Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2423-3544
Online ISSN: 2423-3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

A Review of Bioactive Peptides: production method, physiological function and health properties

Mona Ranjbar[1], Alireza Sadeghi Mahoonak[2*], Hania Tavakolifard[3]

[1]PhD Student of Food Chemisrty, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Gorgan, Iran.

[2]Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Gorgan, Iran,Email: sadeghiaz@yahoo.com

[3]Undergraduate student, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Gorgan, Iran.

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 16/05/2024
Revised: 27/10/2024
Accepted: 29/10/2024

Keywords:
Peptides
Bioactivity
Nutraceutical
Hydrolysis

ABSTRACT

Bioactive peptides resulting from the breakdown of proteins play a major role in the development of various beneficial foods. In recent years, the role of bioactive peptides derived from food has become increasingly important in nutritional and pharmaceutical research. A significant part of research has discussed the role of these compounds in improving human health. Peptides obtained through enzymatic hydrolysis of proteins have several functions in laboratory and in vivo conditions. Peptides have been proven to have antimicrobial, antioxidant, antihypertensive, anticancer and antidiabetic properties. It known that the biological application of these peptides depends on their size and structure. They can prevent oxidation and microbial degradation in foods and increase the quality of life. There are many evidences that show that oxidative stress in living organisms is involved in the pathogenesis and development of many chronic diseases such as cancer, arteriosclerosis and diabetes. Numerous tests have shown that the addition of hydrolyzed proteins or peptides with antioxidant properties can effectively prevent the oxidation of fats during transportation and storage, which preserves the taste and quality. Nutrition is food. Various functions and positive effects on health and implementation of potential biological effect of peptides derived from dietary proteins largely depend on its ability to remain intact until reaching the target organ. Research has shown that peptides of different sizes can pass through the intestinal epithelium. To exert their effects, peptides must maintain their biological activity during the digestion process, which requires determining the most suitable structures or modifying the peptide by chemical methods (lipidation) or physical methods (microcoating). Therefore, the development of natural antioxidant peptides from food or other sources as a substitute for food preservatives can help reduce the concerns of consumers regarding the risks associated with the toxicity of synthetic antioxidants used in food. Cheap and available raw materials such as industrial by-products with high protein content were used to extract antioxidant peptides. There are concerns and challenges regarding biopeptides derived from food sources. Researchers have proven that bioactive peptides are safe in the right

dose. This study examines the types of bioactive peptides extracted from food and their health benefits.

Cite this article: Ranjbar, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Tavakolifard, H. 2026. A Review of Bioactive Peptides: production method, physiological function and health properties. *Food Processing and Preservation Journal*, 18(1), 19-50.

© The Author(s)
10.22069/fppj.2024.22450.1813
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵٤٤-۲٤۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲٤۲۳

مروری بر پپتیدهای زیست فعال: روش تولید، عملکرد فیزیولوژیکی و خواص سلامت بخش

منا رنجبر[۱]، علیرضا صادقی ماهونک[۲*]،هانیا توکلی‌فرد[۳]

[۱] دانشجوی دکتری رشته علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
[۲] استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران، رایانامه: sadeghiaz@yahoo.com
[۳] دانشجو کارشناسی، رشته علوم وصنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۰۲/۲۷
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۳/۰۸/۰٦
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۰۸/۰۸

واژه‌های کلیدی:
پپتیدها
زیست‌فعال
مواد غذایی
هیدرولیز

چکیده

پپتیدهای زیست فعال حاصل از تجزیه پروتئین‌ها نقش عمده‌ای در توسعه غذاهای فراسودمند مختلف دارند. در سال‌های اخیر، نقش پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده از مواد غذایی در تحقیقات تغذیه‌ای و دارویی اهمیت فزاینده‌ای یافته است. بخش قابل توجهی از پژوهش‌ها نقش این ترکیبات را در بهبود سلامت انسان مورد بحث قرار داده‌اند. پپتیدهایی که از طریق هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها به‌دست می‌آیند دارای چندین عملکرد در شرایط آزمایشگاهی و درون‌بدنی می‌باشند. خواص ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی، ضدفشار خون، ضدسرطانی و ضددیابتی پپتیدها ثابت شده است. مشخص شده است که کاربرد بیولوژیکی این پپتیدها به اندازه و ساختارآن‌ها بستگی دارد. آن‌ها می‌توانند از اکسیداسیون و تخریب میکروبی در غذاها جلوگیری کنند و همچنین درمان بیماری‌ها و اختلالات مختلف را بهبود بخشند و در نتیجه کیفیت زندگی را افزایش دهند. شواهد متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو در ارگانیسم‌های زنده در بیماری‌زایی و تکامل بسیاری از بیماری‌های مزمن نظیر سرطان، تصلب شرایین و دیابت دخالت دارد. آزمایش‌های متعدد نشان داده است که افزودن پروتئین‌های هیدرولیزشده یا پپتیدها با ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به طور موثری از اکسیداسیون چربی‌ها در طی حمل و نقل و نگهداری ممانعت نماید که این امر باعث حفظ طعم و کیفیت تغذیه‌ای موادغذایی می‌گردد. عملکرد مختلف و اثرات مثبت بر سلامتی و اجرای اثر بیولوژیکی بالقوه پپتیدهای حاصل از پروتئین‌های غذایی تا حد زیادی به توانایی آن برای دست نخورده ماندن تا رسیدن به اندام هدف بستگی دارد. تحقیقات نشان داده است پپتیدهای با اندازه‌های مختلف می توانند از اپیتلیوم روده عبور کنند. برای اعمال اثرات خود، پپتیدها باید فعالیت زیستی خود را در طول فرآیند هضم حفظ کنند، که نیاز به تعیین مناسب ترین ساختارها یا اصلاح پپتید با روش‌های شیمیایی (لیپیداسیون) یا روش‌های فیزیکی (ریزپوشانی) دارد. از این رو توسعه پپتیدهای آنتی اکسیدانی طبیعی از موادغذایی یا سایر منابع به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های غذایی، می‌تواند به کاهش نگرانی مصرف کنندگان در ارتباط با خطرات

مرتبط با سمیت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده در موادغذایی کمک شایانی نماید. مواد اولیه ارزان و در دسترس مانند فرآورده‌های جانبی صنعتی دارای مقدار بالای پروتئین را می‌توان جهت استخراج پپتیدهای آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار دارد. نگرانی‌ها و چالش‌هایی در مورد پپتیدهای زیستی مشتق شده از منابع غذایی وجود دارد. اما محققین ثابت کرده‌اند، پپتیدهای زیست فعال در دوز مناسب به طور کلی بی خطر در نظر گرفته می شوند. این مطالعه به بررسی انواع پپتیدهای زیست فعال استخراج شده از موادغذایی و کاربرد سلامتی بخش آن‌ها می‌پردازد.

استناد: رنجبر، منا؛ صادقی ماهونک، علیرضا؛ توکلی‌فرد،هانیا. (۱۴۰۵). مروری بر پپتیدهای زیست فعال: روش تولید، عملکرد فیزیولوژیکی و خواص سلامت بخش. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۸(۱)، ۵۰-۱۹.

10.22069/fppj.2024.22450.1813

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان

مقدمه

در سال‌های اخیر مشخص شده است که پروتئین‌های غذایی منبع غنی از پپتیدهای فعال بیولوژیکی هستند. بسیاری از پروتئین‌هایی که به‌طور طبیعی در مواد غذایی وجود دارند، عملکرد فیزیولوژیکی خود را مستقیماً یا بر اساس هیدرولیز آنزیمی در شرایط آزمایشگاهی اعمال می‌کنند. چنین پپتیدهایی در توالی پروتئین اصلی غیرفعال هستند می‌توانند به سه طریق آزاد شوند: (الف) از طریق هیدرولیز توسط آنزیم‌های گوارشی، (ب) از طریق هیدرولیز توسط میکروارگانیسم‌های پروتئولیتیک و (ج) از طریق عمل آنزیم‌های پروتئولیتیک مشتق شده از میکروارگانیسم‌ها یا گیاهان. تولید و خواص پپتیدهای زیست فعال در بسیاری از مقالات اخیر بررسی شده است. پپتیدهای زیست فعال به‌عنوان اجزا پروتئینی تأثیر مثبتی بر عملکرد یا سلامت بدن دارند. پپتیدهای زیست فعال ممکن است بر سیستم قلبی عروقی، گوارشی، ایمنی و عصبی بسته به توالی اسید آمینه آن‌ها تأثیر بگذارند. به همین دلیل، پتانسیل توالی های پپتیدی برای ارتقای سلامت انسان از طریق کاهش خطر بیماری های مزمن یا تقویت ایمنی بدن، در چند سال گذشته توجه محققین زیادی را برانگیخته است (۱). تعدادی از منابع گیاهی و حیوانی برای جداسازی یا تولید پپتیدهای زیست فعال استفاده شده است. پروتئین‌های غذایی به عنوان منبعی از پپتیدهای زیست فعال بر اساس دو معیار انتخاب می‌شوند، (الف) استفاده از پروتئین‌های ارزان و فراوان یا محصولات فرعی و ضایعات صنایع غذایی غنی از پروتئین، (ب) استفاده از پروتئین‌های حاوی توالی‌های خاص پپتیدی یا باقی‌مانده های اسید آمینه با خاص دارویی (۲).

در حال حاضر تحقیقات گسترده‌ای بر پروتئین‌ها و مشتقات آن‌ها از جمله پپتیدها متمرکز شده است. پپتیدهای غذایی مختلف به‌عنوان ضد فشار خون، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد میکروبی و ضدپوسیدگی و غیره، اثرات مثبتی بر سلامتی دارند. تحقیقات اپیدمیولوژیک رابطه نزدیک بین رژیم غذایی و بروز بیماری‌های دژنراتیو مزمن را برجسته کرده است. این انگیزه‌ای را برای مطالعه پپتیدهای زیست فعال به‌عنوان عوامل درمانی ممکن فراهم کند، اگرچه استفاده درمانی از پپتیدها به دلیل بی ثباتی بالای آن‌ها در شرایط بیولوژیکی (شرایط محیطی، قابلیت انتقال ضعیف غشاء و هضم مؤثر در دستگاه گوارش) محدود باقی مانده است (۳).

فراهمی زیستی پپتیدها عمدتاً به درجه هیدرولیز در طول جداسازی آن بستگی دارد که در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی برای تجاری سازی آن‌ها تعیین می‌شود. عملکرد مختلف و اثرات مثبت بر سلامتی و اجرای اثر بیولوژیکی بالقوه پپتیدهای حاصل از پروتئین‌های غذایی تا حد زیادی به توانایی آن برای دست نخورده ماندن تا رسیدن به اندام هدف بستگی دارد. تحقیقات نشان داده است پپتیدهای با اندازه‌های مختلف برای اعمال اثرات خود، باید فعالیت زیستی خود را در طول فرآیند هضم حفظ کنند(٤).

درمان دارویی بیماری‌هایی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، فشار خون، دیابت، سرطان و غیره می تواند منجر به مسمومیت دارویی شود. همچنین مصرف طولانی مدت هر دارویی عوارض جانبی منفی خاص خود را دارد که می‌تواند منجر به بدتر شدن سلامت و در نتیجه افزایش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی شود. منابع غذایی طبیعی حاوی این پپتیدهای زیست فعال می‌توانند به طور قابل توجهی در پیشگیری از بیماری‌ها و همچنین کاهش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی در سطح جهانی، کاهش وابستگی به درمان دارویی کمک کنند (٤). تحقیقات جدید نوظهور بر

توسعه غذاهای کاربردی و مواد مغذی متمرکز شده اند که شامل کاربرد پپتیدهای زیست فعال با تلاش برای فواید فیزیولوژیکی و سلامتی مربوطه می‌شود تا به حال، نگرانی‌ها و چالش‌هایی در مورد پپتیدهای زیستی مشتق شده از منابع غذایی وجود دارد. از هم گسیختگی دیواره روده، مسمومیت گلبول‌های قرمز و لنفوسیت‌ها، تولید رادیکال‌های آزاد، آسیب بافت آنزیموپاتیک و ایمونوپاتیک و سمیت سلولی ناشی از مصرف پپتیدها از مشکلات اصلی سیستم بیولوژیکی است که منجر به اختلالات پیچیده مختلف می‌شود. بنابراین، قبل از در نظر گرفتن پپتیدهای زیست فعال برای تولید غذا و برای اهداف درمانی، ابتدا لازم است ایمنی زایی و سمیت پپتیدها بررسی شود. محققین ثابت کرده‌اند، پپتیدهای زیست فعال در دوز مناسب به‌طورکلی بی خطر در نظر گرفته می شوند، اما باید از درمان هایی که کیفیت پپتیدها و ایمنی آن را کاهش می‌دهد اجتناب شود (۵).

ثابت شده است پپتیدهای زیست فعال به‌طور قابل توجهی در تولید غذاهای مختلف برای سلامتی قابل استفاده هستند. همچنین با ظهور فناوری‌های جدید، کاربرد پپتیدهای زیست فعال به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. در این بررسی، روش های جداسازی، عملکردهای فیزیولوژیکی و خواص سلامتی بخش آن‌ها، در نظر گرفته می‌شوند.

منابع و روش تولید پپتیدهای زیست فعال

منابع پپتیدهای زیست فعال: پپتیدهای زیست فعال را می‌توان از منابع مختلف پروتئین مواد غذایی بدست آورد. پروتئین‌ها و پپتیدهای موجود در مواد غذایی (مانند برنج، نخود فرنگی، سبزیجات و میوه‌جات) با جلوگیری از گسترش انواع بیماری‌ها، مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژی[1] را مهار می‌کنند و از فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند. انواع مختلفی از منابع حیوانی و گیاهی برای تولید پپتیدهای آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گرفته‌اند به عنوان مثال پروتئین گردو، پروتئین فندق، پروتئین کنجد، پروتئین سبوس برنج، سویا، شیر بز، شیر گوسفند، شیر گاو، تخم مرغ و ژامبون توسط محققین مورد مطالعه قرار گرفت. در جست و جو جهت یافتن پپتیدهای آنتی اکسیدان مقدار، کیفیت پروتئین و قیمت تمام شده مواد اولیه دارای اثر مهمی است. از این رو مواد اولیه ارزان و در دسترس مانند فرآورده‌های جانبی صنعتی دارای مقدار بالای پروتئین را می‌توان برای جهت استخراج پپتیدهای آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار دارد. براین اساس پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدهای حاصل از منابع مختلف ارزان و کم کاربرد فرآورده‌های دریایی مانند فرآورده‌های جانبی آبزیان و میکروآلک‌ها برای تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدهای آنتی اکسیدان به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند (٦).

