УДК 591.146-02

# БІОАКТИВНІ ПЕПТИДИ ПРОТЕЇНІВ СИРОВАТКИ МОЛОКА КОРІВ (*Bos taurus*)

*А. В. ЮКАЛО, К. Є. ДАЦИШИН, В. Г. ЮКАЛО*

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

*E-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Отримано 14.03.2013

Наведено дані щодо біологічних властивостей протеїнів сироватки молока, які реалізуються на рівні продуктів їх протеолітичного розщеплення — біоактивних пептидів. Основними функціями цих протеїнів є забезпечення амінокислотного живлення ссавців на початкових етапах розвитку, транспорт жирних кислот і ретинолу, участь у синтезі лактози, транспортуванні іонів кальцію і заліза, імунний захист, антимікробна дія та ін. В останні роки встановлено, що протеїни сироватки молока, подібно до казеїнів, є попередниками низки біологічно активних пептидів. Серед продуктів протеолітичного розщеплення β-лактоглобуліну, α-лактоальбуміну, лактоферину та альбуміну сироватки молока виявлено інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму, опіоїдні пептиди — агоністи опіатних рецепторів, антимікробні пептиди, пептиди з імуномодуляторною та гіпохолестеролемічною дією, а також пептиди, що впливають на моторику кишечника. Аналізуються дані щодо можливої участі пептидів протеїнів сироватки молока в реалізації таких біологічних функцій, як засвоєння іонів кальцію, антиоксидантна дія, регулювання апетиту, антиканцерогенна активність. Зроблено припущення, що утворення біоактивних пептидів можна розглядати як додаткову функцію природних харчових протеїнів, яка дає переваги організмові ссавців і позитивно впливає на їх розвиток у неонатальний період. Розглянуто шляхи утворення біоактивних пептидів, їхню стійкість до дії протеолітичних ензимів, здатність проникати в кров'яне русло і виявляти біологічну дію. На сьогодні одержано обмежену кількість продуктів з біоактивними пептидами протеїнів сироватки молока. Для ширшого застосування їх потрібні подальші дослідження будови, механізму дії, шляхів і способів виділення. Створення функціональних продуктів на основі біоактивних пептидів із протеїнів сироватки молока дасть змогу більш раціонально використовувати цей побічний продукт молочної промисловості.

***Ключові слова:*** протеїни сироватки молока, біологічно активні пептиди, протеоліз, функціональні молочні продукти.

Важливим для з'ясування біологічних функцій протеїнів молока було відкриття Brantl пептидів з опіоїдною дією серед продуктів протеолізу казеїнів під впливом травних ензимів [1]. До цього часу основною функцією казеїнів вважали забезпечення амінокислотами новонародженого організму на ранніх стадіях розвитку. В подальших дослідженнях було встановлено, що казеїни в процесі протеолізу ензимами шлунково-кишкового тракту розщеплюються з утворенням багатьох біоактивних пептидів [2]. На сьогодні ідентифіковано біоактивні пептиди казеїнового походження, яким притаманні опіоїдна дія, антигіпертензивні та імуномодуляторні властивості, здатність впливати на процеси зсідання крові, транспортування іонів кальцію в кишечнику та ін. [3–5]. Дещо інша ситуація спостерігалася з протеїнами сироватки молока, до яких належать протеїни, що залишаються у розчині після осадження казеїнів молока за pH 4,6 і температури 20 °C. За сучасною класифікацією [6] до протеїнів сироватки молока належать β-лактоглобуліни (β-*LG*), α-лактоальбуміни (α-*LA*), альбуміни сироватки (*BSA*), імуноглобуліни (*Ig*), лактоферин (*LF*), мінорні фракції протеїнів та протеозо-пептонна фракція (*PPF*) (рис. 1).

Протеїни сироватки, так само як і казеїни, є повноцінним джерелом амінокислот і характеризуються скором (SKOR), який близький до скору «ідеального» харчового протеїну. Проте, на відміну від казеїнів, ці протеїни виконують низку важливих функцій, а саме: транспортування жирних кислот і ретинолу, антиоксидантна дія (β-*LG*); участь у синтезі лактози в секреторних клітинах

молочної залози, транспортування іонів кальцію, імуномодуляторна та антиканцерогенна дія (α-*LA*); імунний захист (*Ig*); транспортувальна функція (*BSA*); зв'язування іонів заліза, антимікробна та антиоксидантна дія (*LF*) [6].

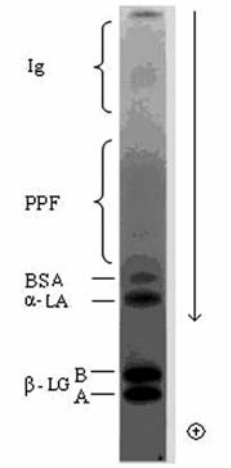


*Рис. 1.* **Електрофореграма протеїнів сироватки коров'ячого молока, отримана з використанням диск-електрофорезу в ПААГ у нативних умовах [7]**

Можливо, це й було причиною того, що відкриття біоактивних пептидів, утворюваних у процесі протеолізу протеїнів сироватки молока, відбулося пізніше, ніж у казеїнів [8–10].

За даними фінських дослідників, до попередників біоактивних пептидів із протеїнів сироватки молока корів можна віднести β-лактоглобулін, α-лактоальбумін та лактоферин [11]. До потенційних попередників також належать імуноглобуліни. Беручи до уваги казеїнове походження, вважаємо за недоцільне розглядати глікомакропептид, який входить до складу сироватки, після осадження протеїнів казеїнового комплексу [6].

Порівняно з казеїнами на сьогодні серед продуктів протеолізу протеїнів сироватки було відкрито менше пептидів із певною біологічною активністю. Узагальнені дані про відомі біоактивні пептиди з протеїнів сироватки молока корів наведено в таблиці. Найбільший відсоток амінокислот, які входять до складу біоактивних пептидів, виявлено в β-лактоглобуліні (51%) та α-лактоальбуміні (39%). Послідовності амінокислотних залишків, що відповідають біоактивним пептидам у цих протеїнах, розподілені рівномірно вздовж поліпептидного ланцюга. У молекулі лактоферину виявлено лише дев'ять біоактивних пептидів, які включають 9,4% усіх амінокислотних залишків. Вісім із них розміщені в ділянці між першим і 48-м амінокислотним залишком. Найменше амінокислотних залишків — у складі біоактивних пептидів молекули альбуміну сироватки — 2,6%. За видами біологічної дії серед біоактивних пептидів протеїнів сироватки молока знайдено інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму (АПЕ), пептиди з опіоїдною та бактерицидною дією, імуномодуляторні та гіпохолестеролемічні, а також пептиди, що впливають на моторику кишечника (рис. 2).

Встановлено, що β-лактоглобулін є попередником усіх перелічених видів біоактивних пептидів окрім імуномодуляторних. Серед біоактивних пептидів, утворених з α-лактоальбуміну, відсутні пептиди з гіпохолестеролемічною дією та пептиди, що впливають на моторику кишечника, і лише два види біологічної активності притаманні пептидам з лактоферину (бактерицидні й імуномодуляторні).

## Лактокініни — пептиди з антигіпертензивною дією

Серед біологічно активних пептидів із протеїнів сироватки молока, як і у випадку казеїнів, найчастіше трапляються пептиди, здатні гальмувати дію АПЕ. Такі пептиди, виявлені серед продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока, дістали назву лактокінінів [12]. Біологічна дія АПЕ полягає, зокрема, у перетворенні декапептиду ангіотензину I на октапептид ангіотензин II, який є активним вазоконстриктором. Також АПЕ відщеплює *C*-термінальний дипептид у брадикініну, що призводить до втрати його вазодилаторних властивостей [13, 14]. Надмірна активність АПЕ спричинює артеріальну гіпертензію, яка є основним фактором ризику в розвиткові багатьох серцево-судинних захворювань [15]. Серед інших засобів для лікування і профілактики гіпертензії важлива роль належить інгібіторам АПЕ [16]. Дію інгібіторів АПЕ *in vitro* прийнято характеризувати показником $IC_{50}$, який відповідає значенню концентрації інгібітора, необхідної для гальмування 50% активності АПЕ. *In vivo* інгібітори АПЕ (іАПЕ) тестують на щурах зі спонтанною гіпертензією (*SHR*), яких використовують для моделювання гіпертензії у людини. Нормотензивні щури лінії Вістар Кіото (*VKY*) слугують контролем, оскільки пептидні інгібітори із протеїнів молока не впливають на їхній артеріальний тиск [14].

