الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة المنارة
كلية الصيدلة

البتيدات النشطة حيويا: فعالية وأمان

إعداد الطالب:
عمار فاضل

إشراف:
د. منهل يوسف

العام الدراسي:
2021 – 2020

الإهداءات

الفهرس

مقدمة..... 1

العلاقة بين بنية ووظيفة الببتيدات الفعالة حيوياً..... 4

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية المضادة للأكسدة..... 6

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية المثبطة لـ ACE..... 10

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية الخافضة لكوليسترول الدم..... 12

سلامة وأمان الببتيدات الفعالة حيوياً..... 14

سمية الببتيدات الفعالة حيوياً حسب التسلسل..... 14

الببتيدات المسببة للحساسية..... 16

تأثير استخلاص البروتين والمعالجة وتحضير الببتيد..... 17

آثار الجرعة المعطاة (متضمنة تكرارها) ومدة إعطائها على السلامة..... 21

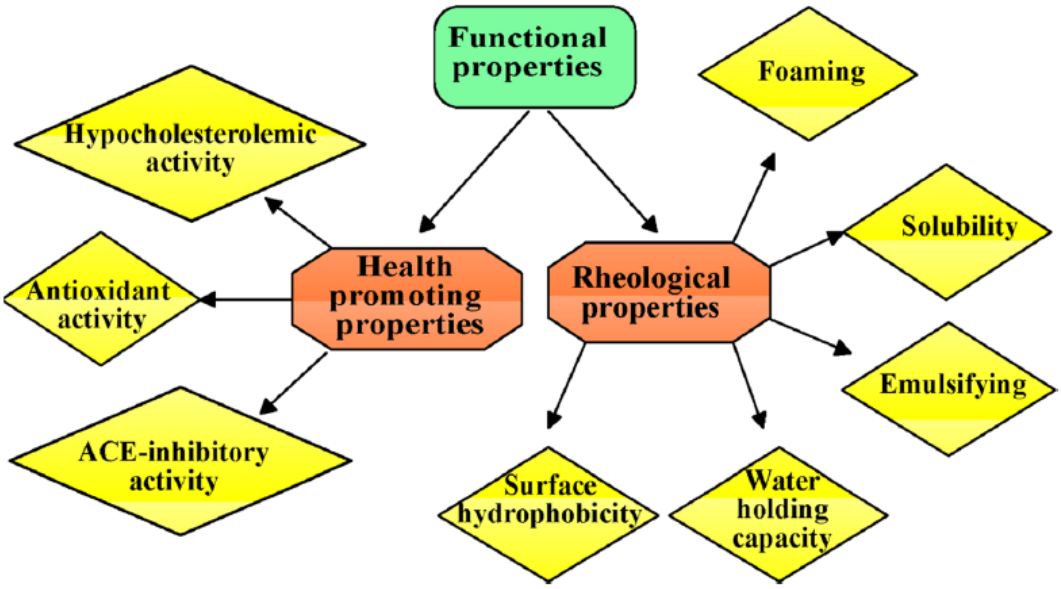
الخلاصة..... 22

مقدمة

في السنوات الاخيرة وجد أن عدد الدراسات المتعلقة بالمكونات الوظيفية الجديدة ومع تنوع المصادر الغذائية خاصة مركبات الفينول والببتيدات الفعالة حيوياً قد ازداد بشكل ملحوظ. بشكل خاص، هناك اهتمام متزايد بالببتيدات الفعالة حيوياً تبعاً لقدراتها الغذائية وتأثيراتها الصحية. إن الببتيدات الفعالة حيوياً غير فعالة أثناء ارتباطها مع البروتينات لكنها يمكن أن تتحرر بوساطة الحلمهة الانزيمية، الكيمائية والجرثومية (التخمير). حتى الآن فإن الطريقة الأكثر فعالية المتبعة لإنتاج الببتيدات المستخدمة لأغراض وظيفية هي الهضم الانزيمي. تحتوي الببتيدات الفعالة حيوياً عادة من 2-20 حمض اميني ضمن الجزيء لكن في بعض الحالات قد تحتوي على أكثر من 20 حمضا أمينياً مع حجم جزيئي أقل من 6000 Da. بعد عملية الهضم يمكن أن تمتص الببتيدات الفعالة حيوياً في الأمعاء وتدخل الدورة الدموية مباشرة مما يؤكد قدرتها الحيوية في المختبر وتأثيراتها الفيزيولوجية في الموقع الهدف. تساهم الببتيدات الفعالة حيوياً بشكل هام في التنظيم والتعديل الاستقلابي. يمكن أن تستخدم هذه الببتيدات كمكونات غذائية وظيفية أو متممات غذائية أو صيدلانية لتحسين صحة الإنسان والوقاية من الأمراض. بالإضافة لبعض الأدوار المهمة على مستوى قوام الأغذية، يوضح الشكل 1 بعض من الفعاليات الحيوية، وتشمل:

- ✓ خافض ضغط الدم
- ✓ مقلد أو معاكس افيوني
- ✓ معدل للمناعة
- ✓ مضاد تخثر
- ✓ مضاد أكسدة
- ✓ مضاد سرطان
- ✓ ودور مضاد جرثومي

- ✓ بالإضافة إلى توفير الطاقة والأحماض الأمينية الأساسية.



الشكل 1. الخصائص الوظيفية للببتيدات ذات الفعالية الحيوية

وقد تم التعرف على الببتيدات الفعالة حيوياً ضمن:

- ✓ الحليب
- ✓ الأسماك
- ✓ البيض
- ✓ فول الصويا
- ✓ الفول السوداني
- ✓ بذور الكتان
- ✓ الحبوب
- ✓ وغير ذلك

من أهم الأمثلة على الببتيدات الفعالة حيوياً: الببتيدات الثلاثية المشتقة من اللبن الرائب VPP و IPP وهي ببتيدات خافضة لضغط الدم، وقد تمت دراستها على نطاق واسع وأثبتت فعاليتها عند البشر. حيث يتزايد عدد الببتيدات الفعالة حيوياً بسرعة.

قد تتأثر الخصائص الوظيفية للببتيدات الفعالة حيوياً بالعديد من العوامل المتنوعة مثل:

- ✓ ظروف المعالجة
- ✓ مصادر البروتين
- ✓ تركيب الأحماض الامينية وتسلسلها
- ✓ الوزن الجزيئي
- ✓ الـ PH
- ✓ وبعض المعالجات الكيميائية.

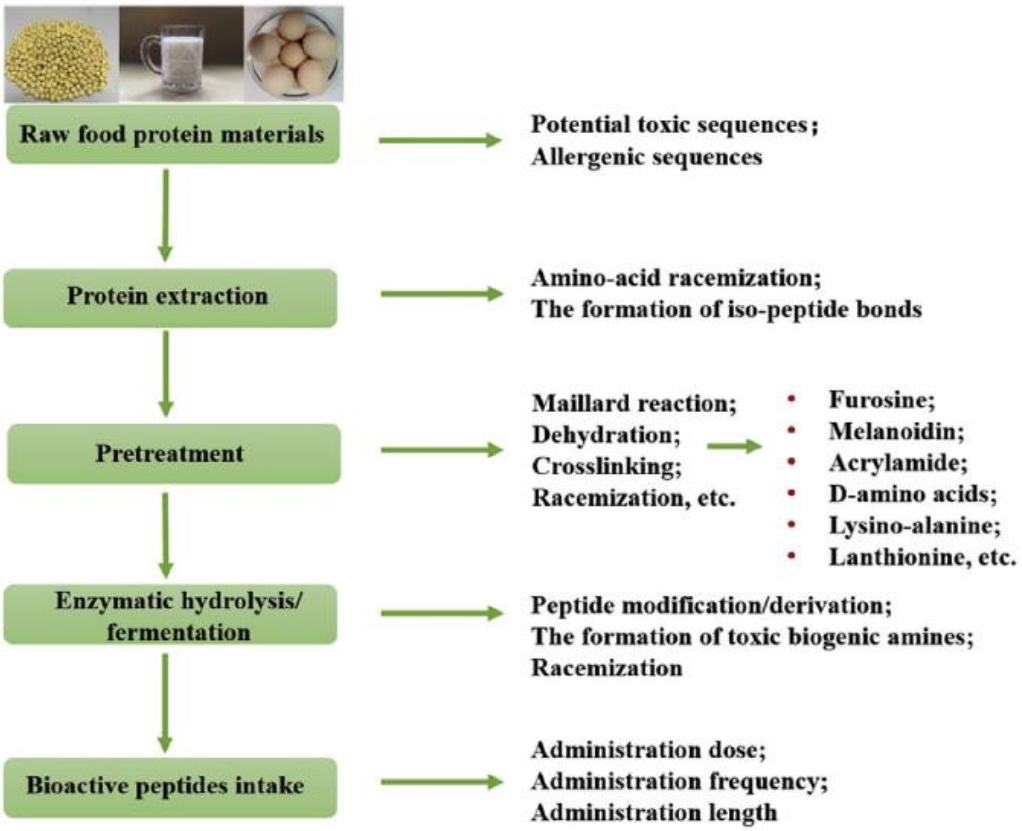
إن استبدال مضادات الأكسدة الصنعية بمضادات الأكسدة الطبيعية، استبدال مثبطات ACE الصنعية بمثبطات ACE الطبيعية والمضادات الجرثومية الصنعية بالمضادات الجرثومية الطبيعية قد يحمل تأثيرات إيجابية على الوضع الصحي.

