



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
UNIVERSITÉ DES FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département : Biochimie et Biologie Cellulaire  
et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : الكيمياء الحيوية و علم الاحياء  
الخلوي و الجزيئي

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

## *Peptides Bioactifs : Sources, Modes de Production et Potentiels Thérapeutiques*

---

Présenté et soutenu par :

TRAORE Soumana  
TOURE Mahamar Idrissa

Le : 22/06/2023

Jury d'évaluation :

- **Président du jury** : Mme Kassa Laouar Mounia (MCB- UFM-Constantine1)
- **Rapporteur** : Mme Boukhalfa Hayet (MCB- UFM-Constantine1)
- **Examineur** : Mme Daoudi Hadjer (MCA- UFM-Constantine1)

Année universitaire 2022/2023

## **Remerciements**

### **Remerciement**

*En premier lieu, nous tenons à remercier le bon DIEU, de nous avoir donné le courage et la patience pour mener à bien ce travail pendant toute cette longue année. Nous voudrions également exprimer notre reconnaissance envers notre encadreur Dr. Boukhalfa Hayet, Maitre de Conférences à l'université des frères Mentouri, Constantine 1, pour avoir acceptée de superviser notre travail et pour ses orientations expertes qui nous ont permis de développer nos compétences de recherche et de structurer nos idées de manière cohérente. Votre patience, votre disponibilité et vos encouragements ont été des facteurs clés dans la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons également à remercier sincèrement tous les membres du comité de soutenance pour avoir accepté de consacrer leur temps et leur expertise à évaluer notre travail. Vos commentaires constructifs et vos suggestions ont été d'une grande valeur, nous permettant ainsi de peaufiner notre mémoire et d'en améliorer la qualité.*

*Nous remercions l'ensemble du corps professoral de UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI, CONSTANTINE 1 pour la qualité des enseignements dispensés tout au long de notre parcours académiques. Vos connaissances approfondies, vos passions et votre volonté de partager vos expériences ont grandement contribué à notre formation et à notre développements intellectuels.*

*Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude envers nos familles respectives pour leur soutien indéfectible et leur amour inconditionnel. Votre confiance en nous et vos encouragements constants ont été une source de motivation sans faille. Nous vous soyons extrêmement reconnaissants pour tout ce que vous avez fait pour nous.*

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma illustratif des passages paracellulaire et transcellulaire.....	7
<b>Figure 2:</b> Séquence d'acides aminés du peptide lunasine et activité démontrée des différents fragments de sa séquence .....	7
<b>Figure 3 :</b> Schéma du processus de transcytose .....	9
<b>Figure 4:</b> Représentation schématique du transport de peptides court via des protéines porteuses	11
<b>Figure 5:</b> Structure de transporteur de peptides .....	11
<b>Figure 6:</b> Structure de l'aplidine .....	19
<b>Figure 7:</b> Photographies d'éponges marines .....	20
<b>Figure 8:</b> Structure de la thionine.....	23
<b>Figure 9:</b> Les différentes fonctions physiologiques des peptides bioactifs sur l'homme .....	26
<b>Figure 10:</b> Mécanisme d'action de l'activité antihypertensive des peptides bioactifs .....	28
<b>Figure 11 :</b> Action antimicrobienne de peptides bioactifs .....	30
<b>Figure 12 :</b> Structure de la lunasine .....	31
<b>Figure 13:</b> La structure de la Casomorphine.....	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les peptides d'organismes marins et leurs activités thérapeutiques .....	21
<b>Tableau 2 :</b> Les peptides antimicrobiens d'origine végétale .....	25
<b>Tableau 3:</b> Identification et quantification de certains peptides bioactifs alimentaire .....	40

**Liste des abréviations**

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AMP** : Peptide antimicrobien

**CDK** : Cycline kinase dépendante

**CPP** : Phosphopeptides de caséine

**ECA** : Enzyme de conversion de l'angiotensine

**ESI** : Ionisation par électrospray

**FMOC** : Fluorénylméthoxycarbonyle

**GLUT2** : Transporteur de glucose de type 2

**HDL** : Lipoprotéines de haute densité

**HHP** : Traitement à haute pression hydrostatique

**HL-60** : Cellules de leucémie humaine

**HPLC** : Chromatographie en phase liquide haute performance

**LC-MS** : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

**MALDI** : Désorption/ionisation laser assistée par matrice

**MS** : Spectrométrie de masse

**NOS** : Système kinine-oxyde nitrique

**PHT1** : Transporteur de phosphate de type 1

**PEPT1** : Peptides transporteurs de type 1

**PPAR-Y** : Récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxysomes

**RAS** : Système rénine-angiotensine

**SAE** : Extraction aqueuse à base de solvant

**SGLT1** : Transporteur de glucose dépendant du sodium 1

**T2DM** : Diabète sucré de type II

**TJ** : Jonction serré

**TOF** : Temps de vol

**UHPLC** : Chromatographie liquide à ultra haute performance

Les acides aminés codés génétiquement chez l'être humain  
(Fayolle, 2017)

NOM	CODE A 3 LETTRES	CODE A UNE LETTRE	RADICAL R	CHARGE	COMMENTAIRE	ESSENTIEL
ALANINE	Ala	A	CH <sub>3</sub> (méthyle)	Non polaire (chaîne latérale aliphatique)	/	Non
ARGININE	Arg	R	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> (groupement guanidinium)	Chaîne latérale chargée positivement	/	Oui
ACIDE ASPARTIQUE	Asp	D	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Chaîne latérale chargée négativement	/	Non
ASPARAGINE	Asn	N	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> NO (amide)	AA polaire mais non chargé		Non
CYSTEINE	Cys	C	CH <sub>3</sub> S (sulfhydryle)	AA polaire mais non chargé	Site de réaction d'oxydoréduction. Forme des ponts disulfures	Non
ACIDE GLUTAMIQUE	Glu	E	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Chaîne latérale chargée négativement	/	Non
GLUTAMINE	Gln	Q	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> NO (amide)	AA polaire mais non chargé	/	Non
GLYCINE	Gly	G	H (hydrogène)	Chaîne latérale aliphatique (AA non polaire)	/	Non
HISTIDINE	His	H	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> (imidazole)	Chaîne latérale chargée positivement	/	Oui
ISOLEUCINE	Ile	I	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> (isobutyle)	Chaîne latérale aliphatique (AA non polaire)	/	Oui
LEUCINE	Leu	L	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> (isobutyle)	Chaîne latérale aliphatique (AA non polaire)	/	Oui
LYSINE	Lys	K	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N (amine)	Chaîne latérale chargée positivement	/	Oui
METHIONINE	Met	M	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> S (thioéther)	Chaîne latérale non polaire	Premier AA dans la synthèse protéique	Oui
PHENYLALANINE	Phe	F	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> (phényl)	Chaîne latérale aromatique	/	Oui
PROLINE	Pro	P	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> (pyrrolidine)	Chaîne latérale cyclique (AA polaire mais non chargé)	/	Non
SELENOCYSTEINE	Sec	U	CH <sub>3</sub> Se	Chaîne latérale chargée négativement		/
SERINE	Ser	S	CH <sub>3</sub> O (hydroxyle)	AA polaire mais non chargé	Site de phosphorylation	Non
THREONINE	Thr	T	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O (hydroxyle)	AA polaire mais non chargé	Site de phosphorylation	Oui
TRYPTOPHANE	Trp	W	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N (indol)	Chaîne latérale aromatique	/	Oui
TYROSINE	Tyr	Y	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O (phénol)	Chaîne latérale aromatique	Site de phosphorylation	Non
VALINE	Val	V	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> (isopropyle)	Chaîne latérale aliphatique (AA non polaire)	/	Oui

## Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	
<b>Liste des tableaux</b> .....	
<b>Liste des abréviations</b> .....	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES PEPTIDES BIOACTIFS</b> .....	3
1. Définition et propriétés des peptides bioactifs .....	4
2. Libération des peptides bioactifs .....	4
3. Absorption des peptides bioactifs .....	5
3.1. Diffusion paracellulaire .....	6
3.2. Diffusion passive transcellulaire .....	8
3.3. Transcytose .....	8
3.4. Transport médié par le transporteur .....	9
4. Production et transformation de peptides bioactifs .....	12
4.1. Hydrolyse enzymatique .....	12
4.2. Fermentation microbienne .....	13
4.3. Synthèse chimique des peptides .....	14
4.4. Production recombinante .....	16
5. Sources des peptides bioactifs .....	17
5.1. Sources animales .....	18
5.1.1. Sources marines .....	18
5.2. Sources végétales .....	22
6. Fonctions physiologiques des peptides bioactifs .....	26
6.1. Peptides antihypertenseurs .....	27
6.2. Peptides antimicrobiens .....	28
6.3. Peptides anticancéreux .....	30
6.4. Peptides opioïdes .....	31
6.5. Peptides antioxydants .....	32
6.6. Peptides ostéoprotecteurs .....	33
6.7. Peptides réducteurs de cholestérol .....	33
6.8. Peptides antidiabétiques .....	34
<b>CHAPITRE II : Techniques D'extraction Et Purification Des Peptides Bioactifs</b> .....	36
1. Techniques d'extractions .....	37



1.1.	Traitement à haute pression.....	37
1.2.	Traitement par ultrasons.....	37
1.3.	Traitement par micro-ondes .....	38
1.4.	Traitement par solvant supercritique .....	38
2.	Techniques de purification des peptides bioactifs .....	39
2.1.	Isolement des protéines .....	41
2.2.	Séparation, identification et quantification .....	41
2.2.1.	Chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC /MS).....	42
2.2.2.	UHPLC ESI-MS/MS.....	42
2.2.3.	MALDI-TOF-MS.....	43
	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>45</b>
	<b>RESUME : .....</b>	<b>48</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>51</b>

# **Introduction**

## Introduction

Les peptides ont co-évolué avec l'homme en tant que modulateurs de la physiologie, et exercent des fonctions biologiques très spécifiques. Ces biomolécules sont disponibles dans tous les organismes vivants, avec plusieurs milliers de copies de chaque peptide par cellule. Les systèmes vivants les utilisent pour communiquer, réguler et affiner leurs fonctions. Ces biomolécules sont impliquées dans des mécaniques biologiques très complexes qui dépendent d'un nombre incalculable de facteurs internes et externes.

Les peptides bioactifs sont restés largement sous-estimés, en tant que vecteurs moléculaires de promotion de la santé (Doherty et *al.*, 2021), principalement en raison de leur biodisponibilité, leur stabilité et leur bio-efficacité après consommation orale.

Par ailleurs, les médicaments fabriqués par synthèse chimique ont été efficaces pour traiter de nombreuses maladies depuis plusieurs décennies. Cependant, ces produits présentent une toxicité après usage à long terme, particulièrement lorsqu'il s'agit de maladies chroniques, très répandues de nos jours. Aussi, il existe des affections moins maîtrisées par ces médicaments, telles que certains types de cancers et les maladies neurodégénératives, ce qui justifie la recherche de nouvelles substances actives par des approches innovantes.

Actuellement, les laboratoires et les entreprises pharmaceutiques se sont tournés vers l'exploitation des peptides bioactifs à usage thérapeutiques. En tant que principes actifs, le marché de ces biomolécules comptait en 2017, un total de 60 molécules approuvées et vendues aux Etats-Unis, en Europe et au Japon (Claude et *al.*, 2020). Le chiffre d'affaires total des ventes était estimé à environ 50 milliards de dollars pour l'année 2015, soit 5% des ventes globales de produits pharmaceutiques (Henninot et *al.*, 2018). Ces peptides couvrent plusieurs domaines thérapeutiques différents. Une majorité est destinée aux domaines des maladies métaboliques et de l'oncologie. Les domaines de l'allergologie et de l'immunologie, de la gastroentérologie, des maladies cardiovasculaires ainsi que les peptides antimicrobiens et antiviraux sont également majoritairement représentés. En effet, les peptides bioactifs résisteraient à l'action des enzymes digestives et franchiraient la barrière intestinale pour être véhiculés par le sang et atteindre leur cible. Pour cela nous sommes intéressés à ce sujet.

Dans ce manuscrit, nous passons en revue, les peptides bioactifs. Le premier chapitre comporte une définition, suivi d'une explication détaillée des mécanismes de leur libération et de leur absorption dans l'organisme. Il comprend également les différentes sources de ces peptides en

particulier les sources animales, marines et végétales. Ce mémoire examine également dans le deuxième chapitre, les différentes méthodes d'extraction et de purification des peptides bioactifs. Les méthodes de leur identification sont également décrites, avec une attention particulière accordée aux techniques d'analyse de la spectrométrie de masse.

# CHAPITRE I : **GÉNÉRALITÉS SUR LES PEPTIDES BIOACTIFS**

## 1. Définition et propriétés des peptides bioactifs

Les peptides jouent un rôle essentiel dans les processus physiologiques fondamentaux . Ils sont nécessaires à de nombreux processus biochimiques. Ils sont nommés en fonction du nombre de résidus d'acides aminés qui les constituent. Au fur et à mesure que les chaînes peptidiques se forment entre la jonction de la structure primaire des acides aminés, ils peuvent s'agrandir pour devenir un oligopeptide lorsqu'il y a entre 10 et 20 acides aminés dans la chaîne. *In vivo*, chaque acide aminé est ajouté à l'amino-terminal d'un autre acide aminé pour former une chaîne peptidique. Lorsqu'il y a plus de 20 acides aminés, le peptide est une chaîne non ramifiée considérée comme un polypeptide (Forbes et Krishnamurthy, 2022).

Les peptides bioactifs sont des séquences inactives au sein des molécules précurseurs avec des séquences protéiques de deux à vingt acides aminés, qui présentent des activités régulatrices des fonctions biologiques après leur libération (Mohanty, 2016).

## 2. Libération des peptides bioactifs

D'après l'étude de Rutherford-Markwick (2012), il existe trois mécanismes principaux par lesquels les peptides bioactifs peuvent être libérés :

- Dégradation *via* des enzymes digestives,
- Digestion *via* des enzymes microbiennes principalement dans le gros intestin,
- Hydrolyse *in vitro* au cours de la transformation des aliments, généralement par fermentation microbienne ou digestion protéolytique. L'hydrolyse acide est moins utilisée car elle est plus difficile à contrôler et peut endommager certains acides aminés (Rutherford-Markwick, 2012).

La production de peptides bioactifs par la digestion, repose sur le fait que la forme active du peptide est d'abord générée et reste intacte à son site d'absorption ou d'action. Ces peptides peuvent aussi se produire dans tout l'intestin. Dans de nombreux cas, cela signifie que la protéine ou le peptide lui-même doit être au moins partiellement résistant à la protéolyse, en effet la plupart des protéines alimentaires sont totalement digérées lors du passage dans l'intestin grêle. Il a été démontré que plusieurs protéines telles que : la lactoferrine et les immunoglobulines résistent en partie à cette hydrolyse (Roos et *al.*, 1995 ; Drescher et *al.*, 1999 ; Moller et *al.*, 2008) ; les

tripeptides avec la séquence phosphopeptides à leur extrémité C terminale se sont également révélés résistants à la digestion par les peptidases (Yoshimoto *et al.*, 1978 ; Mock *et al.*, 1990).

Selon les travaux de (Naito *et al.*, 1974 ; Kitts *et al.*, 1992), des phosphopeptides de caséine (CPP) ont été trouvés dans le contenu intestinal de rats ayant consommé la caséine, et aussi dans leurs excréments (Kasai, 1992). Il a également, été démontré que cette protéine (caséine native et acide) joue un rôle dans la protection de certains peptides contre la digestion, potentiellement en bloquant le site actif des enzymes protéolytiques (Kelly et Coutts, 1997).

En raison des différentes spécificités des sites de clivage des enzymes microbiennes, les peptides qu'elles produisent sont susceptibles d'être différents de ceux résultant du clivage avec des enzymes digestives, telle que la trypsine. Cela inclut à la fois les peptides provenant du gros intestin et également des processus de fermentation bactérienne tel que lors de l'affinage du fromage. Un problème potentiel avec les peptides pré-hydrolysés, est le risque que les peptides actifs soient hydrolysés par les peptidases hôtes au cours de la digestion. Bien qu'il soit également possible que des peptides actifs puissent être générés à partir de protéines partiellement hydrolysées et inactives. Des problèmes comme ceux-ci renforcent l'importance de mener des études *in vivo* pour démontrer leur efficacité (Rutherford-Markwick, 2012).