Залежність між структурою та активністю пептидних інгібіторів АПЕ досліджували

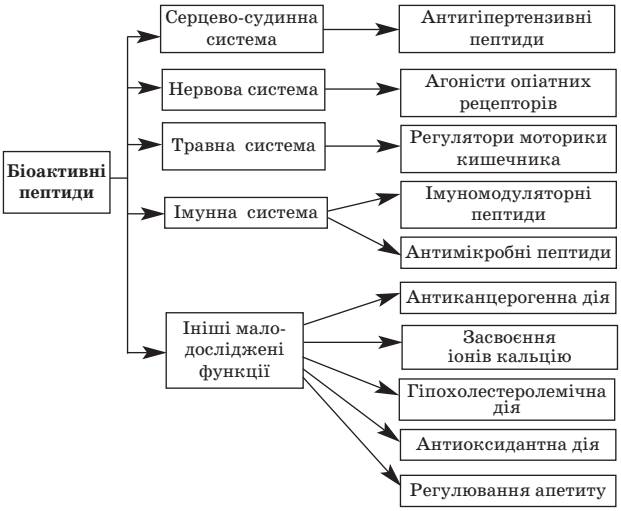


*Рис. 2.* **Функції біоактивних пептидів протеїнів сироватки молока**

на багатьох інгібіторних пептидах з різних харчових протеїнів [17, 18]. У результаті було з'ясовано деякі загальні закономірності взаємодії їх з АПЕ [14]. Найчастіше іАПЕ — це невеликі пептиди, що містять від 2 до 12 амінокислотних залишків. Взаємодія пептидних інгібіторів з АПЕ суттєво залежить від трьох *С*-кінцевих амінокислотних залишків у складі пептиду. Наявність залишків проліну або інших гідрофобних амінокислот посилює їхню інгібіторну дію. Важливу роль можуть також відігравати позитивно заряджені групи лізину і аргініну, розміщені в *С*-кінцевій ділянці іАПЕ. Конфігурація *N*-кінцевих залишків у іАПЕ мало впливає на інгібіторну дію пептидів [19]. Враховуючи отримані результати, Gobbetti et al. [20] стверджують, що для повного гальмування АПЕ необхідна суміш інгібіторних пептидів різної будови для взаємодії з каталітичними центрами АПЕ. Очевидно, що в даному разі гальмування відбувається за змішаним типом.

Для одержання інгібіторів АПЕ було проведено низку досліджень з протеолізу протеїнів сироватки молока з використанням ензимів шлунково-кишкового тракту. Під час протеолізу відтворювали умови травлення в організмі (температура, pH, тривалість процесу, концентрація) [21-23]. Зокрема, фінські вчені здійснили широкомасштабні дослідження продуктів протеолізу окремих фракцій протеїнів сироватки молока α-лактоальбуміну і β-лактоглобуліну ензимними препаратами пепсину, панкреатину, трипсину, хімотрипсину, еластази, карбоксипептидази, взятих окремо або в комбінаціях [21]. Пептиди фракціонували за молекулярною масою шляхом ультрафільтрації на мембранах 30000 MWCO і 1000 MWCO. У результаті окрім загальних було отримано фракції пептидів з молекулярною масою близько 30 000 Да і 1 000 Да. Усі пептиди було протестовано на здатність гальмувати АПЕ. Встановлено, що продукти протеолізу загальних пептидів забезпечують гальмування АПЕ на 50% у концентраціях 0,345-1,733 мг/мл; фракції пептидів до 30 000 Да — у діапазоні концентрацій від 0,485 до 1,134 мг/мл, а низькомолекулярні (до 1 000 Да) — від 0,109 до 0,837 мг/мл. Індивідуальні пептиди з АПЕ-інгібіторною дією виділяли із загальних гідролізатів хроматографією з подальшим визначенням первинної структури. Таким чином, у гідролізатах з α-лактоглобуліну було ідентифіковано іАПЕ, які відповідають фрагментам *α-LA — f* 50–52, *f* 99–108, *f* 104–108, а з гідролізатів β-лактоглобуліну — *β-LG — f* 22-25, *f* 32-40, *f* 81-83, *f* 94-100, *f* 106-111 і *f* 142-146 [21]. Слід зазначити, що індивідуальні пептиди мали значення $IC_{50}$ від 77 до 1 062 мкМ. Більш активний іАПЕ з трипсинового гідролізату β-лактоглобуліну вдалося виділити групі FitzGerald і Meisel — *β-LG f* 142-148 з $IC_{50}$ — 42,6 мкМ [23]. Найчастіше для отримання іАПЕ серед ензимів шлунково-кишкового тракту використовують трипсин, який забезпечує високий вихід пептидних іАПЕ із протеїнів сироватки молока. Найнижчу інгібіторну активність мали продукти протеолізу протеїнів сироватки еластазою [21, 22].

Окрім протеаз травного тракту ссавців для одержання іАПЕ застосовували ензими мікроорганізмів. Це дало змогу виділити нові види інгібіторних пептидів. Так, за дії протеїнази *К* було виділено інгібіторний пептид з β-лактоглобуліну (*f* 78-80) з низьким значенням $IC_{50}$, а також іАПЕ з альбуміну сироватки молока (*f* 221-222) [24]. Найактивніший іАПЕ було знайдено серед продуктів протеолізу β-LG комплексним протеолітичним препаратом (*Protease N Amano*), виділеним із *Bacillus subtilis* [25]. Цей гептапептид відповідає послідовності *β-LG f* 36-42 і характеризується дуже низьким значенням $IC_{50}$ — 8 мкМ. Є дані про утворення лактокінінів за дії ензимів молочнокислих бактерій [26, 27].

Для виявлення антигіпертензивної дії пептидні іАПЕ мали бути стійкими до протеаз травного тракту та циркуляторних протеаз, а також здатними проникати через клітини епітелію в кров'яне русло. Вивчення впливу пептидаз війчастого епітелію тонкого

кишечника та здатності пептидів проникати через ці клітини проводять з використанням модельної системи з клітинами людини Caco-2. Так, дослідження перспективного іАПЕ β-лактокініну на моношарі клітин Caco-2 показали, що цей пептид може транспортуватися через клітини епітелію, але при цьому значна кількість β-лактокініну розщеплюється амінопептидазами [28]. Щодо механізму транспортування лактокінінів доцільним є проходження їх через міжклітинні з'єднання, оскільки транспорт за допомогою переносника коротких пептидів *PepT1* може призводити до швидкого розщеплення [29].

Характеристики лактокінінів *in vitro* не завжди однозначні. Так, за даними групи FitzGerald і Meisel, β-лактокінін є резистентним до дії хімотрипсину і пепсину [23]. Інші автори в дослідах *in vitro* показали незначну стійкість цього іАПЕ до дії гастроінтестинальних та циркуляторних протеаз [30, 31]. Важливо, що фрагмент β-лактокініну β-лактозин B, який має значення $IC_{50}$ — 928 мкМ, виявляє набагато вищу антигіпертензивну дію у *SHR*, ніж β-лактокінін зі значенням $IC_{50}$ — 42,6 мкМ [32]. Тому остаточну відповідь щодо ролі пептидних іАПЕ в регуляції артеріального тиску можуть дати лише дослідження *in vivo*. Обмежену кількість таких робіт було проведено на гідролізатах протеїнів сироватки молока та індивідуальних пептидах [33–35]. Деякі автори показали антигіпертензивну дію *in vivo* ензимних гідролізатів протеїнів сироватки молока, а також пептидних іАПЕ — α-лакторфіну, лактозину A і лактозину B [8–10]. FitzGerald et al. узагальнили результати дослідів впливу короткотермінового перорального введення *SHR* гідролізатів молочних протеїнів та індивідуальних пептидних іАПЕ [35].