بالمقابل، يتم تحضير العديد من هذه الببتيدات باستخدام إنزيمات أخرى غير الإنزيمات الهاضمة (حتى باستخدام إنزيمات الجهاز الهضمي ولكن ليس في نفس الظروف المثالية كما هو الحال في المختبرات)، باستخدام طرق جديدة أوالطرق الموجودة بالاعتماد على ركائز جديدة، أو معالجات جديدة أخرى غير موجودة في جهاز الهضم عند الإنسان. لذلك، يعتبر الكثير من هذه الببتيدات جديدة عند الإنسان وليس لديهم تاريخ حول سلامة الاستخدام على الرغم من أنها مشتقة من البروتينات الغذائية. من غير المعروف ما إذا كان تكوين الببتيدات الجديدة قد يحمل احتمالية إحداث الحساسية أو حتى المخاوف المتعلقة بالسمية. تم الإبلاغ أيضاً عن تكوين الأمينات الحيوية، والأحماض الأمينية D، والليزينوالانين وكذلك بعض المواد المسببة للحساسية أثناء تصنيع البروتين أو الببتيدات والتي شكلت تهديداً كبيراً لصحة الإنسان.

نحن بعيدون عن فهم سلامة هذه التعديلات ونطاق معرفتنا محدود فيما يتعلق بالسمية المحتملة للببتيدات المشتقة من البروتين الغذائي. في هذا الصدد، تهدف هذه الدراسة إلى مراجعة احتمال تشكل الببتيدات المسببة للحساسية والسامة من البروتينات الأصل، وكذلك المركبات الخطرة أثناء استخلاص البروتين، المعالجة المسبقة للبروتين، وإعداد الببتيدات الفعالة حيوياً، لمناقشة آثار الجرعة (بما في ذلك التكرار) وطول الببتيد وتأثيره على السلامة، وتقديم وجهات نظر حول التحديات في تقييم سلامة الببتيدات الفعالة حيوياً.

بالتالي، فإن السؤال الأول الذي سيجيب عليه هذا المشروع هو تأثر بنية هذه الببتيدات بالعوامل المختلفة خلال التحضير وتأثيرها على الفعالية الحيوية.

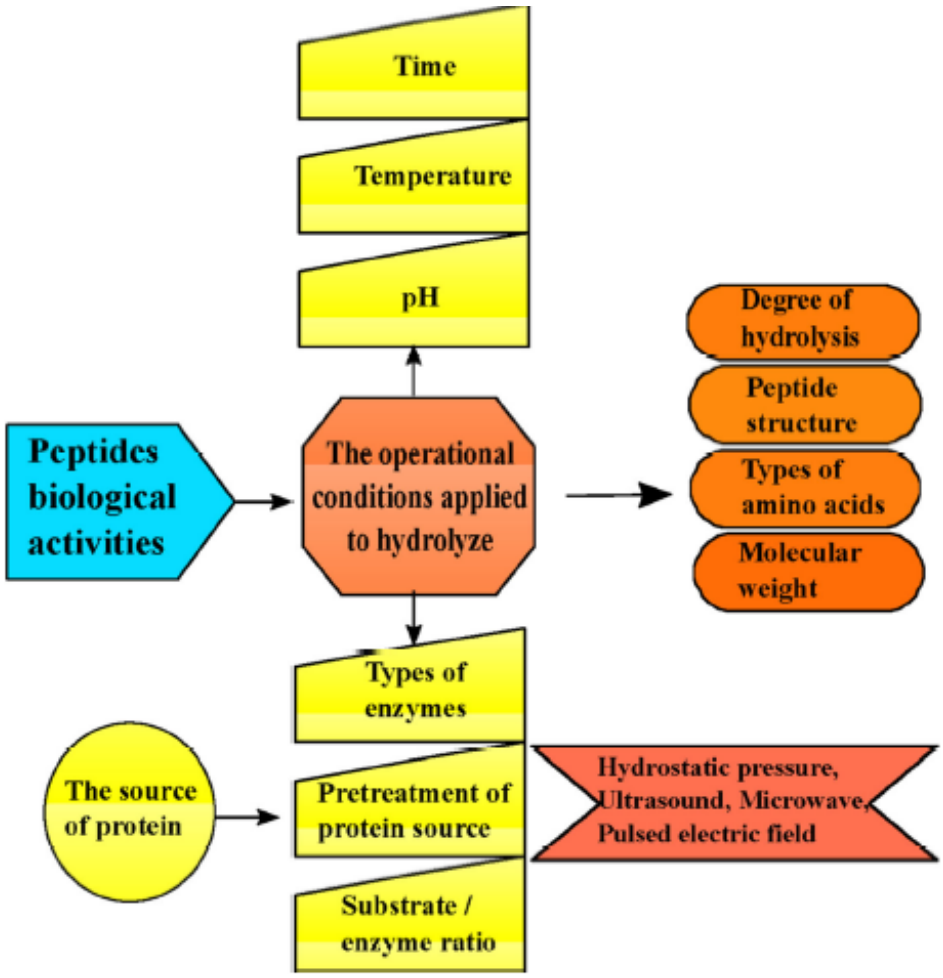
كذلك، فإن السؤال الآخر يتعلق بسلامة الببتيدات الفعالة حيوياً المشتقة من بروتينات الغذاء. حيث أن أمانها غير مثبت علمياً. يتم تلخيص مخاوف السلامة المحتملة للببتيدات الفعالة حيوياً (الشكل2).



الشكل 2. احتمال وجود المخاطر خلال عمليات تحضير الببتيدات الفعالة حيوياً وتناولها

العلاقة بين بنية ووظيفة الببتيدات الفعالة حيوياً

بينت العديد من الدراسات أن الأغذية الحاوية على الببتيدات الفعالة حيوياً تعتمد على خصائصها البنيوية، تكوين وتسلسل الحموض الامينية وتمتلك وظائف فيزيولوجية عديدة تشمل الفعالية المضادة للأكسدة، المضادة للجراثيم، المثبطة للانزيم المحول للانجيوتنسين وعند إضافتها إلى الطعام بإمكانها أن تمنحه خصائص وظيفية جيدة ويمكن أن تساهم في الاحتفاظ بالماء، خصائص الملمس والتبلور والاستحلاب. العديد من العوامل المختلفة مثل مصدر البروتينات، معالجة الركازة البروتينية، نمط الببتيداز وظروف التحلل المائي (الحلمهة) قد تعدل من بنية وفعالية تحلل البروتين وأنواع إنتاج الببتيدات (الشكل 3). بالتالي، من الواضح أن طبيعة الببتيد تؤثر على فعاليته.



الشكل 3. العوامل المفتاحية التي تؤثر على الفعالية الحيوية للببتيدات

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية المضادة للأكسدة

قد ثبت أن التحلل المائي (الحلمهة) له تأثير مضاد للأكسدة أعلى من الببتيد النقي. أجريت العديد من الدراسات لتقييم الخصائص المضادة للأكسدة الخاصة بالببتيدات الفعالة حيوياً سواء من مصادر حيوانية أو نباتية. قد تتأثر الفعاليةات البيولوجية أو المضادة لأكسدة بوساطة تركيب الببتيد والتي تتأثر بالظروف العملية المستخدمة أثناء عزل البروتينات، درجة الحلمهة، نمط البروتياز المستخدم، الوزن الجزيئي للببتيد(MW)، ظروف عملية الحلمهةالمجراةوالتي تشمل (الببتيداز، نسبة الركيزة /الببتيدات، درجة الحرارة، درجة الحموضةPH، زمن التفاعل وغيرها). يعتقد البعض أن نوع الببتيدات المستخدمة في الحلمهة يؤثر على الخصائص المضادة للأكسدة وقد زعموا أن اختلافات الفعالية تعود الى الببتيدات الداخلية endo مقابل الخارجية. كما وجد ان المعالجة السابقة للبروتينات قبل الحلمهة الانزيمية على سبيل المثال العلاج بالحرارة (HT)، الضغط الهيدروستاتيكي (HP)، الأمواج فوق الصوتية (US)، الأمواج القصيرة(MW) ونبضان الحقل الكهربائي (PEF) ساهمت في تحسين تحرر الببتيدات الفعالة حيويا من البروتينات المتنوعة و تحسين عمل هذه الببتيدات. كشف باحثون أن المعالجة السابقة باستخدام الأمواج فوق الصوتية له دور أساسي في تحسين القدرة المضادة للأكسدة للبروتينات المتجمعة كما في تركيز بروتين الحليب خلال الحلمهة الانزيمية باستخدام انزيمات هاضمة. إن صفات البنية الجزيئية للببتيدات تؤثر على القدرة المضادة للأكسدة وبشكل مؤكد تبين أن هناك حموض امينية محددة ذات خصائص مضادة للأكسدة أعلى عندما تتم مشاركتها في ببتيد ثنائي.