هیدرولیز آنزیمی پروتئین: اگرچه روش‌های هیدرولیز شیمیایی روش‌های ساده و سریعی هستند ولی چالشی که با این روش‌ها داریم این است که این روش‌ها فاقد اختصاصیت و حساسیت هستند. علاوه بر این روش‌های شیمیایی باعث آسیب دیدن اسیدآمینه می‌شوند چون نمونه در pHهای نامناسب و تحت دمای بالا و در بعضی موارد تحت فشار بالا در یک زمان مشخص تیمار می‌شوند (۷ و ۸). بر اساس گزارش‌های ویلامی و همکاران (۲۰۱۷) اسیدآمینه‌های تریپتوفان، متیونین و سیستئین به علت اثر دما و فشار در فرایند هیدرولیز تخریب می‌شوند. علاوه بر این اسیدآمینه‌های آسپارژین و گلوتامین به ترتیب به آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید تبدیل می‌شوند. تشکیل نمک به عنوان یک فرآورده جانبی در فرایند خنثی‌سازی به علت کاهش خواص عملکردی در پپتیدهای تشکیل شده، یکی از مشکلات عمده

[1] Pathophysiologic mechanisms

هیدرولیز شیمیایی است (۸). با در نظر گرفتن محدودیت‌های روش‌های شیمیایی، هیدرولیز آنزیمی و تخمیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است به دلیل این که به کمک این روش‌ها می‌توان پروتئین هیدرولیز شده با کیفیت بالا با ویژگی‌های عملکردی و زیست فعالی بهتر تولید نمود چون این روش‌ها در شرایط ملایم انجام می‌گیرند و همچنین دارای دقت بالا در شکستن باندهای پپتیدی هستند (۹). علاوه بر این واکنش‌های جانبی به طور محدودی یا بسیار ناچیز اتفاق می‌افتند و در این روش‌ها خالص‌سازی و بازیافت پپتید با راحتی بیشتری انجام می گیرد (۱۰). فرایند هیدرولیز آنزیمی با اضافه کردن یک یا چند پپتیداز در داخل راکتور حاوی مخلوطی از آب دیونیزه و کنسانتره پروتئین و اعمال پارامترهای کنترلی مانند دما و pH اتفاق می‌افتد. سپس این واکنش ادامه می‌یابد تا به درجه هیدرولیز مشخص دست پیدا کنیم. حفظ دامنه اپتیمم pH مخلوط واکنش در طی هیدرولیز یک چالش مهم می‌باشد زیرا به دلیل تشکیل باندهای پپتیدی و رها شدن اسیدآمینه‌های آزاد pH مخلوط سریع دچار تغییر می‌شوند (۱۰). در پایان فرایند هیدرولیز آنزیمی، مخلوط واکنش در دمای بالاتر از دمای اپتیمم آنزیم‌ها حرارت دهی می‌شود تا آنزیم‌ها غیرفعال شوند، سپس مخلوط جهت جداسازی سوپرناتانت حاوی پپتیدها سانتریفیوژ می‌گردد و در دمای زیر ۲۰- نگهداری شده یا این که به کمک خشک کن انجمادی خشک می‌گردد (۹).

نوع آنزیم یکی از پارامترهای اصلی تعیین کننده فرایند هیدرولیز و ظرفیت آنتی اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیزشده و پپتیدها است. پپتیدازهای تک، دوتایی یا چندتایی (درون زاد یا برون زاد) را می‌توان برای تولید پپتیدهای مورد نظر مورد استفاده قرار داد. ترجیحا پپتیدازهای برون زاد به دلیل زمان هیدرولیز کوتاه‌تر و کنترل بهتر عمل هیدرولیز جهت دستیابی به پپتیدهای آنتی اکسیدان با وزن ملکولی و ترکیب اسیدآمینه مورد نظر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱).

خواص پپتیدهای زیست فعال

پپتیدهای آنتی اکسیدانی: توسعه شهرنشینی، نحوه زندگی ناسالم و تغییرهای آب وهوایی و محیطی موجب افزایش بیماری‌های مزمن غیر واگیردار شده است. براساس آمار میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری‌ها بالغ بر چهل و شش میلیون نفر در سال، معادل ۷۱٪ کل مرگ و میر دنیا است (۲). شواهد متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو در ارگانیسم‌های زنده در بیماری‌زایی و تکامل بسیاری از بیماری‌های مزمن نظیر سرطان، تصلب شرایین و دیابت دخالت دارد (٤ و ٥). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) رادیکال آزادی هستند که عمدتا توسط زنجیره تنفسی میتوکندریایی تولید می‌شوند و در بروز استرس اکسیداتیو در سلول‌ها نقش دارند. به هرحال اگر تجمع (ROS) از ظرفیت سیستم به دام اندازی رادیکال آزاد سلولی تجاوز نماید این گونه‌های فعال باعث برهمکنش کنترل نشده با ملکول‌های زیستی غیر هدف (لیپیدها، پروتئین و DNA) و سلول‌ها می‌گردند. این شرایط مستلزم افزودن ترکیباتی است که بتوانند توازن آنتی اکسیدانی و اکسیدانی را در بافت‌های بیولوژیکی تنظیم نمایند. از ابتدای قرن اخیر سازمان بهداشت جهانی افزایش مصرف منابع آنتی اکسیدانی را توصیه نموده است (۱۲). کاربرد پپتیدهای آنتی اکسیدانی در ممانعت و مدیریت صدمات اکسیداتیو و بیماری‌زایی مربوط به آن در بدن در دهه‌های اخیر به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است.

آزمایش‌های متعدد نشان داده است که افزودن پروتئین‌های هیدرولیزشده یا پپتیدها با ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به طور موثری از اکسیداسیون چربی‌ها در طی حمل و نقل و نگهداری ممانعت

نماید که این امر باعث حفظ طعم و کیفیت تغذیه‌ای موادغذایی می‌گردد (۱۳). از این رو توسعه پپتیدهای آنتی اکسیدانی طبیعی از موادغذایی یا سایر منابع به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های غذایی، می‌تواند به کاهش نگرانی مصرف کنندگان در ارتباط با خطرات مرتبط با سمیت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده در موادغذایی کمک شایانی نماید (۱٤).

به‌طور کلی ویژگی آنتی‌اکسیدان پپتیدها با ویژگی ساختاری، آبگریزی و ترکیب اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده زنجیره پپتیدی آن‌ها در ارتباط می‌باشد. پپتیدهای آنتی‌اکسیدان، توالی‌های کوتاه زنجیر حاوی ۱۰-۲ اسیدآمینه می‌باشند که حضور اسیدهای آمینه خاص نظیر، تیروزین، تریپتوفان، متیونین، سیستئین و هیستیدین در زنجیره پپتیدی موجب اثر بخشی هرچه بیش‌تر ویژگی آنتی‌اکسیدانی، بویژه توانایی مهار رادیکال آزاد در آن‌ها می‌گردد. همچنین حضور اسیدهای آمینه هیستیدین، گلوتامیک اسید، پرولین، تایروزین، سیستئین، متیونین و فنیل آلانین اسیدآمینه‌های منجر به ویژگی آنتی اکسیدانی پپتیدها می‌شود (۱۵). اسیدهای‌آمینه به یون‌های فلزی پراکسیدان متصل می‌شوند، رادیکال OH را به دام می‌اندازند و از پراکسیداسیون چربی جلوگیری می‌کنند در نتیجه هر اسیدآمینه بسته به نوع، به صورت غیر یکسان در ویژگی آنتی اکسیدانی مشارکت می‌کنند. اغلب پپتیدهای آنتی اکسیدان دارای ۱٦-٤ اسیدآمینه و جرم ملکولی ۲-۰/٤ کیلودالتون هستند. پپتیدهای حاوی تایروزین اساسا از طریق انتقال اتم هیدروژن و پپتیدهای حاوی سیستئین، تریپتوفان و هیستیدین از طریق انتقال الکترون عمل می‌کنند. اسیدآمینه‌های آروماتیک مثل تریپتوفان و فنیل آلانین از نظر انتقال پروتون به رادیکال‌های دارای الکترون عملکرد عالی دارند (۱۵).

بسته به مکانیسم غیرفعال سازی رادیکال آزاد ملکول‌های پپتیدهای انتی اکسیدان از طریق دو مکانیسم می‌توانند باعث به دام اندازی گونه‌های اکسیژن/ نیتروژن فعال گردند که این دو روش عبارتند از: انتقال اتم هیدروژن (HAT) و انتقال الکترون منفرد (SET) (۱٦). برخی از روش‌های ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نظیر ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن (ORAC)، به دام اندازی رادیکال ازاد از طریق اهداء پروتون (TRAP)، احیاکنندگی آهن (FRAP) و بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH می‌باشد (و۱۷ ۱۸). پروتئین‌های هیدرولیز شده و پپتیدهای حاوی مقادیر بالای آلانین، لوسین، پرولین و همچنین اسیدهای آمینه آروماتیک نظیرتریپتوفان، فنیل‌آلانین، تیروزین و هیستیدین از طریق انتقال مستقیم الکترون‌ها موجب ایجاد فعالیت قوی در به‌دام اندازی رادیکال‌های آزاد می‌گردند (۱۸).

پپتیدهای ضد میکروبی: یکی از نگرانی‌های عمده در پزشکی مدرن مقاومت میکروبی است و این باعث شده است که تحقیقات به سوی پیدا کردن مواد ضدمیکروبی جدیدی سوق داده شود که بتوانند جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌های معمولی باشند. از این رو کارخانه‌های داروسازی و صنایع غذایی به دنبال نوع جدیدی از مواد ضد میکروبی هستند که از منابع طبیعی گرفته شده باشد. به دلیل وجود اثرات منفی استفاده از نگهدارنده مصنوعی غذا مثل نیترات‌ها، بنزوات‌ها، مصرف کننده‌ها به سمت استفاده از نگهدارنده طبیعی تمایل پیدا کرده‌اند. پپتیدهای ضدمیکرب یک گروه خاص و گسترده از ملکول‌ها هستند؛ تاکنون بیش از ۲۸۰۰ توالی پپتیدی ضدمیکروبی گزارش شده است. پپتیدهای ضد میکروب معمولا ملکول‌هایی کوچک بوده (وزن ملکولی کمتر از ۱۰ کیلودالتون) و غالبا ترکیباتی کاتیونی و آمفی‌پاتیک (یک بخش آن‌ها به شدت مثبت

و بخش دیگر آن‌ها آبگریز است و این امر اتصال بین پپتید و غشاء هدف را تسهیل می‌کند) می‌باشند (۱۹). پپتیدهای ضدمیکروبی را می‌توان به روش‌های مختلف از جمله بر اساس ساختار، توالی و مکانیسم عملکرد دسته‌بندی نمود. علاوه بر این پپتیدهای ضدمیکروبی دارای دامنه فعالیت مختلفی هستند: از کشتن باکتری‌ها تا تنظیم سیستم ایمنی، ممانعت از تشکیل بیوفیلم، تاثیر ضدسرطانی و ویژگی ضد ویروسی در آن‌ها مشاهده شده است (٦).

با وجود این‌که پپتیدهای ضدمیکروبی از نظر ساختار، توالی و منشاء یک گروه گسترده از ملکول‌ها هستند، اما یکسری ویژگی‌های مشترک بین تمامی آن‌ها وجود دارد. اولین ویژگی مشترک آن‌ها این است که همه پپتیدهای ضدمیکروب دارای بارمثبت خالص هستند و میزان بار آن‌ها از ۲+ تا ۱۳+ متغیر بوده و ممکن است حاوی بخش‌های کاتیونی خاص باشند. طبیعت کاتیونی این ترکیبات به حضور اسیدهای آمینه لیزین و آرژینین (و گاهی هیستیدین) نسبت داده می‌شود. در برخی مطالعات ارتباط مستقیمی بین بار و ویژگی ضدمیکروبی پپتیدهای ضدمیکروب نشان داده شده است (۲۰). ویژگی دوم این ترکیبات آبگریزی آن‌ها است که یک جنبه کلیدی در پپتیدهای ضدمیکروبی محسوب می‌شود و به عنوان درصد اسیدهای آمینه آبگریز نظیر والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، فنیل آلانین، تیروزین و تریپتوفان در توالی پپتیدی تعریف می‌شود (به طور معمول در پپتیدهای ضدمیکروبی ۵۰٪ است). ویژگی آبگریزی میزان توانایی انتقال پپتیدهای ضدمیکروب محلول در آب به غشاء دولایه چربی را کنترل می‌نماید. این ویژگی جهت نفوذپذیری به غشاء سلولی مورد نیاز است، با این وجود مقادیر آبگریزی بسیار بالا می‌تواند منجر به بروز سمیت سلولی در پستانداران و از دست رفتن ویژگی ضدمیکروبی شود. آخرین ویژگی مشترک پپتیدهای ضدمیکروبی ویژگی آمفی‌پاتیکی[1] آن‌ها است. ویژگی آمفی‌پاتیکی به فراوانی نسبی بخش‌ها یا اسیدهای آمینه آبگریز و آبدوست، نه فقط در توالی اولیه بلکه در ساختار دو بعدی و سه بعدی پپتیدهای ضدمیکروبی اشاره دارد. ویژگی آمفی‌پاتیکی می‌تواند در انواع ساختارهای پپتیدی ایجاد شود اما مهم‌ترین مثال در این زمینه ساختار مارپیچ آلفا است. مطالعات مختلف بیانگر ارتباط پیچیده بین ویژگی آمفی‌پاتیکی، آبگریزی و بار خالص پپتیدهای ضدمیکروب است. به‌نظر می‌رسد که بسته به توالی پپتیدی هر یک از این پارامترها نقش منحصربفردی در ویژگی ضدمیکروبی پپتیدها ایفا می‌کنند (۲۱). اغلب پپتیدهای ضد میکروبی دارای اندازه کوچک (معمولا حاوی ۱۰ الی ۵۰ اسید آمینه)، با ماهیت کاتیونی و دارای ساختار آمفی‌پاتیک هستند. این ترکیبات دارای ساختاری متنوع، از نظر ترکیب اسید آمینه و هم از نظر ساختار ثانویه (مارپیچ آلفا، صفحه بتا، مارپیچ گسترش یافته، حلقوی) هستند. عملکرد پپتیدهای ضد میکروبی عمدتا از طریق بر هم‌کنش با لیپیدهای بار منفی موجود بر روی غشاهای سلولی صورت می‌گیرد (۲۲).

پپتیدهای ضدمیکروبی از نظر نقطه ایزوالکتریک، ساختار ثانویه، آبگریزی و خاصیت آمفی‌پاتیک و همچنین از نظر فعالیت ضد میکروبی با یکدیگر متفاوت هستند. پپتیدهای ضد میکروبی را می‌توان به چهار دسته اصلی تقسیم بندی نمود:

الف) پپتیدهای مارپیچی- خطی ب)پپتیدهای خطی یا مارپیچی از نظر یکی از اسیدهای آمینه (پرولین، تیریپتوفان، هیستیدین یا گلایسین) غنی هستند. ج) پپتیدهایی که بصورت ساختار صفحه‌ای سنجاقی یا ساختارهای مارپیچی/ صفحه‌ای وجود دارد و به‌وسیله

[1] Amphipathicity

پیوندهای دی سولفیدی بین ملکولی پایدار می‌شوند.

د) پپتیدهای حلقوی

الف) پپتیدهای مارپیچی خطی: این پپتیدها دارای توالی‌های کوتاهی هستند که نواحی آبدوست و آبگریز آن‌ها در ساختار خطی از همدیگر جدا بوده و اعتقاد بر این است که در اثر برهمکنش با غشا به فرم مارپیچی تبدیل می‌شود. در بین پپتیدهای دارای مارپیچ آلفا می‌توان موارد زیر را نام برد: استایلین[1]، پلوروسیدین‌ها[2]، میکسینیدین[3] و هدیستین[4] (۲۳).

پلوروسیدین یک پپتید با بیست و پنج اسیدآمینه است که فعالیت ضد میکروبی بالقوه آن به نواحی آبگریز موجود در انتهای کربوکسیلی و آمینی آن مرتبط است (۲٤).

استایلین A و B[5] دو پپتید با ساختار آلفاهلیکس (مارپیچ آلفا) که نوعی پپتید ضد میکروبی غنی از فنیل آلانین است. این پپتید در برابر یکسری باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارای اثر ضد میکروبی مناسبی است (۲٤).

ب) پپتیدهای خطی یا مارپیچی که غنی از یک اسیدآمینه می‌باشند: در این پپتیدها حضور غیر معمول یک اسیدآمینه مشاهده می‌شود. با وجود اینکه نقش حضور اسیدآمینه‌هایی مثل پرولین، گلایسین، تریپتوفان و هیستیدین در این پپتیدها کاملاً مشخص نیست اما این امر پذیرفته شده که حضور این اسیدآمینه جهت انجام فعالیت ضدمیکروبی بسیار ضروری است (۲٦و۲۵).