### **3. Absorption des peptides bioactifs**

Selon les travaux d'Amigo et Hernández-Ledesma (2020), l'absorption de la plupart des produits de digestion, se fait dans le jéjunum, où le chyme pénètre par l'estomac. Ce dernier, est ensuite décomposé en nutriments dont les peptides, les acides gras, les mono- et oligosaccharides, les vitamines et les minéraux. Ces produits traversent en fin, la paroi intestinale pour atteindre le système circulatoire. Cependant, il a été constaté que de nombreux peptides sont absorbés par les cellules intestinales dans des conditions normales. Ils sont détectés dans la circulation sanguine des nouveau-nés et des adultes et/ ou dans les organes cibles où ils exercent leurs activités biologiques (Foltz *et al.*, 2007 ; Righard *et al.*, 2014 ; Nongonierma, *et al.*, 2015). A ce jour, ont été décrites quatre voies différentes d'absorption : la diffusion paracellulaire, la diffusion passive transcellulaire, la transcytose et le transport médié par les transporteurs. Ci-après, les principales caractéristiques de ces voies d'absorption et des exemples de peptides les utilisant sont développées. (Amigo et Hernández-Ledesma, 2020)

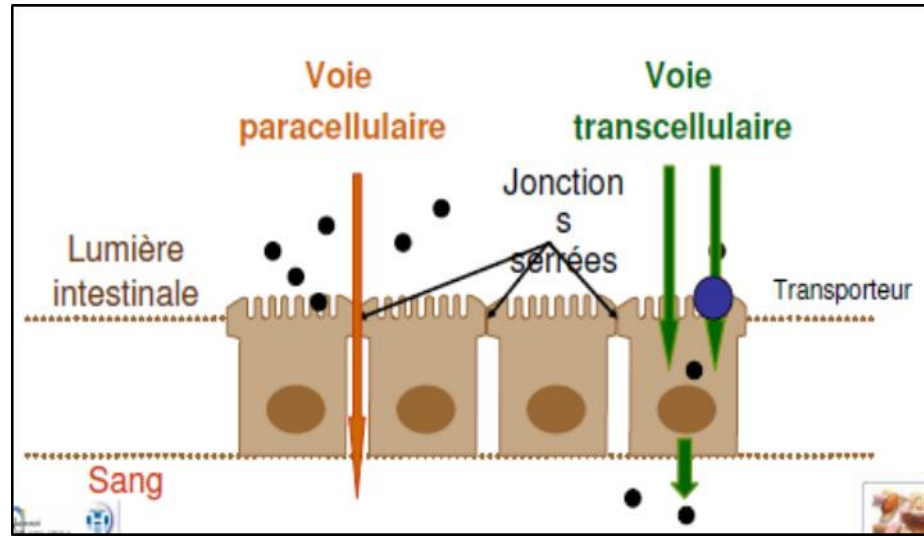
### 3.1. Diffusion paracellulaire

La diffusion paracellulaire implique le mouvement de molécules *via* des pores/canaux remplis d'eau entre les cellules (**Figure 1**). Environ 0,01 à 0,1 % de la surface intestinale totale est constituée de pores remplis d'eau qui correspondent à 200 jusqu'à 2 000 cm<sup>2</sup>. Cette surface est suffisamment grande pour l'absorption de petites quantités de peptides, pouvant exercer leur activité biologique (Salamat et *al.*, 2005).

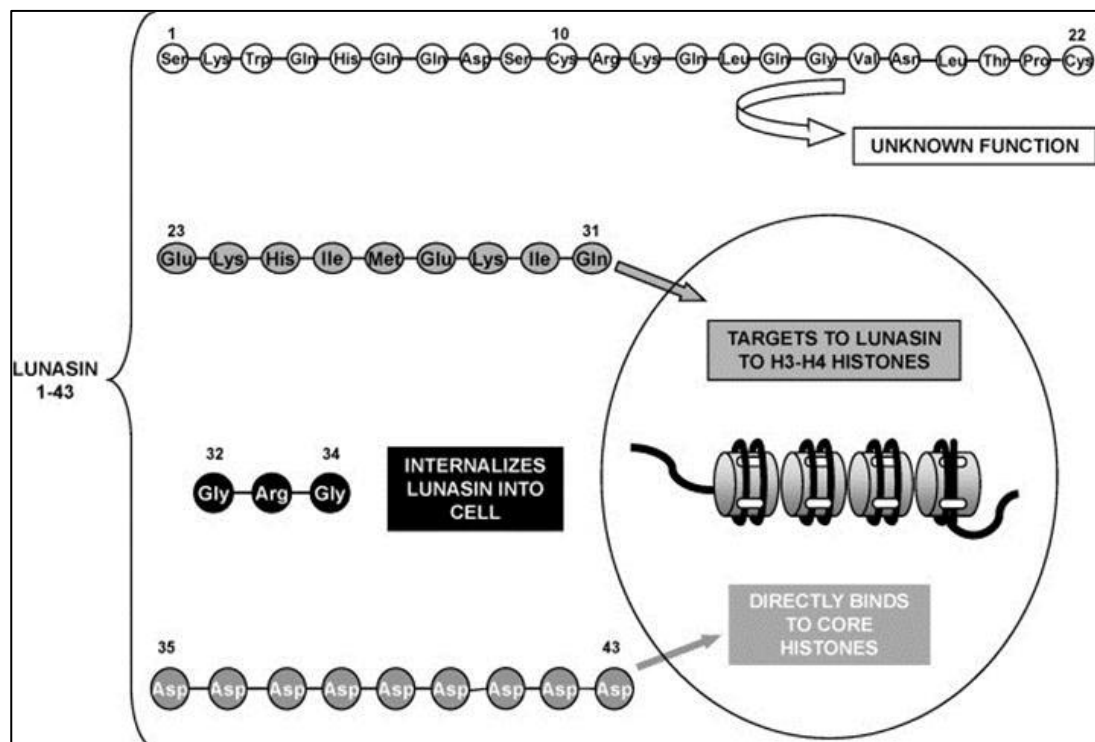
Cette voie est régulée par des jonctions serrées (TJ : *tight junctions*) qui séparent les membranes apicales et basolatérales des cellules épithéliales intestinales. Les TJ sont des complexes multiprotéiques contenant des protéines zonula occludens-1, occludine et claudine qui forment une barrière biologique ferme, restreignant le flux paracellulaire d'eau, d'ions et de solutés (Marchiando et *al.*, 2010). Les TJ empêchent le passage des substances à travers l'espace entre les membranes plasmiques des cellules adjacentes et limitent le processus de pénétration des macromolécules polaires (Lundquist et *al.*, 2016).

Par conséquent, les peptides traversant l'épithélium intestinal pénètrent dans les cellules par diffusion ou transport actif. Ce transport dépend principalement des propriétés physicochimiques du peptide tels que le poids moléculaire et la charge ionique (Salamat et *al.*, 2005). Ainsi, cette voie a été rapportée comme étant celle préférée par les peptides hydrophiles chargés négativement et de faible poids moléculaire (Wang et Li ; 2017 ; Matsu et *al.*, 2018). Une variété d'oligopeptides alimentaires bioactifs, se sont révélés être transportés par diffusion passive *via* des TJ paracellulaires (Xu et *al.*, 2019). De plus, cette voie a été utilisée par le peptide anti cancer de 43 acides aminés : la lunasine (**Figure 2**) et son fragment « RKQLQGVN » qui en est libéré lors de la digestion gastro-intestinale, pour traverser la barrière épithéliale intestinale (Fernández-Tomé et *al.*, 2018).





**Figure 1:** Schéma illustratif des passages paracellulaire et transcellulaire (Garraffo, 2013)



**Figure 2:** Séquence d'acides aminés du peptide lunasine et activité démontrée des différents fragments de sa séquence (Zhu, 2018).

### 3.2. Diffusion passive transcellulaire

Cette voie (**Figure 1**), implique le transport de molécules à travers les membranes apicales et basolatérales d'une manière basée sur la concentration et indépendante de l'énergie (Jochems et *al.*, 2018). Le transport des peptides bioactifs par diffusion passive dépend des caractéristiques des peptides telles que la taille, la charge et l'hydrophobicité (Liu et *al.*, 2016). Ainsi, du fait de la composition de la membrane cellulaire par une bicouche lipidique, il est largement admis que la lipophilie joue un rôle clé dans ce mécanisme de transport. Alors que les peptides hydrophiles préfèrent la diffusion paracellulaire pour traverser l'épithélium intestinal, le transport transcellulaire est la voie choisie par les peptides lipophiles.

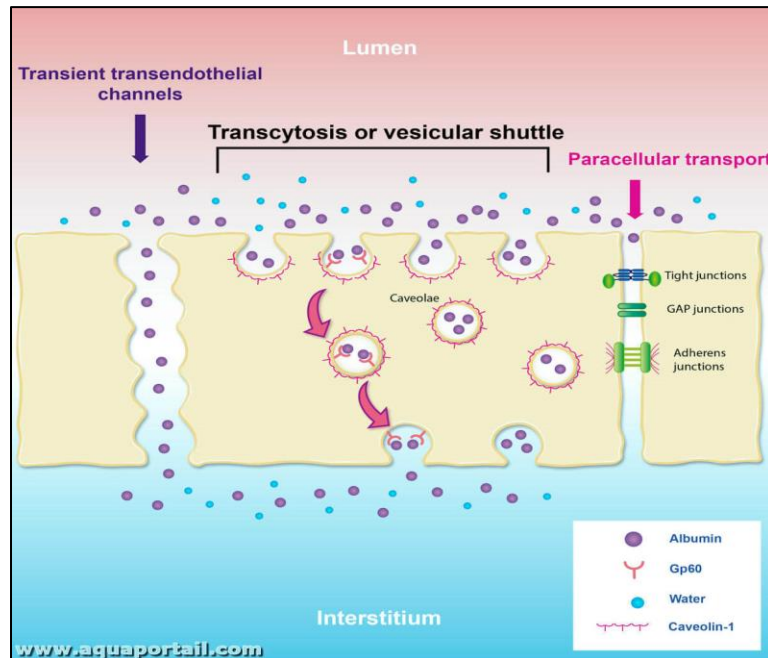
D'autres facteurs, tels que la longueur de la chaîne peptidique et le nombre de groupes polaires semblent également déterminer la diffusion passive des peptides bioactifs. De plus, l'absorption transcellulaire d'un peptide dépend de l'énergie nécessaire pour rompre les liaisons hydrogène eau-peptide, permettant aux molécules de pénétrer dans la membrane cellulaire (Renukuntla et *al.*, 2013).

### 3.3. Transcytose

Cette voie (**Figure 3**), implique le transport dépendant de l'énergie du matériel d'un côté de la cellule polarisée à l'autre. Elle comprend l'absorption endocytotique apicale, le transport transcytotique *via* des vésicules intériorisées appelées endosomes et la sécrétion basolatérale (Regazzo et *al.*, 2010 ; Komin, et *al.*, 2017).

Comme les peptides doivent interagir avec la bicouche lipidique apicale des cellules épithéliales par des interactions hydrophobes avant d'être internalisés par les cellules ; la transcytose semble favoriser le transport des peptides à longue chaîne de plus de quatre résidus d'acides aminés et hydrophobes (Shimizu et *al.*, 1997 ; Vermeirssen et *al.*, 2004). Ainsi, une étude récente a suggéré que la teneur élevée en acides aminés hydrophobes dans le peptide antioxydant « YWDHNNPQIR », pourrait déterminer son transport à travers les monocouches de cellules Caco-2, une lignée cellulaire d'adénocarcinome colorectal humain. Il est principalement utilisé comme modèle de la barrière épithéliale intestinale *via* la transcytose (Lea & Tor. 2015 ; Xu, F et *al.*, 2017). En plus de l'importance de l'hydrophobicité, d'autres facteurs ont également été reconnus

comme déterminants dans le transport par transcytose des peptides. Ainsi, des modèles cellulaires ont rapporté que le nombre de groupes polaires et la charge nette des peptides, en particulier la charge positive, montrent des effets positifs sur leur transport par transcytose (Burton *et al.*, 1996 ; Zhao *et al.*, 2003).



**Figure 3 :** Schéma du processus de transcytose

(<https://www.aquaportail.com/definition-6165-transcytose.html>]transcytose[/url])

### 3.4. Transport médié par le transporteur

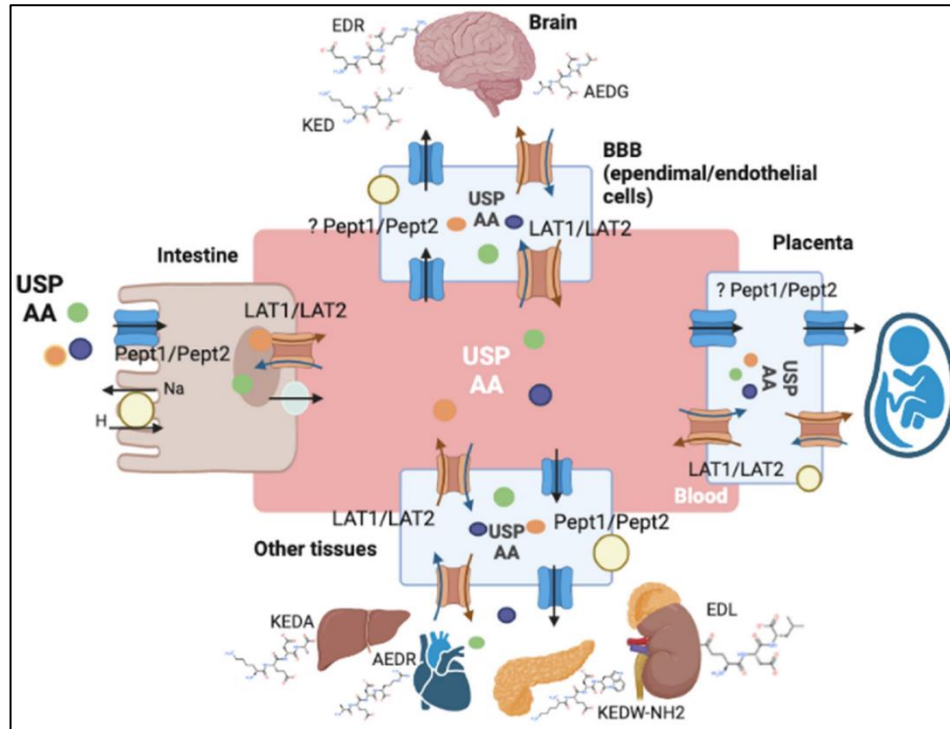
Cette voie implique le mouvement des peptides contre le gradient de concentration, médié par des protéines spécifiques de la membrane cellulaire (**Figure 4**), qui fonctionnent *via* des mécanismes anti, sym et uniporteurs. Les antiporteurs transloquent les peptides dans des directions opposées, tandis que les symporteurs les transportent par cotransport dans la même direction. Les uniporteurs fonctionnent de manière unidirectionnelle, sans cotransport (Jochems *et al.*, 2018). Ce système de transport est dépendant de la concentration en substance, sensible à l'inhibition et spécifique à la structure des molécules (Sugano *et al.*, 2010). Parmi les peptides transporteurs, le transporteur 1 (PepT1) est un transporteur de haute capacité et de faible affinité qui entraîne les peptides de la lumière gastro-intestinale dans l'épithélium intestinal selon un gradient de protons et une manière dépendante du potentiel de membrane (Gilbert *et al.*, 2008 ; Daniel *et al.*, 2015). Bien

qu'il ait été décrit que PepT1 se lie préférentiellement aux peptides bioactifs à chaîne courte, en particulier les di- et tripeptides, avec une charge neutre et une hydrophobicité élevée ; il s'est également avéré, capable de reconnaître les dipeptides avec un volume extrême ou deux charges positives (Vig *et al.*, 2006). Cependant, il est peu probable que PepT1 se lie aux régions hydrophiles ou hydrogène (Omkvist *et al.*, 2010).

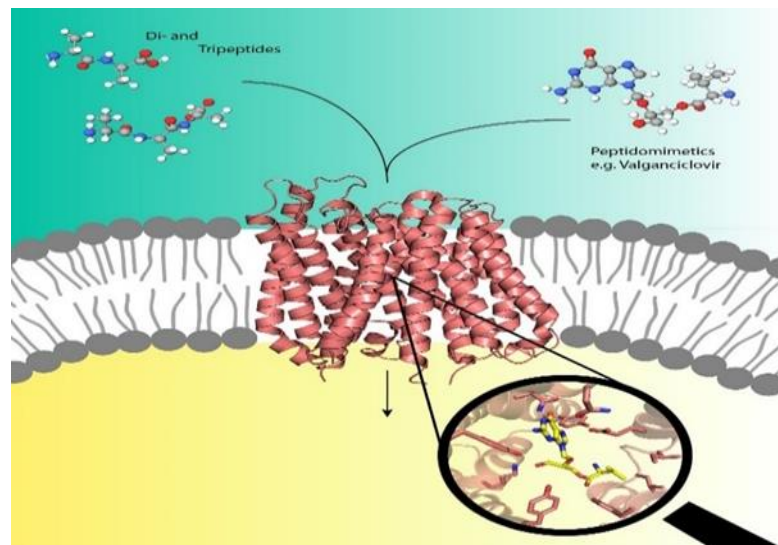
Wang et Li (2017) ont utilisé un modèle monocouche de cellules Caco-2 pour étudier les voies de transport choisies par les peptides dérivés de la caséine. Ces auteurs ont découvert que PepT1 était responsable du transport des peptides de bas poids moléculaire, tandis que les peptides de caséine de haut poids moléculaire traversaient la barrière intestinale par diffusion paracellulaire. De plus, la biodisponibilité des peptides transportés par PepT1 était supérieure à ceux transportés par la voie paracellulaire. PepT1 a également été décrit comme porteur des peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) Ile-Pro-Pro (IPP) et Leu-Lys-Pro (LKP), qui ont été libérés respectivement par la  $\beta$ -caséine du lait et la protéine musculaire du poisson ou du poulet (Gleeson *et al.*, 2017), ainsi que d'autres peptides bioactifs alimentaires (Kovacs *et al.*, 2012 ; Xu, Q *et al.*, 2017 ; Xu, F *et al.*, 2017).

