їх охарактеризувати. Ці завдання можуть лягти в основу майбутніх наших досліджень з метою подальшої імплементації отриманих результатів для практичного застосування.

Внесок авторів: Сергій Щипанський – отримання даних, валідація даних, написання; Олексій Савчук – аналіз джерел, підготовка огляду літератури; Тетяна Галенова – концептуалізація, перегляд і редагування статті.

Список використаних джерел

- Antony, P., & Vijayan, R. (2021). Bioactive Peptides as Potential Nutraceuticals for Diabetes Therapy: A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 9059. <https://doi.org/10.3390/ijms22169059>
- Baron, A. D. (2001). Impaired glucose tolerance as a disease. *The American Journal of Cardiology*, 88(6), 16–19. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(01\)01832-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(01)01832-X)
- Bartoli, E., Fra, G. P., & Schianca, G. P. C. (2011). The oral glucose tolerance test (OGTT) revisited. *European Journal of Internal Medicine*, 22(1), 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2010.07.008>
- Chen, L., Tuo, B., & Dong, H. (2016). Regulation of Intestinal Glucose Absorption by Ion Channels and Transporters. *Nutrients*, 8(1), 43. <https://doi.org/10.3390/nu8010043>
- de Fátima Garcia, B., de Barros, M., & de Souza Rocha, T. (2021). Bioactive peptides from beans with the potential to decrease the risk of developing noncommunicable chronic diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2003–2021. Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768047>
- Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S., Liu, T., & Wang, D. (2022). Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism

of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2(2), 143–159. Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.003>

Hu, K., Huang, H., Li, H., Wei, Y., & Yao, C. (2023). Legume-Derived Bioactive Peptides in Type 2 Diabetes: Opportunities and Challenges. *Nutrients*, 15(5), 1096. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/nu15051096>

Mojica, L., Ramos-Lopez, A. S., Sánchez-Velázquez, O. A., Gómez-Ojeda, A., & Luevano-Contreras, C. (2024). Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates reduce acute postprandial glucose levels in adults with prediabetes and normal glucose tolerance. *Journal of Functional Foods*, 112. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105927>

Oseguera Toledo, M. E., Gonzalez de Mejia, E., Sivaguru, M., & Amaya-Llano, S. L. (2016). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein-derived peptides increased insulin secretion, inhibited lipid accumulation, increased glucose uptake and reduced the phosphatase and tensin homologue activation in vitro. *Journal of Functional Foods*, 27, 160–177. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.001>

Tassoni, A., Tedeschi, T., Zurlini, C., Cigognini, I. M., Petrusan, J. I., Rodríguez, Ó., Neri, S., Celli, A., Sisti, L., Cinelli, P., Signori, F., Tsatsos, G., Bondi, M., Verstringe, S., Bruggerman, G., & Corvini, P. F. X. (2020). State-of-the-art production chains for peas, beans and chickpeas – valorization of agro-industrial residues and applications of derived extracts. In *Molecules*, 25(6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25061383>

References

Antony, P., & Vijayan, R. (2021). Bioactive Peptides as Potential Nutraceuticals for Diabetes Therapy: A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 9059. <https://doi.org/10.3390/ijms22169059>

Baron, A. D. (2001). Impaired glucose tolerance as a disease. *The American Journal of Cardiology*, 88(6), 16–19. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(01\)01832-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(01)01832-X)

Bartoli, E., Fra, G. P., & Schianca, G. P. C. (2011). The oral glucose tolerance test (OGTT) revisited. *European Journal of Internal Medicine*, 22(1), 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2010.07.008>

Chen, L., Tuo, B., & Dong, H. (2016). Regulation of Intestinal Glucose Absorption by Ion Channels and Transporters. *Nutrients*, 8(1), 43. <https://doi.org/10.3390/nu8010043>

de Fátima Garcia, B., de Barros, M., & de Souza Rocha, T. (2021). Bioactive peptides from beans with the potential to decrease the risk of developing noncommunicable chronic diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2003–2021. Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768047>

Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S., Liu, T., & Wang, D. (2022). Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods*, 2(2), 143–159. Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.003>

Hu, K., Huang, H., Li, H., Wei, Y., & Yao, C. (2023). Legume-Derived Bioactive Peptides in Type 2 Diabetes: Opportunities and Challenges. *Nutrients*, 15(5), 1096. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/nu15051096>