Основний висновок цих досліджень — відсутність кореляції між інгібіторною дією на АПЕ *in vitro* та антигіпертензивною *in vivo*. Автори пояснюють це різною біодоступністю пептидних іАПЕ в організмі, а також наявністю інших механізмів регуляції артеріального тиску біоактивними пептидами з протеїнів сироватки молока. Так, було встановлено, що β-лактокінін гальмує утворення ендотеліального пептиду ендотелін-1 (ЕТ-1), який спричинює скорочення клітин гладкої мускулатури [36].

За підшкірного введення α-лакторфіну спостерігається зниження артеріального тиску в щурів *SHR* і *WKY*. Оскільки антигіпертензивний ефект зникає у разі використання агоніста опіоїдних рецепторів налоксону, автори роблять висновок про участь у цьому опіоїдних рецепторів [34]. Згодом було показано, що α-лакторфін зумовлює релаксацію артерій брижі в *SHR*, яка гальмується інгібітором ендотеліальної ізоформи *NO*-синтази [37]. Таким чином, запропоновано механізм *NO*-залежної вазодилатації через стимуляцію α-лакторфіном периферійних опіоїдних рецепторів. Важливі дані було одержано для β-лакторфіну, який здатен виявляти антигіпертензивну дію, взаємодіючи з рецепторами шлунково-кишкового тракту [37, 38]. При цьому зникає необхідність проникнення пептиду в кров'яне русло.

На основі гідролізованого ізоляту з протеїнів сироватки молока компанія *Davisco* (США) виробляє комерційний продукт *Bio Zate* [9]. Основною його біоактивною речовиною є антигіпертензивні пептиди з β-лактоглобуліну. Дослідження, проведені на 30 добровольцях з гіпертензією упродовж шести тижнів, показали достовірне зниження артеріального тиску на 8 мм рт. ст. порівняно з контрольною групою, яка одержувала негідролізований ізолят соєвих протеїнів [39].

## Бактерицидні, фунгіцидні та антивірусні пептиди

За кількістю відкритих біоактивних пептидів із протеїнів сироватки молока на другому місці — антимікробні пептиди (таблиця). Джерелом цих пептидів є передусім лактоферин, а також α-лактоальбумін і β-лактоглобулін [40–43]. Ще в 1892 р. П. Ерліх вказував на наявність у молоці захисних речовин. Пізніше було встановлено, що до них належать протеїни: імуноглобуліни, лізоцим і лактоферин [40]. У 1930 р. Jones і Simms [44] виділили з підсирної сироватки коров'ячого молока лактенін, який був стійким до дії трипсину і гальмував розвиток стрептококів. Будова та походження цього пептиду залишаються невідомими. У випадку лактоферину продукти його ензиматичного розщеплення виявляють більшу бактерицидну дію, ніж нативний лактоферин, а в інтактних α-лактоальбуміну і β-лактоглобуліну вона взагалі відсутня.

Одним з найважливіших антимікробних пептидів є фрагмент лактоферину (*f* 14-41/42), який отримав назву лактоферицин [45]. Лактоферицин утворюється за дії пепсину на лактоферин у кислому середовищі [46]. Цей пептид є стійким до високих температур і виявляє антимікробну дію в широкому діапазоні значень pH середовища [10]. Показано, що за відносно низьких концен-

трацій лактоферицин пригнічує розвиток багатьох видів грамнегативних (*E. coli, Salmonella* spp., *K. pneumoniae, Y. enterocolitica*) і грампозитивних (*Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *E. faecalis, Streptococcus* spp.) бактерій, дріжджів, грибів (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.), а також йому притаманна антивірусна дія (на віруси гепатиту С, герпесу, аденовіруси) [8]. Варто зазначити, що штами молочнокислих бактерій, зокрема видів *Lc. lactis* та *Lb. casei,* є стійкими до дії лактоферицину [47].

Залежно від виду мікроорганізму автори пропонують різні механізми бактерицидної і фунгіцидної дії лактоферицину: зв'язування з поверхнею бактеріальної клітини (*B. subfilis, E. coli*) і руйнування клітинної мембрани бактерій, зміна ультраструктури мікроскопічних грибів (*Aspergillus* spp.), взаємодія з фосфоліпідами бактеріальних мембран, формування додаткових іонних каналів у мембранах, вивільнення ліпополісахаридів із клітинної стінки грамнегативних бактерій [8]. Вивчення залежності активності фрагментів лактоферицину показало, що бактерицидні, фунгіцидні й антивірусні властивості пов'язані зі співвідношенням залишків триптофану та аргініну [4].

Інший важливий антимікробний пептид лактоферампін (*f* 265-284) було ідентифіковано у складі домену *N1* лактоферину [48, 49]. Подібно до лактоферицину йому притаманний широкий спектр бактерицидної і фунгіцидної дії. Відщеплення трьох *N*-кінцевих амінокислотних залишків сприяє підвищенню його антимікробної дії. Окрім лактоферицину і лактоферампіну в продуктах протеолізу лактоферину знайдено й інші пептиди, які виявляли свою активність проти багатьох патогенних мікроорганізмів і вірусів (таблиця). Їхні послідовності розташовані в *N*-кінцевому фрагменті лактоферину (*f* 1–48).

Враховуючи, що первинна структура α-лактоальбуміну майже на 40% гомологічна до структури лізоциму, ці протеїни еволюціонували від спільного протеїну (предка) і мають ідентичну екзон-інтронну будову, багато дослідників сподівались виявити значну антимікробну дію α-лактоальбуміну або продуктів його протеолізу [40]. Проте антимікробну активність інтактного α-лактоальбуміну, а також продуктів його протеолізу пепсином не встановлено. Два бактерицидні пептиди (*LDT1, LDT2*) було ідентифіковано за дії на α-лактоальбумін трипсину і один — хімотрипсину (*LDC*) [50]. Пептиди *LDT2* і *LDC* складаються з двох фрагментів, з'єднаних між собою дисульфідними зв'язками. Роз'єднані фрагменти *LDT2* і *LDC* не виявляють бактерицидної дії. Усі три пептиди є аніонними (pI — 4,5-6,1) і пригнічують розвиток грампозитивних бактерій. Найактивнішим є пептид *LDT2*, а найслабшим — *LDT1*. Слід також зазначити, що бактерицидні пептиди було одержано із залишків α-лактоальбуміну, які не є гомологічними до лізоциму [40].

Серед продуктів протеолізу β-лактоглобуліну трипсином було відкрито і охарактеризовано чотири бактерицидні пептиди (*LGDT1, LGDT2, LGDT3, LGDT4*). Тестування показали, що всі ці пептиди пригнічують розвиток лише грампозитивних бактерій [51]. Заміна у синтетичному пептиді *LGDT3* аспарагінової кислоти (*f* 98) на аргінін та приєднання до *C*-термінального амінокислотного залишку лізину призводять до утворення катіонного пептиду *Val-Leu-Val-Leu-Asp-Thr-Arg-Tyr-Lys-Lys* із позитивним зарядом. Цей синтетичний пептид виявляє бактерицидну дію щодо грамнегативних і меншою мірою — грампозитивних бактерій. Цим самим автором було встановлено, що гомологічна послідовність до пептиду *LGDT3* є у складі протеїну, пов'язаного з кольоровим зором людини, — опсину (*f* 55–64) [52]. Синтетичний пептид гомолог з опсину (*f* 55–64) пригнічував ріст грамнегативних і грампозитивних бактерій і справляв фунгіцидну дію.