Les transporteurs de peptides appartiennent à la famille SLC15 et se composent de quatre membres : PEPT1, PEPT2, PhT1 et PhT2. Les transporteurs de peptides interviennent dans le transport couplé aux protons d'une large gamme de peptides ainsi que de peptidomimétiques à travers les membranes cellulaires (**Figure 5**).

Les prédictions topologiques de la PEPT1 humaine suggèrent une structure de 12 hélices transmembranaires avec une longue boucle intracellulaire entre les domaines transmembranaires 9 et 10. Les structures cristallines des homologues procaryotes des transporteurs de peptides mammifères ont été résolues (Newstead *et al.*, 2011 ; Solcan *et al.*, 2012). Les transporteurs : PEPT1 et PEPT2, transportent un certain nombre de dipeptides , de tripeptides et de médicaments de type peptide. Les substrats de ces transporteurs comprennent les antibiotiques amino  $\beta$ -lactamines (céfadroxil), les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (captopril), certains inhibiteurs de la rénine , les antiviraux (acyclovir), l'agent photosensibilisant acide 5-aminolévulinique, les antagonistes des récepteurs de la dopamine et les agents antitumoraux (Rubio et Daniel, 2008).



**Figure 4:** Représentation schématique du transport de peptides court via des protéines porteuses (Khavinson et al., 2022)



**Figure 5:** Structure de transporteur de peptides

([https:// www.cssb-hamburg.de/news-amp\\_events/articles/2019/first-structure-of-peptide-transporter-in-complex-with-pro-drug-revealed](https://www.cssb-hamburg.de/news-amp_events/articles/2019/first-structure-of-peptide-transporter-in-complex-with-pro-drug-revealed))

## 4. Production et transformation de peptides bioactifs

D'après les rapports d'Akbarian *et al.* (2022) et de Lee (2017), les méthodes de production des peptides bioactifs sont l'hydrolyse enzymatique des protéines alimentaires ou la fermentation. Cependant, des extraits aqueux de champignons et certaines parties de plantes se sont avérés contenir des peptides bioactifs (Geng *et al.*, 2016).

### 4.1. Hydrolyse enzymatique

Du fait que la grande majorité des peptides bioactifs font partie de la structure des protéines matures, la méthode la plus simple pour les produire est l'hydrolyse enzymatique, en particulier par les enzymes digestives (Zambrowicz *et al.*, 2013). L'utilisation d'enzymes gastrointestinales pour produire des peptides bioactifs permet d'administrer les peptides résultants par voie orale (Rader *et al.*, 2018). Une fois que la séquence d'acides aminés des molécules est connue, les peptides peuvent être synthétisés par voie chimique ou technologie d'acide désoxyribonucléique (ADN) recombinant.

L'hydrolyse enzymatique des peptides bioactifs peut être réalisée à partir de protéines précurseurs de trois manières : hydrolyse enzymatique par des enzymes extraites de microorganismes ou de plantes ; hydrolyse enzymatique par des enzymes digestives (animales) et fermentation microbienne. Dans certains cas, une combinaison des méthodes, s'est avérée efficace dans la production de peptides à chaîne courte (Sunchez *et al.*, 2017).

Dans ce processus, diverses enzymes, telles que la pepsine, la bromélaïne, la trypsine, la chymotrypsine et la papaïne, sont utilisées dans leurs conditions optimales de pH et de température. De nombreux peptides bioactifs connus sont principalement produits à l'aide d'enzymes digestives, notamment la pepsine et la trypsine (Shahidi *et al.*, 2008). Par exemple, les peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et les phosphopeptides liant le calcium sont couramment produits par la trypsine (Meisel *et al.*, 2006). De nombreux thermozyms, telles que les enzymes de sources bactériennes et fongiques, ont été utilisés pour produire des peptides bioactifs. Aussi, plusieurs enzymes végétales telles que la papaïne et la pronase, ont été appliquées pour l'hydrolyse de la farine de soja et de la farine de blé (Franěk *et al.*, 2000).

Dans les conditions industrielles, l'utilisation d'enzymes encapsulées est plus courante que les enzymes solubles conventionnelles. Les enzymes enrobées permettent une hydrolyse

enzymatique dans des conditions plus modérées et contrôlées. De plus, ces enzymes fixées peuvent être récupérées pour éviter la production de métabolites secondaires due à l'autolyse enzymatique (Agyei et *al.*, 2011). Aussi, l'utilisation de réacteurs enzymatiques équipés de membranes d'ultrafiltration avec différents composants pouvant être mise en combinaison avec d'autres techniques ou unités de purification, permet de faire la production des peptides bioactifs (Dionysius et *al.*, 1997). Bien que les peptides bruts et purifiés soient utilisés pour différentes applications, l'utilisation du premier type est préférable et permet de réduire le coût du produit (Daliri et *al.*, 2017).

Dans certains cas, en plus des propriétés physiques du peptide, sa structure tridimensionnelle est également importante. Certains peptides, en particulier les peptides antimicrobiens, ont des structures cycliques *via* des liaisons disulfure ou en feuillets, nécessaires à leurs fonctions (Ouais et *al.*, 2018). Au cours de la production de tels peptides, la structure de la protéine mère ne doit pas subir de changement spatial brutal.

La performance des enzymes d'hydrolyse dépend de l'accessibilité aux sites de clivage spécifiques de la protéine. Récemment, de nouvelles méthodes ont été développées pour surmonter ces problèmes. L'application d'une pression supérieure à 100 MPa, lors de l'hydrolyse enzymatique par traitement à haute pression hydrostatique (HHP), augmente l'efficacité des enzymes. De plus, il a été démontré qu'une pression élevée provoque des changements temporaires et réversibles dans la structure de la protéine qui augmentent l'accès de l'hydrolase à une variété de sites de coupure à la surface de la protéine (Naderi et *al.*, 2017 ; Marciniak et *al.*, 2018). Une autre étude passe en revue ces méthodes innovantes, qui augmentent généralement l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique lors de la transformation des aliments (Chai et *al.*, 2020).

## **4.2. Fermentation microbienne**

Les fermentations microbiennes servent à produire des peptides bioactifs par décomposition des protéines en petits peptides. En effet, cette méthode fait partie de la méthode d'hydrolyse enzymatique par utilisation des microorganismes. Les Lactobacilles se trouvent également dans le système digestif, sont utilisées pour produire des peptides bioactifs. Leur rôle dans la production de produits fermentés n'est pas seulement dû à leur effet physiologique mais aussi à leur importance technologique dans le développement de la texture et du goût.

Les systèmes protéolytiques des Lactobacilles telles que *Lactococcus lactis* (Song et al., 2017), *Lactobacillus helveticus* (Griffiths et al., 2013) et *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (Jean et al., 2006) sont maintenant bien connus. Ces systèmes sont constitués de plusieurs protéines attachées à la paroi cellulaire et de plusieurs protéines intracellulaires, notamment des endopeptidases, des aminopeptidases, des tryptidases et des dipeptidases (Sasaki et al., 1995).

Certaines études ont montré que l'utilisation de plusieurs fermentations en combinaison avec l'hydrolyse enzymatique, augmentent la production de peptides bioactifs. Une autre étude a rapporté que les produits laitiers fermentés avec une amorce de culture mixte commerciale contenant cinq souches de Lactobacilles, augmentent l'activité inhibitrice de l'ECA (Chen et al., 2007). Le traitement du lait par la trypsine avant la fermentation avec des cultures amorces de yaourt, entraîne la formation de produits riches en phosphopeptides. Dans ces échantillons, les productions des phosphopeptides de calcium (CPP)  $\beta$ -caséines et  $\alpha$ s1-caséine, ont été rapporté. Cependant, la protéolyse n'était pas significative dans les échantillons uniquement fermentés (Lorenzen et al., 2005).

En plus des micro-organismes vivants, des enzymes protéolytiques isolées de Lactobacilles ont été utilisés avec succès pour générer des peptides bioactifs à partir de protéines de lait. Dans une étude, l'activité inhibitrice de l'ECA du produit d'hydrolyse de la caséine a été mesurée à l'aide de cinq enzymes protéolytiques commerciales différentes. Parmi ces enzymes, une protéase isolée de *Aspergillus aureus* a produit des peptides avec la plus forte activité inhibitrice de l'ECA *in vitro* par rapport aux autres peptides (Mizuno et al., 2005).

### **4.3. Synthèse chimique des peptides**

Les peptides bioactifs sont produits à partir d'unités d'acides aminés, selon un processus chimique bien défini. Actuellement, il existe deux stratégies principales, à savoir les synthèses en phase soluble et en phase solide. La synthèse par la méthode hybride est parfois utilisée pour produire des peptides pharmaceutiques. La proportion du type des groupes protecteurs utilisés dans la structure des acides aminés et la méthode de déprotection est l'étape clé dans la synthèse de peptides bioactifs (Conibear et al., 2018).



La synthèse chimique des peptides par des méthodes en phase soluble a été utilisée pour la première fois en 1953, pour la production de l'insuline en tant que peptide pharmaceutique ; par la réaction d'acides aminés dans un milieu soluble. L'avantage le plus important de ces méthodes est économique. En outre, la purification à chaque étape de la synthèse utilise des matériaux et des équipements pas coûteux. Ce procédé permet la synthèse des peptides thérapeutiques d'une longueur de 3 à 20 acides aminés disponibles dans les marchés mondiaux (Bray, 2003).

Une des limites de cette méthode est la production d'intermédiaires indésirables. Pour obtenir le produit pur souhaité, chaque composé initial doit subir des modifications pour pouvoir passer à l'étape suivante et devenir éventuellement un peptide actif. En conséquence, le processus global de synthèse d'un peptide actif de cette manière est souvent long et difficile (Kent, 2019). Les principaux problèmes de cette méthode sont l'insolubilité des longues chaînes peptidiques dans les solvants organiques, le long temps de synthèse et la quantité de déchets chimiques.

La méthode de synthèse des peptides en phase solide a été inventée en 1963. Des substances insolubles se lient comme agents protecteurs, à la fonction amine du premier acide aminé et aux groupements des chaînes latérales ; puis les acides aminés se fixent au lit de résine *via* la fonction carboxyle. Par la suite, ces substances se dissocient de l'extrémité amine et se préparent à réagir avec le deuxième acide aminé. Un composé de couplage est utilisé pour lier les acides aminés les uns aux autres. Les réactions seront ensuite répétées pour obtenir le peptide désiré (Albericio et El-Faham, 2018 ; Lawrenson et *al.*, 2017).

La simplicité de cette méthode a permis de produire en masse des peptides bioactifs, étant plus simple et plus rapide que la synthèse en phase soluble. Des peptides thérapeutiques tels que le ziconotide, l'exanatide, le pramlintide et le degarelix, ont été synthétisés par cette méthode et sont disponibles sur le marché pharmaceutique (Banga, 2015). Le ziconotide, un analgésique puissant, a démontré son efficacité dans le soulagement des douleurs chroniques sévères, en particulier celles liées à la neuropathie (Staats et *al.*, 2004). L'exénatide, un médicament antidiabétique, a été largement utilisé pour contrôler la glycémie chez les patients atteints de diabète de type 2 (Drucker et *al.*, 2008). De même, le pramlintide, souvent prescrit en complément de l'insuline, a montré des effets bénéfiques dans la gestion de la glycémie après les repas chez les personnes atteintes de diabète de type 2 (Ratner et *al.*, 2004). Enfin, le dégarelix, utilisé dans le traitement du cancer avancé de la prostate, s'est avéré efficace en bloquant les effets des hormones sexuelles masculines

pour ralentir la croissance des cellules cancéreuses (Klotz et *al.*, 2008). Ces médicaments ont été étudiés et évalués dans des essais cliniques et leur utilisation est soutenue par des preuves scientifiques solides.

Plus tard, les ondes radio ont été utilisées pour accélérer encore la synthèse des peptides (Yu et *al.*, 1992). Actuellement, cette méthode est largement utilisée pour produire des médicaments bien connus, tels que l'antibiotique gramicidine A ou la glycoprotéine CSF114 utilisée pour le diagnostic clinique de la sclérose en plaques (Goodwin et *al.*, 2012).

Ces dernières années, la production chimique de peptides par la méthode en phase solide à l'aide de fluorénylméthoxycarbone (Fmoc) comme revêtement des groupements chimiques, est très utilisée. Dans cette méthode, le Fmoc, sert à protéger les chaînes latérales d'acides aminés. Ainsi, la réaction est dirigée dans le sens de la synthèse souhaitée (Li et *al.*, 2019).

Cependant, l'inconvénient majeur de la synthèse en phase solide, est le besoin important de substances chimiques pour démarrer le processus (Kaur, 2018). Dans l'ensemble, les méthodes chimiques mentionnées précédemment utilisent des substances toxiques. Par exemple, le diméthylformamide et le dichlorométhane, sont très nocifs pour l'environnement (Lawrenson et *al.*, 2017).

#### **4.4. Production recombinante**

La production recombinante des peptides bioactifs est réalisée par expression des gènes peptidiques. Selon que le système d'expression est *in vivo* ou *in vitro*, la production recombinante est divisée en deux groupes différents.

Pour le système d'expression *in vivo*, le gène peptidique souhaité est généralement associé à un gène protéique. La protéine porteuse peut être facilement purifiée. L'un des avantages de cette méthode est d'obtenir une production en masse du peptide souhaité. Des peptides de divers médicaments ont été obtenus par cette méthode, dont l'écallantide et la désirudine, qui ont une longueur de 60 à 65 acides aminés et sont exprimés chez des levures (Ingham et Moore, 2007 ; Antosova et *al.*, 2009). La première protéine est exprimée dans la souche *Pichia pastoris* (Lehmann et *al.*, 2008), tandis que la seconde est exprimée dans la souche *Saccharomyces cerevisiae* (Jennifer, 2007).

Pour le système d'expression *in vitro*, également appelé système sans cellule, tous les composants nécessaires à la transcription et à la traduction d'un gène peptidique sont présents *in vitro*. Dans un tel environnement, la synthèse peptidique a lieu en l'absence de cellule. L'un des avantages de cette méthode est la grande rapidité d'obtention du produit souhaité (Ozawa et al., 2007). Cependant, en raison du coût de cette méthode, elle est utilisée pour des peptides spécifiques et plus encore à l'échelle du laboratoire et de la recherche.

Néanmoins, de nombreux peptides pharmaceutiques sont actuellement produits à partir d'une combinaison de synthèse chimique et recombinante. Dans ce procédé, tout d'abord, un peptide est produit à partir du gène souhaité par le procédé biologique. Le peptide médicament, est ensuite modifié chimiquement par des méthodes chimiques (Andersson et al., 2000).

L'un des peptides qui a fait son entrée sur le marché mondial des médicaments de cette manière, est appelé le liraglutide, utilisé pour réguler la glycémie chez les patients atteints de diabète de type II. Ce peptide a été approuvé en 2010 par la *Food and Drug Administration*. Il est similaire à l'hormone glucagon et est exprimé de manière recombinante chez le *Saccharomyces cerevisiae* (Drucker et al., 2010) ; sur lequel un lipide de 16 carbones est fixé chimiquement sur son 27ème résidu de lysine. Cette réaction augmente la similarité fonctionnelle de ce peptide avec l'hormone glucagon (Drucker et al., 2010).

L'ingénierie des peptides bioactifs est un domaine de recherche qui a, récemment, attiré beaucoup d'attention. L'objectif de ce procédé, est d'augmenter l'efficacité et la stabilité de ces biomolécules. L'insuline peut être citée comme exemple du premier peptide thérapeutique modifié. Cette hormone est souvent conçue en remplaçant un à trois acides aminés. Le but de cette action est de produire de l'insuline qui a un effet plus long et peut, mieux, jouer le rôle d'insuline naturelle dans l'organisme (Akbarian et al., 2019). Actuellement, une variété de médicaments sont produits à partir d'insuline, chacun ayant ses propriétés uniques en tant que médicament à base d'insuline et même sa méthode d'administration.