في المقابل تشير النتائج الأخرى إلى أن الشكل الهيكلي يمكن أن يقلل من الفعالية المضاد للأكسدة للأحماض الامينية المتشكلة. في الواقع ذكر أن تشكيل الببتيد قادر على إظهار التآزر والتضاد من حيث التأثير المضاد للأكسدة للأحماض الامينية الحرة. بين باحثون أن الاستعاضة عن هيستيدين - L بدلا من هيستيدين-D قد يقلل من الفعالية المضاد للأكسدة. كما ذكر أن التوضع الصحيح لمجموعة ايميدازول هو العامل الرئيسي للنشاط المضاد للأكسدة. ذكرت حالات عن نشاط مضاد للأكسدة من جلوتين الذرة ووجد ارتباط بين تحلل الوجبة مع التركيز والوزن الجزيئي للحلمهة. كانت فعالية الببتيدات المضادة للأكسدة ذات الوزن الجزيئي بين 500-1500 Da أقوى من الببتيدات ذات الوزن الجزيئي أكثر من 1500 Da

وأقل من 500 Da. علاوة على ذلك، يمكن لعوامل أخرى أن تؤثر على الفعالية المضادة للأكسدة للببتيدات الفعالة حيويا. ذكر أن الفعالية المضاد للأكسدة من الببتيد يعتمد على الأحماض الأمينية الموجودة في التسلسل وأيضاً على الموقع الذي تشغله في التسلسل، على سبيل المثال أظهر ثلاثي الببتيدات مع التربتوفان والتيروزين في الطرفC لديهم نشاطاً ملحوظاً في إزالة الجذور الحرة وأظهرت أيضاً المجموعات المختلفة من الأحماض الأمينية في سلاسل ثلاثية الببتيد فعاليات مختلفة مضادة للأكسدة. بين باحثون أن أي تغيير في ترتيب وتسلسل الحموض الامينية في الببتيدات الثلاثية سيؤدي إلى نتائج مختلفة في الفعالية المضاد للأكسدة. كذلك، إن وجود الأحماض الامينية الكارهة للماء ضمن بنية الببتيد يؤثر على نشاط الببتيد المضاد للأكسدة في تثبيط معالجة الليبيدات بالبيروكسيد، حيث وجد أن الخصائص الكارهة للماء تؤدي إلى تفاعلات أكبر بين الببتيد والحموض الدسمة والتي تشمل حمايتها من المؤكسدات. يمكن أن تسبب الحموض الأمينية مثل التيروزين، تريبتوفان، ميتيونين، ليزين، سيترين، هيستيدين تأثيرا مضادا للأكسدة. تعزى الفعالية للمضاد للأكسدة في الببتيدات الحاوية على الهيستيدين إلى سيطرة الهيدروجين، احتباس جذور البيروكسيد ضمن الليبيدات و/أو قدرة مجموعة الايميدازول على خلبة أيونات المعادن. تمتلك مجموعة SH في السيستين دورا هاماً كمضاد للأكسدة تبعا لتفاعلها المباشر مع الجذور. تحسن الأحماض الأمينية ذات اللاحقة العطرية من خصائص الببتيدات الطاردة للجذور لأنها يمكن أن تعطي البروتونات للجذور التي تعاني من نقص الإلكترونات.

أظهر باحثون نشاطاً مثبطا أعلى لـ DPPH من أجل أجزاء الببتيد أقل من 1 و 5-10 كيلو دالتون بسبب ارتفاع محتوى الأحماض الأمينية الأليفاتية الكارهة للماء (فالين، ايزولوسين و لوسين) والأحماض الأمينية العطرية الكارهة للماء (فينيل الانين، تيروزين) بالمقارنة مع الأجزاء من 1-3 و3-5 كيلو دالتون.

ذكر أن نواتج التحلل المائي (الحلمهة) تقسم إلى ثلاث مجموعات رئيسية بناءً على درجة التحلل المائي (DH) والتي تحدد تطبيقها:

1. تحلل مع DH واسع (تستخدم في الغالب كمكملات غذائية وضمن الحميات الطبية الخاصة)،
2. تحلل بالماء مع DHs متنوعة (تستخدم كمنكهات بشكل عام)،
3. تحلل بالماء مع DH منخفض وخصائص وظيفية محسنة.

يؤثر نوع البتيداز، كما ذكرنا سابقاً، على الخصائص الوظيفية للببتيدات. اقترح باحثون أن عينة الكانولا المهدرجة بوساطة الالكالاز لها درجات مماثلة من التحلل المائي (20.6٪ و 18.9٪ على التوالي) بالمقارنة مع تلك المتحلمهة بمزيج من الكالاز و فلافورزيم بينما كان التحلل المائي المحضر بفلافورزيم وحده ذو درجة أقل من التحلل المائي بمقدار (6.33٪). لم يكن ذلك متوقعاً فقد كان يعتقد أن ينتج المزيج من الكالاز و فلافورزيم مركب ذو تحلل كبير مقارنة مع الناتج من استخدام ببتيداز لوحده. ذكر أن الفلافورزيم المتحلل من بروتين الكانولا والذي يحتوي على DH أقل ذو فعالية مضادة للأكسدة أعلى من التحلل المائي الناتج باستخدام الكالاز. كما أشير إلى زيادة قدرة كنس الجذور بزيادة التركيز. تمتلك المواد المتحلمهة المحضرة باستخدام فلافورزيم الفعالية الاعلى في الكنس على الإطلاق بين كل التراكيز، بينما تم الحصول على قيم مماثلة للتحلل المائي المحضر باستخدام الالكالاز أو بدمج اثنين من البتيداز. يشير الجدول رقم (1) إلى بعض الببتيدات المضادة للأكسدة والمشتقة من مصادر الغذاء.

الجدول 1. الببتيدات المضادة للأكسدة المشتقة من مصادر الغذاء

Protein	Process	Bioactive peptide	References
Royal jelly protein	Protease N	Ala-Leu, Phe-Lys, Phe-Arg, Ile-Arg, Lys-Phe, Lys-Leu, Lys-Tyr, Arg-Tyr, Tyr-Asp,Tyr-Tyr, Leu-Asp-Arg, Lys-Asn-Tyr-Pro	Guo et al. (2009)
Rice	Alcalase	Thr-Gln-Val-Tyr	Li et al. (2007)
Palmaria palmata protein	Corolase PP	Ser-Asp-Ile-Thr-Arg-Pro-Gly-Gly-Asn-Met	Harnedy et al. (2017)
Wheat germ	Bacillus licheniformis alkaline protease	Ile-Val-Tyr	Matsui et al. (1999)
Soy (β-conglycinin)	protease	Leu-Leu-Pro-His-His	Chen et al. (1995)
Egg (egg white)	Pepsin-	Tyr-Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu	Davalos et al. (2004)
Corn gluten meal	Alkaline protease and Flavourzyme	Leu-Pro-Phe, Leu-Leu-Pro-Phe, Phe-Leu-Pro-Phe	Zhuang et al. (2013)
Hemp seed protein	Pepsin	Trp-Val-Tyr-Tyr, Pro-Ser-Leu-Pro-Ala	Girgih et al. (2014)
Sweet potato protein green tender	Alcalase	Tyr-Tyr-Ile-Val-Ser	Zhang et al. (2014)
Sorghum	Alcalase	Leu-Asp-Ser-Cys-Lys-Asp-Tyr-Val-Met-Glu	Agrawal et al. (2017)
Sea squirt (*Halocynthia roretzi*) protein	Pepsin	Leu-Glu-Trp, Met-Thr-Thr-Leu, and Tyr-Tyr-Pro-Tyr-Gln-Leu	Kim et al. (2018)
Wheat germ protein	Alcalase	Gly-Asn-Pro-Ile-Pro-Arg-Glu-Pro-Gly-Gln-Val-Pro-Ala-Tyr	Karami et al. (2018)

أشار باحثون إلى أن حالة التحلل المائي المستخدمة لإنتاج الببتيدات من المحتمل أن تؤثر على الأنشطة المضادة للأكسدة لبروتين بذور التمر المتحلمهة. أشارت نتائج إلى أن الببتيدات مع تسلسل تيروزين– غليسين –تيروزين–تريونين– غليسين –ألانين وإيزولوسين– سيرين – غلوتامات– ليزين – غليسين – تريبتوفان والذي يفرز من حليب الأم بعد الهضم مع البيبسين والبنكرياتين يمكن أن تظهر فعالية كبيرة في كنس الجذور، وقد كانت هذه الخاصية مرتبطة بتشكل الحمض الأميني تربتوفان والذي يمكن أن يكير تفاعلات سلسلة الجذور بفضل التخلي عن الهيدروجين المرتبط بالنيتروجين من حلقة الإندول.