## Імуномодуляторні пептиди

Імуномодуляторні пептиди можуть підсилювати функціонування імунних клітин, що виявляється в активації і проліферації лімфоцитів, синтезі антитіл, активності природних клітин кілерів, регуляції утворення цитокінів. Вони також можуть знижувати вияви алергічної реакції і підвищувати імунітет клітин слизової шлунково-кишкового тракту [53, 54].

Значну кількість робіт присвячено впливу протеїнів сироватки молока на проліферацію лімфоцитів. Що стосується продуктів протеолізу протеїнів сироватки, то дослідження було проведено переважно на сумішах пептидів і лише в окремих випадках вивчали імуномодуляторну дію індивідуальних пептидів [8, 10, 54–58]. Так, було показано, що мітогенна активність β-лактоглобуліну стосовно клітин селезінки миші зростає після тригодинного протеолізу пепсином, трипсином, хімотрипсином або панкреатином, що підтверджує значення пептидів у цьому процесі [59]. Цими самими авторами було показано суттєве збільшення росту β-лімфоцитів людини лінії U266 за дії панкреатичного

гідролізату β-лактоглобуліну. Miyauchi et al. [60] встановили активізацію проліферації β-лімфоцитів, а також клітин пеєрових бляшок пепсиновим гідролізатом лактоферину. Пепсиновий гідролізат лактоферину гальмував бластогенез, спричинений мітогенами. Це свідчить про те, що пепсиновий гідролізат лактоферину містить як імуностимулювальні, так й імуноінгібіторні пептиди [53]. Kayser і Meisel [61] синтезували два пептиди — *Tyr-Gly* і *Tyr-Gly-Gly*, ідентичні фрагментам α-лактоальбуміну *f* 18–19, *f* 50–51 і *f* 18–20. Ці пептиди виявляли виражену стимулювальну дію на проліферацію периферійних лімфоцитів крові людини [61].

Пепсиновий гідролізат лактоферину здатен впливати на синтез антитіл. Зокрема, встановлено підвищення продукції імуноглобулінів (*Ig M*, *Ig G* і *Ig A*) у культурі клітин селезінки миші, а також утворення *Ig A* у клітинах пеєрових бляшок [60]. Стимулювальну дію на синтез антитіл клітинами селезінки підтверджено *in vivo* за згодовування мишам панкреатичного гідролізату концентрату протеїнів сироватки молока. Пепсинові гідролізати лактоферину також досліджували на здатність впливати на синтез антитіл у мишей, імунізованих токсином холери [60]. Показано, що порівняно з контрольною групою тварин рівень специфічних антитіл *Ig A* був значно вищим.

Щодо модуляції неспецифічної імунної відповіді встановлено, що синтетичний пептид, який є фрагментом α-лактоальбуміну (*f* 51–53), може підвищувати фагоцитоз еритроцитів вівці перитонеальними макрофагами миші, а також захищає організм миші від летальної інфекції *Klebsiella pneumonia*. Цей пептид стимулює дозозалежне приєднання старих еритроцитів до клітин моноцитарних макрофагів людини і здійснюваний ними фагоцитоз [53].

У літературі описано дослідження впливу суміші, а також індивідуальних протеїнів сироватки молока на модуляцію експресії цитокінінів, активність гранулоцитів і природних клітин-кілерів [10, 53]. Щодо впливу окремих пептидів, то такі дані відсутні за винятком інгібіторної дії лактоферицину на експресію цитокінінів моноцитарними клітинами людини [57, 62]. Більшість авторів не заперечують важливості імуномодуляторної дії продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока, проте для їх практичного застосування у складі функціональних продуктів необхідні подальші систематичні дослідження. Передусім це стосується механізму дії на рівні окремих пептидів, а також його підтвердження у дослідах *in vivo*. На сьогодні не створено комерційних функціональних продуктів або інгредієнтів на базі імуномодуляторних пептидів із протеїнів сироватки молока.

## Лакторфіни — пептиди з опіоїдною дією

Екзорфіни із протеїнів сироватки молока належать до нетипових опіоїдних пептидів і отримали назву лакторфінів [54]. Типові опіоїдні пептиди, які утворюються з проенкефаліну та продинорфіну, мають сталу *N*-термінальну послідовність *Tyr-Gly-Gly-Phe*. *N*-термінальний залишок відомих лакторфінів відрізняється від послідовності типових опіоїдних пептидів. Ця послідовність амінокислотних залишків (*N*-термінальний *Tyr* і *Phe* у третьому або четвертому положенні) відіграє важливу роль у зв'язуванні лакторфінів опіоїдними рецепторами клітин кишкового епітелію.

Серед продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока було відкрито три лакторфіни [63]. Це — α-лакторфін з α-лактоглобуліну (*f* 50–53), β-лакторфін із β-лактоглобуліну (*f* 102–105) і серофін з альбуміну сироватки (*f* 399–404). Усі ці пептиди належать до агоністів опіоїдних рецепторів *μ*-типу, і їхня біологічна дія подібна до дії ендогенних лігандів. Дані щодо біологічної активності лакторфінів неповні й не систематизовані [15]. Відомо, що опіоїдні ліганди впливають на емоційний стан, діють як анальгетики, подовжують термін травлення завдяки гальмуванню перистальтики і рухливості кишечника, виявляють антисекреторну дію, впливаючи на інтестинальний транспорт електролітів [4]. Для практичного використання лакторфінів у функціональному харчуванні людини потрібні подальші дослідження.

## Інші види біологічної дії пептидів із протеїнів сироватки молока

Окремі пептиди, виділені з продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока, виявляють два або декілька видів біологічної активності. Так, наприклад, альбутензин і β-лактотензин є одночасно інгібіторами АПЕ і стимуляторами скорочення гладеньких м'язів кишечника [9]. Мультифункціональні властивості притаманні β-лакторфіну, який справляє опіоїдну дію і є активним інгібітором АПЕ [26]. Лактоферицин окрім бактерицидної та імуномодуляторної дії впливає на розвиток клітин злоякісних пухлин [53]. Показано, що цей пептид передусім

індукує апоптоз у таких клітинах людини (*THP-1*), а також гальмує розвиток метастазів із клітин меланоми і лімфоми мишей. Наведені приклади свідчать про те, що поняття «мультифункціональність» є характерним не лише для багатьох протеїнів, але й для природних біоактивних пептидів.

Окрім розглянутих видів біологічної активності виявлено інші види впливу продуктів протеолізу протеїнів сироватки молока на функції організму. Так, використовуючи клітини лінії *CHO-CaT1,* японські вчені показали дозозалежний ефект пептидів на засвоєння іонів кальцію [64]. Було встановлено, що за біологічну дію відповідає пептид *Ile-Pro-Ala*. Синтетичний пептид такої структури (*β-LG, f* 78–80) знижував рівень засвоєння іонів кальцію у тварин. Серед продуктів протеолізу β-лактоглобуліну трипсином ідентифіковано пептиди з гіпохолестеролемічною дією [65]. Ідентифіковано чотири пептиди (*f* 9–14, *f* 41–60, *f* 71–75, *f* 142–146), які є супресорами абсорбції холестеролу в клітинах Caco-2. Дію одного із цих пептидів — *Ile-Ile-Ala-Glu-Lys* (*f* 71–75) було підтверджено на щурах. Показано достовірне зниження рівня холестеролу в сироватці крові тварин.

Перспективні результати отримано під час вивчення впливу пептидів із протеїнів сироватки молока на інші важливі функції організму — ліпідний обмін, регулювання апетиту, окиснювально-відновні процеси, цитомодуляторну дію та ін. [9, 14, 66–70]. У більшості випадків потрібні подальші дослідження структури біоактивних пептидів та механізму дії, а також підтвердження їхньої біологічної активності *in vivo*.