## 5. Sources des peptides bioactifs

Les peptides bioactifs sont souvent dérivés de sources animales et végétales qui sont

## 5.1. Sources animales

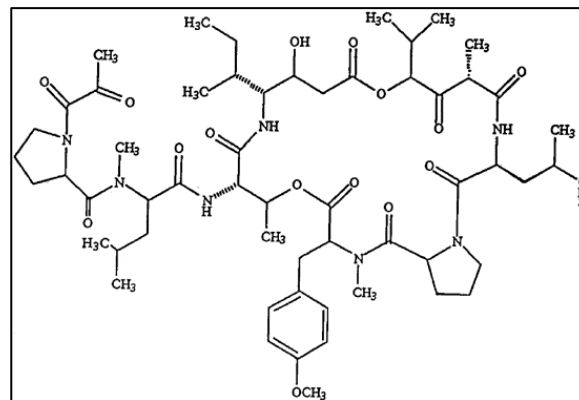
Les sources animales comprennent des produits laitiers tels que le lait et ses dérivés (fromage, yaourt), ainsi que des viandes et des poissons et également extraits de sources marines, comme les algues, les mollusques et les crustacés. Le sang est une source importante et riche de protéines animales facilement disponibles et abondantes dans les abattoirs et protéines du lait. D'autres sources animales de peptides bioactifs comprennent la viande rouge et les animaux marins.

### 5.1.1. Sources marines

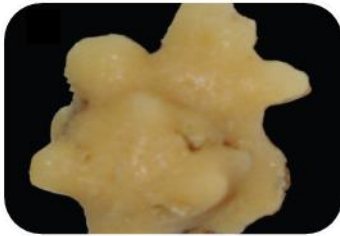
Les mers représentent environ 75% de tous les organismes vivants. ses organismes ont une adaptation unique de dans des environnements sombres, froids et à haute pression au cours de leur évolution. ils ont pu exprimer diverses protéines pour surmonter ces incompatibilités environnementales, qui peut être une source énorme et inconnue de peptides bioactifs. De nombreux peptides et protéines hydrolysés dérivent de sources marines, y compris les mollusques, les crustacés et les déchets de la pêche (tête, intestins, peau et nageoires). L'hydrolyse de thon par la protéase thermolysine donne un oligopeptide antihypertenseur, commercialisé aux Japon, aux USA et au Canada. Un peptide de cabillaud, Nutripeptin, réduit le glucose sanguin, est disponible sur le marché américain (Boukhalifa, 2015). Ces protéines sont capables de promouvoir la santé humaine et de prévenir les maladies chroniques (Harnedy & FitzGerald, 2012). Jusqu'à présent, de nombreuses études ont examiné les propriétés thérapeutiques des peptides bioactifs aquatiques (*in vitro*), et moins d'études ont été réalisées sur des modèles animaux ainsi que sur des humains. D'énormes volumes de déchets de poisson sont extraits chaque année dans les entreprises de transformation aquacole, qui représentent jusqu'à 75 % du poids total des prises (Akbarian *et al.*, 2022). La conversion des déchets de pêche en composés de valeur est une solution appropriée pour réduire la pollution de l'environnement et constitue une utilisation optimale des déchets aquatiques (Rustad *et al.*, 2011). Récemment, les peptides marins ont donné un nouvel élan au développement de la pharmacie (Mohebby *et al.*, 2014 ; King , 2013). Les peptides découverts à partir d'organismes marins stimulent la mort cellulaire par divers mécanismes, notamment l'apoptose, l'effet sur l'équilibre tubuline-microtubule, l'inhibition de l'angiogenèse, les effets antiprolifératifs et les effets cytotoxiques. Ces faits ont introduit les peptides bioactifs marins comme un nouveau choix pour obtenir de nouvelles molécules dans la recherche biomédicale. De nombreux peptides bioactifs à

potentiel anticancéreux (**Tableau 1**), ont été extraits de divers organismes marins, tels que des éponges et des mollusques (Jo *et al.*, 2017). Certains de ces produits, tel que l'aplidine de *Trididemnum solidum ascidie*, est un peptide cyclique (**Figure 6**) à activité antitumorale (Banaigs et Kornprobst, 2007), est maintenant disponible dans les officines ; et d'autres sont à diverses phases d'essais cliniques.

Environ 10 000 types d'éponges ont été trouvés dans le monde (Voultsiadou, 2005). À ce jour, une large gamme de peptides bioactifs a été découverte dans seulement 11 espèces d'éponges. Parmi eux, trois genres (**Figure 7**) : Discodermie, Pétrosia, et Haliclona, peuvent fabriquer des peptides anticancéreux et anti-inflammatoires efficaces.



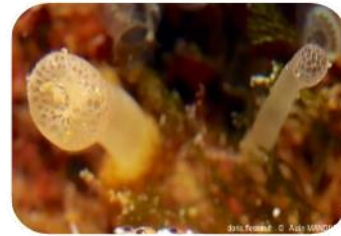
**Figure 6:** Structure de l'aplidine  
(Broggini *et al.*, 2003)



*Discodermia verrucosa*



*Petrosia ficiformis*



*Haliclona (Halichoelona) latens*

**Figure 7:** Photographies d'éponges marines

([https://bioobs.fr/blog/fiche-espece/?id\\_espece=179](https://bioobs.fr/blog/fiche-espece/?id_espece=179))

**Tableau 1:** Les peptides d'organismes marins et leurs activités thérapeutiques (Akbarian, 2022).

Peptide	Organism	Function
<b>Peptide extracts</b>	<i>Bacillariophyceae</i>	Antihypertensive/antioxydant
<b>Peptide extracts</b>	<i>Discodermiu kiiensis</i>	Antimicrobial
<b>Azonazine</b>	<i>Aspergillus insulicola</i>	Anti-inflammatory
<b>Wewakazole</b>	<i>L. majuscula</i>	Anticancer
<b>Mirabamide A-C-D</b>	<i>Sponges</i>	anti-HIV
<b>Aplidine</b>	<i>Aplidium</i>	Anticancer
<b>Arenastatin A</b>	<i>Dysidea arenaria</i>	Anticancer
<b>Aurilide</b>	<i>Dolabella auricularia</i>	Anticancer
<b>Didemnin</b>	<i>Trididemnum sp.</i>	Anticancer
<b>Dolastatin</b>	<i>Dolabella auricularia</i>	Anticancer
<b>Geodiamolide H</b>	<i>Geodia sp.</i>	Anticancer
<b>Homophymines</b>	<i>Homophymia sp.</i>	Anticancer
<b>Jaspamide</b>	<i>Jaspis sp., Hemiastrella sp.</i>	Anticancer
<b>Kahalalide F</b>	<i>Elysia rufescens, Spisula polynyma</i>	Anticancer
<b>Keenamamide A</b>	<i>Pleurobranchus forskalii</i>	Anticancer
<b>Mollamide</b>	<i>Didemnum molle</i>	Anticancer
<b>Phakellistatins</b>	<i>Phakellia carteri</i>	Anticancer
<b>Tamandarins A and B</b>	<i>Didemnum sp.</i>	Anticancer

Bien que ces composés aient une large gamme d'activités biologiques, ils sont difficiles à purifier en quantités suffisantes pour des essais pharmaceutiques (Wesson et *al.*, 1996). Le jaspamide est un peptide cyclique isolé d'éponges du genre *Jaspis* et *Hémiastrelle* et englobe un grand anneau de 17 carbones et trois acides aminés qui peuvent induire l'apoptose dans les cellules de leucémie humaine (HL-60) (Wesson et *al.*, 1996 ; Ford et *al.*, 1999). Environ neuf nouveaux peptides cycliques, homophyminiques B-E et A1-E1, ont été isolés de l'éponge *Hamophimia*, qui ont une activité cytotoxique puissante contre plusieurs lignées de cellules cancéreuses humaines. Les homophymines A1-E1, qui ont quatre structures d'acide amino-6 carbamoyl-2, 3-dihydroxy hexanoïque, ont une plus grande puissance que les composés AE correspondants avec le même squelette (Zampella et *al.*, 2008), indiquant l'importance du contenu chimique des peptides bioactifs. Le peptide Géodiamolide H, extrait de l'éponge marine : *Geodia corticostylifera*, agit contre le cancer du sein en perturbant l'équilibre de l'actine intracellulaire.

Les tétradécapeptides discodermin sont un autre groupe de peptides antiseptiques extraits de l'éponge *Discodermie*. Le peptide : phakellistatine, isolé de *Phakellia carteri* inhibe la croissance des cellules leucémiques. Un autre composé apparenté est la phakellistatine 13, de l'éponge *Phakellia fusca*, a des propriétés destructives des cellules cancéreuses hépatiques BEL-7404 (Kerr et Kerr, 1999 ; Wu et *al.*, 2020).

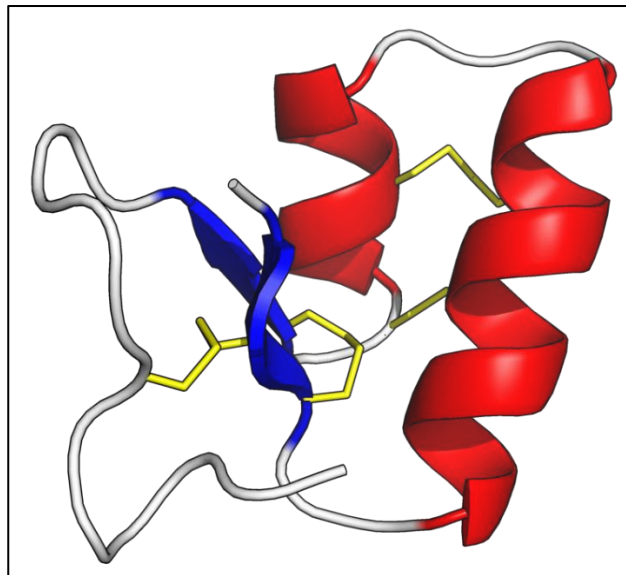
## 5.2. Sources végétales

Les sources végétales de peptides bioactifs sont généralement riches en protéines, telles que les légumineuses (haricots, pois chiches, lentilles), les céréales (blé, riz, maïs) et les oléagineux (amandes, noix). Les végétaux sont une source riche de protéines sans acides gras saturés. Ces peptides peuvent avoir des fonctions importantes chez l'homme. Les activités antidiabétiques, immunomodulatrices, antimicrobiennes, hypocholestérolémiantes, opioïdes, antihypertensives et antioxydantes font partie de ces avantages. Les sources végétales de peptides bioactifs, en raison de leur rapport coût-efficacité et de leurs effets immunogènes faibles, ont récemment fait l'objet d'une plus grande attention de la part des experts dans ce domaine (Akbarian, 2022).

La plupart des protéines végétales sont incomplètes en raison d'un manque d'acides aminés essentiels. Cependant, la protéine de germe de blé contient des acides aminés essentiels et est donc classée aussi précieuse que les protéines animales, telles que la viande ou les œufs de poule (Salas et *al.*, 2015).



D'un point de vue immunologique, la peau et ses composants constituent le premier niveau de défense contre les micro-organismes envahisseurs. La même règle est plus ou moins vraie pour les plantes. Les peptides antimicrobiens présents dans les plantes aident également les plantes dans les premiers stades de la lutte contre les micro-organismes envahisseurs. Des peptides antimicrobiens avec des plaques bêta ont été identifiés dans les plantes, avec deux groupes de ces peptides bien étudiés, notamment la thionine et les défensines. Les thionines (**Figure 8**), sont les premiers peptides identifiés provenant de plantes qui jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les bactéries envahissantes.



**Figure 8: Structure de la thionine**

( <https://en.wikipedia.org/wiki/Thionin> )

Ce groupe de peptides est toxique pour une variété de bactéries (Jenssen et *al.*, 2006). Bien que les peptides dérivés de plantes agissent pour inhiber la croissance de divers types de micro-organismes, il existe des classifications plus détaillées, telles que les antiviraux, les antifongiques et les antiparasitaires (**Tableau 2**). Il est probable que l'activité antibactérienne des peptides est due à la présence de motifs riches en acides aminés positifs et à la nature amphiphile de la séquence peptidique (Boman, 2000 ; Powers et *al.*, 2004). Ces propriétés les aident à pénétrer la membrane bactérienne pour créer des pores et éliminer les bactéries.

De nombreuses molécules végétale à activité antifongique et antiviral, se composent de plus de 50 résidus d'acides aminés telles que l'albumine 2S de *Malva parviflora* (Stotz et *al.*, 2009 ; Nawrot, 2014) , les protéines de transfert des lipides (LTP) (Stotz et *al.*, 2009 ;Stec, 2006), et les purroindolines (Liu et *al.*, 2000 ; Terras et *al.*, 1995). Ils sont omis ici car ils n'appartiennent pas à la catégorie des peptides.

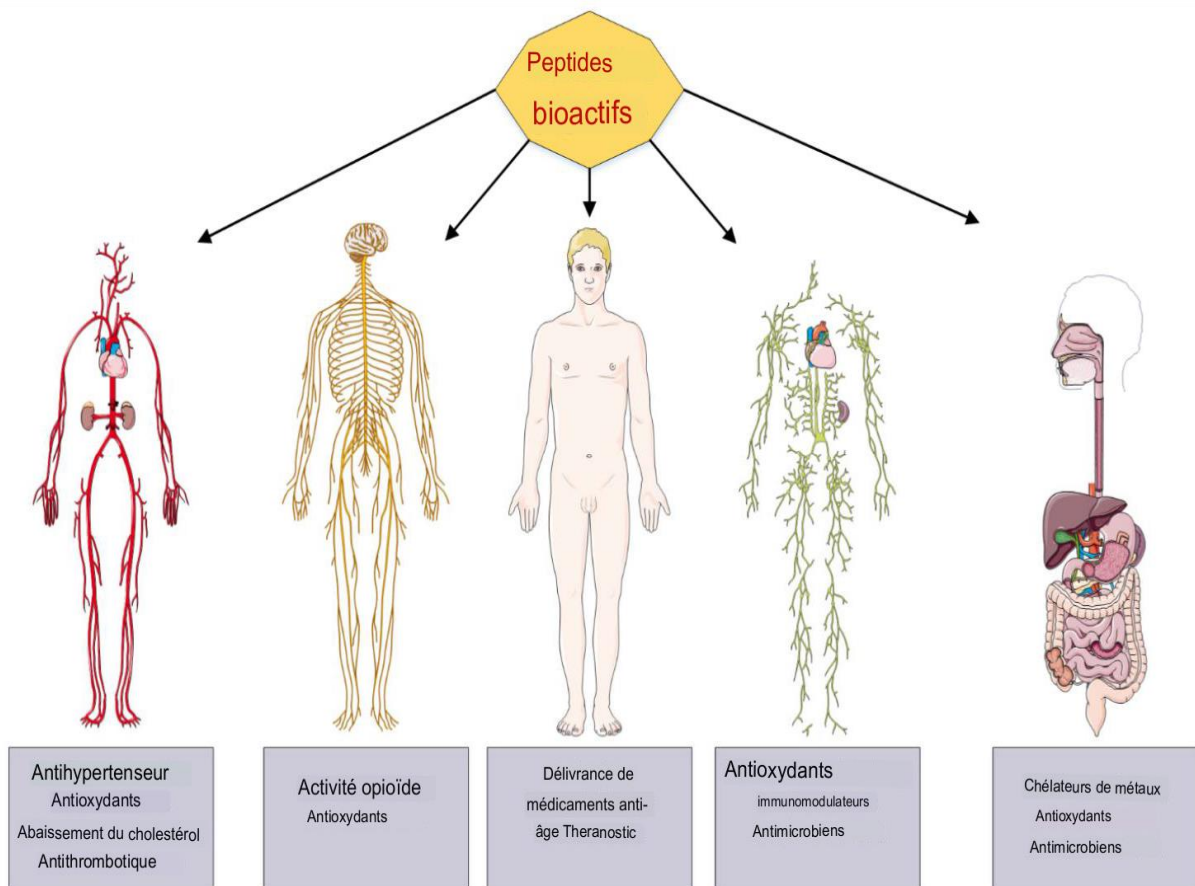
**Tableau 2** : Les peptides antimicrobiens d'origine végétale (Akbarian, 2022)

Plant	Peptide	Peptide Size	Biological Activity
<i>Hevea brasiliensis</i>	Heveins	43 residues, 4.7 kDa	Antibacterial and antifungal
<i>Phaseolus vulgaris</i>	ND	2.2 and 6 kDa	Antibacterial and antifungal
<i>Brassica napus</i>	Peptides	ND	Antiviral
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Shepherins	28 residues	Antibacterial and antifungal
<i>Higher plants</i>	Thionins	45–47 residues	Antibacterial
<i>Oldenlandia affinis</i>	Cyclotides	28–37 residues	Antibacterial, Antifungal, Insecticide, Nematicide
<i>Phytolacca americana</i>	PAFP-S	36–37 residues	Antibacterial
<i>Triticum aestivum</i>	Alpha-1-purothionin	45 residues	Antibacterial
<i>Triticum aestivum</i>	Defensins	5 kDa	Antibacterial and antifungal
<i>Benincasa hispida</i>	Hispidulin	5.7 kDa	Antibacterial and antifungal

ND: not determined.