ذكر أن الخصائص المضادة للأكسدة المتعلقة بالببتيدات المعزولة من فول الصويا تختلف باختلاف هيكلها وأنظمة الكشف المستخدمة حيث بينت الأبحاث حول مقايسة بيروكسيد حمض اللينوليك إن الببتيدات التي تحتوي على اثنين من جزيئات التيروزين ذات نشاط مضاد للأكسدة أعلى من الببتيدات المقابلة التي تحتوي على اثنين ثمالات الهيستيدين، وأظهر التتالي تيروزين- (هيستيدين- لوسين -ارجنين) – تيروزين الفعالية الأعلى. بالإضافة إلى ذلك من المفترض أن الأحماض الأمينية، مثل تربتوفان، تيروزين،ميثيونين، ليزين، هيستيدين-تيروزين-برولين، وبرولين، ألانين وسيستين، الموجودة على التسلسل ضمن الببتيدات المضادة للأكسدة مسؤولة عن الفعالية المضاد للأكسدة. تتعلق الفعالية المضاد للأكسدة العائدة لاثنين من الأحماض الأمينية العطرية هما التربتوفان والفنيل ألانين بقدرتهما على لعب دور كانس للجذور، وتعزى الفعالية المضاد للأكسدة المرتبطة بالتيروزين إلى القدرة الخاصة لمجموعات الفينول للعمل كمانح للهيدروجين. تمت دراسة ستة من الببتيدات المضادة للأكسدة الناتجة من التحلل المائي لبروتين فول الصويا من قبل مجموعة من الباحثين. وقد اكتشفوا أن الببتيدات الفعالة تحتوي على 5-16 من بقايا الأحماض الأمينية مع حمض أميني كاره للماء مثل الفالين أو الليزين في موضع اللاحقة الطرفيةN-مع برولين، هيستدين أو تيروزين على التسلسل. عند مقارنة القدرة المضادة للأكسدة بين 28 ببتيد من الببتيدات قصيرة السلسلة حصل عليها من لوسين - لوسين - برولين - هيستيدين - هيستيدين، وجد أن ثلاثي الببتيد برولين- هيستيدين– هيستيدين يشكل مركزا نشطا مسؤولاً عن نشاط مضادات الأكسدة المشتقة من تحلل بروتين الصويا. تم افتراض أن الببتيدات الحاوية على الهيستيدين يمكن أن تعمل كخالب

للمعادن، وخالب للاوكسجين النشط وكانس لجذور الهيدروكسيل، لذلك فهو يؤثر على الفعالية المضاد للأكسدة الناتج عن تحلل البروتين.

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية المثبطة للـ ACE

يلعب الإنزيم المحول للأنجيوتنسين -I (ACE) دوراً بالغ الأهمية في تنظيم ضغط الدم لأنه يعزز تحويل الأنجيوتنسينI إلى الأنجيوتنسينII ذو التأثير المضيق للأوعية بقوة وكذلك يثبط فعالية البراديكنين الموسع للأوعية. تستخدم المواد المثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين لتخفيض ضغط الدم عند مرضى ارتفاع ضغط الدم. عن طريق تثبيط هذه العمليات، تم استخدام مركبات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين الصنعية مثل كابتوبريل، إنالابريل، وبريلوراميبريل على نطاق واسع في العلاج السريري الفعال لارتفاع ضغط الدم وقصور القلب عند الانسان. ومع ذلك، فإن هذه الأدوية الصنعية لها العديد من الآثار الجانبية بما في ذلك الإسهال، السعال، الحساسية، اضطرابات التذوق، الطفح الجلدي، قصور وظائف الكليتين، وفي بعض الحالات انخفاض شديد في ضغط الدم، أي انخفاض الضغط. لذلك، فإن البحث عن مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين الطبيعية كخيار بديل عن الصنعية هو أحد الاهتمامات العظيمة للاستخدام الآمن والاقتصادي لها كمركبات دوائية. على الرغم من فعاليتها من حيث الفعالية المثبط للإنزيم المحول للأنجيوتنسين غير مرتفعة مثل الأدوية الصنعية، فإن العديد من الببتيدات الطبيعية المثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين والمشتقة من البروتينات الغذائية المختلفة يمكن تطبيقها في الوقاية من ارتفاع ضغط الدم والعلاج البدئي للأفراد الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم معتدل الشدة.

إن نشاط مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين من الببتيدات يعتمد على تقارب اللاحقةN- أوC- من الأحماض الأمينية الطرفية لموقع ACE الفعال. وانطلاقا من وجهة النظر هذه قام باحثون بفصل 12 ببتيد من مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين عبر تحليل عضلات السردين، ووجدوا أن الببتيد الثنائي، فالين تيروزين مع قيمة IC50 البالغة 5.2 mM، عمل كمثبط رئيسي للإنزيم المحول للأنجيوتنسين. كما ذكر أن معظم الببتيدات مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين هي ببتيدات ذات بنية قصيرة مكونة من اثنين إلى تسعة فقط من الأحماض الأمينية.

من المعروف أن الببتيدات الثنائية أو الثلاثية، خاصة تلك التي تحتوي على البرولين في اللاحقة الطرفية C أوالهيدروكسيل برولين مقاومة بالفعل للتحلل عن طريق الإنزيمات الهاضمة.

علاوة على ذلك، يتم امتصاص الببتيدات القصيرة التي تتكون من اثنين أو ثلاثة من الأحماض الأمينية بسرعة أكبر من الأحماض الأمينية الحرة. بالاضافة إلى ذلك، أظهرت نتائج الفئران المصابة بارتفاع ضغط الدم العفوي (SHR) أن الببتيدات الثنائية ذات لاحقة التيروزينC- الطرفية قد سببت انخفاضاً بطيئا وطويل الأمد لضغط الدم الانقباضي مقارنة مع الببتيدات الثنائية مع فينيل ألانين ولاحقةC-.في المقابل، أحدثت الببتيدات الثنائية مع فينيل ألانين و لاحقة طرفية –C انخفاضاً أسرع وبمدة أقصر.

اقترح أن أجزاء الببتيدات ذات الوزن الجزيئي أقل من 1 كيلو دالتون و5-10 كيلو دالتون لديها فعالية مثبطة للرينين أعلى والتي قد تعزى إلى زيادة مستويات الحموض الامينية الكارهة للماء (فالين، إيزولوسين و ليوسين) والعطرية (فينيل ألانين والتربتوفان) عند مقارنتها بأجزاء الببتيد ذات الوزن 1-3 و3-5 كيلودالتون. ومن المعروف أيضا أن الببتيدات ذات الحجم الأصغر أكثر فعالية بيولوجية بسبب الاحتمالية الأعلى لزيادة معدل الامتصاص المعوي والدخول إلى الخلايا مقارنة بالحجم الأكبر من الببتيدات. ذكر أن طبيعة وموقع الحمض الأميني تلعب دورا رئيسيا فيتعزيز تثبيط الرينين أكثر من حجم الببتيدات. ذكر أيضاً أن أجزاء الببتيد في البروتينات المتحلمهة ضمن الفاصولياء الكلوية (KBH) ذات قدرة على تثبيط ACEأعلى من الفاصولياء الصينية المتحلمهة المحضرة مع النيوتراز. وقد توصلوا إلى أن الاختلافات في هذه النتائج يمكن أن تعزى إلى الاختلاف في نوع الببتيد وتركيز العينة المستخدمة وكذلك نسبة الببتيداز إلى الركيزة، وكل منها من الممكن أن تؤثر على نمط الببتيدات المنتجة.علاوة على ذلك، ذكرأن الببتيدات ذات الفعالية المضادة للأكسدة والمثبطة ل ACE عادة ما تكون غنية بالأحماض الأمينية الكارهة للماء، والتي تعزز الامتصاص والتفاعل مع الانزيم الهدف أو الجذور الحرة. تلعب الببتيدات الفعالة حيويا والمشتقة من الحليب أدواراً مهمة في صحة الإنسان وتغذيته. تمتلك بعض هذه الببتيدات العديد من الخصائص الوظيفية، على سبيل المثال تبدي الببتيدات ذات التسلسل 60-70 من ب–كازين نشاطاً مثبطا للإنزيم المحول للأنجيوتنسين. يتم الحفاظ على هذا التسلسل من تحلل البروتين بسبب القدرة العالية على مقاومة الماء ووجود بقايا راتنجات البرولين. قام باحثون بعزل الببتيدات المثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين على

سبيل المثال (فالين – ارجينين – تيروزين– لوسين) عبر التحلل الأنزيمي لبروتينات الحليب. مؤخراً تم تحديد ثلاثة ببتيدات جديدة مثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين مع قيم IC50 تتراوح بين 316 إلى 354 lmol / L من تحلل حليب الماعز وكشف أيضاً عن تأثير خافض للضغط في الفئران التي تعاني من ارتفاع ضغط الدم العفوي.

كشف أيضاً عن مثبط ACE قوي في حليب الأم ويتوافق مع الكازين– B والجزء (125-129) f مع تسلسل الهيستيدين– ليسين – برولين – ليسين – برولين. في هذه الحالة، كان من المفترض أن وجود برولين الأحماض الأمينية في النهاية الطرفية-C يمكن أن تكون حاسمة للنشاط الذي تمت ملاحظته. يشير الجدول (٢) إلى بعض الببتيدات المضادة لارتفاع ضغط الدم والمشتقة من مصادر الغذاء.