Підсумовуючи вищенаведене, слід зазначити, що відповідно до принципу молекулярної економії, який був сформульований Ленінджером [71], протеїнам молока окрім основної функції (забезпечення амінокислотами) притаманні й інші, що пов'язані з виживанням новонароджених ссавців. Ці функції реалізуються як на рівні протеїнів, так і пептидів, які утворюються під час процесів травлення в шлунково-кишковому тракті. Це стосується лише природних харчових протеїнів, до яких належать протеїни молока, зокрема сироватки. З урахуванням сучасних даних можна сформулювати поняття «додаткові функції» харчових протеїнів, які не є основними, однак мають певні переваги і відіграють позитивну роль на ранніх етапах розвитку організму. Підтвердженням цього може бути таке:

1. Наявність великої кількості біоактивних пептидів серед продуктів розщеплення протеїнів молока травними протеазами, що дає підстави вважати ці протеїни прогормонами [72].

2. Послідовності амінокислотних залишків, які відповідають біоактивним пептидам, займають значну частину первинної структури протеїнів молока (*β-LG* — 51%, *α-LA* — 39%, казеїни — 70%). В інших протеїнах такі послідовності трапляються значно рідше, і біоактивні пептиди, очевидно, утворюються випадково [73].

3. У новонароджених біоактивні пептиди можуть виявляти біологічну активність не тільки в шлунково-кишковому тракті, але й проникати в кров'яне русло завдяки особливостям процесів абсорбції продуктів розщеплення протеїнів.

4. У багатьох випадках біоактивні пептиди виявляють стійкість до дії протеаз травного тракту та крові.

5. Біоактивні пептиди із протеїнів молока утворюються у відносно великих кількостях, що збільшує ймовірність біологічної активності в інтактних молекул.

Важливість процесу утворення біоактивних пептидів із протеїнів молока не викликає сумніву і це слід брати до уваги у разі визначення біологічної цінності харчових протеїнів, а також у виробництві харчових продуктів, які містять протеїни молока або продукти їх протеолізу. Окрім традиційних ферментованих молочних продуктів, до них можна віднести продукти для спортсменів, різні суміші для дитячого харчування, гіпоалергенні продукти на основі гідролізатів молочних протеїнів. На жаль, під час створення зазначених продуктів дію біоактивних пептидів у більшості випадків не було враховано.

Багаторічний емпіричний досвід вживання молочних ферментованих продуктів свідчить про їх позитивний вплив на здоров'я і тривалість життя людини. Такі традиційні ферментовані продукти Ганс Мейзель назвав функціональними продуктами природного походження [17]. Щодо нових функціональних продуктів та інгредієнтів, то на сьогодні створено низку їх на базі більш вивчених протеїнів казеїнового комплексу [74–77]. Однак із протеїнів сироватки таких продуктів виробляють дуже мало [9]. Серед найвідоміших можна назвати *Bio Zate* (США) з антигіпертензивною дією.

Для ширшого використання біоактивних пептидів із протеїнів сироватки молока необхідні подальші дослідження їхньої структури, механізмів біологічної дії *in vivo*, розроблення ефективних способів їх одержання

шляхом модифікації технологій з використанням відповідних ензимів або мікроорганізмів заквасок, а також виявлення і обґрунтування біомаркерів, за якими можна оцінювати дію біоактивних пептидів на організм [9, 11]. Після проведення відповідних досліджень і обґрунтувань біоактивні пептиди з протеїнів сироватки молока можуть стати важливими компонентами у функціональних продуктах, а також відіграватимуть важливу роль у реалізації концепції персоналізації харчування людини.

**Біоактивні пептиди із протеїнів сироватки молока корів**

| N п/п | Протеїн-попередник Назва пептиду | Фрагмент первинної структури | Первинна структура біоактивного пептиду | Спосіб одержання | Біологічна дія | Література |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | β-Лактоглобулін | 1-162 | | | | |
| 1 | | 9-14 | Gly-Leu-Asp-Ile-Gln-Lys | Трипсин | Гіпохолестеролемічна | 40 |
| 2 | | 15-19 | Val-Ala-Gly-Thr-Trp | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 3 | LGDT-2 | 15-20 | Val-Ala-Gly-Thr-Trp-Tyr | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 4 | | 22-25 | Leu-Ala-Met-Ala | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 5 | LGDT-4 | 25-40 | Ala-Ala-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Leu-Asp-Ala-Gln-Ser-Ala-Pro-Leu-Arg | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 6 | | 32-40 | Leu-Asp-Ala-Gln-Ser-Ala-Pro-Leu-Arg | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 7 | | 36-42 | Ser-Ala-Pro-Leu-Arg-Val-Tyr | Протеаза N з *B. subtilis* | Інгібітор АПФ (8мМ) | 8 |
| 8 | | 41-60 | Val-Tyr-Val-Glu-Glu-Leu-Lys-Pro-Thr-Pro-Glu-Gly-Asp-Leu-Glu-Ile-Leu-Leu-Gln-Lys | Трипсин | Гіпохолестеролемічна | 40 |
| 9 | | 71-75 | Ile-Ile-Ala-Glu-Lys | Трипсин | Гіпохолестеролемічна | 40 |
| 10 | | 78-80 | Ile-Pro-Ala | Протеїназа К Синтез | Інгібітор АПФ | 24 |
| 11 | LGDT-1 | 78-83 | Ile-Pro-Ala-Val-Phe-Lys | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 12 | | 81-83 | Val-Phe-Lys | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 13 | LGDT-3 | 92-100 | Val-Leu-Val-Leu-Asp-Thr-Asp-Tyr-Lys | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 14 | | 94-100 | Val-Leu-Asp-Thr-Asp-Tyr-Lys | | Інгібітор АПФ | 24 |
| 15 | | 102-103 | Tyr-Leu | Синтез | Інгібітор АПФ | 42 |
| 16 | β-Лакторфін | 102-105 | Tyr-Leu-Leu-Phe | Трипсин Синтез | Інгібітор АПФ Опіоїдна | 23 |
| 17 | β-Лактозин В | 142-145 | Ala-Leu-Pro-Met | Протеоліз | Інгібітор АПФ | 34 |
| 18 | | 142-146 | Ala-Leu-Pro-Met-His | Трипсин | Гіпохолестеролемічна Інгібітор АПФ | 40 |
| 19 | β-Лактокінін | 142-148 | Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg | Трипсин | Інгібітор АПФ | 42 |
| 20 | | 146-148 | His-Ile-Arg | | Інгібітор АПФ | 34 |
| 21 | β-Лактотензин | 146-149 | His-Ile-Arg-Leu | | Скорочення кишечника Інгібітор АПФ | 34 |
| 22 | | 147-148 | Ile-Arg | | Інгібітор АПФ | 34 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | α-Лактоальбумін | 1-123 | | | | |
| 1 | LDT-1 | 1-5 | Glu-Gln-Leu-Thr-Lys | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 2 | LDT-2 | 17-31-S-S-109-114 | Gly-Tyr-Gly-Gly-Val-Ser-Leu-Pro-Glu-Trp-Val-Cys-Thr-Thr-Phe<br>I<br>Ala-Leu-Cys-Ser-Gln-Lys | Трипсин | Бактерицидна | 40 |
| 3 | α-Імунолактокінін | 18-19 | Tyr-Gly | Синтез | Імуномодуляторна<br>Інгібітор АПФ | 17 |
| 4 | | 18-20 | Tyr-Gly-Gly | Синтез | Імуномодуляторна | 53 |
| 5 | α-Імунолактокінін | 50-51 | Tyr-Gly | Синтез | Імуномодуляторна<br>Інгібітор АПФ | 17 |
| 6 | | 50-52 | Tyr-Gly-Leu | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 7 | α-Лактофін | 50-53 | Tyr-Gly-Leu-Phe | Пепсин<br>Синтез | Інгібітор АПФ<br>Опіоїдна | 4 |
| 8 | | 51-53 | Gly-Leu-Phe | Синтез | Імуномодуляторна | 53 |
| 9 | LDC | 61-68-S-S-75-80 | Cys-Lys-Asp-Asp-Gln-Asn-Pro-His<br>I<br>Ile-Ser-Cys-Asp-Lys-Phe | Хімотрипсин | Бактерицидна | 40 |
| 10 | | 99-108 | Val-Gly-Ile-Asn-Tyr-Trp-Leu-Ala-His-Lys | | Інгібітор АПФ | 21 |
| 11 | | 104-108 | Trp-Leu-Ala-His-Lys | Трипсин | Інгібітор АПФ | 8 |
| 12 | | 109-114 | Ala-Leu-Cys-Ser-Glu-Lys | Трипсин | Бактерицидна | 53 |
| | Лактоферин | | | | | |
| 1 | | 1-11-S-S-17-47 | Ala-Pro-Arg-Lys-Asn-Val-Arg-Trp-Cys1-Thr-Ile<br>1<br>Phe-Lys-Cys2-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys-Val-Arg-Arg-Ala-Phe-Ala-Leu-Glu-Cys2-Ile-Arg 47 | Пепсин | Бактерицидна | 8 |
| 2 | | 1-11-S-S-17-48 | Ala-Pro-Arg-Lys-Asn-Val-Arg-Trp-Cys1-Thr-Ile-Ser-Gln-Pro-Glu-Trp<br>1 11 16<br>Phe-Lys-Cys2-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys-Val-Arg-Arg-Ala-Phe-Ala-Leu-Glu-Cys2-Ile-Arg-Ala 48 | Хімозин | Бактерицидна | 8 |
| 3 | | 1-16-S-S-43-48 | Ala-Pro-Arg-Lys-Asn-Val-Arg-Trp-Cys-Thr-Ile-Ser-Gln-Pro-Glu-Trp 1<br>I 16<br>Leu-Glu-Cys-Ile-Arg-Ala<br>43 48 | Пепсин | Бактерицидна | 42 |
| 4 | | 1-16-S-S-45-48 | Ala-Pro-Arg-Lys-Asn-Val-Arg-Trp-Cys-Thp-Ile-Ser-Gln-Pro-Glu-Trp 1<br>I 16<br>Cys-Ile-Arg-Ala<br>45 48 | Пепсин | Бактерицидна | 8 |
| 5 | | 1-42-S-S-43-48 | Ala-Pro-Arg-Lys-Asn-Val-Arg-Trp-Cys-Thr-Ile-Ser-Gln-Pro-Glu-Trp- 1<br>16<br>Phe-Lys-Cys1-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys1-Val-Arg-Arg-Ala-Phe-Ala<br>I<br>42 Leu-Glu-Cys2-Ile-Arg-Ala<br>43 48 | Пепсин | Бактерицидна | 42 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | | 17-30 | Phe-Lys-Cys-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly | Синтез | Бактерицидна | 8 |
| 7 | Лактоферицин В | 17-41/42 | Phe-Lys-Cys-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys-Val-Arg-Arg-Ala-Phe/Ala | Пепсин Хімозин | Бактерицидна Імуномодуляторна | 8 |
| 8 | | 19-37 | Cys-Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly-Ala-Pro-Ser-Ile-Thr-Cys-Val | Синтез | Бактерицидна | 8 |
| 9 | Лактоферампін | 265-284 | Asp-Leu-Ile-Trp-Lys-Leu-Leu-Ser-Lys-Ala-Gln-Glu-Lys-Phe-Gly- 265 268 Lys-Asn-Lys-Ser-Arg 268 | Синтез | Бактерицидна | 8 |
| | Альбумін сироватки | | | | | |
| 1 | Альбутензин А Серокінін | 208-216 | Ala-Leu-Lys-Ala-Trp-Ser-Val-Ala-Arg | | Інгібітор АПФ (rbirsdybrf) | 17 |
| 2 | Серофін | 399-404 | Tyr-Gly-Phe-Gln-Asn-Ala | Пепсин | Опіоїдний агоніст | 8 |