## 6. Fonctions physiologiques des peptides bioactifs

Depuis l'émergence des applications bénéfiques des peptides bioactifs dans la santé et la nutrition ; ces composés ont suscité un intérêt particulier dans les cas des maladies et des troubles qui n'ont pas une réelle stratégie de traitement. Ces peptides bioactifs naturellement présents dans de nombreux aliments, peuvent agir comme supplément dans la gestion de plusieurs maladies et alternativement à titre préventif pour les personnes qui en sont génétiquement prédisposées pour les différentes activités qui sont entre autres : antihypertenseur, antimicrobien, opioïde, antioxydant, anticancéreux, osteoprotecteur, réducteur de cholestérol et antidiabétique (**Figure 9**).



**Figure 9:** Les différentes fonctions physiologiques des peptides bioactifs sur l'homme (Akbarian et al., 2022)

## 6.1. Peptides antihypertenseurs

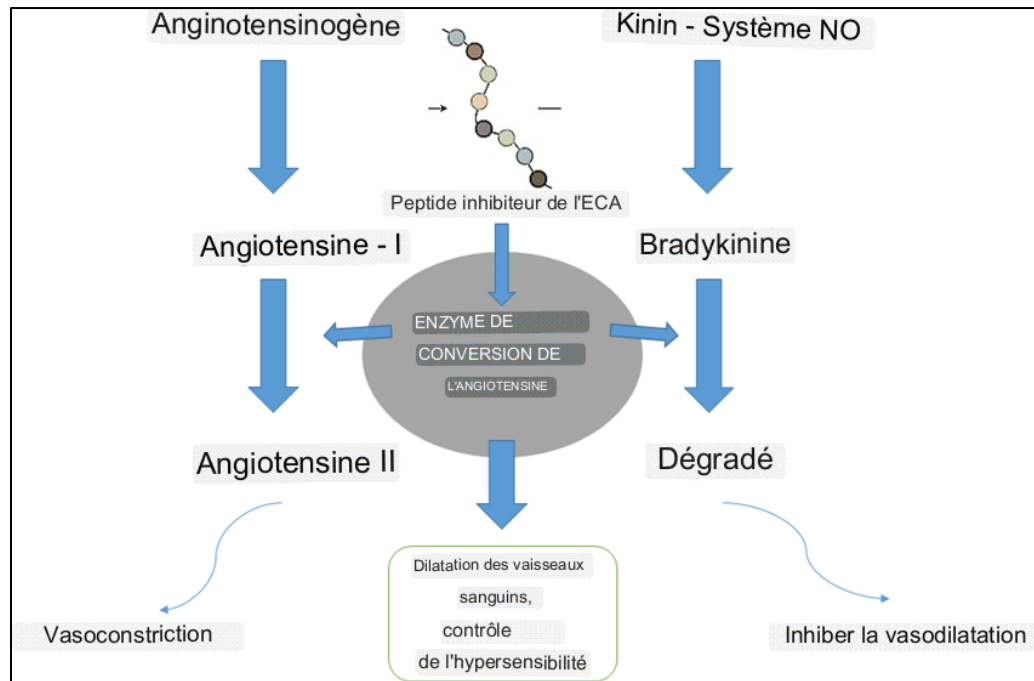
L'hypertension est l'une des pathologies les plus inquiétantes dans les sociétés modernes et peut entraîner de nombreuses maladies graves, notamment des troubles cardiaques et vasculaires, des maladies rénales, de l'artériosclérose et des accidents vasculaires cérébraux (OMS, 2014).

La pression artérielle est physiologiquement contrôlée par le système rénine-angiotensine (RAS) et le système kinine-oxyde nitrique (NO). L'enzyme de conversion de l'angiotensine-I (ECA) est l'enzyme la plus importante dans la régulation de la pression artérielle car elle catalyse la conversion de l'angiotensine-I, une hormone peptidique, en angiotensine-II, ce qui entraîne une vasoconstriction. Les peptides inhibiteurs de l'ECA inhibent la conversion entraînant une dilatation des vaisseaux sanguins et, par conséquent, contrôlent l'hypertension. De plus, l'ECA dégrade la bradykinine produite par le système kinine-NO, qui a des propriétés vaso-dilatatrices. Par conséquent, les inhibiteurs de l'ECA contrôlent la pression artérielle avec la prévention des maladies cardiovasculaires (**Figure 10**), (Kohama et *al.*, 1991).

L'étude de la bioactivité des inhibiteurs de l'ECA est l'une des plus fréquemment décrites dans la littérature sur la découverte des biopeptides (Lee et *al.*, 2017). Les peptides inhibiteurs de l'ECA sont généralement des peptides à chaîne courte avec 2 à 12 acides aminés. Cependant, des peptides de longues chaînes ont également été signalés, car l'effet d'inhibition a été lié aux acides aminés C-terminaux.

Typiquement, les peptides inhibiteurs de l'ECA contiennent des acides aminés très acides (Asp et Glu), des acides aminés chargés positivement comme l'arginine à l'extrémité C-terminale et des acides aminés hydrophobes en particulier pour les dipeptides. La même activité a également été signalée comme étant influencée par la présence des acides aminés : Tyr, Phe, Trp, Pro, Lys, Ile, Val, Leu et Arg.

Plus en détail, pour les tripeptides, un acide aminé aromatique est généralement le premier résidu, suivi d'un résidu chargé positivement et d'un résidu hydrophobe. Les tétrapeptides contiennent généralement Tyr et Cys comme premier résidu, His, Trp et Met comme deuxième, Ile, Leu, Val et Met comme troisième et Trp comme dernier résidu (Daskaya-Dikmen et *al.*, 2017).



**Figure 10:** Mécanisme d'action de l'activité antihypertensive des peptides bioactifs (Bhandari et al., 2019)

## 6.2. Peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont connus pour exercer des effets directs sur un certain nombre de microorganismes notamment sur des bactéries, des levures et des virus. En outre, de nombreux AMP présentent des activités supplémentaires telles que des activités antioxydantes (Memarpoor-Yazdi et al., 2012).

Les AMP peuvent tuer directement les bactéries soit en faisant des pores à travers la membrane cellulaire des bactéries (Zhang, 2017) ou en interagissant avec des macromolécules à l'intérieur des cellules microbiennes (Shah et al., 2016). Ils ont une toxicité sélective vis-à-vis des pathogènes bactériens sans altérer le tissu hôte. La paroi cellulaire microbienne, constituée de lipoprotéines, est la principale cible des AMP.

Les AMP contiennent principalement une structure hélicoïdale  $\alpha$  qui est de nature cationique et amphipathique. Cette partie cationique des peptides est responsable de l'interaction

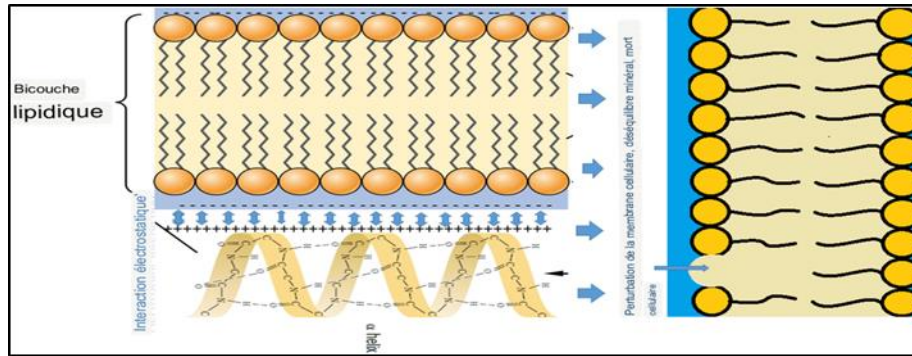
électrostatique avec les phospholipides anioniques conduisant à la formation de pores dans la membrane plasmique. En raison de la formation de pores, il se produit un déséquilibre ionique à travers la membrane et, par conséquent, une lyse cellulaire (**Figure 11**). De plus, ces AMP s'assemblent sur la surface de la membrane cellulaire et s'y incorporent (Shai *et al.*, 1999).

Les AMP ont une double propriété : d'une part, ils protègent l'hôte contre les agents pathogènes nocifs grâce à une activité antimicrobienne, et d'autre part, ils protègent l'hôte des effets nocifs des réponses inflammatoires excessives. En d'autres termes, ces peptides stimulent la production de cytokines pro-inflammatoires, augmentent l'accumulation de cellules dendritiques et de monocytes au site de la lésion, augmentent la phagocytose et la maturation des cellules dendritiques, et protègent ainsi l'organisme. De ce fait, ces peptides ont à la fois des rôles pro-inflammatoires et anti-inflammatoires (Agier *et al.*, 2015).

Il a été rapporté que les AMP riches en acides aminés chargés positivement tels que l'arginine et la lysine pénètrent dans les cellules en induisant une voie endocyttaire dépendante de l'énergie telle que la micropinocytose (Guterstam, 2009). De plus, le pouvoir antimicrobien d'un AMP cationique est directement lié au produit de sa charge, de son hydrophobicité et de sa longueur (Volet *et al.*, 2017).

Récemment, Zhang *et al.* (2017) ont découvert que le peptide (ELLLNPTHQIYPVTQPLAPV), isolé du colostrum humain tue les bactéries par destruction de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique.

L'hydrolyse d'une protéine de poisson appelé Scorpène avec une protéase neutre de *Trichoderma harzianum*, a montré des activités antimicrobiennes remarquables. Le peptide FPIGMGHGSRPA a été isolé de l'hydrolysate et s'est avéré capable d'inhiber un groupe de bactérie : *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Listeria innocua*, *Salmonella* sp, et *E. coli* (Tang *et al.*, 2015).



**Figure 11** : Action antimicrobienne de peptides bioactifs (Bhandari et *al.*, 2019)

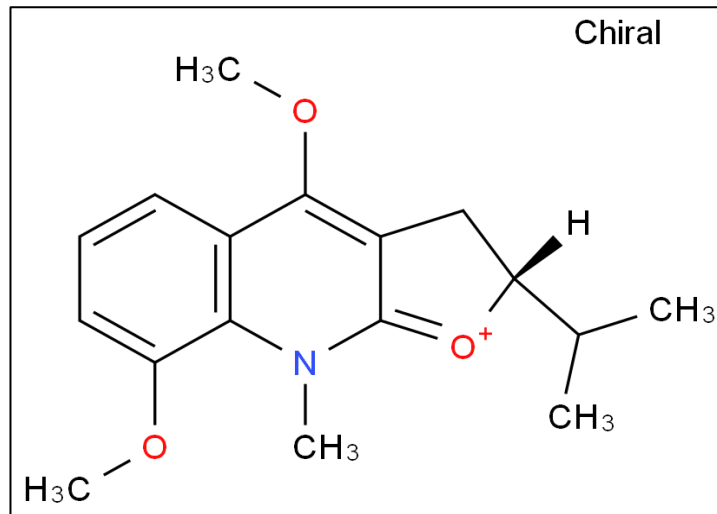
### 6.3. Peptides anticancéreux

La majorité des études sur les propriétés anticancéreuses des peptides est réalisée sur la lunasine : un peptide isolé à partir de graines de soja et de céréales (Wang et *al.*, 2008).

La lunasine (**Figure 12**) serait impliquée dans les mécanismes de modification de la chromatine, procédé intervenant dans le contrôle du cycle cellulaire et dans l'inhibition des tumeurs (De Mejia et *al.*, 2004). Elle pourrait également empêcher la transformation des cellules mammaires causée par des composés chimiques carcinogènes ou des oncogènes viraux et ralentir la prolifération cellulaire au niveau de l'épiderme, prévenant ainsi l'apparition de cancers de la peau (Lam et *al.*, 2003 ; De Lumen, 2005).

Il a été démontré que deux peptides du jus de cuisson du thon, l'un de 22 acides aminés de la séquence suivante : (KPEGMDPLSEPEDRRDGAAGPK) et l'autre de 23 résidus avec la séquence suivante : (KLPPLLAKLLMSGKLLAEPCTGR), présentent une forte activité antiproliférative dans la lignée cellulaire de cancer du sein MCF-7. Ces peptides ont induit un arrêt cellulaire en phase S en augmentant l'expression des gènes p21 et p27. Le premier est celui de l'inhibiteur des activités kinases des CDK (cycline kinase dépendante) impliquées dans la progression du cycle cellulaire, et le second contrôle la progression dans le cycle cellulaire en liant et inactivant les complexes cycline-CDK tout en diminuant l'expression de la cycline A, protéine de régulation du cycle cellulaire (Hung et *al.*, 2014).





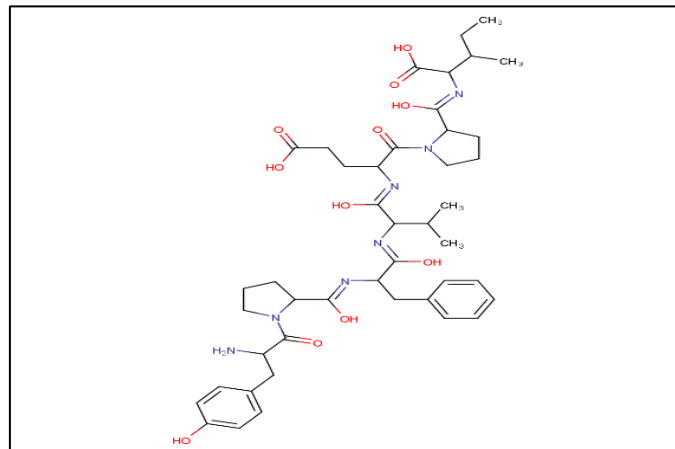
**Figure 12** : Structure de la lunasine  
[https://www.guidechem.com/dictionary\\_keys\\_lunasine.html](https://www.guidechem.com/dictionary_keys_lunasine.html)

#### 6.4. Peptides opioïdes

Le terme « opioïdes » englobe les composés extraits de la graine de pavot ainsi que les composés semi-synthétiques et synthétiques aux propriétés analogues susceptibles d'interagir avec les récepteurs opioïdes du cerveau. Les opioïdes ont des effets analgésiques et sédatifs et sont couramment utilisés pour la prise en charge de la douleur (OMS, 2019).

Les caractéristiques structurelles typiques associées aux peptides capables d'activer les récepteurs opioïdes comprennent le résidu Tyr (Y) dans la région N-terminale, précédé d'un résidu Phe (P) et d'un autre acide aminé aromatique P ou Y en troisième ou quatrième position à partir de l'extrémité N-terminale. Les casomorphines (**Figure 13**), peptides opioïdes du lait, ont été les premiers découverts et restent les plus étudiés (Hettiarachchy et *al.*, 2012).

Néanmoins, des rapports font état de peptides opioïdes provenant également des sources végétales. Le gluten, la gliadine, l'hordéine et la zéine, et les hydrolysats de la ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco), présentent une activité opioïde. Des exemples de peptides opioïdes provenant de légumes comprennent la rubiscoline 6 (YPLDLF), un peptide dérivé de la Rubisco de l'épinard et capable de stimuler la prise alimentaire ; et la gliadinomorphine 7 (YPQPQPF) un peptide de l' $\alpha$ -gliadine ; le peptide du gluten de blé (GYYPT), qui a montré une activité agoniste des opioïdes (Dhaval et *al.*, 2016)



**Figure 13:** La structure de la Casomorphine

[https://www.guidechem.com/dictionary\\_keys\\_casomorphine.html](https://www.guidechem.com/dictionary_keys_casomorphine.html)

## 6.5. Peptides antioxydants

Les peptides à capacité antioxydante sont bénéfiques pour la santé ; ils aident à lutter contre le stress oxydatif. L'activité antioxydante est également importante dans l'élaboration et le stockage des produits alimentaires. L'oxydation des lipides est le principal facteur de détérioration des aliments pendant le stockage et la transformation, produisant des changements indésirables de couleur, de saveur, de texture et de profil nutritionnel, ainsi que des produits de réaction potentiellement toxiques. De plus, contrairement aux antioxydants non protéiques, les peptides antioxydants peuvent également présenter d'autres bio activités bénéfiques (Mine et *al.*, 2010).

Les acides aminés, qui peuvent transférer les électrons à pH physiologique sont considérés comme capables de participer aux activités antioxydantes. Il s'agit de l'histidine, la cystéine, la proline, la méthionine et d'autres acides aminés aromatiques. Les acides aminés aromatiques chélatent parfois les ions métalliques pro-oxydants ou piègent le radical OH. Ainsi, chaque acide aminé, selon son type, contribue en tant qu'antioxydant à sa manière (Zhuang et *al.*, 2013). Il existe d'autres mécanismes, suivis par les peptides pour renforcer l'action antioxydante tels que la chélation des métaux, le pouvoir réducteur ferrique, ... (Poljsak et Milisav, 2013).

La plupart des peptides antioxydants d'origine alimentaire comprennent des acides aminés hydrophobes tels que la valine ou la leucine à l'extrémité N-terminale et la proline, l'histidine, la tyrosine, le tryptophane, la méthionine et la cystéine dans leur séquence. Les acides aminés

hydrophobes peuvent augmenter l'affinité des peptides dans la phase lipidique y facilitant ainsi l'accès aux radicaux libres produits (Zou et *al.*, 2016).