Mojica, L., Ramos-Lopez, A. S., Sánchez-Velázquez, O. A., Gómez-Ojeda, A., & Luevano-Contreras, C. (2024). Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates reduce acute postprandial glucose levels in adults with prediabetes and normal glucose tolerance. *Journal of Functional Foods*, 112. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105927>

Oseguera Toledo, M. E., Gonzalez de Mejia, E., Sivaguru, M., & Amaya-Llano, S. L. (2016). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein-derived peptides increased insulin secretion, inhibited lipid accumulation, increased glucose uptake and reduced the phosphatase and tensin homologue activation in vitro. *Journal of Functional Foods*, 27, 160–177. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.001>

Tassoni, A., Tedeschi, T., Zurlini, C., Cigognini, I. M., Petrusan, J. I., Rodríguez, Ó., Neri, S., Celli, A., Sisti, L., Cinelli, P., Signori, F., Tsatsos, G., Bondi, M., Verstringe, S., Bruggerman, G., & Corvini, P. F. X. (2020). State-of-the-art production chains for peas, beans and chickpeas – valorization of agro-industrial residues and applications of derived extracts. In *Molecules*, 25(6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25061383>

Отримано редакцією журналу / Received: 08.09.24

Прорецензовано / Revised: 11.10.24

Схвалено до друку / Accepted: 14.10.24

Serhii SHCHYPANSKYI, PhD Student
ORCID ID: 0000-0002-6259-7784
e-mail: shchipansky.s@ukr.net
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Oleksii SAVCHUK, Student
ORCID ID: 0009-0005-3743-4763
e-mail: oleksiisavchuk@knu.ua
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Tetiana HALENOVA, PhD (Biol.) Senior Researcher
ORCID ID: 0000-0003-2973-2646
e-mail: galenovatanya@knu.ua
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF COMMON BEAN HUSK PEPTIDES ON BLOOD GLUCOSE LEVELS IN RATS

Background. *Plant-derived peptides, especially those from beans, hold immense potential for therapeutic applications. They are readily available, produced without animal use, and offer numerous advantages over conventional medications. Studies demonstrate their antimicrobial, antioxidant, and anti-glycemic properties. Bean husks, typically discarded, are a valuable source of bioactive compounds. Their accessibility and low cost make them attractive for biotechnology. Our research focuses on the isolation and investigation of peptides from bean husks, particularly their hypoglycemic properties.*

Methods. *To obtain the peptide fraction, we prepared an aqueous extract of dry bean husks by boiling, followed by acid hydrolysis of the protein-containing solution, its boiling and centrifugation. In order to get rid of small non-protein molecules, we have performed dialysis of obtained peptide mixture. To assess the impact of peptides on blood glucose levels, we conducted an oral glucose tolerance test on overnight-fasted rats, comparing the results of experimental animals that received peptides with control animals that received water, and measuring animals' glucose levels every 30 min.*

Results. *In our study, peptides from bean husks initially temporarily increased glucose levels in rats, that received them instead of water (by 26 %). But after glucose administration, blood glucose levels in the experimental group (that received peptides) increased significantly less – only by 4.6 %, comparing to period after peptide administration and by 39 %, comparing to the glucose levels at the beginning of experiment. Meanwhile, the control group's blood glucose levels increased by 50 %, (from 4.05 mM/L to 6.1 mM/L). Ninety minutes after glucose administration, glucose levels in both groups decreased – by 11 % in control group, and by 6 % in experimental group, resulting in statistically similar blood glucose levels in both groups.*

Conclusions. *Initially, the glucose levels in rats that consumed peptides increased. This may be due to the presence of carbohydrates in the peptide solution. However, after glucose administration, the glucose level in the experimental group increased much slower than in the control group. This suggests that peptides may affect glucose utilization, for example, on glucose transporters or insulin secretion. The results show that peptides from bean husks can mitigate the sharp rise in glucose levels, which may be beneficial for people with impaired glucose tolerance. Further research will help to elucidate the mechanism of action of peptides and their potential applications.*

Keywords: *Common bean, bioactive peptides, glucose, glucose tolerance test.*

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.