## ЛІТЕРАТУРА


1. *Brantl V., Teschmacher H., Henschen A., Lottspeich F.* Novel opioid peptides derived from casein (β-Casomorphins)1. Isolation from bovine casein peptone // Hoppe-Seyler's Z. Phisiol. Chem. — 1979. — V. 360, N 9. — P. 1211–1216.
2. *Maubois J. L., Leonil J.* Peptides du lait a activite biologique // Lait. — 1989. — V. 69, N 4. — P. 245–269.
3. *Chandan R. C., Kilara A.* Dairy Ingredients for Food Processing. — USA: Wiley-Blackwell, 2011. — 522 p.
4. *Haque E., Chand R., Kapila S.* Biofunctional Propeties of Bioactive Peptides of Milk Origin // Food Rev. Intern. — 2009. — V. 25, N 1. — P. 28–43.
5. *Юкало А. В., Сторож Л. А., Юкало В. Г.* Протеїни казеїнового комплексу молока корів (*Bos taurus*) як попередники біологічно активних пептидів // Біотехнологія. — 2012. — Т. 5, N 4. — С. 21–33.
6. *Farrell H. M., Jimenez-Flores R., Bleck G. T.* Nomenklature of the proteins of cows' milk — sixth revision // J. Dairy Sci. — 2004. — V. 87, N 6. — P. 1641–1674.
7. *Yukalo A., Yukalo V., Shynkaryk M.* Electrophoretic separation of the milk protein // Proceeding of the International Conference on Bio and Food Electrotechnologies. — Compiegne, France. — 2009. — P. 227–231.
8. *Madureira A. R., Tavares T., Gomes A. M. P. et al.* Phisiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins // J. Dairy Sci. — 2010. — V. 93, N 2. — P. 437–455.
9. *Nagpal R., Behare P., Rana R. et al.* Bioactive peptides derived fron milk proteins and their health beneficial potentials: an update // Food Funct. — 2011. — V. 2, N 1. — P. 18–27.
10. *Szwajkowska M., Wolanciuk A., Barlowska J. et al.* Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system — a review // Anim. Sci. Papers Rep. — 2011. — V. 29, N 4. — P. 269–280.
11. *Korhonen H., Pihlanto A.* Bioactive peptides: Novel applications for milk proteins // Appl. Biotechnol. Food Sci. Policy. — 2003. — V. 1. — P. 133–144.
12. *FitzGerald R. J., Meisel H.* Lactokinins: Whey protein — derived ACE inhibitory peptides // Nahrung. — 1999. — V. 43, N 3. — S. 165–167.
13. *Ганонг В. Ф.* Фізіологія людини: Пер. з англ. — Львів: БаК, 2002. — 784 с.
14. *Lopes-Fandino R., Otte J., van Camp J.* Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity // Int. Dairy J. — 2006. — V. 16, N 11. — P. 1277–1293.
15. *Hall J. E., Gayton A. C., Brands M. W.* Control of sodium excretion and arterial pressure by intrarenal mechanisms and the rennin-angiotensin system // Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management. — New York: Raven Press Ltd., 1995. — P. 1451–1475.
16. *Жарінов О. Й.* Захист серця і судин — майбутнє покликання інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту // Мед. світу. — 2000. — Т. 8, № 2. — С. 80–85.
17. *Meisel H.* Multifunctional peptides encrypted in milk proteins // Bio Factors. — 2004. — V. 21, N 1–4. — P. 55–61.
18. *Robert M. C., Razaname A., Mutter M., Juillerat M. A.* Identification of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides derived from sodium caseinate hydrolysates produced by Lactobacillus helveticus NCC 2765 // Agric. Food Chem. — 2004. — V. 52, N 23. — P. 6923–6931.
19. *Pripp A. H., Asaksson T., Stepaniak L., Sorhaug T.* Quantitative structure–activity