آراسین[6] حاوی چندین اسیدآمینه پرولین و آرژنین در بخش انتهای آمینی است و همچنین چهار اسیدآمینه سیستئین که دو پیوند دی سولفیدی تشکیل می‌دهند، در انتهای کربوکسیلی آن وجود دارند (۲۷) استاسیدین دارای دامنه فعالیت ضد میکروبی وسیعی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. کلاژنسین[7] یک پپتید ضد میکروبی است که از کلاژن ماهی هیدرولیز شده بدست می آید. این پپتید غنی از پرولین و گلایسین است و در شرایط آبگریزی دارای ساختار صفحه بتا می باشد. این پپتید دارای فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای در برابر باکتری‌ها دارد و باکتری *S. aureus* حساس‌ترین باکتری نسبت به این پپتید است (۲۸).

ج)پپتیدهایی که بصورت ساختار صفحه‌ای سنجاقی یا ساختارهای مارپیچی / صفحه‌ای وجود دارد و به وسیله پیوندهای دی سولفیدی بین ملکولی پایدار می‌شوند: این گروه از پپتیدها غنی از سیستئین هستند و حاوی صفحات بتا و پیوندهای دی سولفیدی می‌باشند. این پپتیدها دارای الگوی ساختاری هستند که در آن‌ها سه یا چهار پیوند دی سولفیدی وجود دارد و این پیوندها باعث پایداری ساختار آن‌ها می‌شوند. یکی از مثال‌های اصلی این گروه دفنسین‌ها[8] هستند. دفنسین‌های پستانداران براساس ساختار به سه نوع (α, β و θ) تقسیم می‌شوند (۲۹)، درحالی که دفنسین‌های ماهی فقط از نوع بتا دفنسین هستند. نشان داده شده که بتا دفنسین‌های ماهی در برابر باکتری‌های گرم منفی و هم گرم مثبت عمل می‌کنند. هرچند که عملکرد آن‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت ضعیف‌تر است (۳۰).

ارنیسین‌ها[9] پپتیدهای حاوی بیست و یک اسیدآمینه هستند و دارای فعالیت قوی در برابر (*P. aeruginosa and S. aureus*) می‌باشند و ثابت شده که هدف اصلی آن‌ها غشاء سلولی باکتری‌ها است.

[1] styelin
[2] pleurocidins
[3] mixinidin
[4] hedistin
[5] Styelins A and B
[6] Arasin
[7] Collagencin
[8] Defensins
[9] Arenicins

مایتیسین A[1] یک پپتید حلقوی است که حاوی هشت اسیدآمینه با فعالیت بالا در برابر باکتری‌های گرم مثبت و فعالیت پایین در برابر باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها است. هپسیدین‌ها[2] پپتیدهای غنی از سیستئین هستند که در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند (۳۱).

د) پپتیدهای حلقوی: تاکیپلزیس[3]، پلی‌فموسین[4] و آرسین با وجود اینکه به گروه ج متعلق هستند اما ثابت شده که مکانیسم عملکرد آن‌ها با هم متفاوت است. تاکیپلزیس و پلی فموسین در عرض غشا باکتریایی قرار می‌گیرند اما موجب بروز تخریب قابل توجه در غشاء دو لایه لیپیدی نمی‌گردند و احتمالاً عملکرد آن‌ها بصورت داخل سلولی است. آرنین‌ها[5] از طریق تشکیل الیگومرهای با نظم بالا موجب تخریب غشاء سلولی می‌شوند و بنابراین در نتیجه ایجاد شکاف در غشاء باعث مرگ آن‌ها می‌شوند. یکی دیگر از جنبه‌های مهم پپتیدهای ضدمیکروبی این است که این ترکیبات در تماس با غشاء میکروارگانیسم‌ها در آن‌ها تغییرات ساختاری مهمی به وقوع می‌پیوندد. به عنوان مثال مارپیچ آلفا اغلب برای فعالیت ضد میکروبی جنبه‌کلیدی محسوب می‌شود. در اثر برهمکنش با لیپیدها تغییرات ساختاری به وجود می‌آید که اغلب باعث تشکیل مارپیچ می‌گردد و بنابراین در نفوذپذیری غشاء تاثیر می‌گذارند. ویژگی آمفی‌پاتیک که بصورت جداگانه باعث بروز ساختار-های ثانویه می‌گردد نیز نقش کلیدی در فعالیت ضد میکروبی ایفا می‌کند بطوریکه این امکان را فراهم می‌کند که پپتید سر هیدروفوب خودش را وارد غشای دو لایه کند (۳۱).

تاکنون، روش‌های متعددی جهت ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی پپتیدهای زیست‌فعال، مورد استفاده قرار گرفته است. در میان این روش‌ها، آزمون انتشار در آگار[6]، از رایج‌ترین روش‌های ارزیابی اثرات ضدمیکروبی پپتیدها می‌باشد. به‌طورکلی، اثرات ضد میکروبی پروتئین‌ها و پپتیدهای هیدرولیز شده به قطرهاله تشکیل شده بستگی دارد؛ به‌طوری‌که همسو با افزایش قدرت مهارکنندگی، همزمان قطرهاله و اثر ضدمیکروبی افزایش می‌یابد. محلول‌های پپتیدی بر روی آگار یا دیسک‌های کاغذی استریل جای می‌گیرند و بر روی سطح آگاری که پیش‌تر با باکتری مورد آزمون تلقیح شده است قرار داده می‌شوند. روش دقیق ارزیابی فعالیت ضد میکروبی پپتیدهای هیدرولیز شده، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی[7] آن‌ها می‌باشد (۳۲).

مکانیسم عمل پپتیدهای ضدمیکروبی (AMPs): پپتیدهای ضدمیکروب ملکول‌های منحصربفرد هستند و مکانیسم عملکرد آن‌ها به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. درک مکانیسم عملکرد این ترکیبات از جنبه ایجاد ترکیبات دارویی جدید بسیار حایز اهمیت است. مکانیسم عملکرد پپتیدهای ضدمیکروب را می‌توان به دو دسته عمده شامل کشتن مستقیم[8] و تنظیم سیستم ایمنی[9] تقسیم کرد. مکانیسم کشتن مستقیم را نیز می‌توان به دو دسته شامل هدف‌گیری غشایی[10] و هدف‌گیری غیرغشایی[11] تقسیم‌بندی نمود (۳۳).

کشتن مستقیم: عملکرد از طریق تاثیر بر نفوذپذیری غشاء: پپتیدهای ضدمیکروبی که از طریق هدف‌گیری غشاء سلولی عمل می‌نمایند، می‌توانند به دو صورت برهم-کنش بواسطه گیرنده[12] و برهم‌کنش بدون نیاز به

[1] Myticin A
[2] Hepcidins
[3] Tachyplesis
[4] PolypHemusin
[5] Arenins

[6] Agar diffusion
[7] Minimum inhibitory concentration
[8] Direct killing
[9] Immune modulation
[10] Membrane targeting
[11] Non-membrane targeting
[12] Receptor mediated interaction

گیرنده[1] عملکرد خود را بر روی سلول اعمال نمایند. مکانیسم بواسطه گیرنده اغلب مربوط به پپتیدهای ضدمیکروبی است که توسط باکتری‌ها تولید شده (نظیر نایسین) و در شرایط درون‌زیست و در مقیاس نانومول فعال هستند (۳٤). پپتید نایسین دارای دو بخش (دامین) است: بخش اول تمایل بالایی به ملکول لیپید II (یک پیش ساز دیواره سلولی متصل به غشاء) دارد و بخش دوم یک بخش ایجاد کننده منفذ است که در غشاء سلولی قرار می‌گیرد. نکته حایز اهمیت این است که از نظر هدف‌گیری پپتیدهای ضدمیکروب، تفاوت بنیادی بین غشاء باکتریایی و غشاء حیوانات چندسلولی وجود دارد. لایه خارجی لیپید دولایه در غشاهای باکتریایی، غالبا از چربی‌هایی با گروه‌های قطبی سر حاوی بار منفی نظیر فسفاتیدیل گلیسرول (PG) و کاردیولیپین تشکیل شده‌اند در حالی‌که سطح خارجی غشاهای حیوانی از فسفولیپیدهای زویتریون (دوبار) نظیر فسفاتیدیل کولین، اسفینگومیلین و سایر اجزاء خنثی نظیر کلسترول تشکیل شده است (۱٤).

کشتن مستقیم: مکانیسم عملکرد هدف‌گیری غیرغشایی: پپتیدهای با عملکرد هدف‌گیری غیرغشایی را می‌توان به دو دسته تقسیم‌بندی نمود: دسته اول انواعی هستند که دیواره سلول باکتریایی را مورد هدف قرار می‌دهند و دسته دوم ترکیباتی هستند که داخل سلول را مورد هدف قرار می‌دهند. همانند آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم نظیر پنی‌سیلین، پپتیدهای ضدمیکروب نیز می‌توانند از سنتز دیواره سلولی جلوگیری کنند. به هر حال اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم به پروتئین‌های خاصی که در سنتز اجزاء دیواره سلولی دخالت دارند، متصل می‌شوند، اما پپتیدهای ضدمیکروب اغلب با ملکول‌های پیش‌ساز مختلف که برای سنتز دیواره سلولی ضروری هستند برهم‌کنش انجام می‌دهند. یکی از ملکول‌هایی که هدف اولیه این ترکیبات محسوب می‌شود لیپیدII است (۳۵). برخی از پپتیدهای ضدمیکروب ابتدا با غشاء سیتوپلاسمی واکنش داده و سپس در داخل سلول تجمع می‌یابند و در آنجا از انجام برخی فرآیندهای مهم سلولی جلوگیری می‌کنند. مکانیسم‌های مختلفی برای هدف‌گیری داخل سلولی در نظر گرفته شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به بازدارندگی سنتز پروتئین/اسیدنوکلئیک، ممانعت از انتقال آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، تخریب فعالیت‌های آنزیم/پروتئین، برهم‌کنش با DNA و RNA، بازدارندگی کانال‌های یونی[2]، عمل تنظیمی بر روی هورمون‌های استروئیدی، ایجاد شرایط احیاء، و ممانعت از سنتز پپتیدوگلایکان اشاره نمود (۳٦).

مکانیسم عملکرد از طریق تعدیل سیستم ایمنی: علاوه برکشتن مستقیم میکروب‌ها، پپتیدهای ضدمیکروب می‌توانند موجب فعال شدن و به‌کارگیری سلول‌های ایمنی بدن گردند و در نتیجه موجب افزایش میکروب‌کشی و یا کنترل التهاب گردند (۳۷). با توجه به این‌که پپتیدهای ضدمیکروب توسط تعدادی از سلول‌های ایمنی نظیر نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها تولید می‌شوند، در نتیجه اولین ترکیباتی هستند که میکروب‌های مهاجم با آن‌ها مواجه می‌شوند (۳۸). در یک عفونت این امر ضروری است که یک پاسخ ایمنی ایجاد نمود که سایر سلول‌های ایمنی را جذب نموده و همچنین التهاب را کنترل نماید. نکته قابل توجه این است که برخی پپتیدهای ضد میکروب می‌توانند انواع مختلفی از پاسخ‌های ایمنی را ایجاد نمایند از جمله: فعال‌سازی، جذب و تمایزگلبول‌های سفید خون، تحریک رگ‌زایی، کاهش التهاب از طریق کاهش بیان کموکین‌های مولدالتهاب[3]، و کنترل بیان کموکین‌ها و گونه‌های فعال اکسیژن/نیتروژن (۳۷). با

[1] Non-receptor mediated interaction

[2] Inhibiting ion channels

[3] Proinflammatory kemokines

وجـود ایـن‌کـه مشـخص شـده اغلـب پپتیـدهای ضدمیکروب با اجزاء سیستم ایمنـی ذاتـی بـدن نظیـر نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها برهم‌کنش انجام می‌دهند، اما نشان داده شده است که این ترکیبات در تنظیم سیستم ایمنی اکتسابی یعنی سـلول‌هـای T و B نیـز دخالـت دارند (۳۹).

گزارشات مختلفی در رابطه با نقش بـالقوه پپتیـد-های ضدمیکروبی و استفاده‌ی احتمـالی آن‌هـا جهـت حل مشـکل مقاومـت دارویـی وجـود دارد بـه ویـژه هرچند که اطلاعات زیادی در رابطه با فعالیـت آن‌هـا درشرایط برون زیست وجود دارد اما چالش‌های قابـل توجهی در رابطه با کاربرد کلینیکی این ترکیبات وجود دارد. مهمترین این چالش‌هـا شـامل تردیـد در زمینـه توانـایی ایـن ترکیبـات جهـت حصـول بـه فعالیـت ضدمیکروبی بالا تحت شرایط فیزیولـوژیکی نمـک، pHو شرایط سرم، تخریب سریع به وسیله پروتئازهـا، دسترسی ضـعیف آن‌هـا از طریـق دهـانی، مشـکلات انتقال آن‌هـا در عـرض غشـاهای سـلولی، اتصـال بـه گیرنده‌های غیرانتخابی، عدم وجود اطلاعات در زمینه احتمـال سـمیت آن‌هـا در شـرایط درون زیسـت و چالش‌ها در زمینه فرایند تولید چند مرحله‌ای آن‌هـا و بنابراین هزینه‌های مربوط به تولید آن‌ها می‌باشد (٤٠).

به عـلاوه پپتیـدهای ضـدمیکروبـی فاقـد کـارایی مناسب در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مرسـوم هسـتند. یکی از روش‌های مورد اسـتفاده بـرای بهبـود کـارایی ضدمیکروبی و کاهش سمیت ایـن ترکیبـات اسـتفاده ترکیبی از دو یا چند ملکول مختلف است. بـه عنـوان مثال کولیسـتین[1] و باکتریوسـین بصـورت تـوام مـورد استفاده قرار گرفته‌اند تا اثرات تشدیدکنندگی بین آن‌ها بوجـود آیـد. پیلیسـینین در واقـع یـک آنتـی‌بیوتیـک پلی‌پپتیدی است که به دلیـل سـمیت مصـرف آن منـع شده‌است، اما زمانی که در ترکیب بـا باکتریوسـیدین[2] مورد استفاده قرار می‌گیـرد در غلظـت‌هـای پـایین‌تـر کارایی مناسبی از خودشـان نشـان مـی‌دهـد. در حـال حاضر طراحـی اصـولی ایـن ترکیبـات اهمیـت قابـل توجهی پیدا کرده بطوریکـه ایـن امـر موجـب تحـول عمده در زمینه تکامل ایجاد پپتیدهـای ضـدمیکروبـی گردیده است که دارای فعالیت بیشتر، سمیت کمتـر و همچنـین پتانسـیل تولیـد در سـطح صـنعتی هسـتند. مطالعات بیوانفورماتیکی و بیوفیزیکی جهت شناسـایی جنبه‌های فیزیکوشـیمیایی مثـل آبگریـزی بـا آرایـش فضایی آمفی‌پاتیک و قابلیت آمفی‌پاتیکی در این زمینه نقش عمده‌ای را ایفا می‌کنند (٤٠).