الجدول 2. الببتيدات الخافضة للضغط المشتقة من مصادر الغذاء

Protein	Process	Bioactive peptide	References
Wheat (gliadin)	Acid protease	Leu-Ala-Pro	Motoi and Kodama (2003)
Fermented soybean	Enzymatic hydrolysis	Leu-Val-Gln-Gly-Ser	Rho et al. (2009)
α_{S1}-Casein	pepsin	Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr and Ala-Tyr-Phe-Tyr-Pro-Glu-Leu	Hernández-Ledesma et al. (2013)
Whey	Trypsin	Tyr-Leu in N terminus	Sharma et al. (2011)
Wakame	Pepsin	Tyr-Asn-Lys-Leu	Suetsuna and Nakano (2000)
Hemp seed protein	Pepsin	Trp-Val-Tyr-Tyr and Pro-Ser-Leu-Pro-Ala	Girgih et al. (2014)
Rapeseed protein	Alcalase	Leu-Tyr and Arg-Ala-Leu-Pro	He et al. (2013)
Peach seed protein	Thermolysin	Leu-Tyr-Ser-Pro-His, Leu-Tyr-Thr-Pro-His and His-Leu-Leu-Pro	Vásquez-Villanueva et al. (2015)
Walnut protein	Pepsin	Tyr-Glu-Pro	Gu et al. (2015)

العلاقة بين بنية الببتيدات والفعالية الخافضة لكوليسترول الدم

أظهرت دراسات مختلفة أن العديد من البروتينات الغذائية يمكن أن تحسن نسب الدهون في الدم. حتى الآن، تم الإعلان عن خصائص خافضة لكوليسترول الدم في كل من فول الصويا، مصل اللبن وبروتين السمك وهي قادرة على تغيير شكل البلازما من مؤهب لتصلب الشرايين إلى واق للقلب. في المقابل، يميل الكازئين البقري إلى التسبب في الأنواع المؤهبة لحدوث فرط كوليسترول الدم واللويحات الدهنية في الدراسات الحيوانية. الآليات الدقيقة المسؤولة عن آثار نقص الكولسترول غير واضحة كذلك، ولكن الأدلة تشير إلى أن تركيب معين للحمض الأميني في البروتينات الغذائية وهيكل الببتيدات يؤثر في فعالية مصدر البروتين على مستويات الكوليسترول في المصل. تم اعتماد البروتينات الغذائية التي تحتوي نسب منخفضة من

ميتيونين – غليسين وليسين - أرجينين، مثل بروتين الصوياو الأسماك، وتدعم التأثير الخافض للكوليسترول. في المقابل، يميل الكازئين البقري إلى رفع نسبة الكوليسترول وقد يعود ذلك الى احتوائه نسبة عالية من ميثيونين- جليسين، وليسين – أرجينين. حظيت التأثيرات الخافضة لكوليسترول الدم الخاصة ببروتين الصويا بأكبر قدر من الاهتمام مؤخرًا. اقترحت العديد من الأبحاث أن مجموعة من الآليات الممكنة للعمل في قدرة بروتين الصويا على خفض الكوليسترول الكلي في المصل بما في ذلك تحفيز التعبير عن مستقبلات LDL، وتعزيز تشكيل الحموض الصفراوية واطراحها، وكذلك تقليل امتصاص الستيروئيدات من الأمعاء. بالإضافة إلى ذلك، ذكرت التغييرات في حالة الغدد لصماء مثل التبدلات في مستويات الأنسولين والغلووكاغون كانت النسبة وفي تراكيز هرمون الغدة الدرقية. كما اقترح أن تحلل بروتين الصويا يقلل من المستويات الكلية للكوليسترول بشكل أكثر فعالية من بروتين الصويا السليم. اكتشف ببتيد مشتق من جليسينين الصويا، ليسين -بولين - تيروزين- برولين- أرجينين وذلك لإحداث تأثيرات خافضة للكوليسترول في الدم. إن ببتيد ليسين - برولين - تيروزين - برولين – أرجينين متماثل هيكلياً مع إنتروستاتين (فالين - برولين -أسبارتات - برولين - أرجينين)، ببتيد داخلي ذو تأثيرات خافضة للكوليسترول وقاطعة للشهية. الببتيدات إيزولوسين - ألانين - فالين - برولين - جليسين - جلوتامات - فالين – ألانين هو ببتيد جليسين آخر مشتق ذو نشاط خافض للكوليسترول. ذكر أن كل من الببتيدات ليسين- برولين - تيروزين - أرجينين - برولينوإيزولوسين - ألانين - فالين - برولين - جلايسين - لوتامات - فالين – ألانين تثبط ٣- هيدروكسي-3-ميثيل غلوتاريل نظير الانزيم (HMGR) وهو إنزيم رئيسي معروف في تصنيع الكوليسترول. أشارت الأبحاث حول علاقة بنية – فعالية إلى أن المنطقة الكارهة للماء لكل الببتيدات على حد سواء هي عنصر هيكلي مطلوب لنشاطها البيولوجي. يبلغ أقصى طول للسلسلة الكارهة للماء أربعة أحماض أمينية. بالإضافة إلى ذلك، بقايا البرولين هي مكون رئيسي ويمكن وضعها في اللاحقة الطرفية C- وفي أي موضع آخر ضمن تسلسل الحمض باستثناءN- الطرفية. يشير الجدول رقم (٣) إلى بعض الببتيدات الخافضة للكولسترول والمشتقة من مصادر الغذاء.

الجدول 3. الببتيدات الخافضة للكولسترول المشتقة من مصادر الغذاء

Protein	Process	Bioactive peptide	References
β-Lactoglobulin	Trypsin, chymotrypsin	Ile-Ile-Ala-Glu-Lys	Hernández-Ledesma et al. (2013)
β-Lactoglobulin	Trypsin	Ile-Ala-Glu-Lys	Zhong et al. (2007)
Soy	Alcalase	Trp-Gly-Ala-Pro-Ser-Leu, Leu-Pro-Tyr-Pro	Zhong et al. (2007)
Glycinin	Enzymatic hydrolysis	LPYPR, IAVPGEVA	Erdmann et al. (2008)
Brassica carinata protein	Trypsin, chymotrypsin, and carboxypeptidase A	His-Tyr-Val-Ile-Leu-Pro-Met-Lys-Trp(1800–1400 Da)	Pedroche et al. (2007)

سلامة وأمان الببتيدات الفعالة حيوياً

سمية الببتيدات الفعالة حيوياً حسب التسلسل

تعتبر سلامة الببتيدات أمرا بالغ الأهمية على الرغم من أننا غالباً ما نفترض أن الببتيدات النشطة حيويا آمنة حيث يتم تحضيرها باستخدام البروتينات الغذائية بواسطة البروتياز الغذائي. لكن العديد من البروتينات / الببتيدات السامة موجودة بشكل طبيعي (الجدول 4)، أماتوكسين والفالوتوكسين نوعان من الببتيدات السامة الطبيعية الموجودة في الفطر. تظهر كل من الأماتوكسينات والفالوتوكسين سمية كبدية قوية من خلال تثبيط بوليميريز الحمض النووي RNA II ، والذي ينتج عنه نقص في تصنيع البروتين ونخر الخلية، الفشل الكبدي الحاد والموت في النهاية. تم تلخيص الببتيدات طبيعية المنشأ ذات السمية المحتملة بواسطة خان وزملاؤه (٢٠١٨) . ومع ذلك، تتوفر معلومات محدودة عن الببتيدات السامة المشتقة من البروتينات الغذائية باستثناء الدراسات السامة للخلايا في المختبر الموجهة ضد الخلايا السرطانية المختلفة، على سبيل المثال، تبدي الببتيدات المشتقة من اللاكتوفريسين تأثيرات سمية تجاه خلايا الورم الأرومي العصبي. بالإضافة إلى البروتينات السامة المذكورة فقد تم الإبلاغ عن نوعين هما البروتين المثبط للريبوزوم والليكتين وهما من العائلات المعروفة للبروتينات السامة. يمكن لليكتين التعرف على هياكل كربوهيدراتية معينة وربطها (مستقبلات الليكتين) عبر موقع محدد لارتباط الكربوهيدرات.

يؤدي ربط مستقبلات الليكتين، الموجود على الخلايا الظهارية في الجهاز الهضمي للحيوانات، إلى خصائص مضادة للتغذية بسبب التغيرات الكبيرة في الاستقلاب الغذائي الوسيط. يمكن لبروتينات تثبيط الريبوزوم،

وفئة من الإنزيمات السامة للخلايا أن تثبط تحفيز ريبوزومات بدائيات النواة أو حقيقيات النواة عن طريق نشاط N-غلوكوزيداز rRNA المحدد بدقة. يتم تشفير هذه البروتينات السامة بمتواليات من البيتيدات السامة. ومن المثير للاهتمام أنه قد تم ذكر الأنشطة المضادة للورم الخاصة بالليكتين ضد خلايا سرطان الكبد وسرطان المثانة عند البشر، خلايا الورم الميلانيني البشري، وخلايا البنكرياس لدى الجرذان، والخصائص المضادة للفيروسات والمضادة للفطور الخاصة بالبروتينات المعطلة لريبوزوم فيروس نقص المناعة المكتسب البشري.