Des peptides à activité antioxydante ont été récemment signalés dans des hydrolysats de graines de cacao, bien que l'activité n'ait été testée qu'*in vitro* et aucune identification des peptides actifs n'ait été fournie (Tovar-Perez et *al.*, 2017).

## 6.6. Peptides ostéoprotecteurs

Ostéoprotecteur signifie littéralement protéger les os. L'ostéoporose est une maladie chronique, mais largement évitable, car la minéralisation osseuse peut être améliorée avec des apports suffisants de calcium soluble (Kitts et *al.*, 1992). Le lait est une source bien connue de calcium et contient en plus de la caséine qui augmente son absorption dans l'intestin et est donc ostéoprotecteur. Les caséinophosphopeptides (CPP), formés lors de la digestion de la caséine dans le tractus gastro-intestinal, sont également capables de chélater le calcium. Le complexe formé est soluble, améliore l'absorption de ce minéral à travers les entérocytes dans l'intestin distal (Kansai et *al.*, 1992).

Il a été constaté que dans les composants du lait, les peptides antioxydants dérivés du lactosérum tel que (YVEEL), ont montré une activité ostéoprotectrice supérieure à celle du peptide inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (YLLF) (Pandey et *al.*, 2018). Un autre peptide dérivé de la caséine de lait (NAVPITPTL) a montré une activité ostéoprotectrice (Reddi et *al.*, 2018).

## 6.7. Peptides réducteurs de cholestérol

L'organisme a besoin de niveaux sains de cholestérol pour la production de vitamine D et d'hormones stéroïdes ainsi que d'acides biliaires. Pourtant, un excès de cholestérol dans le sang pourrait former des plaques dans les artères entraînant une artériosclérose. Les plaques de cholestérol dans l'artère coronaire pourraient réduire l'apport d'oxygène au cœur et entraîner des maladies cardiovasculaires. Les agents chimiques destinés à réduire le cholestérol sanguin peuvent entraîner des lésions ou une insuffisance hépatique, une myopathie (Mancini et *al.*, 2016).

Les peptides CSP1, CSP2, CSP3 isolés des graines de cumin, répriment la formation de micelles de cholestérol et adhèrent aux acides biliaires en inhibant l'activité de la lipase, ce qui entraîne un effet hypocholestérolémique (Siow et Gan, 2016).

Les oligopeptides dérivés de la séricine, une des protéines de la soie, ont supprimé les taux sériques de cholestérol total et de cholestérol lié aux lipoprotéines de haute densité (HDL) chez les rats nourris avec un régime riche en cholestérol. Les peptides réduisaient la solubilité du cholestérol dans les micelles lipidiques et inhibaient l'absorption du cholestérol dans la monocouche des cellules Caco-2 : une lignée cellulaire tumorale humaine d'origine intestinale. Ils se lient également aux sels biliaires : taurocholate, désoxytaurocholate et glycodésoxycholate ; ce qui pourrait entraîner une réduction de l'absorption du cholestérol dans l'intestin (Lapphanichayakool et *al.*, 2017).

Dans une étude récente, Hernandez et *al.* (2017) ont observé que le peptide YAAAT dérivé du haricot noir et du niébé, pouvait se lier étroitement au domaine N-terminal de Niemann-Pick de type C1: une protéine présente sur les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal ainsi que dans les hépatocytes, qui joue un rôle de transporteur du cholestérol. Cela perturbe les interactions avec les protéines membranaires afin d'améliorer l'absorption du cholestérol.

## 6.8. Peptides antidiabétiques

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par une augmentation du taux de sucre dans le sang due à des insuffisances dans la sécrétion ou l'action de l'insuline, ou les deux. La maladie est classée en type I et type II. Le diabète de type I (diabète insulino-dépendant) est une maladie auto-immune qui fait que les cellules bêta du pancréas sécrètent peu ou pas d'insuline. Dans le diabète sucré de type II (T2DM), cependant, il existe un déséquilibre dans la sécrétion d'insuline et l'absorption du sucre dans le sang (Chaudhury et *al.*, 2017).

De nombreux aliments fermentés, tel que le soja, contiennent des peptides de faible poids moléculaire, dont certains ont été démontrés pour induire une absorption de glucose stimulée par l'insuline dans les cellules 3T3-L1 : une lignée cellulaire sous-clonale dérivée de la lignée cellulaire albinos suisse à partir d'un embryon de souris. Cette lignée est utilisée pour étudier un certain nombre de mécanisme cellulaire et moléculaire liés à la résistance à l'insuline, à l'obésité et au diabète *in vitro*. Aussi, les peptides antagonisent les activités du récepteur : PPAR-Y (Récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes), dont le rôle consiste à améliorer la sensibilité à l'insuline (Kwon et *al.*, 2011).

Les peptides AKSPLF, ATNPLF et LSVSVL isolés à partir d'hydrolysats de protéines de haricot noir, ont inhibé efficacement le transporteur de glucose 2 (GLUT2) et le transporteur de glucose dépendant du sodium 1 (SGLT1) pour réduire la glycémie (Mojica et *al.*, 2017).

Dans une autre étude, les peptides contenus dans les hydrolysats de protéines de saumon, se sont avérés améliorer de manière significative l'absorption du glucose dans les cellules musculaires L6, montrant leur potentiel à améliorer l'absorption du glucose dans le sang (Roblet et *al.*, 2016)

# CHAPITRE II :

# **Techniques D'extraction Et Purification Des Peptides Bioactifs**

## 1. Techniques d'extractions

L'extraction des peptides bioactifs implique généralement un broyage, une précipitation en milieu acide ou basique suivi d'une filtration et d'un séchage. Une combinaison de méthodes classiques et nouvelles pour l'extraction de composés bioactifs à partir de diverses sources a été largement examinée (Azmir et *al.*, 2013). Le prétraitement des échantillons à l'aide de nouvelles techniques suivies d'une extraction conventionnelle améliore les rendements d'extraction de peptides bioactifs (Wijngaard et *al.*, 2012). Le traitement à haute pression, le traitement par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, et l'extraction par solvant supercritique, sont parmi les techniques les plus utilisées.

### 1.1. Traitement à haute pression

Le traitement à haute pression est une nouvelle technique qui utilise une pression comprise entre 100 et 800 MPa ou même jusqu'à 1000 MPa. Cette méthode est appliquée pour améliorer la perméabilité aux solvants et faciliter l'extraction des composés bioactifs à partir de diverses matrices. L'augmentation de la perméabilité cellulaire se produit en raison de la grande pression différentielle entre la cellule interne et l'extérieur des membranes cellulaires permettant ainsi la pénétration du solvant, et améliore les taux de transfert de masse (Quiros et *al.*, 2007).

L'utilisation de la haute pression, provoque des changements conformationnels des protéines conduisant à un dépliement partiel ou total des polypeptides et l'ouverture de la structure des protéines permettant ainsi une hydrolyse améliorée des protéines à l'aide d'enzymes (Ibañez et *al.*, 2012).

### 1.2. Traitement par ultrasons

L'application d'ultrasons (au-dessus de 20 kHz) pour améliorer la réaction enzymatique et/ou le rendement d'extraction a été largement rapportée. Il existe deux principaux types d'équipements à ultrasons qui peuvent être utilisés, à savoir un bain-marie à ultrasons et un système de sonde à ultrasons équipé de transducteurs à corne (Ibañez et *al.*, 2012).

Il a été démontré que l'application d'ultrasons de faible intensité, augmente des collisions entre l'enzyme et le substrat, améliore les taux de réaction en améliorant à la fois les constantes catalytiques et spécifique ; en modifiant la composition et les modifications des fractions d'hélice  $\alpha$  et de feuillet  $\beta$  (Wang et *al.*, 2014 ; Wu et *al.*, 2014).

### 1.3. Traitement par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes implique l'utilisation d'un rayonnement électromagnétique à une fréquence allant de 300 MHz à 300 GHz pour chauffer des solvants en contact avec un échantillon afin de séparer les composés d'intérêt de la matrice de l'échantillon. Les micro-ondes possèdent à la fois un champ électrique et magnétique et permettent de chauffer le solvant et l'échantillon par rotation dipolaire et conduction ionique. L'utilisation de l'énergie micro-ondes dans le processus d'extraction permet la perturbation de l'hydrogène faible en raison de la rotation dipolaire des molécules et améliore la pénétration du solvant dans la matrice et facilite ainsi la solvatisation (Guisseppi-Elie et *al.*, 2009).

### 1.4. Traitement par solvant supercritique

L'efficacité du processus d'extraction solide-liquide peut être améliorée en appliquant une pression et/ou une température pour améliorer les rendements. Les propriétés des solvants, y compris la densité, la diffusivité et la viscosité, peuvent être contrôlées avec une application de pression et de température permettant ainsi l'utilisation de solvants respectueux de l'environnement comme l'eau. L'application de pression et de température peut également améliorer la pénétration du solvant et contribuer à la rupture de la matrice cellulaire. Par exemple, le CO<sub>2</sub> à une température et une pression supérieure au point critique (31,06 °C et 7,38 MPa) devient un fluide supercritique (Zhong et *al.*, 2005 ; Herrero et *al.*, 2010).

Le CO<sub>2</sub> supercritique peut être utilisé pour l'extraction de composés polaires et neutres, ce qui peut éliminer l'utilisation de solvants organiques. L'efficacité d'extraction à l'eau peut être améliorée en utilisant une température et une pression élevées (Taylor, 2009).

Des solvants organiques comme l'éthanol, le butanol et l'acétone sont nécessaires pour extraire les protéines contenant des résidus d'acides aminés non polaires, hydrophobes et/ou aromatiques. Ainsi, pour extraire les protéines des graines de *Moringa olifera*, une étude récente a décrit l'application d'une combinaison éthanol-éther de pétrole dans l'eau avec un rendement de 33% après purification (Franca- Oliveira et *al.*, 2021).

Une autre technique est l'extraction assistée par enzyme (EAE) qui repose sur la brisure de la paroi et libération des protéines cellulaires lors de la dégradation par des enzymes dans les composants primaires de la paroi cellulaire, tels que la cellulose, l'hémicellulose et/ou les pectines. Pour permettre une extraction plus efficace des enzymes comme les protéases décomposent les protéines

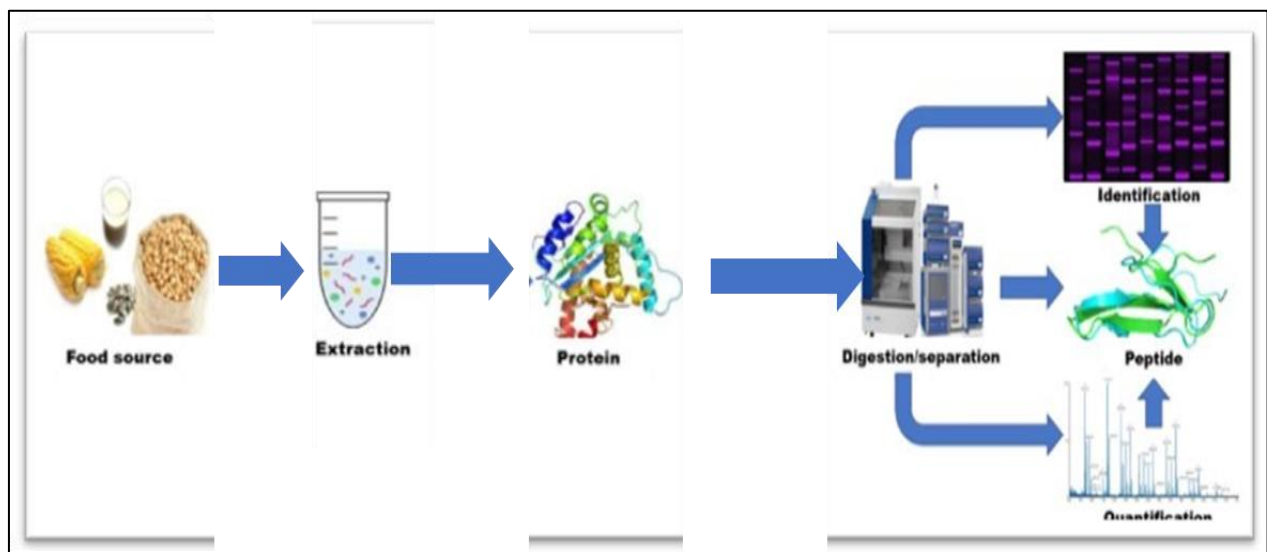


cellulaires de poids moléculaire élevé en peptides plus solubles, (Pojić et *al.*, 2018). L'EAE est une technique prometteuse avec des avantages par rapport aux méthodes d'isolement traditionnelles à base de solvant.

## 2. Techniques de purification des peptides bioactifs

Le réservoir des peptides sont les protéines. Elles doivent être séparées des autres composants cellulaires et purifiées. Puis, la protéine pure peut être quantifiée et sa séquence caractérisée *via* le séquençage des acides aminés. Aussi, sa bioactivité peut être testée. Les molécules caractérisées peuvent subir une fermentation microbienne ou une hydrolyse chimique ou enzymatique.

Les constituants peptidiques peuvent être séparés par des techniques chromatographiques après que des hydrolysats de protéines aient été produit (Chakrabarti et *al.*, 2018b). La manipulation de la fréquence des ultrasons, augmente les propriétés inhibitrices d'ECA des hydrolysats de protéines de riz démontré à l'aide d'une amélioration du traitement par ultrasons (Ding et *al.*, 2022). Les séquenceurs peptide/protéine peuvent être appliqués pour identifier la séquence linéaire d'acides aminés et ainsi leur composition (Keough et *al.*, 1999 ; JChen et *al.*, 2013). Certains peptides récemment isolés et la méthode utilisée ont été résumés dans le tableau 3 et une explication détaillée de ce qui précède est présentée ci-dessous (**Figure 12**) :



**Figure 12** : Schéma simplifié des étapes de séparation des peptides bioactifs (Charles et *al.*, 2022)

**Tableau 3:** Identification et quantification de certains peptides bioactifs alimentaire  
(Charles et al., 2022)

Source de protéines et de peptides bioactifs alimentaires	Séquences protéiques et peptidiques	Échantillons d'identification	Détection/quantification
Kéfir	RDMPIQAFI, SLSQSKVLPVPO, EMPFPKYPVEPF,	Tube digestif	MALDI-TOF-MS, UPLC-ESI-MS/MS
Maïs	CSQAPLA, YPKLAPNE, YPQLLPNE	Semoule de maïs	LC-MS/MS
Collagène	EL, GGYR, GH, GL, GP, HH	Plasma humain	RP-HPLC
Sardines	LEUHISTYR	Tête et viscères de poisson	RP-HPLC, MS/MS
Lait	SERPRO, VALLYS	Aliquote de lait dégraissé	LC-MS
Céréales	VPL, PG	Graines de céréales	LC-MS, RP-HPLC-MS/MS
Noix de muscade	PRP	Extrait de fruits	UHPLC-ESI-MS/MS
Drêche de brasserie (BSG)	APLP, IPLQP, IPVP, IPY, LPY, VPIP	Extrait de BSG	UPLC-MS/MS
Thon	PHE, GLU, PRO	Muscle de poisson	LC-MS
Arachide	ARA	Noyaux d'arachide	LC-MS/MS
Graine de lin	FP, CLA,	Farine de graines de lin dégraissée	CLHP
Maïs	YFCLT	Semoule de maïs	RP-HPLC-MS/MS
Maïs	GLLLPH	Semoule de maïs	MALDI-TOF-MS
Œuf	QSLVSVPGMS	Blanc et jaune d'œuf	RP-HPLC
Viande	KRQKYD	Viande musculaire	RP-HPLC, MALDI-TOF-MS

## 2.1. Isolement des protéines

Pour obtenir des peptides et des protéines bioactifs aux propriétés biologiques importantes de nombreuses méthodes sont employées. En raison de la solubilité et de la stabilité élevées des protéines isolées dans l'eau la technique la plus couramment utilisée est l'extraction aqueuse à base de solvant (SAE) (Franca-Oliveira et *al.*, 2021). De plus, cette méthodologie présente d'autres avantages, tels que ses conditions de fonctionnement faciles et son faible coût. Il a été décrit pour les peptides et les protéines de différentes sources végétales telles que le haricot mungo, la gesse, le son de riz et la tomate, entre autres l'extraction avec de l'eau est effectuée généralement dans des conditions basiques (Lee et *al.*, 2017). Cependant, ce qui pourraient influencer les propriétés thermiques, conformationnelles et fonctionnelles des fractions protéiques, réduisant leur valeur nutritionnelle et dégradant leurs composés bioactifs sont des conditions d'extraction extrêmes, telles que des températures élevées ou des conditions alcalines. Pour extraire efficacement les protéines des tournesols des conditions légèrement acides ont également été signalées avec un taux de récupération de 23 à 26% (R Chen et *al.*, 2019).