پپتیدهای ضد فشار خون (مهار کننده ACE): آنـزیم مبـدل آنژیوتانسـین I (ACE) نقـش مهمـی در تنظـیم فشار خون ایفا می‌کند، زیرا تبـدیل آنژیوتانسـین I بـه منقبض‌کننده عروق آنژیوتانسین II و همچنین غیرفعال کردن برادی‌کینـین [3] گشـاد شـدن عـروق را افـزایش می‌دهد. مسیر رنـین-آنژیوتانسـین همـراه بـا سیسـتم کـالیکرئین-کینـین (kks) نقـش مهمـی در تنظـیم هموسـتاز سـدیم و فشـار خـون دارد (٤١ و ٤٢). در سیسـتم رنـین-آنژیوتانسـین (RAS)، آنژیوتانسـینوژن (AGT) از کبـد آزاد مـی‌شـود و توسـط رنـین، یـک آسپارتیل پروتئاز جدا می‌شود و آنژیوتانسین (ANGI) را تشکیل می‌دهد. آنژیوتانسین عمـدتا توسـط آنـزیم مبدل آنژیوتانسـین (ACE) تجزیـه مـی‌شـود. سیسـتم کینین زمانی آغاز می گردد که فاکتور انعقـادی بـا نـام فاکتور هاگمن (فاکتورXII) به دنبـال آسـیب بـافـتی انـدوتلیوم عـروق فعـال شـود. فاکتورهـاگمن فعـال متـصل به سطح، پری کالیکرئین (PK) را بـا فعالیـت پروتئولیتیکی به کالیکرئین فعال تبدیل مـی‌کنـد. بـرای این عمل کینینوژن با وزن مولکولی بالا (HMWK) به

[1] colitis

[2] bacteriocidin
[3] bra- dykinin

عنوان کوفاکتور لازم است. از طرف دیگر کالیکرئین سبب آزاد شدن برادی‌کینین از کینینوژن با وزن مولکولی بالا (HMWK) می شود. فعال شدن این سامانه موجب افزایش نفوذپذیری عروق، التهاب، اتساع عروقی و درد می‌شود (۴۳). علاوه بر این، مهار مستقیم رنین می‌تواند منجر به تنظیم دقیق سطوح فشار خون شود زیرا سنتز ANGI به دنبال آن ANGII از طریق یک مسیر جایگزین مستقل از ACE که توسط کیماز[1] کاتالیز می‌شود در برخی بافت‌ها مهار می‌شود (۴۴). شکل ۱ مکانیسم اثر فعالیت ضد فشار خون پپتیدهای زیست فعال را نشان می‌دهد.

مواد بازدارنده ACE برای کاهش فشار خون بیماران مبتلا به فشار خون بالا استفاده می‌شوند. مهارکننده‌های ACE مصنوعی مانند کاپتوپریل، انالاپریل، آلاسپریل، لیزینوپریل و رامیپریل به طور گسترده برای درمان بالینی موثر فشار خون و نارسایی قلبی در انسان استفاده شده اند. با این حال، این داروهای مصنوعی دارای عوارض جانبی متعددی از جمله اسهال، سرفه، آلرژی، اختلالات چشایی، بثورات پوستی، اختلال در عملکرد کلیه و در برخی موارد افت فشار خون را به همراه دارد (۴۵).

بنابراین، جستجوی مهارکننده‌های ACE طبیعی به‌عنوان جایگزینی برای مهارکننده‌های مصنوعی، یکی از علایق بزرگ برای استفاده ایمن و اقتصادی از آن‌ها به عنوان دارو است. بسیاری از پپتیدهای مهارکننده ACE طبیعی جدا شده از پروتئین‌های غذایی مختلف می‌توانند در پیشگیری از فشار خون بالا و در درمان اولیه افراد دارای فشار خون خفیف استفاده شوند (۴۶).

تحقیقات محققین نشان داد که فعالیت بازدارنده ACE توسط پپتیدها به میل ترکیبی اسید آمینه باقی مانده در انتهای کربوکسیل و یا آمین زنجیره در محل فعال ACE بستگی دارد. گزارش شده است که بیشتر پپتیدهای بازدارنده ACE پپتیدهایی با توالی کوتاه هستند که تنها دو تا نه اسید آمینه دارند. مشخص است که پپتیدهای دی یا تری، به ویژه آن‌هایی که دارای پرولین یا هیدروکسیل پرولین در انتهای کربوکسیل هستند، عموماً در برابر تجزیه توسط آنزیم‌های گوارشی مقاوم می‌باشند. علاوه بر این، پپتیدهای کوتاه متشکل از دو یا سه اسید آمینه با سرعت بیشتری نسبت به اسیدهای آمینه آزاد جذب می‌شوند (۴۷).

آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) واکنش‌های خاصی که در تنظیم فشار خون نقش دارند را کاتالیز می‌کند، این آنزیم مسئول فشار خون بالا و عامل خطرناک بروز بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که پپتیدهای به دست آمده از طریق هیدرولیز کلاژن از پوست ماهی اسکیت[2] و خیار دریایی[3] می‌توانند فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) را مهار کنند و یک جایگزین طبیعی برای مهارکننده‌های ACE مصنوعی است (۴۸).

همچنین پپتیدهای با وزن مولکولی پایین‌تر اثر ضد فشار خون بالاتری دارد. در این راستا، گزارش شده است که مهار ACE با خواص ساختاری مانند آب‌گریزی و بار مثبت پپتیدها ارتباط دارد. همچنین مشاهده شد که توالی آمینواسید در انتهای کربوکسیل پپتید می‌تواند بر عملکرد آنزیم مبدل آنژیوتانسین تأثیر بگذارد. به‌عنوان مثال، توصیه شده است که اسیدهای آمینه‌های لیزین، آرژنین یا پرولین در انتهای کربوکسیل در افزایش قدرت مهار ACE-I پپتید شرکت می‌کنند. همچنین محققان اثر پپتیدها را بر فشار خون موش‌ها مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند اگر دی پپتیدها

[1] chymase

[2] skate

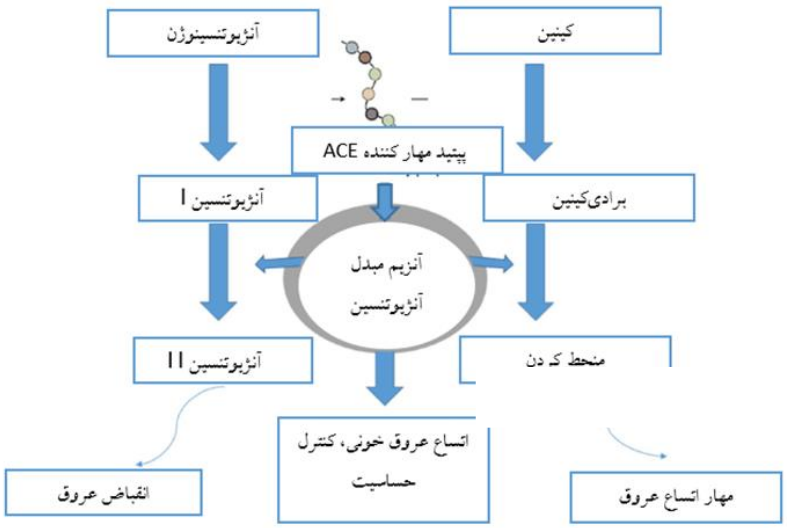
[3] sea cucumber

دارای تیروزین در انتهای کربوکسیل باشند، می‌توانند فشار خون سیستولیک را برای مدت طولانی کاهش دهند. از سوی دیگر، اگر تیروزین با فنیل آلانین در انتهای کربوکسیل پپتید جایگزین شوند، فشار خون سیستولیک به سرعت اما برای مدت کوتاهی کاهش می‌یابد (۴۹).

چندین پپتید زیست فعال استخراج شده از منابع غذایی مختلف از جمله گندم، برنج، جو، شیر، تخم مرغ ، گوشت و منابع دریایی فعالیت ضد فشار خون دارند. در تحقیقی کومایا و همکاران (۲۰۱۳) اثر کاهش فشار خون پپتیدهای فعال زیستی از جوانه گندم سیاه تخمیر شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک را در داخل بدن بررسی کردند. ٦ پپتید فعال زیستی جدید (FQ, VAE, VVG, DVWY, WTFR, FDART) شناسایی شدند و تجویز این پپتیدها به موش‌های مبتلا به فشار خون منجر به کاهش قابل توجه فشار خون شد. پروتئین هیدرولیز مشتق شده از کینوآ نیز مهار قابل توجهی از فعالیت ACE را نشان داد (۵۰).

در مطالعه‌ای محققان گزارش کردند بخش‌های پپتیدی هیدرولیز پروتئین لوبیا (Kidney Bean) نسبت به هیدرولیز ماش تهیه شده با نوتراز فعالیت مهاری ACE بالاتری دارند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که تفاوت در این یافته‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در نوع پپتیداز، غلظت نمونه مورد استفاده و همچنین نسبت پپتیداز به سوبسترا باشد که همه آن‌ها می‌توانند بر نوع پپتیدهای تولید شده تأثیر بگذارند (۵۱).

علاوه بر این، پپتیدهای دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و مهارکننده ACE معمولاً غنی از اسیدهای آمینه آبگریز هستند که جذب و تعامل با آنزیم‌های هدف یا رادیکال‌های آزاد را افزایش می دهند. پپتیدهای زیست فعال مشتق از شیر نقش مهمی در سلامت و تغذیه انسان ایفا می‌کنند. برخی از این پپتیدها دارای چندین ویژگی عملکردی هستند، به عنوان مثال توالی ٦٠-٧٠ آمینو اسید پپتیدهای کازئین به دلیل آبگریزی بالا و وجود باقی مانده‌های پرولین فعالیت‌های مهاری ACE را نشان می‌دهند (۵۲).



شکل ۱- مکانیسم اثر فعالیت ضد فشار خون پپتیدهای زیست فعال (۴۳).

Figure 1. Mechanism of action of antihypertensive activity of bioactive peptides (43).

روش‌های ارزیابی عملکرد پپتیدهای ضد فشار خون: چندین روش برای تخمین خواص بالقوه پپتیدهای ضد فشار خون ابداع شده است. به‌طور کلی، این روش‌ها شامل سنجش فعالیت ACE یا رنین است. اولین روش مهار ACE با استفاده از هیپوریل هیستیدیل لوسین (HHL) می‌باشد. جدا شدن پیوند هیپوریل هیستیدین باعث آزاد شدن اسید هیپوریک می‌شود و توسط اتیل استات جداسازی می‌شود. در این روش حلال تبخیر و باقی مانده اسید هیپوریک در آب مقطر حل می‌شود و سپس اندازه گیری اسپکتروفتومتری در ۲۲۸ نانومتر انجام می‌شود. همچنین برای تعیین کمی پیک اسید هیپوریک می‌توان از یک ستون HPLC فاز معکوس استفاده کرد. در حضور پپتیدهای مهارکننده، تولید اسید هیپوریک با واسطه ACE کاهش می‌یابد. یک اشکال عمده در روش اسپکتروفتومتری این است که اگر گرمای بیش از حد برای تبخیر اتیل استات استفاده شود، ممکن است مقداری از اسید هیپوریک در آب حل نشود، باعث تخمین بیش از حد ظرفیت بازدارندگی پپتید می‌شود. اتیل استات ممکن است با گاز نیتروژن تبخیر شود اما حلال باقی مانده باعث ایجاد خطا در میزان فعالیت آنزیمی و میزان فعالیت بازدارندگی پپتید می‌شود. اتیل استات امواج فرابنفش (UV) را در ۲۲۸ نانومتر جذب می‌کند. علاوه بر این، اتیل استات گاهی می‌تواند با سوبسترا (HHL) آلوده شود، که در طول موج ۲۲۸ نانومتر نیز جذب می‌شود و می‌تواند منجر به تخمین بیش از حد فعالیت ACE شود. حساسیت و دقت روش HPLC در مقایسه با روش اسپکتروفتومتری بیشتر است (۵۳).

یکی از روش‌های سنجش ACE فلورمتری است و از اسید ارتو آمینو بنزوئیک- فنیل آلانین-آرژنین- لیزین دی نیتروفنیل-پرولین به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود. ACE پیوند آرژنین-لیزین (RK) را می‌شکند، بخش خاموش کننده DNP را حذف می‌کند و باعث افزایش فلورسانس (تحریک در 320 nm و انتشار در 420 nm) می‌شود. بنابراین، پپتیدهای بازدارنده ACE، باعث کاهش مقادیر انتشار فلورسانس می‌شود (۵۳).

یکی دیگر از روش‌های رایج مورد استفاده ACE شامل N-(۳-[۲-فوریل] اکریلویل)- فنیل آلانیل گلیسیل گلیسین (FAPGG) به عنوان سوبسترا است. ACE، FAPGG را به FAP و GG هیدرولیز می‌کند. سپس واکنش را می‌توان با اندازه‌گیری مداوم جذب UV دنبال کرد تا کاهش جذب در طول موج ۳۴۵ نانومتر را در نتیجه شکست پیوند پپتیدی Phe-Gly تعیین کرد (۵۳).

روش دیگر، FAP آزاد شده را می‌توان با تزریق مخلوط واکنش مستقیماً روی یک ستون HPLC فاز معکوس با تشخیص در ۳۰۵ نانومتر تعیین کرد. به طور کلی، روش FAPGG ساده تر و سریع تر است و بنابراین در مقایسه با روش HHL برای تجزیه و تحلیل معمول چندین نمونه مناسب‌تر است (۵۳).

پرکاربردترین سنجش ACE روش مهاری رنین می‌باشد. این روش از یک سوبسترای REIHPFHLVIHTKR استفاده می‌شود. رنین پیوند Leu-Val را هیدرولیز می‌کند تا یک محصول بسیار فلورسنت REIHPFHL (به نام پپتید-EDANS) تولید کند. مقدار پپتید-EDANS آزاد شده را می توان در ۳۳۵-۳۴۵ نانومتر و طول موج‌های انتشار ۴۸۵-۵۱۰ نانومتر اندازه گیری کرد (۵۲). از موش‌های دارای فشار خون ژنتیکی به‌عنوان مدل برای آزمایش اثرات ضد فشار خون پپتیدهای مشتق شده از پروتئین مواد غذایی استفاده می‌شود. این روش به‌طور گسترده برای ارزیابی فعالیت ضد فشار خون ترکیبات استفاده شده است (۵۳).

پپتیدهای ضد سرطان: تکثیر کنترل نشده سلولی یک نشانه اصلی در توسعه و پیشرفت سرطان است از این رو اکثر قریب به اتفاق داروهای ضد سرطان با هدف قرار دادن سلول‌هایی با درجه تکثیر بالا تولید می‌شوند. امروزه، سرطان عامل اصلی مرگ و میر است. این بیماری در اثر جهش‌های DNA ایجاد می‌شود که روش‌های تکثیر طبیعی سلول را مختل کرده و در نهایت منجر به مرگ می‌شود. در اثر افزایش میزان تکثیر در بدن سلولی نامطلوب تولید می‌شود که تومور نامیده می‌شود. این تومور همچنین می‌تواند به نقاط دوردست بدن انتقال یابد (٥٤).

گزارش شده است که اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و پپتیدها دارای عملکردهای ضد تکثیر یا ضد توموری می‌باشند. بسیاری از پپتیدهای ضد تومور از غذاهای دریایی مانند ماهی آنچوی نیمه باله[1] و ماهیچه تیره ماهی تن و همچنین از منابع گیاهی کشف و جداسازی شدند. به‌عنوان مثال، تولید پپتیدهای ضد سرطان از طریق هیدرولیز پروتئین ماهیچه تیره ماهی تن با استفاده از پروتئاز XXIII و آنزیم‌های پاپائین مورد ارزیابی قرار گرفت. هر دو پپتید دارای وزن مولکولی از ١/٤ تا ٣٩٠ کیلو دالتون می‌باشند. پپتید تولید شده از آنزیم پروتئاز XXIII دارای توالی اسید آمینه با وزن مولکولی ١/١٢ کیلو دالتون (EGGVYMVT)، همچنین پپتید تولید شده توسط آنزیم پاپائین دارای وزن مولکولی ١/٢١ کیلو دالتون با توالی از اسیدهای آمینه شامل LPHVLTPEAGAT می‌باشد. اثر ضد تکثیر آن‌ها بر روی رده سلولی MCF-7تحت تأثیر مقدار پپتید مورد استفاده قرار گرفت، در این تحقیق ٨/٨ میلی مولار پپتید حاصل از آنزیم پروتئاز XXIII و ٨/١ میلی مولار برای پپتید حاصل از آنزیم پاپائین فعالیت ضد سرطانی از خود نشان دادند (٤٨). همچنین برخی از محققان پپتیدهایی را از ماهی قزل آلا، ماهی کاد، بلال و سفیدک آبی کشف کردند که می‌تواند از تکثیر دو رده سلولی مرتبط با سرطان سینه انسان (رده‌های سلولی MDA-MB-231و MCF-7/6) جلوگیری کند (٤٨).