الجدول 4. البيتيدات السامة والمحسسةالمشتقة من الطعام

Toxic peptides	Toxic or allergenic effects	Origin	References
Amatoxins	Cyclic octapeptides, hepatotoxic	Mushroom	Khan et al., 2018; Khan et al., 2018; Santi et al., 2012
Phallotoxins	Cyclic heptapeptides, hepatotoxic	Mushroom	Khan et al., 2018; Khan et al., 2018; Santi et al., 2012
Allergenic peptides			
Asn-Ser-Ala-Glu-Pro-Glu-Gln-Ser-Leu-Ala-Cys	High resistance to proteolysis, predicted	Milk β-lactoglobulin	Picariello et al. (2010)
Val-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Asp-Asp-Glu-Ala-Leu	IgE binding epitopes, predicted	Milk β-lactoglobulin	Dziuba et al. (2013)
Gly-Ala-Gln-Glu-Gln-Asn-Gln-Glu-Gln-Pro-Ile-Arg -Cys-Glu-Lys-Asp-Glu-Arg-Phe	IgE binding epitopes, predicted	Milk κ-casein	Dziuba et al. (2013)
Gly-Asn-Ile-Phe-Ser-Gly-Phe-The-Pro-Glu-Phe-Leu-Glu-Gln-Ala	IgE binding epitopes	Peanut	Di Stasio et al. (2017)
Lys-Lys-Asn-Ile-Gly-Arg-Asn-Arg-Ser-Pro-Asp-Ile-Tyr-Asn-Pro	IgE binding epitopes	Peanut	Di Stasio et al. (2017)
Ile-Glu-Thr-Trp-Asn-Pro-Asn-Asn-Gln-Glu-Phe-Glu-Cys-Ala-Gly	IgE binding epitopes	Peanut	Di Stasio et al. (2017)
Hydrolysate of soybean proteins by enzymes (Alcalase, papain, trypsin, chymotrypsin, or bromelain)	IgE binding epitopes	Soy proteins	Panda, Tetteh, Pramod, and Goodman (2015)
Hydrolysate of soybean proteins by the sequential enzymatic digestion with pepsin and chymotrypsin	Allergenic epitopes of soybean Kunitz trypsin inhibitor	Soybean 2S protein	Sung, Ahn, Lim, and Oh (2014)

بناءً على تنبؤات السيليكو ، فإن بعض بقايا الأحماض الأمينية مثل Cys و Hisو Asn أو Pro أو العناصر مثل Phe-Lys-Lys و Leu-Lys-Leu و Lys-Lys-Leu- كثيرًا ما يتم عرض Leu و Lys-Trp-Lys و Cys-Tyr-Cys-Arg بصفة البيتيدات السامة ، في حين أن Arg و Leu و Lys و Ile هي الأقل ظهورًا. والجدير بالذكر أن البيتيدPhe-Lys-Lys مشتق من الجمبري و Leu-Lys-Leu من السردين وهي تلعب دور مضاد للأكسدة ومثبط للإنزيم المحول للأنجيوتنسين ، على التوالي. معظم البيتيدات التي تحتوي على شكل Lys-Trp-Lys في cecropin B هي Cys-Tyr-Cys- في الجرذ / الانسان تبدي نشاط مضاد للبكتيريا (مينكويش وآخرون 2008). لذلك ، تظهر بعض البيتيدات السامة أيضاً نشاطات حيوية. بالإضافة إلى ذلك ، عزز المثبط Cys بالتسلسل الموافق مثل CN3–7CN3–6CNo–5CN1–4CN4–13C (يُسمى أيضًا السم الشبيه بالعقرب ، "C" يمثل السيستين ، "N" يمثل الأحماض الأمينية ، يمثل "3-7" الأعداد المحتملة للأحماض الأمينية) وعناصر تكرار البولي جلوتامين (بولي جلين) ، والتي تتميز بالعديد من

بقايا Gln المتتالية ، هما سمتان هيكليتان شائعتان تتعلقان بالبروتينات السامة. إن شكل تكرار Gln المتعدد يوجد غالباً في الغلوتينين (القمح) ، هوردين (الشعير) ، والسيكالين (الجاودار) ، ويسبب السمية الهضمية للأفراد الحساسين. في الببتيدات السامة من المفضل وجود Pro و Gly و Arg و Ser في اللاحقة N- ، بينما تفضل Val و Asn و His في اللاحقة C-. في الببتيدات غير السامة، تم تفضيل Met و Leu و Phe و Ile في اللاحقة N- ، بينما Leu و Gly و Lys في اللاحقة C-. تتوفر قواعد بيانات عن سمية الببتيدات في قاعدة بيانات السموم الحيوانية. على سبيل المثال، يوفر ToixnPred سلسلة من الأدوات للتحليل والتنبؤ بسمية الببتيدات. على وجه الخصوص ، يمكن أن يميز المظاهر الفريدة من الببتيدات السامة من بقية التسلسلات . على الرغم من أن السيليكو طريقة مفيدة وسريعة، فقد تم إدخال ببتيدات جديدة في الغذاء ولا تزال بحاجة إلى تقييم من حيث سلامة الاستهلاك .

الببتيدات المسببة للحساسية

تعتبر العديد من البروتينات الغذائية مسببات محتملة للحساسية . الغلوبولين المناعي E. التفاعل الضار المتواسط بالغلوبولين المناعي (IgE) هو الشكل الرئيسي للحساسية الغذائية. يمكن أن يؤدي تعطيل ارتباط IgE بالحلقة إلى تقليل النشاط المناعي لمسببات الحساسية. وفقًا لهذه النظرية، يتم استخدام التحلل المائي للبروتياز، التوجيه، التدفئة، الإشعاع والضغط الهيدروستاتيكي العالي لتقليل الحساسية من مسببات الحساسية الغذائية. التحلل المائي الأنزيمي هو الطريقة الوحيدة المتاحة لتحضير مركبات الحليب المضادة للحساسية. على الرغم من حقيقة أن الارجية الضعيفة قد استوفت الصيغة السريرية لمعيار الارجية، وجد أن بقايا الببتيدات في الصيغة تحرض التفاعلات عند الرضع الذين يعانون من حساسية تجاه حليب البقر. الببتيدات المسببة للحساسية، مثل:

1. Asn-Ser-Ala-Glu-Pro-Glu-Gln-Ser-Leu-Ala-Cys
2. Gly-Ala-Gln-Glu-Gln-Asn-Gln-Glu-Gln-Pro-Ile-Arg-Cys-Glu-Lys-Asp-Glu-Arg-Phe
3. Val-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Asp-Asp-Glu-Ala-Leu

تعتبر الببتيدات أيضا من مسببات الحساسية الناتجة عن الاحتفاظ بجزء من حساسية البروتين الأصلي (الجدول 1). تتشكل الببتيدات التحسسية بسبب مقاومتها لبروتينات التحلل الإنزيمي الهضمي. على الرغم من عدم وجود بيانات لتوثيق المؤهبات التحسسية، فان قواعد بيانات المواد المسببة للحساسية متوفرة في بعض المواقع. تم الإبلاغ أيضًا عن Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys والتي تمتلك نشاطات مثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين)يامادا وزملاؤه ٢٠١٥). بالإضافة إلى ذلك ، وجدعدد من الببتيدات ، مثل Leu-Lys-Pro و Ile-Pro-Tyr و Pro-Gly-Pro-Ile-His-Asn،Ala-Leu-Pro-Met و Val-Ala-Gly-Thr-Trp-Tyr ذات نشاطات مثبطة للإنزيم المحول للأنجيوتنسين في حليب الأطفال.

تأثيراستخلاص البروتين والمعالجة وتحضيرالببتيد

يعتبر التحلل المائي الأنزيمي والتخمير أكثر الطرق المتبعة لتحرير الببتيدات الفعالة حيوياً. على الرغم من كون الظروف الأنزيمية معتدلة ، غالبًا ما يتم تغيير طبيعة البروتينات الغذائية عن طريق العلاج بالحرارة لتعزيز التحلل المائي عن طريق تعريض مواقع الانقسام للإنزيمات.

بالاعتماد على شدة العلاج بالحرارة أثناء المعالجة ، قد تكون بعض الأحماض الأمينية الغذائية مثل Trp و Lys و Arg و Asn و Cys و Met تالفة. مجموعة متنوعة من التعديلات الكيميائية مثل التحلل، والترسيم ، التجفيف من Ser وThe ، التدوير من Asp و Glu و Thr. قد يحدث التخلص من العنصر ، وتشكيل روابط أيزو الببتيد .لذلك، تؤدي الببتيدات المحضرة بعد تسخين البروتينات في كثير من الأحيان إلى إنتاج متواليات ببتيدية مع بقايا الأحماض الأمينية المعدلة. أن التحلل المائي الإنزيمي لعزل بروتين مصل اللبن أدى إلى اشتقاق الببتيد بشكل خاص وفقدان مجموعات SH بسبب التفاعلات مع مشتق الكربونيل التفاعلي .