## 2.2. Séparation, identification et quantification

La séparation et l'identification des peptides et des protéines bioactifs sont généralement réalisées à l'aide de diverses techniques telles que l'ultracentrifugation membranaire, la HPLC, la chromatographie liquide, l'électrophorèse, l'ultrafiltration, la précipitation et autres. En termes de sélectivité et de récupération, les techniques de chromatographie d'affinité sont actuellement l'outil le plus puissant disponible pour le traitement en aval (Marson et *al.*, 2021).

Une attention particulière est accordée au développement et à l'application de techniques de séparation magnétique. Cette technique est généralement très douce pour les protéines ou peptides cibles. Même les grandes et complexes protéiques que les techniques traditionnelles de chromatographie sur colonne ont tendance à briser, peuvent rester intacts lors de l'utilisation de la procédure de séparation magnétique (Safarik et Safarikova, 2004).

La bio-informatique est également une approche précieuse pour analyser les peptides bioactifs alimentaires. Les techniques de digestion des protéines *in silico* permettent de prédire la nature des peptides et leurs bioactivités (Aluko, 2018). Par exemple, le mélange de peptides hépatiques bruts dérivés de l'hydrolyse de la papaine du foie de porc et des peptides purifiés dérivés des hydrolysats après fractionnement HPLC et digestion *in silico* des protéines hôtes, ont été

identifiés à l'aide de la chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS/MS). Cela a permis l'identification de deux protéines : cytosol aminopeptidase et sous-unité alpha de l'hémoglobine, présentes dans le mélange brut après LC-MS/MS. L'hydrolyse de ces protéines *in silico* a identifié plusieurs peptides qui devraient être à la fois présents dans le mélange brut et avoir une bioactivité potentielle ; et ce à l'aide de l'outil informatique *PeptideRanker*. Les peptides suivants (FWG, MFLG et SDPPLVFG) jamais décrits dans la littérature, ont le potentiel le plus significatif de bioactivité expérimentale, ont été synthétisées (Pearman et *al.*, 2020).

### **2.2.1. Chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC /MS)**

La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS) est un outil essentiel pour identifier et quantifier les protéines et peptides bioactifs (Alves et *al.*, 2019). Différentes méthodologies utilisant cette approche ont été développées. Les analyses non ciblées visant à définir le profil protéomique de l'échantillon, tandis que les analyses ciblées permettent la recherche de peptides bioactifs spécifiques, permettant de les quantifier (Liu et Pischetsrieder, 2017). En raison de la sensibilité élevée, cela permet de détecter même des traces de peptides dans des matrices complexes (Alves et *al.*, 2019). Par exemple, la LC/MS a été utilisée pour identifier une liste de peptides spécifiques de grains de blé, d'orge, de seigle et d'avoine afin de détecter le gluten dans plusieurs types de farines commerciales (Fiedler et *al.*, 2014). Compte tenu de l'éventail des types d'échantillons à analyser, il ne sera peut-être jamais possible de simplement recommander une seule méthode standard LC-MS pour le profilage des métabolites (Dona, 2016). Cependant, la LC/MS couplée à la spectrométrie de masse en tandem s'est avérée explicitement utile pour le profilage des peptides bioactifs avec des étapes de préparation minimales (Van Den Broek et *al.*, 2013 ; Zhuang et *al.*, 2013), a également identifié divers peptides de maïs associés à l'activité de piégeage des radicaux DPPH, Fe<sup>2+</sup>-activité chélatrice et inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique *in vitro* par LC-MS/MS.

### **2.2.2. UHPLC ESI-MS/MS**

La chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC) est une technique bien établie et couramment utilisée dans diverses applications et s'est avérée efficace pour l'analyse de mélanges complexes en modes isocratique et gradient (Sorensen et *al.*, 2020). La combinaison de l'UHPLC avec la spectrométrie de masse (MS) pour analyser des matériaux complexes offre des avantages supplémentaires en termes de sélectivité, de sensibilité et de débit élevé. L'UHPLC

associée à la SM en tandem est une technique précieuse pour l'analyse ciblée et non ciblée (Nováková et *al.*, 2017). la méthode UHPLC-ESI-MS/MSA (Chromatographie liquide ultra-haute performance-spectrométrie de masse en tandem) s'est avérée être un outil puissant pour la détermination simultanée des constituants bioactifs alimentaires (Pandey et *al.*, 2015).

L'ionisation par électrospray (ESI) est une méthode d'ionisation efficace et est appliquée soit pour mesurer la masse moléculaire des polypeptides, soit pour détecter des caractéristiques structurelles supplémentaires, y compris la séquence d'acides aminés dans un échantillon complexe (Y Liu et Pischetsrieder, 2017). L'ESI est considérée comme la technique d'ionisation la plus cruciale pour le couplage entre les deux techniques : LC et MS. Les meilleures performances en termes de rendement d'ionisation et de sensibilité sont obtenues entre 50 et 300 L/min (Nováková et *al.*, 2012).

De plus, les méthodes d'UHPLC-ESI-MS sont couramment utilisées comme étapes initiales de fractionnement de peptides et de protéines bioactifs. Elles ont facilité l'identification du peptide DKVFR à partir d'une fraction de 3 KDa de collagène de saumon (Udenigwe, 2021). Diverses études ont utilisé la combinaison de l'ESI et de la LC-MS/MS pour quantifier les peptides de maïs associés aux activités antioxydantes, antihypertensives et immunomodulatrices (Trinidad-Calderon et *al.*, 2021).

L'ESI seul est incapable de détecter des traces significatives de peptides bioactifs alimentaires. Mais l'UHPLC tire parti de l'utilisation de colonnes remplies de particules inférieures à 2 µm et de vitesses d'écoulement de phase mobile élevées pour accélérer la séparation chromatographique. Cet aspect fait des colonnes ID 2,1 mm le couplage les plus adaptées au UHPLC-MS, car le débit optimal est proche de 200 L/min. Pour surmonter le problème de l'impact négatif d'un débit élevé sur l'ESI, diverses approches optimisant la nébulisation, la désolvatation et le processus d'ionisation global ont été développées (Rodriguez-Aller et *al.*, 2013). Néanmoins, une version nano de l'ESI, appelée nanospray, est qui est utilisé pour la teneur en peptides serait faible (Trémie et Robinson, 2019).

### 2.2.3. MALDI-TOF-MS

La *Matrix-Assisted Laser Désorption/Ionization* (MALDI), est une technologie à haut débit basée sur la comparaison de l'empreinte protéique avec une base de données de spectres de

référence à l'aide de divers algorithmes intégrés dans des systèmes récemment commercialisés (Calderaro et *al.*, 2014).

La MALDI est souvent couplée à un analyseur *Time-Of-Flight* (TOF) qui mesure la masse de peptides intacts. La MALDI-TOF-MS, est appelée technique d'ionisation "douce" car elle provoque une fragmentation minimale ou nulle et permet d'identifier les ions moléculaires des analytes, même dans des mélanges complexes de biopolymères (Susnea et *al.*, 2012). Au fil des ans, la MALDI-TOF-MS s'est avéré relativement polyvalente dans ses applications d'analyse d'échantillons biologiques, en particulier pour les protéines et les peptides.

Cette spectrométrie de masse est utilisée pour générer des images ioniques de l'échantillon dans une ou plusieurs valeurs  $m/z$ , offrant la capacité de cartographier des molécules spécifiques à l'échantillon d'origine (Liu, 2017). Par exemple, la quantification relative dans le suivi programmé des réactions multiples du kéfir a montré que de nombreux peptides bioactifs étaient libérés par digestion simulée (Liu & Pischetsrieder, 2017). Une combinaison de MALDI-TOF-MS/MS et de chromatographie liquide haute pression en phase inversée (RP-HPLC) a été utilisée pour évaluer les pouvoirs d'inhibition de l'ECA.

# **Conclusion et perspectives**

Les peptides bioactifs peuvent être identifiés comme des séquences d'acides aminés spécifiques qui ont des effets physiologiques bénéfiques. Ils ont un énorme potentiel d'utilisation en tant qu'aliments fonctionnels et existent déjà dans plusieurs produits alimentaires et pharmaceutiques en tant qu'ingrédients techno-fonctionnels et bioactifs. Certains de ces peptides sont enfouis de manière inactive dans la structure des protéines et sont activés par extraction à partir de protéines parentales.

De par leur nature, les peptides sont souvent considérés comme de meilleurs principes actifs en termes d'efficacité par rapport à leurs homologues non peptidiques. Ils présentent un potentiel thérapeutique important comme anticancéreux, antidiabétique, opioïde, antihypertenseur, antimicrobien, ostéoprotecteur, antioxydant, et réducteur de cholestérol. Ce potentiel provient de la capacité des peptides d'être à la fois très sélectifs vis-à-vis de leur cible et d'agir à une concentration relativement faible. Aussi, ils sont facilement et rapidement assimilés par l'organisme et dégradés en acides aminés, d'où un risque de toxicité moindre.

De nombreux peptides bioactifs issue des sources marines, végétales et animales, peuvent être produits par hydrolyse enzymatique des protéines d'aliments tels que le lait, la viande animale et de poisson, le maïs, le blé, le soja et les œufs. Au cours des dernières décennies, il y a eu un intérêt substantiel pour l'identification et la caractérisation des protéines et des peptides bioactifs. Compte tenu de la limitation de l'identification des protéines et des peptides bioactifs, leur quantification est une tâche complexe nécessitant des améliorations analytiques constantes.

Leur exploitation est encore limitée car le coût de leur production reste relativement élevé par rapport aux médicaments traditionnels. Malgré tout, leurs atouts et leur caractère innovant en font des molécules d'intérêt pour les laboratoires et les entreprises pharmaceutiques.

Cependant, les profils de toxicité et d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) de peptides connus ayant des activités bénéfiques pour la santé doivent être examinés. L'application de nouvelles technologies d'extraction seules ou en combinaison avec d'autres techniques conventionnelles démontre la possibilité d'améliorer le rendement d'extraction des bioactifs tout en préservant les activités biologiques. Par ailleurs, la mise à l'échelle des applications industrielles doit encore être explorée et optimisée pour la production des peptides bioactifs.



Les études futures devraient également se concentrer sur les cultures riches en protéines sous-utilisées et négligées, et les déchets agricoles comme source de peptides bioactifs pour réserver les quelques légumineuses surexploitées et les protéines animales qui sont la principale source de peptides dans le cadre des recherches actuelles.

**RESUME :**

Les peptides bioactifs sont un groupe de molécules biologiques enfouies dans la structure des protéines mères et deviennent actives après leur hydrolyse. Ils sont présents dans différents aliments comme le lait et ses dérivés, les produits fermentés, les végétaux et les produits de la mer. La majorité de ces peptides se compose de 2 à 20 acides aminés. Leur importance réside dans les différentes fonctions physiologiques, telles que les activités antimicrobiennes, anticancéreux, antihypertensives, antioxydantes, hypolipémiantes, opioïdes, ostéoprotecteurs, antidiabétiques, qui sont démontrées dans plusieurs travaux. Aujourd'hui, de nombreux groupes de peptides bioactifs sont commercialisés pour ces différents effets bénéfiques pour la santé. Ce travail passe en revue les sources, les différentes méthodes de production, les activités biologiques de ces biomolécules et aussi les techniques utilisées pour leur extraction et purification. Ces peptides sont, potentiellement, intéressants dans le développement de nouveaux aliments de prévention dits aliments-santé.

**Mots-clés :** Peptide bioactif ; Fonction physiologique ; Méthode de production ; Extraction et purification

## ملخص

الببتيدات النشطة بيولوجيًا هي مجموعة من الجزيئات البيولوجية المدفونة في بنية البروتينات الأم وتصبح نشطة بعد تحللها المائي. توجد في العديد من الأطعمة مثل الحليب ومشتقاته والمنتجات المخمرة والنباتات والمأكولات البحرية، وتتكون غالبية هذه الببتيدات من 2 إلى 50 حمض أميني. تكمن أهميتها في الوظائف الفسيولوجية المختلفة، مثل مضادات الميكروبات، ومضادات السرطان، ومضادات ارتفاع ضغط الدم، ومضادات الأكسدة، ونقص شحيمات الدم، والمواد الأفيونية، و العظام ، ومضادة لمرض السكر ، والتي تم توضيحها في العديد من الأعمال. اليوم، يتم تسويق العديد من مجموعات الببتيدات النشطة بيولوجيًا لهذه التأثيرات الصحية المفيدة المختلفة. يستعرض هذا العمل المصادر وطرق الإنتاج المختلفة والأنشطة البيولوجية لهذه الجزيئات الحيوية وكذلك التقنيات المستخدمة لاستخراجها وتنقيتها. من المحتمل أن تكون هذه الببتيدات مثيرة للاهتمام في تطوير أطعمة وقائية جديدة تسمى الأطعمة الصحية.

**الكلمات المفتاحية:** الببتيد النشط بيولوجيا. الوظيفة الفسيولوجية أسلوب الإنتاج؛ الاستخراج والتنقية

**ABSTRACT:**

Bioactive peptides are a group of biological molecules buried in the structure of parent proteins and become active after their hydrolysis. They are present in various foods such as milk and its derivatives, fermented products, plants and seafood. The majority of these peptides consist of 2 to 20 amino acids. Their importance lies in the different physiological functions, such as antimicrobial, anticancer, antihypertensive, antioxidant, hypolipidemic, opioid, osteoprotective, antidiabetic activities, which are demonstrated in several works. Today, many groups of bioactive peptides are marketed for these different beneficial health effects. This work reviews the sources, the different production methods, the biological activities of these biomolecules and also the techniques used for their extraction and purification. These peptides are potentially interesting in the development of new prevention foods called health foods.

**Keywords:** Bioactive Peptide; Physiological function; Production method; Extraction and purification

## Références bibliographiques

- Agier J ; Efenberger M ; Brzezińska-Błaszczak, E. Impact de la cathélicidine sur les cellules inflammatoires. *Cent. -Eur. J. Immunol.* **2015**, 40 :225
- Agyei, D ; Danquah, MK Fabrication à l'échelle industrielle de peptides bioactifs de qualité pharmaceutique. *Biotechnol. Adv.* **2011**, 29 :272–277.
- Akbarian M ; Khani A ; Eghbalpour S ; Uversky VN. Peptides bioactifs : synthèse, sources, applications et mécanismes d'action proposés. *Int J Mol Sci.* **2022** 27 janvier ;23,3 :1445.
- Akbarian M ; Yousefi R ; Moosavi-Movahedi AA ; Ahmad A. ; Uversky VN. Modulation de la fibrillation de l'insuline à l'aide de chaînes B modifiées avec des terminaisons C mutées. *Biophys. J* **2019** ,117 :1626–1641.
- Albericio F ; El-Faham A. Choisir le bon réactif de couplage pour les peptides : un voyage de vingt-cinq ans. *Org. Processus Rés. Dév.* **2018,22** :760–772.
- Alves TO ; D'Almeida CTS ; Scherf KA ; Ferreira MSL. Approches modernes dans l'identification et la quantification des peptides immunogènes dans les céréales par LC-MS/MS, *Frontiers in Plant Science*,**2019** :1470.
- Amigo, L ; & Hernández-Ledesma, B. Preuves actuelles sur la biodisponibilité des peptides bioactifs alimentaires. *Molecules (Bâle,Suisse)*,**2020** ,25,19 :4479.
- Andersson L ; Blomberg L ; Flegel M ; Lepsa L ; Nilsson B ; Verlander M. Synthèse à grande échelle de peptides. *Pep. Sci.* **2000**, 55 :227–250.
- Antosova Z ; Mackova M ; Kral V ; Macek T. Application thérapeutique des peptides et des protéines : parentérale pour toujours. *Tendances Biotechnol.* **2009**, 27 :628–635.
- Azmir J ; Zaidul ISM ; Rahman MM ; Sharif KM ; Mohamed A ; Sahena F ; Jahurul MHA ; Ghafoor K ; Norulaini NAN ; Omar AKM. Techniques d'extraction de composés bioactifs à partir de matières végétales. *J. Food Eng.* **2013**, 117 :426–436.
- Banga, AK Peptides et protéines thérapeutiques : systèmes de formulation, de traitement et d'administration ; CRC Press : Boca Raton, Floride, États-Unis, **2015** .
- Barati M ; Javanmardi F ; Jazayeri SMHM ; Jabbari M ; Rahmani J ; Barati F ; Nickho H ; Davoodi SH ; Roshanravan N ; Khaneghah AM. Techniques, perspectives et défis de la génération de peptides bioactifs : Une analyse complète revue systématique, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*,**2020**, 19, 4 :1488-1520.
- Bernard Banaigs et Jean-Michel Kornprobst. La biodiversité marine et le médicament : espoirs, réalités et contraintes. <https://new.societechimiquedefrance.fr/wp-content/uploads/2019/12/2007-306-mars-p.7-Banaigs.pdf> , **2007**, 9.