نتایج تحقیقات و بررسی اثار ضد سرطانی گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) نشان داد پپتیدهای مشتق شده آن از تکثیر HepG2 (hepatoma) سرطان سینه (MCF–٧) جلوگیری می‌کند. همچنین پپتیدهای مشتق شده از گندم سیاه فاقد پاسخ میتوژنیک بر روی طحال بودند و قادر به القای تولید اکسید نیتریک توسط ماکروفاژها نبودند. پپتیدهای مشتق شده از پروتئین به‌دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی خود بعنوان عوامل ضد سرطانی پیشنهاد شدند زیرا سرطان ارتباط تنگاتنگی با گونه‌های فعال اکسیژن و استرس اکسیداتیو دارد (٤٣). جدول١ اثر پپتیدهای مشتق شده از مواد غذایی بر سلول‌های سرطانی را نشان می‌دهد.

در تحقیق دیگر خواص ضد سرطانی پپتید حاصل از سویا بررسی شده است. این پپتید هیستون استیل ترانسفراز، استیل اسیدهای H3 و H4 را مهار می‌کند که منجر به سرکوب تکثیر چرخه سلولی و آپوپتوز سلول‌های سرطانی می‌شود. همچنین فعالیت ضد سرطانی غذاهایی حاوی لوناسین، بدون مهار کننده پروتئازی با هضم گوارشی کاهش نخواهد یافت (٤٥).

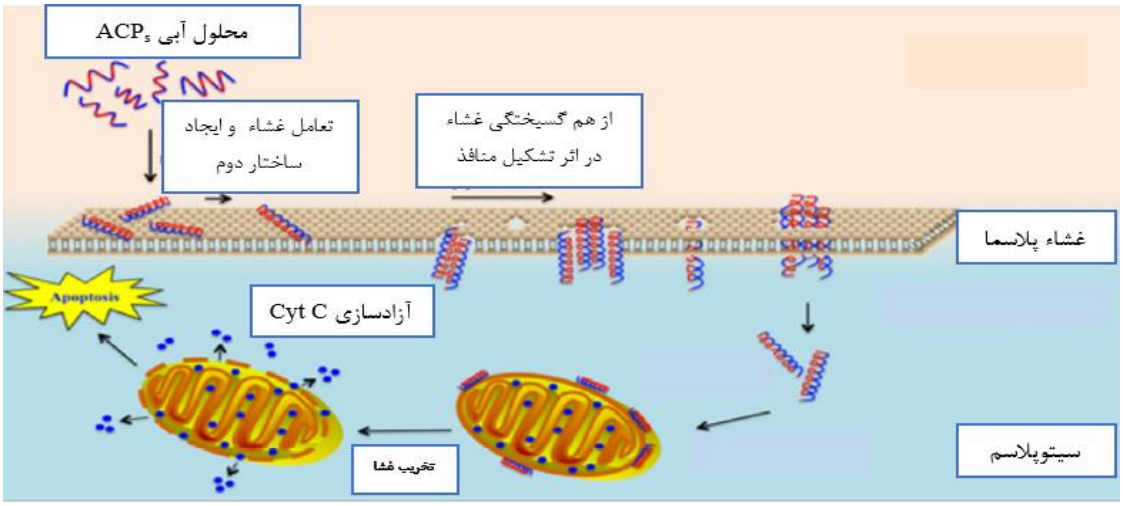
[1] half-fin anchovy

جدول ۱- اثر پپتیدهای مشتق شده از مواد غذایی بر سلول‌های سرطانی.

Table 1.Effects of food protein-derived peptides against cancer cells.

نام Name	سلول سرطانی Cancer cell	مکانیسم بیولوژیکی Biological mechanism	منبع References
پوست ماهی قزل آلای رنگین کمانی	HCT-116	مهار رشد تومور و خاصیت سمیت سلولی	(۵۵)
پپتید EpCAM	کارسینومای کبدی	نفوذ به غشا سلول سرطانی	(۵۶)
پپتید HDPs	تومور سینه T1 ٤و ریوی B16-	نکروز سلول سرطانی	(۵۷)
پپتید KS-58	ریه و پانکراس	نفوذ به سلول سرطانی	(۵۸)

تولید پپتیدهای ضدسرطان از منابع غذایی: سرطان یکی از مخرب ترین بیماری‌هاست که سالانه میلیون‌ها نفر در سراسر جهان جان خود را از دست می‌دهند. شیمی درمانی معمولا روش اصلی درمان سرطان است اما ممکن است با عوارض خطرناکی همراه باشد. از این رو محققان در تلاش برای رسیدن به روش و درمان با ریسک کمتر می‌باشند. هیدرولیز آزمایشگاهی پروتئین‌های مواد غذایی با استفاده از آنزیم‌های پروتئولیتیک تجاری رایج‌ترین فرآیند مورد استفاده برای تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده غذایی ضدسرطان و ایمن است. تعدادی از پروتئازهای تجاری با موفقیت برای تولید هیدرولیزات یا پپتیدهای ضد سرطانی از جمله پپسین، تریپسین، آلکالاز، پانکراتین، نوتراز، کیموتریپسین، پروناز، پروتئاز N، ترموآز، کریوتین و پاپائین استفاده شده‌اند (۵۹). در بین آنزیم‌ها، پپسین یکی از کارآمدترین آنزیم‌ها در تولید پپتیدهای ضد سرطانی از پروتئین های غذایی است. پپسین فقط پیوندهای پپتیدی را هیدرولیز می‌کند، ترجیحاً آن‌هایی که حاوی اسیدهای آمینه آبگریز، به ویژه باقی مانده‌های اسید آمینه معطر مانند فنیل آلانین، تریپتوفان و تیروزین هستند. مکانیسم احتمالی این است که در طول هیدرولیز، شکست پیوند پپتیدی، پپتیدهای آبگریز زیست فعال را آزاد می‌کند که در بخش‌های داخلی پروتئین ها پنهان شده‌اند و قادر به مهار رشد رده‌های سلولی سرطانی، القای آپوپتوز و مهار چرخه سلولی هستند (۶۰).



شکل ۲- نمایش شماتیک اثر پپتیدها با خواص ضد سرطانی (۶۰).

Figure 2. Schematic representation of the function of anticancer peptides (60).

پپتیدهای ضد سرطان بسته به ترکیب اسید آمینه باقی‌مانده، طول توالی، نقطه ایزوالکتریک، وزن مولکولی، بار خالص، آبگریزی، ساختار و جهت گیری ساختاری می‌تواند مهار تکثیر نامطلوب سلولی را افزایش دهد. پپتیدهای ضد سرطانی سلول‌های سرطانی را از طریق آپوپتوز و نکروز با لیز شدن غشای یا تشکیل منافذ تخریب می‌کنند. ویژگی‌های متفاوتی بین سلول‌های سرطانی و سالم وجود دارد. سیالیت غشای سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های سالم بیشتر است. سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های سالم حاوی میکروویل های فراوان تری هستند که باعث افزایش سطح سلولی می‌شود. علاوه بر این، سلول‌های سالم دارای بار الکتریکی خنثی هستند، در حالی که سلول‌های سرطانی دارای یک جزء بار منفی در سطح خود هستند. نیروی محرکه اولیه برای تعامل بین پپتیدها و غشای سلول سالم، برهمکنش‌های آبگریز است، در حالی که بین پپتیدها و غشای سلول سرطانی، برهمکنش‌های الکترواستاتیکی می‌باشد. بنابراین در سلول‌های سرطانی، پپتیدهای ضدسرطانی، به‌ویژه در فرم مارپیچ α، به غشای پلاسما، غشای هسته و یا غشای میتوکندری نفوذ می‌کنند و از طریق مکانیسم های مختلف (مانند مهار سنتز DNA یا سلول) فعالیت دارویی انجام می‌دهند و موجب آپوپتوز سلول‌های سرطانی را می‌شوند (٦١). شکل ٢ نمایش شماتیک اثر پپتیدها با خواص ضد سرطانی را نشان می‌دهد (٦٠).

اسید آمینه باقی‌مانده پپتیدها می‌توانند نفوذپذیری سلول را افزایش دهند. اسید آمینه باقی مانده غالب در پپتیدهای دارای توانایی ضد سرطانی عبارتند از گلیسین، لیزین و لوسین. به عنوان مثال، پپتیدهای غنی از لیزین و آرژنین با بار مثبت آبگریز به عنوان پپتیدهای کاتیونی عمل می‌کنند و می‌توانند از طریق مکانیسم‌هایی با غشاها تعامل داشته باشند و بر هم زدن یکپارچگی غشای سلولی، نفوذ به غشاء و سمیت سلول‌های سرطانی را بدنبال داشته باشند. علاوه بر این، پروتونه شدن هیستیدین در شرایط pH اسیدی به این معنی است که پپتیدهای حاوی هیستیدین می‌توانند خاصیت ضد سرطانی را از طریق نفوذپذیری غشاء تحت شرایط اسیدی القا کنند. گلوتامیک اسید و اسید آسپارتیک فعالیت ضد تکثیر بالقوه ای بر روی سلول‌های تومور دارند (٥٤).

گزارش شده است که پپتیدهایی با آبگریزی بالاتر می‌توانند به هسته آبگریز غشای سلول سرطانی نفوذ کنند و در نتیجه سلول‌های سرطانی از طریق نکروز از هم گسیخته شوند. جهت‌گیری پپتیدها می‌تواند فعالیت سطحی آن‌ها را برای تعامل با غشای سلول سرطانی افزایش دهد. علاوه بر این، اصلاح پپتیدها با افزودن گروه‌های شیمیایی، از جمله متیلاسیون، استیلاسیون یا فسفوریلاسیون (به ویژه فسفوریلاسیون در تیروزین)، می تواند منجر به مرگ سلول‌های سرطانی شود (٦٢).

روش‌های ارزیابی فعالیت ضدسرطانی پپتیدها: برای بررسی خصوصیات ضد سرطانی پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از مواد غذایی، بسیاری از محققان اثرات آن‌ها را بر روی رده‌های سلولی مختلف بررسی کرده‌اند. رده های مختلف سلول سرطان، مانند MCF-7، MDA-MB-231 و BT549 (سرطان پستان انسان)، CA9-22 (سرطان دهان انسان) HEP G2 ، (سرطان کبد انسان)، HT-29، RKO، KM12L4، DLD-1 و HCT15 (سرطان روده بزرگ انسانی)، CACO-2، TC7 و HCT-116 (سرطان کولورکتال انسانی)، U87 (گلیوما انسانی)، PC3، LNCAP و DU-145 (سرطان پروستات انسانی)، THP-1 (لوسمی مونوسیتیک انسانی)، سلول‌های J Jurkat (لوسمی سلول T انسانی)، AGS (سرطان

معده انسان)، A549 و H-1299 (سرطان ریه انسان)، HELA (سرطان دهانه رحم انسانی)، (سرطان مری انسان)، HFOB1.19 (سرطان استئوبلاست جنین انسانی)، HL- 60 (لوسمی میلوئید حاد انسان)، SK-N-DZ و IMR-32 (نوروبلاستوما انسانی)، L1210 (لوسمی لنفوسیتیک موش)، P388D1 (رده سلولی مونوسیت موش) و Vero (سلولهای کلیه از میمون)، به طور گسترده‌ای به‌عنوان سیستم‌های کشت سلولی مدل برای بررسی فعالیت ضد سرطان پپتیدها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶۳).

سمیت سلولی یکی از اهداف شیمی درمانی و فعالیت ضدتوموری است. اثرات ضد تکثیری سیتوتوکسیک پپتیدهای مشتق شده از مواد غذایی به طور کلی با روش میکروپلیت آزمایشگاهی با استفاده از روش ۳-(۵،٤ دی متیل تیازول-۲-ایل)-۵،۲- دی فنیل تترازولیوم بروماید (MTT) بر اساس تشخیص دهیدروژناز میتوکندریایی ارزیابی می‌شود. فلوسیتومتری به طور کلی برای تجزیه و تحلیل آپوپتوز، نکروز و پیشرفت چرخه سلولی پس از تیمار با پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از مواد غذایی یا پپتیدها استفاده می‌شود. آپوپتوز یک مکانیسم هموستاتیک مهم است که مرگ سلولی را با بقای سلول‌های طبیعی متعادل می‌کند و نقش های کلیدی را در تصمیم گیری نهایی در مورد سرنوشت سلول سرطانی ایفا می‌کند. آپوپتوز سلولی معمولاً با آنالیز FACS با استفاده از فلوسایتومتر ارزیابی می‌شود. سلول‌ها با انکسین V کونژوگه به رنگ فلورسین ایزوتیوسیانات سبز-فلورسنت (FITC) و پروپیدیوم یدید (PI) (رنگ فلورسنت قرمز) رنگ آمیزی می‌شوند و از طریق تفاوت در یکپارچگی و نفوذپذیری غشای پلاسما مشخص شود که آیا سلول‌ها زنده، آپوپتوز یا نکروز هستند. قرار گرفتن در معرض فسفاتیدیل سرین (PS) در سمت خارج سلولی غشای سلولی توسط انکسین V تعیین می‌شود که نشان دهنده مراحل اولیه آپوپتوز است. پروپیدیوم یدید به اسید دئوکسی ریبونوکلئیک (DNA) سلول‌های آپوپتوز و نکروز متصل می‌شود و رنگ آمیزی می‌کند اما سلول‌های زنده و سالم یا در مراحل اولیه آپوپتوز را رنگ آمیزی نمی‌کند (۶۳).

علاوه بر سنجش‌های آزمایشگاهی، فعالیت‌های ضد توموری هیدرولیزهای پروتئین مشتق شده از غذا در مدل‌های حیوانی (موش‌های حامل تومور) نیز انجام شده است. به طور کلی، موش‌ها از طریق تزریق زیر جلدی با سلول‌های سرطانی تلقیح می‌شوند تا مدل توموری ایجاد شود. پس از ۲٤ ساعت از کاشت تومور، پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از مواد غذایی یا پپتیدها به صورت داخل صفاقی یا خوراکی روزانه در یک دوره زمانی خاص بسته به نوع تومور و منبع پپتید تزریق می‌شوند. پس از دوره آزمایشی، موش‌ها برای اندازه‌گیری اندازه تومور، تاخیر رشد تومور، زمان دو برابر شدن تومور و میزان مهار تومور استفاده می شوند و بافت‌های تومور برای برش پاتولوژیک با رنگ هماتوکسیلین- ائوزین (HE) جداسازی می‌شوند (۶۳).

پپتیدهای کاهش کلسترول: مطالعات مختلف نشان داده‌اند برخی از پپتیدها قادر به تغییر شاخص آتروژنیک پلاسما، کاهش کلسترول و کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی می‌باشند. مکانیسم‌های دقیق کاهش کلسترول مشخص نیست، اما شواهد نشان می‌دهد که ترکیب اسید آمینه خاص در پروتئین‌ها، ساختار پپتیدهای رژیم غذایی و منبع پروتئین بر سطح کلسترول پلاسما تأثیر می‌گذارد (٦٤). گزارش شده است که پروتئین‌های غذایی با نسبت‌های پایین متیونین-گلیسین و لیزین-آرژنین، مانند پروتئین سویا و ماهی، اثر کاهش کلسترول خون از خود نشان می‌دهند. در مقابل، کازئین گاوی احتمالاً

به دلیل نسبت بالای متیونین-گلیسین و لیزین-آرژنین سطح کلسترول را افزایش می‌دهد. چندین تحقیق طیف وسیعی از مکانیسم‌های احتمالی اثر را در توانایی پروتئین سویا برای کاهش کلسترول کل پلاسما از جمله القای بیان گیرنده LDL ، افزایش سنتز و دفع اسیدهای صفراوی و همچنین کاهش جذب استروئید از روده پیشنهاد کردند. علاوه بر این، تغییرات در وضعیت غدد درون ریز مانند تغییر در نسبت انسولین به گلوکاگون و در غلظت هورمون تیروئید نیز گزارش شده است (٤٤).