يمكن أيضًا أن تتشكل المنتجات الخطرة المحتملة أثناء استخلاص البروتينات. يتم استخراج البروتينات مثل بروتين الصويا في الغالب باستخدام pH-طريقة التحول حيث يخضع البروتين للمعالجة القلوية ومن ثم لترسيب البروتين باستخدام pH الحمضي. في الحالة القلوية، يتم تقسيم بعض بقايا الأحماض الأمينية إلى أيزومراتD الخاصة بها بما في ذلك توليد روابط D-D و L-D و D-Lالببتيد ، التي يتعذر الوصول منها

جزئيًا أو كليًا إلى الببتيداز. تم فصل اثنين من أيزوميرات، LL-ليزينوالانين و LD-ly- سينوالانين، تم فصلها بوساطة العلاج بالتحلل المائي للحرارة- والقلوية- لبروتينات مصل اللبن. تتكون البروتينات الطبيعية من الأحماض الأمينية L، وهي عالية الأهمية في التغذية. على الرغم من أن D-Ala و D-Glu و D-Asp و D-Ser و D-Lys موجودة في حليب الأبقار والماعز والنعاج، الأحماض الأمينية-D بالكاد تمتص وتستخدم في البشر. بصرف النظر عن إنتاج الأحماض الأمينية D غير المرغوب فيها والببتيدات الحاوية على الأحماض الأمينية D والبروتينات المعالجة بالحرارة والقلويات غالباً ما تسبب تكوينًا متزامنًا للأحماض الأمينية المتصالبة. هذه الحموض الأمينية المعقدة لا يمكن هضمها في الجسم وذكر انها تحرض حدوث السمية النفروزية وقصور الكلى عند الفئران. تم الإبلاغ أيضًا عن المعالجة الحرارية (24 ساعة ، 130 درجة مئوية) لتقليل قابلية استخراج جلوتين القمح (عند محتوى رطوبة بنسبة 7.4 ٪) بسبب تكوين رابطة الببتيد الأيزو. وبالمثل، وجد ان تسخين Gln-Gln-Pro-Gly-Gln-Gly و Val-Val-Pro-Pro-Lys-Gly-Gly (تسلسلات التقديم في الغلوتين) أدى إلى تكوين رابطة ايزوببتيدglutamy-.

تعتبر الأحماض الأمينية هي اللبنات الأساسية لتشكيل البروتين والببتيدات. وتحمل الأحماض مجموعات أمينية وكربوكسيل ، بالإضافة إلى مجموعات فرعية مختلفة مثل سلفيدريلوهيدروكسيلوهيدروكسيل الفينول ، ، مجموعات الغوانيل شديدة التفاعل. أثناء المعالجة، التفاعلات المرتبطة بالمجموعات الأمينية هي بشكل رئيسي نزع الأمين، الأستلة، الاريلة، ألكلة مختزلة، توجيه ثيولاتيون، مع اختزال مجموعات الكربوكسيل ونزع الكربوكسيل منها .

على سبيل المثال، ينتج عن نزع أمين Lys بواسطة النتريت عند درجة حموضة منخفضة هيدروكسينورليوسينات منزوعة الأمين والمشتقات المكلورة ذات الصلة في الأطعمة المعالجة بالنتريت مثل اللحوم، حيث يضاف النتريت إلى اللحوم لإضفاء اللون الأحمر المرغوب فيه، و لمنع الهجوم الجرثومي، ولحماية دهون اللحوم من الأكسدة.

يتم تسريع إزالة الحمض من Gln عند الطرف N من البببتيداتGln- بوساطهProNH2 و -Gln-Leu ProNH2 تحت ضغط البسترة أو التعقيم بـ 600 أو 800 ميجا باسكال عند 60 أو 80 درجة مئوية. تم

الابلاغ عن طرق نزع الكربوكسيل من الأحماض الأمينية عن طريق الكربونيل التفاعلي المشتق من الدهون لإنتاج 2-فينيللامين و فينيلاسيت اميد ، اللذين ينقلان الخصائص العضوية في المنتجات الغذائية. بالإضافة إلى ذلك ،يمكن أيضًا إنتاج الأمينات الحيوية المذكورة أعلاه بواسطة نزع الكربوكسيل الحموض الامينية . هذه المنتجات منزوعة الكربوكسيل يحتمل أن تكون سامة ويمكن تحويلها إلى مشتقات فينيلوجوس المقابلة مثل الستايرينوالأكريلاميد ، وهي مواد مسرطنة معروفة. يزيد تفكك روابط الببتيد أثناء التحلل المائي من إفراز مجموعات الأمينووالكربوكسيل بالإضافة إلى تسلسل المجموعات الوظيفية في الجانب الآخر إلى القرب، مما يؤدي إلى مستوى أعلى من إعادة النشاط داخل مصفوفة الغذاء المعقدة، وبالتالي، قد يؤدي إلى انتاج بعض المركبات الخطرة التي تضر بصحة الجسم. كما ذكر أن السلاسل الفرعية مثل سلفدريل وهيدروكسيل الناتجة عن الببتيدات المضادة للأكسدة أو تحلل البروتين يمكن أن تتفاعل مع العوامل المؤكسدة بما في ذلك الجذور الحرة للأكسجين وأيونات المعادن في مركبات مستقرة. لا تزال تحفظات السلامة هذه المنتجات قيد التقييم.

يمكن أن يؤدي وجود الدهون في ركائز البروتين أو مصفوفة الطعام إلى تحفيز أكسدة الدهون عند تعرضها للضوء و / أو الحرارة ؛وتتفاعل المنتجات الوسيطة المؤكسدة مثل هيدروبيروكسيد بسرعة مع سلسلة الأحماض الامينية المكشوفة من البروتينات وتؤدي إلى تشكيل جذور البروتين أو تحفيز جذور البروتين المعقدة مع بلمرة الدهون والبروتينات الدهنية. تعتبر His و Cys و Met و Lys أكثر حساسية نسبيًا ويمكن أن تتفاعل جميعها مع الدهون البيروكسيدية. تم العثور على بقايا البروتينات التابعة لها لتكون الأهداف الرئيسية للتفاعل مع منتج بيروكسيد الدهون 4-(HNE) -nonenal -2 hydroxynon- ، والألدهيد السام المتفاعل المشتق من بيروكسيد الدهون لخلايا الثدييات. يمكن أن تتفاعل Cys مع كل من الألدهيدات المشبعة والكيتونات غير المشبعة ، مما يؤدي إلى تكوين الثيازوليدين بينما أظهرت مركبات ثيازوليدينون مجموعة واسعة من الأنشطة المضادة للسرطان والسمية القوية. وبالمثل ، تم الإبلاغ أيضًا عن تفاعلات بين منتجات أكسدة الدهون والببتيدات. وجدأن الخماسي يتفاعل بسرعة مع الطرف الأميني لاثنينزالببتيدات الحاوية على Lys (Pro-Thr-His-Ile-Lys-Trp-Gly-Asp و Val-His Phe-Phe-Lys- (Asn-Ile-Val-Thr-Ala-Arg-Thr-Pro في الظروف الفزيولوجية يؤدي إلى تكوين الإيمين بعد تكاثف

ألدول. في نظام نموذجي ، يتفاعل ٢-٤ ديكديلان مع الجلوتاثيون (180 درجة مئوية ، درجة الحموضة 7.5 ، ساعة واحدة) لتشكيل pentylpyridine-2 وكمية من هيكسانال.

هناك تفاعل آخر مشهور للببتيدات مع مصفوفة الطعام يسمى تفاعل ميلارد ، المعروف أيضًا باسم تفاعل الاسمرار غير الأنزيمي، حيث تتفاعل مجموعة NH-NH2 في الببتيدات مع مركبات الكربونيل، وخاصة السكريات المختزلة. ينتج عن هذا التفاعل تكوين خليط معقد من المواد الوسيطة صغيرة والمنتجات النهائية بما في ذلك فوروزين ، هيدروكسي ميثيفورفورال، ميلانويدين، أكريلاميد وكاربوكسيميتليزين ذكرت السمية الجينية عن الميلانويدين منخفض الوزن الجزيئي. بينما مادة الأكريلاميد مادة سامة للأعصاب معروفة جيداً وربما تكون مركب مسرطن نوعي ناتج عن تفاعل ميلارد Maillard بين السكريات و Asn أو من تحلل الببتيدات عند المعالجة بدرجة حرارة عالية.

لم يتم إنشاء أي مركبات ايميدازول، والتي قد تحتوي على بعض العناصر البيولوجية ذات الصلة بالظروف المرضية في الجسم الحي المرتبطة بداء السكري. من المعروف أن تفاعل Maillard يفضل أن يحدث في جانب سلسلة Lys في البروتينات. حدد باحثون بقايا Lys ε-NH2 كموقع تفضيلي أثناء تفاعل رباعي الببتيد Leu-Ser-Lys-Leu مع الجلوكوز أو الفركتوز في N-terminal Amadori ، تم اكتشاف الببتيدات أيضًا في عينات الرضع قليلي الحساسية (منتج أمادوري من Lys المرتبط بالببتيد) وخمسة أحماض امينية مختلفة (FMAAs) (تشكلت أثناء التحلل المائي الحمضي لمنتجات N-terminal Amadori المرتبطة بالببتيد) ،تم اكتشاف Lys و α-FM-Ala و α-FM-Val و α-FM-Ile و α-FM-Leu.