relationship modelling of ACE-inhibitory peptides derived from milk proteins // Europ. Food Res. Technol. — 2004. — V. 219, N 6. — P. 579–583.
20. *Gobbetti M., Stepaniak L. De Angelis M. et al.* Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 2002. — V. 42, N 3. — P. 223–239.
21. *Pihlanto-Leppälä A., Koskinen P., Pülola K. et al.* Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory properties of whey proteins digests: Concentration and characterization of active peptides // J. Dairy Res. — 2000. — V. 67, N 1. — P. 53–64.
22. *Vermeirssen V., Van Camp J., Decroos K. et al.* The impact of fermentation and in vitro digestion on the formation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity from pea and whey protein // J. Dairy Sci. — 2003. — V. 86, N 2. — P. 429–438.
23. *Mullally M. M., Meisel H., FitzGerald R. J.* Identification of novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide corresponding to a tryptic fragment of bovine β-lactoglobulin // FEBS Lett. — 1997. — V. 402, N 2–3. — P. 99–101.
24. *Abubakar A., Saito T., Kitazawa H. et al.* Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion // J. Dairy Sci. — 1998. — V. 81, N 12. — P. 3131–3138.
25. *Ortiz-Chao P. J. A., Gomez-Ruiz R. A., Rastall D. et al.* Production of novel ACE inhibitory peptides from β-lactoglobulin using Protease N Amano // Int. Dairy J. — 2009. — V. 19, N 2. — P. 69–76.
26. *Sieber R., Butikofer U., Egger Ch. et al.* ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties // Dairy Sci. Technol. — 2010. — V. 90, N 1. — P. 47–73.
27. *Юкало В. Г.* Утворення антигіпертензивних пептидів під час протеолізу протеїнів сиру // Мед. хімія. — 2004. — Т. 6, N 2. — С. 26–29.
28. *Vermeirssen V., Deplacke B., Tappenden K. A. et al.* Intestinal transport of the lactokinin Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg through a *Caco-2* Bbe monolayer // J. Pept. Sci. — 2002. — V. 8, N 3. — P. 95–100.
29. *Satake M., Enjoh M., Nakamura Y. et al.* Transepithelial transport of the bioactive tripeptide Val-Pro-Pro in human intestinal Caco-2 cell monolayers // Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2002. — V. 66, N 2. — P. 378–384.
30. *Walsh D. J., Bernard H., Murray B. A. et al.* In vitro generation and stability of the lactokinin β-lactoglobulin fragment (142–148) // J. Dairy Sci. — 2004. — V. 87, N 11. — P. 3845–3857.
31. *Roufik S., Gauthier S. F., Turgeon S. L.* In vitro digestibility of bioactive peptides derived from bovine β-lactoglobulin // Int. Dairy J. — 2006. — V. 16, N 4. — P. 294–302.
32. *Murakami M., Tonouchi H., Takahashi R. et al.* Structural analysis of a new anti-hypertensive peptide (β-lactosin B) isolated from a commercial whey product // J. Dairy Sci. — 2004. — V. 87, N 7. — P. 1967–1974.
33. *Yamamoto M. M., Maeno M., Takano T.* Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by Lactobacillus helveticus CPN4 // Ibid. — 1999. — V. 82, N 7. — P. 1388–1393.
34. *Nurminen M. L., Sipola M., Kaarto H. et al.* α-Lactorphin lowers blood pressure measured by radiotelemetry in normotensive and in spontaneously hypertensive rats // Life Sci. — 2000. — V. 66, N 16. — P. 1535–1543.
35. *FitzGerald R. J., Murray B. A., Walsh G. J.* Hypotensive peptides from milk proteins // J. Nutr. — 2004. — V. 134. — P. 980–988.
36. *Maes W., Van Camp J., Vermeirssen V. et al.* Influence of the lactokinin, Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg (ALPMHIR) on the release of endothelin-1 by endothelial cells // Reg. Pept. — 2004. — V. 118, N 1–2. — P. 105–109.
37. *Sipola M., Finckenberg P. Vapaatalo H. et al.* α-Lactorphin and β-lactorphin improve arterial function in spontaneously hypertensive rats // Life Sci. — 2002. — V. 71, N 11. — P. 1245–1253.
38. *Yamada Y., Matoba N., Usui H. et al.* Design of a highly potent anti-hypertensive peptide based on ovokinin (2–7) // Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2002. — V. 66, N 6. — P. 1213–1217.
39. *Pins J. J., Keenan J. M.* Effects of whey peptides on cardiovascular disease risk factors // J. Clin. Hypertens. — 2006. — V. 8, N 11. — P. 775–782.
40. *Pellegrini A.* Antimicrobial peptides from food proteins // Curr. Phamaceut. Design. — 2003. — V. 9, N 16. — P. 1225–1238.
41. *Hartmann R., Meisel H.* Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications // Curr. Opin. Biotechnol. — 2007. — V. 18, N 2. — P. 163–169.
42. *Gobetti M., Minervini F., Grizzello C.* Angiotensin I-converting-enzyme- inhibitory and antimicrobial bioactive peptides // Int. Dairy J. — 2004. — V. 57, N 2/3. — P. 173–188.
43. *Pan Y., Rowney M., Guo P., Hobman P.* Biological properties of lactoferrin: an overview // Austral. J. Dairy Technol. — 2007. — V. 62, N 1. — P. 31–42.
44. *Jones F. S., Simms H. S.* The bacterial growth inhibitor (lactenin) of milk // J. Experim. Med. — 1930. — V. 51. — P. 327–339.
45. *Bellamy W., Takase M., Yamauchi K. et al.* Identification of the bactericidal domain of lactoferrin // Biochem. Biophis. Acta. Prot. Struct. Mol. Enzymol. — 1992. — V. 1121, N 1–2. — P. 130–136.
46. *Oo T. Z., Cole N., Garthwaite L., Mark D. et al.* Evaluation of synergistic activity of bovine lactoferricin with antibiotics in corneal infection // J. Antimicrob. Chemother. — 2010. — V. 65, N 6. — P. 1243–1251.
47. *Korhonen H.* Antibacterial and antiviral activities of whey proteins, the impotence of whey and whey components in food and nutrition // Proc. 3 rd Int. Whey Conf. — Munich, Germany. — 2001. — P. 303–321.