همچنین پیشنهاد شده است که پروتئین‌های هیدرولیز شده حاصل از سویا نسبت به پروتئین سویای خام سطوح کلسترول تام را به طور موثرتری کاهش می‌دهند. یک پپتید مشتق شده از گلیسینین سویا، با توالی آمینو اسید LPYPR ، برای ایجاد اثرات کاهش دهنده کلسترول سرم شناسایی شد. همچنین پپتیدهایی با توالی آمینو LPYPR و پپتید انترواستاتین با توالی آمینو اسید VPDPR، دارای فعالیت کاهش کلسترول خون می‌باشند. پپتیدهای IAVPGQVA یکی دیگر از پپتیدهای مشتق شده از گلیسینین با فعالیت کاهش کلسترول است. گزارش شده است که پپتید LPYRPIAVGEVA همراه با ۳ – هیدروکسی – ۳ – متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز (HMGR) آنزیم کلیدی در بیوسنتز کلسترول را مهار می‌کنند. بررسی‌ها بر روی رابطه ساختار-فعالیت نشان داد که منطقه آبگریز هر دو پپتید یک عنصر ساختاری مورد نیاز برای فعالیت بیولوژیکی آن‌ها است. حداکثر طول توالی آبگریز چهار اسید آمینه بیان شد. بعلاوه، اسید آمینه پرولین یک جزء کلیدی به نظر می‌رسد و می‌تواند در انتهای کروبوکسیل و در هر موقعیت دیگری از توالی اسید آمینه به جز انتهای آمین قرار گیرد (٤٧). همچنین نتایج تحقیقاتی نشان داده است پپتید حاصل از گلایسین سویا (IAVPGEVA) و بتا کانگلایسینین سویا (YVVNPDNDEN) به ترتیب دارای توانایی مهار فعالیت HMGCoAR – مسیر موالونات و بیوسنتز کلسترول و افزایش سطح پروتئین SREBP2 و LDLR – افزایش جذب LDL، کلسترول خون را کاهش می‌دهند (٦٥).

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد مکانیسم اثر پپتیدها بر کلسترول عمدتاً شامل ممانعت از جذب اولیه کلسترول از طریق روده است. از سوی دیگر، تصور می‌شود که اگر پپتیدهای فعال بتوانند از سد روده عبور کنند و در کبد و بافت های چربی کلسترول درون‌زا کاهش می‌دهند. برخی از پپتیدها مانع گردش کبدی اسیدهای صفراوی می‌شوند، در حالی که برخی دیگر به طور مستقیم متابولیسم کلسترول درون‌زا را در بافت‌ها هدف قرار می‌دهند، این عامل باعث می‌شود تا جذب، توزیع، متابولیسم، دفع و سمیت پپتیدها و مشتقات آن‌ها ایجاد شود. دستگاه گوارش، به ویژه روده‌ها، در انتقال کلسترول رژیم غذایی و در گردش مجدد متابولیت‌های کلسترول از طریق مسیر روده‌ای نقش مهمی را ایفا می‌کند. این فرصتی را برای پپتیدها فراهم می‌کند تا متابولیسم کلسترول را در روده تعدیل کنند (٦٦).

مکانیسم پیشنهادی برای پپتیدهای ضدکلسترول شامل برهمکنش آبگریز، برای اتصال اسید صفراوی و مهار حلالیت میسلی کلسترول می‌باشد. در تحقیقی، سطح کلسترول تام در موش هایی که رژیم های حاوی کلسترول بالا با پروتئین سبوس برنج مصرف کردند، کاهش یافت. پروتئین‌های سبوس برنج نیز باعث افزایش دفع مدفوعی استرول‌ها می‌شوند. مکانیسم دیگر کاهش کلسترول می‌تواند به دلیل ظرفیت اتصال اسیدهای صفراوی باشد زیرا پروتئین یا پپتیدها در شرایط آزمایشگاهی به تائوروکولات[1]،

[1] Taurocholate

تائورودئوکسی کولات[1] و گلیکودوکسی کولات[2] متصل می‌شوند و جذب کلسترول را در سلول‌های روده کاهش می‌دهند. وجود بخش‌های آبگریز در پپتیدها برای اتصال کلسترول و اسید صفراوی مهم است. افزایش توانایی پپتیدها در تعامل با اسیدهای صفراوی می‌تواند توانایی امولسیون، حلالیت و مقدار کل کلسترول غذایی جذب شده در روده کوچک را کاهش دهد. بخشی از کلسترول در بدن به صورت درون‌زا سنتز می‌شود. HMGCoAR سوخت و ساز موالونات[3] به عنوان مرحله محدود کننده در تشکیل کلسترول را کاتالیز می‌کند که منجر به بیوسنتز کلسترول می‌شود، بنابراین مهار فعالیت آن نقش مهمی در کاهش سطح کلسترول درون‌زا را ایفا می‌کند. دسته‌ای از مهارکننده‌ها به نام استاتین‌ها نام گذاری شده است. اگر اثرات شبه استاتین پپتیدها با مکانیسم‌های دیگر ترکیب شود، سطح کلسترول درون زا در داخل بدن را می‌توان به میزان بیشتر کاهش داد (٦٧).

پپتیدهای کاهش چربی خون: نتایج تحقیقات محققان نشان داده است برخی از پپتیدهای زیست فعال می‌توانند سطح لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها را در خون کاهش دهند و می‌توان از آن‌ها برای جلوگیری از تجمع سطوح بالای چربی در عروق خونی و بافت‌ها استفاده کرد (٦٩ و ٦٨). پپتیدهای جدا شده از پروتین سویا، پروتئین شیر، پروتئین گندم سیاه، پروتئین سفیده تخم مرغ و پروتئین ماهی فعالیت کاهش چربی خون را نشان می‌دهند (٤٣). بطور مثال، پپتید LPYPR، باعث کاهش اشتها می‌شود و گلیسرید و کلسترول را بدون کاهش پروتئین بدن در انسان کاهش می‌دهد (٦٢). نتایج تحقیقی نشان داد یک پپتید (VHVV) حاصل از پروتئین سویا مسئول تحریک لیپولیز در رژیم غذایی پرچرب می‌باشد (٦٤). همچنین برخی از پپتیدهای دریایی مانند گاسترین، با افزایش آزادسازی کوله سیستوکینین موجب کنترل سطح چربی شد. پپتید DIVDKIEI از ماهی تن و پپتیدهای GPL و IY محتوای چربی کل، فعالیت گلیسرول-۳-فسفات دهیدروژناز و سطح mRNA نشانگرهای چربی را کاهش دادند (٦٢).

پپتیدهای ضددیابت: دیابت یک اختلال متابولیک با علل متعدد است که یکی از آن‌ها عدم تعادل هموستاز گلوکز به دلیل اختلال در متابولیسم انرژی می‌باشد. در نتیجه منجر به اختلال در ترشح انسولین و مقاومت به انسولین می‌شود. بسیاری از داروها در حفظ سطح گلوکز برای اهداف مولکولی مختلف مانند گیرنده‌های جفت شده با پروتئین (GPCR) G, گیرنده‌های گلوکاگون (GcGr)، گیرنده‌های اسید چرب آزاد (AMP،FFAR1) کیناز (AMPK)، دی پپتیل ٤ (DPP4) و گیرنده فعال پراکسیزوم (PPARyx) y، آلفا گلوکوزیداز، گلیکوژن فسفوریلاز (GP)، سدیم فروکتوز۱ ،٦-بیس فسفات (FBpase) مورد استفاده قرار می‌گیرند. تزریق انسولین درمان مستقیم بیماری دیابت است. عیب اصلی این است که انسولین را نمی‌توان به صورت خوراکی مصرف کرد. با این حال، عوارض جانبی چندین مورد از این داروها مانند افزایش وزن و چربی خون گزارش شده است (٤٥).

پپتیدهای مشتق شده از مواد غذایی نقش اساسی در تنظیم گلوکز دارند. پپتیدها و اسیدهای آمینه بر کاهش چربی بدن، ترشح انسولین و کاهش اندیس گلیسمی تأثیر دارند. به عبارت دیگر پپتیدهای زیست فعال جدا شده از هیدرولیزهای منابع گیاهی و حیوانی پتانسیل امیدوار کننده برای توسعه دارویی و نقش مهمی در هموستاز انرژی، سیگنال‌دهی انسولین و مقاومت به آن و درمان دیابت دارند. (٧٠).

[1] Taurodeoxycholate
[2] Glycodeoxycholate
[3] Mevalonate

محققین دو پپتید مهارکننده a-amylase (CSP4: RCMAFLLSDGAAAAQ QLLPQYW و CSP6: DPAQPNYPW TAVLVFRH) را از زیره استخراج کردند. این دو پپتید فعالیت بازدارندگی بالایی از خود نشان دادند. مهارکننده‌های آلفا گلوکوزیداز می‌توانند جذب کربوهیدرات در روده را محدود کرده و گلوکز خون را کنترل کنند. این فعالیت شامل مهار رقابتی انواع آلفاگلوکوزیداز در روده کوچک، کاهش سرعت تجزیه نشاسته به گلوکز، در نتیجه کاهش جذب گلوکز در روده می‌باشد. پپتید استخراج شده از کینوا، IQAEGGLT، DKDYPK و GEHGSD GNV، فعالیت مشابهی را در برابر آلفا گلوکوزیداز نشان دادند (۷۱).

پذیرفته شده‌ترین درمان در مدیریت سطح گلوکز پیش از غذا، مهار کننده‌های دی پپتیل پپتیداز٤ (DPP4) و آنالوگ‌های گلوکاگون۱(GLP_1) است. آگونیست‌های گیرنده آنزیم DPP4 به طور خاص، مسئول غیر فعال کردن GLP_1 است که ممکن است منجر به عدم حساسیت به انسولین شود (۷۲).

پپتیدهای ضدپوکی استخوان: osteoprotective در لغت به معنای محافظت از استخوان است برای درمان پوکی استخوان در بدن، ما نیاز به دریافت کلسیم بیشتری در رژیم غذای خود داریم. گزارش شده است در ترکیب شیر پپتیدهای آنتی اکسیدانی تولید شده از پروتئین آب پنیر، از جمله پپتید YVEEL و پپتید مشتق از کازئین شیر (NAVPlTPTL) فعالیت ضد پوکی استخوان از خود نشان دادند. پروتئین آب پنیر، به افزایش متابولیسم استخوان کمک می‌کند. ترکیبات موجود در پروتئین آب پنیر باعث تشکیل استخوان، تراکم استخوان، استحکام استخوان، محتوای استئوکالسین و کاهش جذب سطح دئوکسیپیری دینولین در ادرار در مدل‌های حیوانی و انسان می‌گردد. همچنین لاکتوفرین به عنوان یک عامل تقویت کننده استخوان و عامل آنابولیک در اوستئوپروزیس شناخته شده است. بنابراین، هر دو پروتئین کازئین و آب پنیر در صورتی که در رژیم غذایی فرد به میزان کافی باشند برای ضد پوکی استخوان موثر هستند (٤٣).

پپتیدهای آپوئیدی: پپتیدهای زیست فعال که خواص بیولوژیکی شبه مواد افیونی را نشان می‌دهند، پپتیدهای آپوئیدی یا لیگاندهای گیرنده مواد افیونی نامیده می‌شوند. بطور معمول طول پپتیدهای آپوئیدی ٤-۸ اسید آمینه است و دارای توالی N ترمینال یکسان (YGGF) است. مواد غذایی مختلف از جمله شیر، گاو، آب پنیر، غلات مانند گندم و جو، سبزیجات، گوشت و مرغ حاوی این پپتیدهای زیست فعال هستند. پپتیدهای دارای فعالیت آپوئیدی که به‌طور طبیعی در بدن (درون زا) وجود دارند عبارتند از اندورفین‌ها، انکفالین‌ها، دینورفین‌ها و اندومورفین‌ها. آن‌ها اعمال فیزیولوژیکی متفاوتی را بسته به بخش‌های مختلف بدن انجام می‌دهند، به‌عنوان مثال، انکفالین‌ها به عنوان واسطه درد و تغییر پاسخ‌های عاطفی با عملکردشان در نخاع و ناحیه خاکستری مغز شناخته شده‌اند (۷۳).

پپتیدهای آپوئیدی اگزوژن یا اگزورفین‌ها موادی با فعالیت شبه مورفینی هستند که به‌طور برون‌زا از منابع غذایی به دست می‌آیند. پپتیدهای آپوئیدی به‌عنوان تعدیل کننده‌های عصبی عمل می کنند که با اصلاح عملکرد انتقال دهنده‌های عصبی مختلف در داخل بدن در دستگاه عصبی مرکزی همراه می‌باشد. اگزورفین‌های متعددی شناخته شده‌اند که در برابر عملکرد پروتئینازهای روده (تریپسین و کیموتریپسین) مقاومت می‌کنند و مستقیماً بدون هیچ گونه تخریب وارد جریان خون می‌شوند. بتا-کازومورفین یک پپتید آپوئیدی است که از ٤ تا ۱۱ باقی مانده اسید آمینه تشکیل شده و از هضم بتا کازئین شیر به دست

می‌آید. وجود β-کازومورفین‌ها با گیرنده های μ موجود در دستگاه عصبی مرکزی به منظور ایجاد پاسخ نهایی متصل می‌شوند. آن‌ها تا زمانی که تحت هضم گوارشی قرار نگیرند، غیر فعال می‌مانند. α-لاکتوفین‌ها و β-لاکتوفین‌ها پپتیدهای شبه افیونی هستند که از پروتئین‌های آب پنیر (α-لاکتالبومین و β-لاکتوگلوبولین) به دست می‌آیند (۷٤).

پپتیدهای ضدانعقاد: انعقاد خون فرآیندی می‌باشد که در شرایط غیر طبیعی رگ‌ها و عدم حضور اندوتیلیوم در هنگام آسیب به رگ‌ها تشکیل می‌شود. ترمبوزیس یا انعقاد با افزایش میزان فیبرینوژن، با تجمع پلاکت‌ها و عدم توانایی بدن در تجزیه فیبرین بوقوع می‌پیوندد. ترکیبات ضد پلاکت[1] و ضد انعقاد[2] به ترتیب از تجمع پلاکت و تشکیل لخته جلوگیری می‌کنند (۷۵). مواد ضد انعقاد به دلیل جلوگیری از بروز ایسکمی (نارسایی ناشی از نرسیدن اکسیژن به اندام‌ها) در بیماران مبتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی استفاده می‌کنند. پپتیدهای ضدپلاکت استخراج شده از منابع طبیعی دارای توانایی بازدارندگی تجمع پلاکت ناشی از ADP[3] و اتصال به فیرینوژن می‌باشد. ثابت شده است پپتیدهای ضد انعقاد دارای ۲۰-۳ اسید آمینه می‌توانند با گیرنده‌های ترمبوسیت رقابت کنند و از تجمع پلاکت‌ها جلوگیری نمایند. تاکنون پپتیدهای ضد انعقادی مشتق شده از مواد غذایی مانند کازئین شیر، حبوبات، دانه آمارانت، صدف آبی و غلات تولید شدند (۷٦). شکل ٤ Nazunamide A پپتید خطی از اسفنج Theonella swinhoei دارای فعالیت ضد انعقادی، مهارکننده ترومبین را نشان می‌دهد (٤٦).

اثر ضد انعقادی به معنای جلوگیری از شکل‌گیری یا بزرگ شدن لخته خون در بدن است. سطح بالای فیبرینوژن، پلاکت‌های خونی و فیبرینولیز نامنظم باعث افزایش بروز فعالیت‌های ترومبوتیک می‌شوند. داروهای ضدانعقاد برای افزایش فیبرینولیز و کاهش پلاکت‌های خونی تجویز می‌شوند، اما همواره داروها با عوارض جانبی خود همراه هستند (۷۷). مکانیزم مربوط به انعقاد شیر شامل تعامل بین کازئین K و کایموزین بسیار شبیه با مکانیزم مربوط به انعقاد خونی می‌باشد که با تعامل فیبرینوژن با ترومبین همراه است. پپتیدهای مشتق شده از شیر، فعالیت اتصال فیبرینوژن به پلاکت‌های خونی را مهار کرده و عمل ضد ترومبوتیکی را نشان می‌دهد، این پپتیدها در طی هضم روده‌ای آزاد شده و به راحتی در خون جذب می‌شوند (۷۸).