وهكذا، فان التفاعل بين الببتيدات ومركبات الكربونيل يقلل من جودة العناصر الغذائية الحاوية على الببتيد ويولد أيضًا مجموعة متنوعة من المواد السامة الناتجة عن تفاعل ميلارد. تجدر الإشارة إلى أنه قد تم استكشاف تفاعل Maillard أيضًا لتعزيز وظيفة / نشاط الببتيدات النشطة بيولوجيًا. قام باحثون بالتحقيق في تأثير تفاعل ميلارد على النشاط المثبط للإنزيم المحول للأنجيوتنسين في نظام الكازئين المتحلل بالماء (درجة الحموضة 8.0 ، 110 درجة مئوية لمدة 16 ساعة). تحسن النشاط المثبط للإنزيم المحول للأنجيوتنسين بشكل كبير في غضون ساعتين (من 63.48٪ إلى ٩٠,٢٣٪) .ذكر أن منتجات تفاعل ميلارد

(MRPs) المحضرة من غراء الكولاجين بوساطة التحلل المائي والزيلوز (90 درجة مئوية) أظهرت نشاطات مضادة للأكسدة أقوى من حلمهة غراء الكولاجين لوحده. علاوة على ذلك ، فإن الاستخدام الفموي لمركبات MRPs خفض ضغط الدم بنسبة أكبر لدي جرذان مصابة بارتفاع ضغط الدم العفوي (SHRs) مقارنة بالمجموعات التي تتغذى على غراء الكولاجين المائي.

آثار الجرعة المعطاة (متضمنة تكرارها) ومدة إعطائها على السلامة

تعتبر الأطعمة آمنة للاستهلاك ولاتملك جرعة محددة للإعطاء. تهدف الأغذية الوظيفية والمغذيات FFN إلى ممارسة دورها المحتمل في تحسين صحة الإنسان والوقاية من الأمراض التي تصيب البشر.بالتالي فإن الجرعة مهمة وخاصة ل FFN للحصول على الفعالية ولكنها لا تترك عواقب سلبية. تم إجراء سلسلة من التجارب المتعلقة بسلامة هذه الببتيدات مع الأخذ بعين الاعتبار اللاكتوببتيدات الأكثر شهرة VPP و IPP على سبيل المثال .

الجرعة المفردة (إعطاء فموي 2000 ملغ /كغ من الكازئين المبستر المتحلل 4000 ملغ/كغ من الحليب المجفف اللاكتوباكيلوس 400 ملغ/كغ من VPPالمركب، الجرعة المتكررة 16 ملغ/كغ باليوم من VPP لمدة 8 أسابيع بشكل مستمر او 40 ملغ/كغ من وزن الجسم باليوم من IPP لمدة 90 يوم والجرعات المتعددة (أكثر من 1000 ملغ /كغ من وزن احسم في اليوم من الكاژئين المبستر المتحلل) لم يكن لها أي تأثير سمي جهازي أو موضعي عند ذكور وإناث الفئران.

تم الإبلاغ عن الحد الادنى والاعلى من الجرعات الفعالة لهذين المركبين ثلاثيي الببتيدات الخافضين للضغط المعطاة للبشر لتكون 3 ملغ/باليوم (2ملغ من VPPمع املغ من IPP) و 52.5 ملغ باليوم (30ملغ من VPP مع 22.5 ملغ IPP) على التوالي. لم يلاحظ أي آثار جانبية ضارة مثل السعال الجاف أو الأعراض الهضمية أو تغيرات غير طبيعية عند وجود وارد يومي من اللبن السائل150 غ متضمنة 1.12 ملغ VPP مع 0.79 ملغ عند وجود ارتفاع ضغط خفيف او ضغط دم مرتفع.

الخلاصة

تلعب بعض أنماط الببتيدات الفعالة حيوياً والمشتقة من بروتينات الطعام، بتراكيبها المختلفة، أدواراً وظيفية هامة في الجسم. على سبيل المثال كمضاد أكسدة، كخافض لكوليسترول الدم وهي ذات قدرة على تحسين السعة الرابطة للماء، خصائص الاستحلاب والذوبانية في المركبات. بين هذا المشروع تأثر الجوانب الوظيفية والبيولوجية للبروتينات المتحلمهة بشكل أساسي ببنية الببتيد وتسلل الحموض الأمينية فيه. بهذه الطريقة ومن أجل زيادة الفعالية الحيوي للبروتينات المتحلمهة فمن الضروري تحديد المتغيرات التي تؤثر بشكل كبير على عمليات الحلمهة. بالإضافة إلى ذلك يجب إجراء دراسات واسعة تشمل سلامة ونوعية الأغذية الحاوية على الببتيدات الفعالة حيوياً، وتطوير تقنيات حديثة لزيادة كميات الببتيدات المشتقة من بروتينات الغذاء وتسهيل انتاجها بكميات كبيرة ملائمة للاستهلاك، ومن أجل استقرار البنية الكيماوية والفعالية الحيوية للببتيدات في مختلف أشكال الغذاء فإنه من الضروري اللجوء إلى تقنيات جديدة. يعتقد ان التغليف ضمن كبسولات يحسن من حفظ الببتيدات ضمن منتجات الغذاء وأيضا أثناء هضمها.

ومع ذلك تبقى دراسات السلامة الخاصة بالببتيدات الفعالة حيوياً محدودة. يتم تحضير الببتيدات بشكل عام في ظل ظروف معتدلة باستخدام التحلل المائي الانزيمي او التخمير، ومع ذلك لا تزال الببتيدات السامة والمسببة للحساسية تتشكل من البروتينات الأم أدى ترسيم الحمض الأميني، معادلة الببتيد/الاشتقاق، تفاعل ميلارد أثناء تحضير الببتيد إلى تكوين العديد من المركبات الخطرة المحتملة، وتجدر الإشارة إلى أن الجرعة المستخدمة وتواتر وطول الاستخدام لها أهمية كبيرة في تقييم سلامة منتجات الببتيد الفعال حيوياً. يتم عرض التحديات المتعلقة بمعالجة سلامة الببتيدات الفعالة حيوياً على النحو التالي:

- ✓ غالباً ما تظهر الببتيدات السامة والمسببة للحساسية المشتقة من البروتينات نشاطات بيولوجية ؛ قد تؤثر إزالة هذه الببتيدات أيضًا على النشاط الحيوي للببتيدات.
- ✓ تتميز الأحماض الأمينية بكونها شديدة التفاعل وحساسة لشروط البيئة؛ اعتمادًا على طبيعة مادة البدء وشروط التحضير، إن تشكيل مركبات غير مرغوب فيها متنوع ومعقد هيكليًا، مما

يطرح تحديات كبيرة في التعريف وتحديد كمية هذه المركبات. إن فهم آليات تشكيل هذه المركبات غير المرغوب فيها سوف تساعد في تنفيذ وتصميم تدابير منهجة وقائية جهازية للحد من مخاطر السلامة، على سبيل المثال، استخدام HACCP (تحليل المخاطر ونقاط التحكم الحرجة).

على سبيل المثال ، إذا كانت درجة الحرارة هي المفتاح في تحديد تكوين منتجات تفاعل Maillard ، فيجب تنفيذ التحكم في درجة الحرارة أثناء تحضير العينة.

- ✓ قد تؤدي تفاعلات الببتيدات النشطة حيوياً مع سلسلة الطعام أثناء المعالجة والتخزين إلى تكوين مركبات مشتقة (مثل الفوران، والأمينات الحيوية، والأكريلاميد، والنيتروزامينات) والتي تحمل مخاوف متعلقة بالسلامة ؛ ومن غير المعروف ما إذا كان وجود أطعمة حيوية أخرى (مثل المستقلبات الثانوية النباتية) سيؤثر على سلامة الببتيدات النشطة حيوياً.
- ✓ أظهرت الببتيدات النشطة حيوياً ذات الجرعة الفعالة إمكانية حدوث آثار سلبية عند تناولها بجرعة أعلى أو عند الاستهلاك طويل الأمد أو من قبل مجموعات حساسة أخرى .
- ✓ أظهرت دراسات آلية وجود أهداف جزيئية متعددة للببتيدات النشطة حيوياً فمن غير المعروف فيما إذا كانت بعض الأهداف الجزيئية قد تساهم في الآثار الجانبية المحتملة للببتيدات النشطة حيوياً .على سبيل المثال ، كمضيق للأوعية في RAS ، يعمل Ang II بشكل أساسي عن طريق مستقبلات الأنجيوتنسين من النوع الأول (AT1R) ، مما يؤدي إلى تضيق الأوعية وزيادة ضغط الدم وبالتالي تقليل تكوين Ang II كما في حالات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ودوره في تخفيض ضغط الدم. من ناحية أخرى . يمكن أن يعمل Ang II أيضًا عبر مستقبل من النوع 2 (AT2R) ، مما يؤدي الى توسع الأوعية . تأثيرات انخفاض تكوين Ang II عبر ACE في الببتيدات في هذا السياق غير مفهومة بعد.

المراجع

1. Liu, Ling, et al. "Safety considerations on food protein-derived bioactive peptides." Trends in Food Science & Technology 96 (2020): 199-207.
2. Karami, Zohreh, and Behrouz Akbari-Adergani. "Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties." Journal of food science and technology 56.2 (2019): 535-547.