48. *Van der Kraan M. I. A., Groenink K., Nazmi K. et al.* Lactoferrampin: A novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine lactoferrin // Peptides. — 2004. — V. 25, N 2. — P. 177–183.
49. *Van der Kraan M. I. A., Nazmi K., Teeken A. et al.* Lactoferrampin an antimicrobial of bovine lactoferrin exhibits its candidacidal activity by a cluster of positively charged residues at the C-terminus in combination with a helix facilitating N-terminal part // J. Biol. Chem. — 2005. — V. 386, N 1. — P. 137–142.
50. *Gifford J. L., Hunter H. N., Vogel H. J.* Lactoferricin: a lactoferrin–derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties // Cell. Mol. Life Sci. — 2005. — V. 62, N 22. — P. 2588–2598.
51. *Pellegrini A., Thomas U., Bramaz N. et al.* Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alpha-lactalbumin molecule // Biochem. Biophys. Acta. Gen. Subj. — 1999. — V. 1426, N 3. — P. 439–448.
52. *Pellegrini A., Dettling C., Thomas H., Hunziker P.* Izolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine beta-lactoglobulin // Ibid. — 2001. — V. 1526, N 2. — P. 131–140.
53. *Gauthier S. F., Pouliot Y., Saint-Sauveur D.* Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins // Int. Dairy J. — 2006. — V. 16, N 11. — P. 1315–1323.
54. *Korhonen H., Pihlanto A.* Bioactive peptides: Production and functionality // Ibid. — 2006. — V. 16, N 9. — P. 945–960.
55. *Taha S., Mehrez M., Sitohy M. et al.* Effectiveness of esterified whey proteins fractions against Egyptian Avian Influenza A (H5N1) // Virol. J. — 2010. — V. 7, N 1. — P. 330–334.
56. *Kamau S. M., Cheison S. Ch., Chen W. et al.* Alpha-Lactalbumin: its production technologies and bioactive peptides // Compreh. Rev. Food Sci. Food Safety. — 2010. — V. 9. — P. 197–212.
57. *Madureira A. R., Pereira C. I., Gomes A. M. P.* Bovine whey proteins — Overview on the main biological properties // Food Res. Int. — 2007. –V. 40, N 10. — P. 1197–1211.
58. *Moller N. P., Scholz-Ahrens K. E., Roos N., Schrezenmeir J.* Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects // Europ. J. Nutr. — 2008. –V. 47, N 4. — P. 171–182.
59. *Mahmud R., Matn M. A., Otani H.* Mitogenic effect of bovine β-lactoglobulin and its proteolytic digests on mouse spleen resting cells // Pakist. J. Biol. Sci. — 2004. — V. 7, N 12. — P. 2047–2050.
60. *Miyauchi H., Kaino A., Shinoda I. et al.* Immunomodulatory effect of bovine lactoferrin pepsin hydrolyzate on murine splenocytes and Peyer's patch cells // J. Dairy Sci. — 1997. — V. 8, N 10. — P. 2330–2339.
61. *Kayser H., Meisel H.* Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins // FEBS Lett. — 1996. — V. 383, N 1–2. — P. 18–20.
62. *Gill H. S., Doull F, Ruterfurd K. J., Cross M. L.* Immunoregulatory peptides in bovine milk // Brit. J. Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — S. 111–117.
63. *Pihlanto-Leppala A.* Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: Opioid and ACE-inhibitory peptides // Trend. Food Sci. Technol. — 2001. — V. 11, N 9–10. — P. 347–356.
64. *Shimizu M.* Food-derived peptides and intestinal functions // Bio Fact. — 2001. — V. 21. — P. 43–47.
65. *Nagaoka S. Y., Futamura K., Miwa T.* Identification of novel hypoholesterolemic peptides derived from bovine milk beta-lactoglobulin // Biochem. Byophys. Res. Commun. — 2001. — V. 281, N 1. — P. 11–17.
66. *Luhovyy B., Akhavan T., Anderson G. H.* Whey Proteins in Regulation of Food Intake and Satiety // J. Amer. Coll. Nutr. — 2007. — V. 26, N 6. — P. 704S–712S.
67. *Zemel M. B.* Mechanisms of dairy modulation of adipocity // J. Nutr. — 2003. — V. 133. — P. 252S–256S.
68. *Anderson G. H., Moore S. E.* Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans // Ibid. — 2004. — V. 134. — S. 974–979.
69. *Aziz A., Anderson G. H.* The effect of dairy components on food intake and satiety: mechanisms of actions and implications for the development of functional foods // Func. Dairy Prod. — Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2007. — V. 2. — 709 p.
70. *Matar C., Le Blanc J. G., Martin L., Perdigon G.* Biologically active peptides released in fermented milk: Role and functions. Handbook of fermented functional foods. Functional foods and nutracenticals series. — CRC Press: Boca Raton, FL, 2003. — P. 177–201.
71. *Ленинджер А.* Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки. — М.: Мир, 1974. — С. 12.
72. *Migliore-Samour D., Jolles P.* Casein, a prohormone with an immunomodulating role for the newborn // Experientia. — 1988. — V. 44. — P. 188–193.
73. *Korhonen H., Pihlanto A.* A food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods // Curr. Farmaceut. Design. — 2003. — V. 9. — P. 1297–1308.
74. *Park Y. W.* Bioactive components in milk and dairy products. — USA: Wiley–Blackwell, 2009. — 426 p.
75. *Corredig M.* Dairy–derived ingredients: food and nutracentical uses. — USA: CRC Press, 2010. — 690 p.
76. *Chandan R. C., Kilara A.* Dairy ingredients for food processing. — USA: Wiley–Blackwell, 2011. — 522 p.
77. *Hurley W. L.* Milk protein. — Croatia: In Tech, 2012. — 340 p.

## БИОАКТИВНЫЕ ПЕПТИДЫ ПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ МОЛОКА КОРОВ (*Bos taurus*)

*А. В. Юкало, Е. Е. Дацишин, В. Г. Юкало*

Тернопольский национальный технический университет имени Ивана Пулюя, Украина

*E-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Приведены данные о биологических свойствах протеинов сыворотки молока, реализуемых на уровне продуктов их протеолитического расщепления — биоактивных пептидов. Основными функциями этих протеинов являются обеспечение аминокислотного питания млекопитающих на начальных этапах развития, транспорт жирных кислот и ретинола, участие в синтезе лактозы, транспортировке ионов кальция и железа, иммунная защита, антимикробное действие и т. д. В последние годы было установлено, что протеины сыворотки молока, подобно казеинам, являются предшественниками ряда биологически активных пептидов. Среди продуктов протеолитического расщепления β-лактоглобулина, α-лактоальбумина, лактоферина и альбумина сыворотки молока обнаружены ингибиторы ангиотензинпревращающего энзима, опиоидные пептиды — агонисты опиатных рецепторов, антимикробные пептиды, пептиды с иммуномодуляторным и гипохолестеролемическим действием, а также влияющие на моторику кишечника. Анализируются данные о возможном участии пептидов протеинов сыворотки молока в реализации таких биологических функций, как усвоение ионов кальция, антиоксидантное действие, регуляция аппетита, антиканцерогенная активность. Высказано предположение о том, что образование биоактивных пептидов можно рассматривать как дополнительную функцию природных пищевых протеинов, которая дает преимущества организму млекопитающих и положительно влияет на их развитие в постнатальном периоде. Рассмотрены пути образования биоактивных пептидов, их стойкость к действию протеолитических энзимов, способность проникать в кровяное русло и оказывать биологическое действие. На сегодняшний день получено ограниченное количество продуктов с биоактивными пептидами из протеинов сыворотки молока. Для более широкого их использования необходимы дальнейшие исследования структуры, механизма действия, путей образования и способов выделения. Создание функциональных продуктов на основе биоактивных пептидов протеинов сыворотки молока позволит более рационально использовать этот побочный продукт молочной промышленности.

***Ключевые слова:*** протеины сыворотки молока, биологически активные пептиды, протеолиз, функциональные молочные продукты.

## BIOACTIVE PEPTIDES OF THE COW MILK WHEY PROTEINS (*Bos taurus*)

*A. V. Iukalo, K. Ye. Datsyshyn, V. G. Yukalo*

Ternopil Pul'uj National Technical University, Ukraine

*E-mail: biotech@tu.edu.te.ua*

Data on the biological functions of milk whey proteins, which are implemented at the level of their proteolytic degradation products — bioactive peptides have been reviewed. The main functions of these proteins is to provide the amino acid nutrition of mammals in the early stages of development, as well as the transport of fatty acids, retinol, involved in the synthesis of lactose, ions of calcium and iron, immune protection, antimicrobial action, etc. However, in recent years, it has been found that milk proteins like casein are precursors of biologically active peptides. Angiotensin — converting enzyme, opioid peptides which are opiate receptor agonists, anti–microbial peptides, peptides with immunomodulatory and hypocholesterolemic action, and peptides affecting motility have been found among the products of proteolytic degradation of β-lactoglobulin, α-laktoalbumin, lactoferrin and milk whey albumin. Also data on the possible participation of peptides from milk whey proteins in the implementation of the biological functions of both the assimilation of calcium, antioxidant effect, the regulation of appetite, anticarcinogenic are provided. The authors assume that the phenomenon of bioactive peptides formation could be considered as an additional function of natural food proteins, which gives advantages to the mammals and has a positive effect on their development in the postnatal period. Ways of bioactive peptides formation, their resistance to action of proteolytic enzymes, the ability to cross into the bloodstream and have biological effects have been also discussed. Up to date, only a few products with bioactive peptides from milk whey proteins are obtained. Further studies of their structure, mechanism of action, ways of formation and methods of isolation are required for their wider use. Formation of functional products based on bioactive peptides from milk whey proteins will allow efficient use of milk whey, which is often a byproduct of the dairy industry.

***Key words:*** milk whey proteins, bioactive peptides, proteolysis, functional dairy products.