در مطالعه‌ای یک پپتید ضد انعقاد با وزن مولکولی ۱۲/۲ کیلو دالتون از ماهی زرد باله استخراج شد. این پپتید یک ترکیب غیرفعال تشکیل می‌دهد و عملکرد لخته شدن را متوقف می‌کند. بدین صورت که با جذب تقویت اینتگرین گلیکوپروتئین غشاهای پلاکت باعث کاهش چسبندگی و انعقاد خون می‌گردد. پپتید ضد انعقاد دیگری با وزن مولکولی ۳/۳٤ کیلو دالتون از *Urechis unicinctus* استخراج شد که اثر آن بر فاکتور خون IXa (FIXa) مشاهده شد، منجر به طولانی شدن قابل توجه زمان ترومبوپلاستین در خون شد (٤٨).

سایر خواص پپتیدهای زیست‌فعال: پروتئین‌ها و هموگلوبین جذب عناصر معدنی را افزایش می‌دهند، در حالی که پروتئین‌های گیاهی، شیر و تخم‌مرغ نسبتاً اثر بازدارندگی دارند. کازئین‌ها به دلیل سرین‌های فسفریله شده که مواد معدنی را در حالت محلول نگه می‌دارند، تمایل زیادی به اتصال با کاتیون‌های دو ظرفیتی دارند. با این حال، بسیاری از این کاتیون‌ها در pH اسیدی معده آزاد و غیر قابل جذب در بدن می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان داده است هیدرولیز آنزیمی کازئین‌ها جذب آهن را بهبود می‌بخشد.

[1] Antiplatelets
[2] Anticoagulants
[3] ADP-induced platelet aggregation

بنابراین، بررسی‌هایی برای خالص سازی و تغلیظ توالی‌های فسفریله شده پپتیدهای (CPPs) حاصل از هیدرولیز کازئین‌ها، که به مواد معدنی متصل می‌شوند، انجام شده است (۷۹).

در مطالعه‌ای اثر فعالیت ضد التهابی پروتئین هیدرولیز شده گندم و مکانیسم احتمالی آن بررسی شد. این آزمایش با پپتیدهایی که دارای توالی مختلف از اسید آمینه شامل، والین، متیونین و فنیل آلانین در مجاور لوسین هستند، انجام شد. نتایج نشان داد فعالیت ضد التهابی به‌دلیل حضور لوسین و از طریق مسدود کردن پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن در ماکروفاژها می‌باشد. در تحقیق دیگر عملکرد ضد التهابی پپتیدهای مشتق شده از دانه‌های آمارانت روی سلول‌های اپیتلیال کولون بررسی شد. در سال‌های اخیر، بروز بیماری التهابی روده به دلیل از دست دادن تحمل به میکروبیوم کامنزال در روده رخ می دهد، مشاهده شده است. گزارش‌ها حاکی از آن است تشکیل تری و دی پپتید از سویا در نتیجه هیدرولیز توسط آنزیم‌های گوارشی بر کاهش التهاب سلول‌های روده تاثیر گذار است (۸۰).

پپتیدهای با عملکرد چندگانه: در سال‌های اخیر، تعداد افرادی که از سرطان و عفونت رنج می برند افزایش یافته است، به‌طوری که هر دو بیماری به عنوان عوامل اصلی مرگ و میر شناخته می شوند. علاوه بر این، عفونت‌های مزمن یکی از دلایل اصلی سرطان هستند که به دلیل تعدیل در سیستم ایمنی، باعث گسترش سلول‌های سرطانی می‌شود. به همین ترتیب، ضعف جسمانی مرتبط با سرطان یا درمان سرطان اغلب راه را برای عفونت‌ها هموار می‌کند. پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) در سیستم ایمنی طیف وسیعی از ارگانیسم‌ها یافت می‌شوند. برخی از آن‌ها دارای فعالیت دوگانه، به عنوان پپتیدهای ضدمیکروبی و ضد سرطانی (ACPs) هستند. AMP هایی که می‌توانند به‌عنوان ACP عمل کنند، به عنوان داروهای شیمی درمانی نیز استفاده می‌شوند. بیشتر ACPها از پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) مشتق شده‌اند و بنابراین AMPها و اکثر ACPها ویژگی‌های مشابهی دارند (۸۱).

در حال حاضر، پپتیدها با فعالیت‌های زیستی متعدد نسبت به پپتیدهای تک فعالیتی ترجیح داده می شوند، زیرا به‌طور همزمان مزایای سلامتی متعددی را همراه خواهند داشت. نتایج بررسی گارسیا–مورا و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد پپتیدهای مشتق شده از پروتئین عدس LLSGTQNQPSFLSGF، NSLTLPILRYL و TLEPNSVFLPVLLH دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی و ضد فشار خون هستند (۸۲). همچنین نتایج تحقیقات دیگر اثرات آنتی اکسیدانی و ضد فشار خون پپتید YSK مشتق شده از پروتئین سبوس برنج، WVYY و PSLPA حاصل از هیدرولیز پروتئین دانه کنف را نشان دادند. گزارش شده است که پپتیدهای دانه زیره سبز (CSP1، CSP2 و CSP3) دارای اثر کاهش کلسترول، فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و اثر ضد آمیلازی را در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهند (۸۳). چهار پپتید دیگر، YINQMP ،YINQMPQKSRE QKSREA، YIEAVNKVSPRAGQF و VTGRFAGHPAAQ جدا شده از زرده تخم مرغ دارای فعالیت‌های ضد دیابت، کاهش فشار خون و قابلیت آنتی اکسیدانی می‌باشند (۸٤). پپتید WPP حاصل از هیدرولیز پروتئین *Tegillarca granosa*، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی می‌باشد (۸۵). همچنین پپتید RQSHFANAQP از آلبومین نخود اثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی در سلول‌های MCF-7 و MDA-MB-231 را نشان داد (۸٦). تحقیقات نشان داد پلی پپتید حاصل از میسلیوم *Pleurotus eryngii* از سرطان ناشی از گونه های اکسیژن فعال جلوگیری

می‌کند. همچنین توانایی احیاکنندگی و مهار رادیکال اکسیژن را دارد و اثر ضد توموری علیه سلول سرطان معده، دهانه رحم و پستان را نشان داده است و همچنین سیستم ایمنی را تحریک می‌کند (۸۷). در مطالعه دیگر لوناسین مشتق شده از کینوا دارای فعالیت‌های ضد التهابی و آنتی اکسیدانی می‌باشد. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند باعث التهاب شوند، بنابراین لوناسین می‌تواند در درمان یا پیشگیری از بیماری‌های التهابی مهم باشد (۸۸).

جدول ۲- برخی از مطالعات انجام شده بر توانایی سلامتی‌بخشی پپتیدهای زیست فعال

Table 2. Some studies conducted on the health properties ability of bioactive peptides

منبع پپتید Peptide source	خواص سلامتی بخش Health properties	نتایج Results	رفرنس Reference
پروتئین سویا	ضد کلسترول	شرایط بهینه و بهترین فعالیت آنتی کلسترولی برای هیدرولیز ایزوله پروتئین سویا با آنزیم بروملین در ۲ ساعت و دمای ٤٥ درجه سانتی گراد به‌دست آمد	(۸۹)
پنیر شیر یاک	بازدارنده کلسترول استراز	شناسایی پپتیدهای(RPKHPIK) RK7 ، KQ7 (KVLPVPQ)، (QEPVLGPVRGPFP) QP13، (TPVVVPPFL) TL9، VN10 (VYPFPGPIPN)، (LPPTVMFPPQ) LQ10، SN12 (KVPSLVYP)	(۹۰)
کنجد سیاه	ضد چاقی، ضد دیابت، ضد فشار خون	پپتیدهای کمتر از ۳ کیلودالتون بیشترین فعالیت‌های مهاری α-آمیلاز، α-گلوکوزیداز، ACE و DPP-IV ، همچنین پپتیدها با وزن مولکولی مهار لیپاز پانکراس را نشان دادند.	(۹۱)
زهر مار	ضد انعقاد	پپتید SLPC زنجیره‌های α، β، γ فیبرینوژن را می شکند و به طور کلی تجمع ضد پلاکتی و رئولوژی خون را بهبود می بخشد.	(۹۲)
ماهی کاد اطلسی	ضد پوکی استخوان	کاهش فعالیت اسید فسفاتاز و مهار تحلیل استخوان	(۹۳)

نتیجه گیری

پپتیدهای زیست فعال حاصل از تجزیه پروتئین‌ها نقش عمده‌ای در توسعه غذاهای فراسودمند مختلف دارند. در سال های اخیر، نقش پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده از مواد غذایی در تحقیقات تغذیه‌ای و دارویی اهمیت فزاینده‌ای یافته است. پپتیدهای زیست فعال مواد آلی هستند که از اسیدهای آمینه‌ای که با پیوندهای کووالانسی با نام پیوندهای آمیدی یا پپتیدی به هم پیوسته‌اند، تشکیل می‌شوند. آن‌ها می‌توانند از اکسیداسیون و تخریب میکروبی در غذاها جلوگیری کنند و همچنین درمان بیماری‌ها و اختلالات مختلف را بهبود بخشند و در نتیجه کیفیت زندگی را افزایش دهند. پپتیدهایی که از طریق هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌ها به دست می‌آیند دارای چندین عملکرد سلامتی بخش مانند، خواص ضدمیکروبی، آنتی اکسیدانی، ضدفشار خون، ضدسرطانی و ضددیابتی می‌باشند. فراهمی زیستی پپتیدها عمدتاً به درجه هیدرولیز در طول جداسازی آن بستگی دارد. عملکرد

مختلف پپتیدهای حاصل از پروتئین‌های غذایی تا حد زیادی به توانایی آن برای دست نخورده ماندن تا رسیدن به اندام هدف بستگی دارد. تا به حال، نگرانی-ها و چالش‌هایی در مورد پپتیدهای زیستی مشتق شده از منابع غذایی وجود دارد. بطور مثال پپتیدهای زیست فعال دارای طعم غالب تلخی هستند که می-توان با استراتژی مناسب مانند ریزپوشانی با روش‌های مختلف آن را پوشاند و همچنین ثابت شده است این روش موجب پایداری پپتیدها در شرایط نامطلوب می‌گردد. علاوه بر این ممکن است مصرف پپتیدها باعث بروز مشکلات و ایجاد اختلالات پیچیده مختلف در سیستم بیولوژیکی شود. بنابراین، قبل از در نظر گرفتن پپتیدهای زیست فعال برای تولید غذا و برای اهداف درمانی، ابتدا لازم است ایمنی زایی و سمیت پپتیدها بررسی شود. محققین ثابت کرده‌اند، پپتیدهای زیست فعال در دوز مناسب به طور کلی بی خطر در نظر گرفته می شوند. همچنین در سال‌های اخیر، به دلیل بروز عوارض جانبی داروها برای درمان بیماری‌های مزمن نقش پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده از مواد غذایی در تحقیقات تغذیه‌ای و دارویی اهمیت فزاینده‌ای یافته است.

References

1. Xu, Q., Hong, H., Wu, J., & Yan, X. (2019). Bioavailability of bioactive peptides derived from food proteins across the intestinal epithelial membrane: A review. Trends in Food Science & Technology, 86, 399-411.
2. WHO. Non-Communicable Diseases. Available online: https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases (accessed on 26 June 2022).
3. Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., & Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26(1), 139-150.
4. Chen, M.; Ning, P.; Jiao, Y.; Xu, Z.; Cheng, Y. (2021). Extraction of antioxidant peptides from rice dreg protein hydrolysate via an angling method. Food Chem. 337, 3–8.
5. Wang, M.; Sun, X.; Luo, W.; Božovi´c, S.; Gong, C.; Ren, J.(2021). Characterization and analysis of antioxidant activity of walnut-derived pentapeptide PW5 via nuclear magnetic resonance spectroscopy. Food Chem. 339, 128047.
6. Sadeghi Mahoonak, A., Mohammadi, A., Rostamabadi, H., & Rahimipanah, M. 2021. Bioactive food compounds (Carbohydrates, proteins and lipids). Gorgan Univ. Press. 483p. (In Persian)
7. Zhu, Z. S., Yang, J., & Huang, T. R. (2023). The generation and application of antioxidant peptides derived from meat protein: a review, Food Sci. Anim. Prod, 1, 9240005.
8. Villamil, O., V_aquiro, H., Solanilla, J.F., (2017). Fish viscera protein hydrolysates: production, potential applications and functional and bioactive properties. Food Chem. 224, 160–171.
9. Najafian, L., Babji, A.S., (2018). Purification and identification of antioxidant peptides fromfermented fish sauce (Budu). J. Aquat. Food Prod. Technol. 28 (1), 14–21.
10. Auwal, S.M., Zarei, M., Abdul-hamid, A., Saari, N., (2017). Response surface optimization for the production of antioxidant hydrolysates from Stone fish protein usingBromelain. Evid. base Compl. Alternative Med. 2017 (4765463).
11. Abebaw Tadesse, S., Admassu Emire, S., (2020). Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market. Heliyon.
12. WHO. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Available online: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf (accessed on 26 June 2022).
13. Samaei, S.P.; Ghorbani, M.; Tagliazucchi, D.; Martini, S.; Gotti, R.; Themelis, T.; Tesini, F.; Gianotti, A.; Gallina Toschi, T.; Babini, (2020). E. Functional, nutritional, antioxidant,

sensory properties and comparative peptidomic profile of faba bean (Vicia faba, L.) seed protein hydrolysates and fortified apple juice. Food Chem. 330, 127120.
14. Al-Shamsi, K.A.; Mudgil, P.; Hassan, H.M.; (2018). Maqsood, S. Camel milk protein hydrolysates with improved technofunctional properties and enhanced antioxidant potential in in vitro and in food model systems. J Dairy Sci. 101, 47–60.
15. Gorska-Warsewicz H, Laskowski W, Kulykovets O, Kudlinska-Chylak A, Czeczotko M, Rejman K.(2018). Food products as sources of protein and amino acids—the case of Poland. Nutrients. 10:21977. doi: 10.3390/nu10121977.
16. Lorenzo, J.M.; Munekata, P.E.S.; Gomez, B.; Barba, F.J.; Mora, L.; Perez-Santaescolastica, C.; Toldra, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products—A review. Trends Food Sci. Technol. 79, 136–147.
17. Zhang, Y., Li, Y., Quan, Z., Xiao, P., & Duan, J. A. (2024). New Insights into Antioxidant Peptides: An Overview of Efficient Screening, Evaluation Models, Molecular Mechanisms, and Applications. Antioxidants, 13(2), 203.
18. Ketnawa, S., Wickramathilaka, M., & Liceaga, A. M. (2018). Changes on antioxidant activity of microwave-treated protein hydrolysates after simulated gastrointestinal digestion: Purification and identification. Food Chemistry, 254, 36–46.
19. Meneguetti, Beatriz T. et al. (2017). "Antimicrobial Peptides from Fruits and Their Potential Use as Biotechnological Tools—A Review and Outlook." Frontiers in Microbiology 7. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.02136 (March 30, 2023).
20. Gagnon, Marie-Claude et al. (2017). "Influence of the Length and Charge on the Activity of α-Helical Amphipathic Antimicrobial Peptides." Biochemistry 56(11): 1680–95.
21. Kumar, Prashant, Jayachandran N. Kizhakkedathu, and Suzana K. Straus. (2018). "Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo." Biomolecules 8(1): 4.
22. Deslouches, Berthony, and Y. Peter Di. (2017). "Antimicrobial Peptides with Selective Antitumor Mechanisms: Prospect for Anticancer Applications." Oncotarget 8(28): 46635–51.
23. Pundir, P. et al. (2014). "Pleurocidin, a Novel Antimicrobial Peptide, Induces Human Mast Cell Activation through the FPRL1 Receptor." Mucosal Immunology 7(1): 177–87.
24. Cho, Jaeyong, Hyemin Choi, and Dong Gun Lee. (2012). "Influence of the N- and C-Terminal Regions of Antimicrobial Peptide Pleurocidin on Antibacterial Activity." Journal of Microbiology and Biotechnology 22(10): 1367–74.
25. Lehrer, Robert I. et al. (2003). "Natural Peptide Antibiotics from Tunicates: Structures, Functions and Potential Uses." Integrative and Comparative Biology 43(2): 313–22.
26. Otero-González, Anselmo Jesus et al. (2010). "Antimicrobial Peptides from Marine Invertebrates as a New Frontier for Microbial Infection Control." FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 24(5): 1320–34.
27. Paulsen, Victoria S. et al. (2013). "Structure-Activity Relationships of the Antimicrobial Peptide Arasin 1 - and Mode of Action Studies of the N-Terminal, Proline-Rich Region." PloS One 8(1): e53326.
28. Ennaas, Nadia et al. (2016). "Collagencin, an Antibacterial Peptide from Fish Collagen: Activity, Structure and Interaction Dynamics with Membrane." Biochemical and Biophysical Research Communications 473(2): 642–47.
29. Subramanian, Sangeetha, Neil W. Ross, and Shawna L. MacKinnon. (2009). "Myxinidin, a Novel Antimicrobial Peptide from the Epidermal Mucus of Hagfish, Myxine Glutinosa L." Marine Biotechnology (New York, N.Y.) 11(6): 748–57.
30. Ruangsri, Jareeporn et al. (2013). "A Novel Beta-Defensin Antimicrobial Peptide in Atlantic Cod with Stimulatory Effect on Phagocytic Activity." PLOS ONE 8(4): e62302.
31. Shike, Hiroko et al. (2002). "Bass Hepcidin Is a Novel Antimicrobial Peptide Induced by Bacterial Challenge." European Journal of Biochemistry 269(8): 2232–37.
32. Fogaca, A. C., da Silva, P. I., Miranda, M. T. M., Bianchi, A. G., Miranda, A., Ribolla, P. E.,

& Daffre, S. (1999). Antimicrobial activity of a bovine hemoglobin fragment in the tick Boophilus microplus. Journal of Biological Chemistry, 274(36), 25330-25334.
33. Kumar, P., Kizhakkedathu, J.N., & Straus, S.K. (2018). Antimicrobial Peptides: diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. Biomolecules, 8, 4-28.
34. Breukink, E., Wiedemann, I., van Kraaij, C., Kuipers, O.P., Sahl, H.G., & de Kruijff, B. (1999). Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic. Science, 286, 2361–2364.
35. Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Antimicrobial peptides targeting Gram-positive bacteria. Pharmaceuticals (Basel), 9, 59.
36. Huang, C., Jin, H., Qian, Y., Qi, S., Luo, H., Luo, Q., et al. (2013). Hybrid melittin cytolytic Peptide-driven ultrasmall lipid nanoparticles block melanoma growth in vivo. ACS Nano, 7, 5791-5800.
37. Afacan, N.J., Yeung, A.T.Y., Pena, O.M., & Hancock, R.E.W. (2012). Therapeutic potential of host defense peptides in antibiotic-resistant infections. Current Pharmaceutical Design, 18, 807–819.
38. Jenssen, H., Hamill, P., & Hancock, R.E.W. (2006). Peptide Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, 19, 491–511.
39. Hancock, R.E.W., Nijnik, A., & Philpott, D.J. (2012). Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. Nature Reviews Microbiology, 10, 243–254.
40. Avan, Ilker, C. Dennis Hall, and Alan R. Katritzky. (2014). "Peptidomimetics via Modifications of Amino Acids and Peptide Bonds." Chemical Society Reviews 43(10): 3575–94.
41. Danial, Maarten et al. (2012). "Site-Specific PEGylation of HR2 Peptides: Effects of PEG Conjugation Position and Chain Length on HIV-1 Membrane Fusion Inhibition and Proteolytic Degradation." Bioconjugate Chemistry 23(8): 1648–60.
42. Papo, Niv et al. (2002). "The Consequence of Sequence Alteration of an Amphipathic Alpha-Helical Antimicrobial Peptide and Its Diastereomers." The Journal of Biological Chemistry 277(37): 33913–21.
43. Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., & Kumar, V. (2020). A review on bioactive peptides: Physiological functions, bioavailability and safety. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26, 139-150.
44. Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2020). Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments–A review. Food Research International, 136, 109504.
45. Majid, A., & Priyadarshini CG, P. (2020). Millet derived bioactive peptides: A review on their functional properties and health benefits. Critical reviews in food science and nutrition, 60(19), 3342-3351.
46. Sánchez, A., & Vázquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. Food quality and safety, 1(1), 29-46.
47. Karami, Z., & Akbari-Adergani, B. (2019). Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. Journal of food science and technology, 56, 535-547.
48. Ucak, I., Afreen, M., Montesano, D., Carrillo, C., Tomasevic, I., Simal-Gandara, J., & Barba, F. J. (2021). Functional and bioactive properties of peptides derived from marine side streams. Marine Drugs, 19(2), 71.
49. Baobei, W. A. N. G., Hui, Z. H. A. N. G., Yusong, L. I. U., Hongbin, C. H. E. N., Fengxian, G. U. O., & Zongping, Z. H. E. N. G. (2024). Research progress on the mechanism of food-derived antihypertensive peptides. Food and Machinery, 40(3), 217-224.
50. Koyama, M., K. Naramoto, T. Nakajima, T. Aoyama, M. Watanabe, and K. Nakamura. (2013). Purification and identification of antihypertensive peptides from fermented buckwheat sprouts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61 (12):3013–3021. doi: 10.1021/ jf305157y.

51. Mundi S, Aluko RE (2014) Inhibitory properties of kidney bean protein hydrolysate and its membrane fractions against renin, angiotensin converting enzyme, and free radicals. Austin J Nutr Food Sci 2:1–11.
52. Matsui, T., Tanaka, M (2010) Antihypertensive peptides and their underlying mechanisms. In: Mine Y, Li-Chan ECY, Jiang B (eds) Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals. Wiley, New York, pp 43–53.
53. Aluko, R. E. (2015). Antihypertensive peptides from food proteins. Annual review of food science and technology, 6, 235-262.
54. Lath, A., Santal, A. R., Kaur, N., Kumari, P., & Singh, N. P. (2023). Anti-cancer peptides: Their current trends in the development of peptide-based therapy and anti-tumor drugs. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 39(1), 45-84.
55. Yaghoubzadeh, Z., Peyravii Ghadikolaii, F., Kaboosi, H., Safari, R., & Fattahi, E. (2020). Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptides from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) skin hydrolysate. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26(1), 625-632.
56. Choi, Y.J., Park, S.J., Park, Y.S., Park, H.S., Yang, K. M., Heo. (2018). K: EpCAM peptide-primed dendritic cell vaccination confers significant anti-tumor immunity in hepatocellular carcinoma cells. PLoS One. 13, e0190638.
57. Shen, W., Zhang, Y., Wan, P., An, L., Zhang, P., Xiao, C., & Chen, X. (2020). Antineoplastic Drug-Free Anticancer Strategy Enabled by Host-Defense-Peptides-Mimicking Synthetic Polypeptides. Advanced Materials, 32(36), 2001108.
58. Sakamoto, K., Masutani, T., & Hirokawa, T. (2020). Generation of KS-58 as the first K-Ras (G12D)-inhibitory peptide presenting anti-cancer activity in vivo. Scientific reports, 10(1), 21671.
59. Hansen, I.K.O., Isaksson, J., Poth, A.G., Hansen, K.O., Andersen, A.J.C., Richard, C.S.M., Blencke, H.M., Stensvag, K., Craik, D.J., Haug, T. (2020). Isolation and characterization of antimicrobial peptides with unusual disulfide connectivity from the colonial ascidian synoicum turgens. Marine Drugs. 18, 51.
60. Tyagi, A., Tuknait, A., Anand, P., Gupta, S., Sharma, M., Mathur, D. & Raghava, G. P. (2015). CancerPPD: a database of anticancer peptides and proteins. Nucleic acids research, 43(D1), D837-D843.
61. Ghaly, G., Tallima, H., Dabbish, E., Badr ElDin, N., Abd El-Rahman, M. K., Ibrahim, M. A., & Shoeib, T. (2023). Anti-cancer peptides: status and future prospects. Molecules, 28(3), 1148.
62. Zhang, Y., Wang, C., Zhang, W., & Li, X. (2023). Bioactive peptides for anticancer therapies. Biomaterials Translational, 4(1), 5.
63. Chiangjong, W., Chutipongtanate, S., & Hongeng, S. (2020). Anticancer peptide: Physicochemical property, functional aspect and trend in clinical application. International journal of oncology. 57(3), 678-696.
64. Bellosta, S., Rossi, C., Alieva, A. S., Catapano, A. L., Corsini, A., & Baragetti, A. (2023). Cholesterol lowering biotechnological strategies: from monoclonal antibodies to antisense therapies. A pre-clinical perspective review. Cardiovascular Drugs and Therapy, 37(3), 585-598.
65. Chalamaiah, M., Yu, W., & Wu, J. (2018). Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. Food chemistry. 245, 205-222.
66. Boachie, R., Yao, S., & Udenigwe, C. C. (2018). Molecular mechanisms of cholesterol-lowering peptides derived from food proteins. Current Opinion in Food Science. 20, 58-63.
67. Kumar, M. S. (2019). Peptides and peptidomimetics as potential antiobesity agents: overview of current status. Frontiers in nutrition, 6, 11.
68. Lapphanichayakool, P., Sutheerawattananonda, M., Limpeanchob, N. (2017). Hypocholesterolemic effect of sericin-derived oligopeptides in high-cholesterol fed rats. Journal of Natural Medicines, 71,208-215.
69. Zanoni, C., Aiello, G., Arnoldi, A., Lammi, C. (2017). Hempseed peptides exert

hypocholesterolemic effects with a statin-like mechanism. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65, 8829-8838.
70. Ashokan SM, Hung T-H, Chiang W-D, Lin WT.(2018). Lipolysis-stimulating peptide from soybean protects against high fat diet-induced apoptosis in skeletal muscles. Journal of Medicinal Food. 21:225–32. doi: 10.1089/jmf.2017.3941.
71. Martinez-Villaluenga, C., Rupasinghe, S, G., Schuler, M,A., Gonzalez de Mejia, E. (2010). Peptides from purified soybean b-conglycinin inhibit fatty acid synthase by interaction with the thioesterase catalytic domain. The FEBS Journal. 277:1481–doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07577.x
72. Ashokan, S,M., Hung, T-H, Chiang, W-D, Lin, W, T.(2018). Lipolysis-stimulating peptide from soybean protects against high fat diet-induced apoptosis in skeletal muscles. Journal of Medicinal Food. 21:225–32. doi: 10.1089/jmf.2017.3941.
73. Yan, J.; Zhao, J.; Yang, R.; Zhao, W. (2019). Bioactive peptides with antidiabetic properties: A review. Int. J. Food Sci. Technol. 54, 1909–1919.
74. Lammi, C.; Bollati, C.; Ferruzza, S.; Ranaldi, G.; Sambuy, Y.; Arnoldi, A. (2018). Soybean- and lupin-derived peptides inhibit DPP-IV activity on in situ human intestinal Caco-2 cells and ex vivo human serum. Nutrients, 10, 1082.
75. Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive peptides: Synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. International journal of molecular sciences, 23(3), 1445.
76. Li, H. Q., Wang, Z. J., Zheng, Q. Y., Cao, W. H., Chen, Z. Q., Lin, H. S., & Zheng, H. N. (2023). Research progress on food-derived antithrombotic peptides.
77. Yan, J., Zhao, J., Yang, R., & Zhao, W. (2019). Bioactive peptides with antidiabetic properties: A review. International Journal of Food Science & Technology, 54(6), 1909-1919.
78. Wang, X., Hadi, M. K., Niu, J., Zhou, Q., & Ran, F. (2023). Anticoagulant macromolecules. Macromolecules, 56(12), 4387-4430.
79. Kaur, J., Kumar, V., Sharma, K., Kaur, S., Gat, Y., Goyal, A., & Tanwar, B. (2020). Opioid peptides: an overview of functional significance. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 26, 33-41.
80. Guzmán-Rodríguez, J. J., Ochoa-Zarzosa, A., López-Gómez, R., & López-Meza, J. E. (2015). Plant antimicrobial peptides as potential anticancer agents. BioMed research international.
81. Tornesello, A. L., Borrelli, A., Buonaguro, L., Buonaguro, F. M., & Tornesello, M. L. (2020). Antimicrobial peptides as anticancer agents: functional properties and biological activities. Molecules, 25(12), 2850.
82. García-Mora, P.; Martín-Martínez, M.; Bonache, M.A.; González-Múniz, R.; Peñas, E.; Frias, J.; Martinez-Villaluenga, C. (2017). Identification, functional gastrointestinal stability and molecular docking studies of Lentil peptides with dual antioxidant and Angiotensin I converting enzyme inhibitory activities. Food Chem., 221, 464–472.
83. Daliri, E. B. M., Oh, D. H., & Lee, B. H. (2017). Bioactive peptides. Foods, 6(5), 32.
84. Xue, Z.; Wen, H.; Zhai, L.; Yu, Y.; Li, Y.; Yu, W.; Cheng, A.; Wang, C.; Kou, X. (2015). Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (Cicer arietinum L.). Food Res. Int. 77, 75–81.
85. Sun, Y.; Hu, X.; Li, W. (2017). Antioxidant, antitumor and immunostimulatory activities of the polypeptide from Pleurotus eryngii mycelium. Int. J. Biol. Macromol. 97, 323–330.
86. Bouglé, D., & Bouhallab, S. (2017). Dietary bioactive peptides: Human studies. Critical reviews in food science and nutrition, 57(2), 335-343.
87. Mahgoub, S., Alagawany, M., Nader, M., Omar, S. M., Abd El-Hack, M. E., Swelum, A. & Dhama, K. (2023). Recent development in bioactive peptides from plant and animal products and their impact on the human health. Food Reviews International, 39(1), 511-536.
88. Tyagi, A., Daliri, E. B. M., Kwami Ofosu, F., Yeon, S. J., & Oh, D. H. (2020). Food-derived opioid peptides in human health: A review. International Journal of Molecular Sciences,

21(22), 8825.
89. Hendarto, T., & Budiyanto, D. (2022). Anticholesterol bioactive peptides from bromelain hydrolysates of mangrove sonneratia alba protein. International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis, 5(12), 3589-3597.
90. Wang, P., Song, X., & Liang, Q. (2024). Study on the Inhibitory Effect of Bioactive Peptides Derived from Yak Milk Cheese on Cholesterol Esterase. Foods, 13(18), 2970.
91. Chaipoot, S., Punfa, W., Ounjaijean, S., Phongphisutthinant, R., Kulprachakarn, K., Parklak, W., & Boonyapranai, K. (2022). Antioxidant, anti-diabetic, anti-obesity, and antihypertensive properties of protein hydrolysate and peptide fractions from black sesame cake. Molecules, 28(1), 211.
92. Huang, J., Song, W., Hua, H., Yin, X., Huang, F., & Alolga, R. N. (2021). Antithrombotic and anticoagulant effects of a novel protein isolated from the venom of the Deinagkistrodon acutus snake. Biomedicine & Pharmacotherapy, 138, 111527.
93. Yang, M., Wu, D., Cheng, S., Dong, Y., Wu, C., Wang, Z., & Du, M. (2022). Inhibitory effects of Atlantic cod (Gadus morhua) peptides on RANKL-induced osteoclastogenesis in vitro and osteoporosis in ovariectomized mice. Food & Function, 13(4), 1975-1988.