- Bhandari D ; Rafiq S ; Gat Y ; Gat P ; Waghmare R ; Kumar V. Peptides bioactifs : fonctions physiologiques, Biodisponibilité et sécurité. *Int. J. Pep. Rés. Là.* **2013** ,194 :275-380.
- Boman, HG L'immunité innée et la microflore normale. *Immunol. Rév.* **2000**, 173 :5–16.
- Boukhalfa H. Etude de la production de la protéase par *Aspergillus oryzae* sur milieu solide en fermenteur Fujiwara. Utilisation des déchets de tomate comme substrat de fermentation. Doctorat en sciences, Univ. Frères Mentouri, Constantine1, Algérie. ( **2015** )
- Bray BL. Fabrication à grande échelle de peptides thérapeutiques par synthèse chimique. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, 2 :587–593.
- Broggini M ; Marchini S ; Galliera E. et al. L'aplidine, un nouvel agent anticancéreux d'origine marine, inhibe la sécrétion du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et bloque la boucle autocrine VEGF-VEGFR-1 ( *flt-1* ) dans les cellules leucémiques humaines MOLT-4. *Leucémie* **2003**,17 :52–59.
- Burton PS ; Conradi RA ; Ho NF ; Hilgers AR ; Borchardt RT. Commentez les caractéristiques structurelles influent sur la perméabilité de la biomembrane des peptides. *J.Pharm. Sci.* **1996** ,85 :1336–1340.
- Calderaro A ; Arcangeletti MC ; Rodighiero I ; Buttrini M ; Gorrini C ; Motta F ; Germini D ; Medici MC ; Chezzi C ; De Conto F. Matrix-assisted laser,desorption/ionization time-of -spectrométrie de masse en vol (MALDI-TOF) appliquée à l'identification des virus, *Scientific Reports*, **2014**,4 1 :1-10.
- Chai, KF ; Voo ; AYH ; Chen ; WN. Peptides bioactifs issus de la fermentation des aliments : un examen complet de leurs sources, de leurs bioactivités, de leurs applications et de leur développement futur. *Compr. Rev Food Sci. Sécurité alimentaire.* **2020**, 19 :3825–3885.
- Chakrabarti S ; Guha S ; Majumder K. Peptides bioactifs dérivés d'aliments dans la santé humaine : Nutriments défis et opportunités, **2018**,10, 11.
- Chanson AAL ; Dans LL ; Lim ELLE ; Rahim RA. Une revue sur *Lactococcus lactis* : De la nourriture à l'usine. *Microb. Usines cellulaires*, **2017** , 16 :1–15.
- Chaudhury A ; Duvour C ; Dendi VSR ; Kraleti S ; Chada A ; Ravilla R ; Cadre A ; Shekhawat N ; Montales E ; Montana ; Kuriakose K. Examen clinique des médicaments antidiabétiques : Implications pour la gestion du diabète sucré de type 2. *Devant. Endocrinol.* **2017**, 8 :6.
- Chen GW ; Tsai JS ; Pan BS. Purification des peptides neutralisants de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et effet antihypertenseur du lait produit par la fermentation lactique facilitée par la protéase. *Int. Lait J.* **2007** ,17 :641–647.

- Chen R ; Wang XJ ; Zhang YY ; Xing Y ; Yang L ; Ni H ; Li HH. Extraction et séparation simultanées d'huile, de protéines et de glucosinolates à partir de graines de *Moringa oleifera* Chimie alimentaire, **2020**, 300, **article** 125162.
- Claude ZOUKIMIAN. Mise au point et industrialisation de la synthèse de complexes de peptides, **2020** :11-13.
- Conibear AC ; Watson EE ; Payne RJ ; Becker CF. Ligation chimique native dans la synthèse et la semi-synthèse des protéines. *Chim. Soc. Visite.* **2018**, 47 :9046–9068.
- Daliri EB-M ; Ah DH ; Lee BH. Peptides bioactifs.nourriture **2017** ,6 :32.
- Daniel H, Zietek T. Goûter et bouger : transporteurs de glucose et de peptides dans le tractus gastro-intestinal. *Exp. Physiol.* **2015** ; 100 :1441–1450.
- Daskaya-Dikmen C ; Yucetepe A ; Karbancioglu-Guler F ; Daskaya H ; Ozcelik B. Peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-I (ACE) provenant de plantes. *Nutriments.* **2017** ;9 :1–19
- Dhaval A ; Yadav N ; Purwar S. Applications potentielles des peptides bioactifs dérivés des aliments dans la gestion de la santé. *Int J Pept Res Ther.* **2016** ;22 :377–98
- Ding Y ; Wang Y ; Qu W ; Ren X ; Lu F ; Tian W ; Quaisie J ; Azam SMR ; Ma H. Effet des modes d'excitation de fréquence ultrasonore innovants sur la protéine de riz : Enzymolyse et structure *LWT*, **2022** :153.
- Dionysius, D. ; Milne, J. Peptides antibactériens de lactoferrine bovine : purification et caractérisation.*J. Laiterie Sci.* **1997**, 80 :667–674.
- Doherty A ; Mur A ; Khaldi N. Utilisation de l'intelligence artificielle pour réduire les coûts mondiaux des soins de santé grâce à la découverte et au développement d'interventions nutritionnelles. *Int. J. Nurs. Didact.* **2020**, 10 :1–5.
- Dona AC.Criblage métabolique à haut débit, Phénotypage métabolique dans les soins de santé personnalisés et publics, Elsevier Inc (2016),
- Drescher K ; Roos N. Pfeuffer M. La récupération de la 15N-lactoferrine est supérieure à celle de la 15N-caséine dans l'intestin grêle des cochons de lait, mais pas des cochons miniatures adultes. *J Nutr* **1999**,129 :1026-1030.
- Drucker DJ ; Buse JB ; Taylor K , et al. "Exémotide une fois par semaine versus deux fois par jour pour le traitement du diabète de type 2 : étude randomisée, en ouvert, de non-infériorité." *Lancette*, **2008**.
- Drucker DJ ; Dritselis A ; Kirkpatrick P. Liraglutide. *Revue naturelle. Découverte de médicaments*, **2010**, 9 4 :267–268.

- Fernandez-Tomé S ; Sanchon, J ; Recio I ; Hernández-Ledesma, B. Transport transépithélial de lunasine et Food Chem. **2017**, 65 :2056–2065.
- Fiedler KL ; McGrath SC ; Callahan JH ; Ross MM. Caractérisation de marqueurs peptidiques spécifiques aux céréales pour la détection du gluten par spectrométrie de masse, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **2014**, 62, 25 :5835-5844.
- Foltz M ; Meynen EE ; Bianco V ; Van Platerink C ; Koning TM ; Kloek J. Les peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine d'une boisson lactée enrichie en lactotripeptides sont absorbés intacts dans la circulation. J. Nutr. **2007**, 137 :953–958.
- Forbes J ; Krishnamurthy K. Biochimie, Peptide. Dans : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; **2023** janvier.
- Ford PW ; Gustafson KR ; McKee TC ; Shigematsu N ; Maurizi LK ; Panneau LK ; Williams DE ; Dilip de Silva E ; Lassota P ; Allen TM ; Papuamides AD. Des peptides inhibiteurs du VIH et cytotoxiques des éponges *Theonella mirabilis* et *Theonella swinhoei* collectées en Papouasie-Nouvelle-Guinée. Confiture. Chim. Soc. **1999**, 121 :5899-5909.
- Franěk F ; Hohenwarter O ; Katinger H. Hydrolysats de protéines végétales : Préparation de fractions peptidiques définies favorisant la croissance et la production dans des cultures de cellules animales. Biotechnol. Programme. **2000**, 16 :688–692.
- Garraffo. Pharmacocinetique Pharmacodynamie , Tutorat Niçois **2012 - 2013** :2-3.
- Geng X ; Tian G ; Zhang W ; Zhao Y ; Zhao L ; Wang H. Tricholoma matsutake peptide avec des activités inhibitrices et antioxydantes de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et des effets antihypertenseurs chez des rats spontanément hypertendus. Sci. Rep. **2016**, 6 :24130.
- Gilbert ER ; Wong EA ; Webb KE. Révision invitée par le Conseil : Absorption et utilisation des peptides : Implications pour la nutrition et la santé animales. J. Anim. Sci. **2008** ; 86 :2135–2155.
- Gleeson JP ; Brayden DJ. Ryan SM Évaluation du transport PepT1 de peptides antihypertenseurs dérivés d'aliments, Ile-Pro-Pro et Leu-Lys-Pro à l'aide de modèles de transport in vitro, ex vivo et in vivo. EUR. J. Pharm. Biopharmacie. **2017** ; 115 : 276–284.
- Goodwin D ; Simerska P ; Toth I. Peptides en tant que thérapeutique avec une bioactivité améliorée. Courant. Méd. Chim. **2012**, 19 :4451–4461.
- Griffiths MW ; Tellez AM. Lactobacillus helveticus : Le système protéolytique. Devant. Microbiol. **2013**, 4 :30.
- Guisseppi-Elie A ; Choi SH ; Geckeler KE. Traitement par ultrasons des enzymes : effet sur l'activité enzymatique de la glucose oxydase. J. Mol. Catal. B : Enzyme. **2009**, 58 :118–123



- Guterstam P ; Madani F ; Hirose H ; Takeuchi T ; Futaki S ; Andaloussi SE ; Gräslund A ; Langel Ü. Éluclider les mécanismes d'action des peptides pénétrant dans les cellules pour l'interaction membranaire, l'absorption cellulaire et la translocation en utilisant le contre-anion pyrènebutyrate hydrophobe. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembre.* **2009**, 1788 :2509-2517.
- Hartmann R ; Meisel H. Peptides dérivés d'aliments à activité biologique : de la recherche aux applications alimentaires. *Curr Opin Biotechnol.* **2007** ;18:163–9
- Henninot A ; Collins JC ; Nus JM. L'état actuel de la découverte de médicaments peptidiques : Retour vers le futur? *J Med Chem* ,**2018**, 61 :1382–1414.
- Hernandez LMR ; De Mejia EG. Les peptides Bean ont des affinités de liaison in silico supérieures à celles de l'ézétimibe pour le domaine N-terminal du récepteur du cholestérol Niemann-Pick C1 Like-1. *Peptides* **2017**
- Herrero M ; Mendiola JA ; Cifuentes A ; Ibáñez E. Extraction par fluide supercritique : Récent avances et demandes. *J. Chromatogr. A*, **2010**, 1217 :2495-2511.
- Hettiarachchy NS. Protéines et peptides alimentaires bioactifs : applications en santé humaine. Boca Raton : Presse CRC ; **2012**
- Hettiarachchy NS. Protéines et peptides alimentaires bioactifs : applications en santé humaine. Boca Raton : Presse CRC ; **2012**
- Hoffman A ; Kessler H. Peptides oralement actifs : existe-t-il une solution miracle ? *Angew. Chim. Int. Éd.* **2018**, 57 :14414–14438.
- Hopper JTS ; Robinson CV. Spectrométrie de masse des complexes protéiques intacts *Proteomics for Biological Discovery* (**2019**) :145-173.
- Hung CC ; Yang YH ; Kuo PF ; Hsu KC. Les hydrolysats de protéines du jus de cuisson du thon inhibent la croissance cellulaire et induisent l'apoptose de la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7. *J. Fonction. Nourriture* **2014** ,11 :563–570.
- Ibanez E ; Herrero M ; Mendiola J ; Castro-Puyana M. Extraction et caractérisation de composés bioactifs bénéfiques pour la santé à partir des ressources marines : macro et micro algues, cyanobactéries et invertébrés. Dans les composés bioactifs marins ; Hayes, M., éd. ; Springer : Berlin, Allemagne, **2012**
- Ingham Alb ; Moore RJ. Production recombinante de peptides antimicrobiens dans des systèmes microbiens hétérologues. *Biotechnol. Appl. Biochimie.* **2007**, 47 :1–9.
- Jean RP ; Nampoothiri KM ; Pandey A. Fermentation à l'état solide pour la production d'acide L-lactique à partir de déchets agricoles à l'aide de *Lactobacillus delbrueckii*. *Processus Biochem.* **2006**, 41 :759–763.

- Jennifer Minigh , désirudine , xPharm la référence complète en pharmacologie , , <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/desulfatohirudin> , **2007**
- Jenssen H ; Hamill P ; Hancock RE. Agents antimicrobiens peptidiques. Clin. Microbiol. Rév. **2006**, 19 :491–511.
- Jo C ; Khan FF ; Khan MI ; Iqbal J. Peptides bioactifs marins : types, structures et fonctions physiologiques. Nourriture Rev. Int. **2017**, 33 :44–61.
- Jochems PGM ; Garssen J ; van Keulen AM ; Masereeuw R ; Jeurink PV. Évaluation des lignées cellulaires intestinales humaines pour l'étude de l'absorption des protéines alimentaires. Nutriments. 7 mars **2018** ;10, 3 :322.
- Kadam SU ; Tiwari BK ; Álvarez C ; O'Donnell CP. Applications ultrasonores pour l'extraction, l'identification et la livraison de protéines alimentaires et de peptides bioactifs Trends in Food Science and Technology, **2015**, 46 ,1 :60-67.
- Kasai T ; Honda T ; Kiriya S. Caséinophosphopeptides (CPP) dans les fèces de rats nourris avec un régime à base de caséine. Biosci Biotech Biochem, **1992**, 56 :1150–1151.
- Kaufmann B ; Christen P. Techniques d'extraction récentes pour les produits naturels : extraction assistée par micro-ondes et extraction par solvant sous pression. Phytochem. Anal. **2002**, 13 :105–113
- Kaur N. Synthèse en phase solide d'hétérocycles contenant du soufre. J. Soufre Chem. **2018**, 39 :544–577.
- Kelly D ; Coutts APG. Peptides biologiquement actifs dans le colostrum et le lait. Dans Digestive Physiology in Pigs, **1997** :163–170.
- Kent SB. Nouvelle science des protéines rendue possible par la synthèse chimique totale. Protéine Sci. **2019**, 28 :313–328.
- Keough T ; Youngquist RS ; Lacey MP. Une méthode de séquençage de peptides à haute sensibilité utilisant la spectrométrie de masse par ionisation par désorption laser assistée par matrice de décroissance post-source, **1999**, 96 :7131-7136
- Kerr RG ; Kerr SS. Produits naturels marins comme agents thérapeutiques. Avis d'expert. Là. Tapoter. **1999**, 9 :1207-1222.
- Khavinson V ; Linkova N ; Kozhevnikova E ; Dyatlova A ; Petukhov M. Transport de peptides ultracourts biologiquement actifs à l'aide de transporteurs POT et LAT. *Journal international des sciences moléculaires*. **2022** ; 23,14 :7733.
- King G. Venins aux médicaments : traduire les peptides de venin en thérapeutique. Aust. Biochimie. **2013**, 44 :13–15.

- Kitts DD ; Yuan YV ; Nagasawa T ; et coll. Effet de la caséine, des phosphopeptides de caséine et de l'apport de calcium sur l'iléon45 Disparition du Ca et tension artérielle systolique temporale chez des rats spontanément hypertendus. *Br J Nutr*68, **1992** :765–781.
- Klotz L ; Boccon-Gibod L ; Shore ND. « Efficacité et sécurité du dégarelix : une étude de phase III comparative, randomisée, en ouvert et en groupes parallèles sur 12 mois chez les patients atteints de cancer de la prostate. " *BJU International*, **2008**, 102,11 :1531-1538.
- Kohama Y ; Oka H ; Kayamori Y. Analogues synthétiques puissants de l'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine dérivée du muscle de thon. *Agric Biol Chem* ,**1991**, 55 :2169–2170.
- Komin A ; Russell LM ; Hristova KA ; Searson PC. Stratégies à base de peptides pour l'amélioration de l'absorption cellulaire, du transport transcellulaire et de la circulation : mécanismes et défis. *Adv. Deliv. Tour.* **2017**, 110–111 :52–64.
- Kovacs-Nolan J ; Zhang H ; Ibuki M ; Nakamori T ; Yoshiura K ; Turner PV ; Matsui T ; Mine Y. Le tripeptide de soja VPY transportable par PepT1 réduit l'inflammation intestinale. *Biochim. Biophys. Acté.* **2012** ; 1820 :1753–1763.
- Kwon DY ; Hong SM ; Ahn EST ; Kim MJ ; Yang HJ ; Park, S. Les isoflavonoïdes et les peptides de meju, soja fermenté à long terme, augmentent la sensibilité à l'insuline et produisent des effets insulinoïdes in vitro. *Nutrition* **2011** ,27 :244–252.
- Lapphanichayakool P ; Sutheerawattananonda M ; Limpeanchob N. Effet hypocholestérolémiant des oligopeptides dérivés de la sérine chez les rats nourris avec un taux de cholestérol élevé. *J. Nat. Avec.* **2017** ,71 :208–215
- Lawrenson SB ; Arav R ; North M. Le verdissement de la synthèse des peptides. *Chimie Verte.* **2017**, 19 :1685–1691.
- Léa Tor . L'impact des bioactifs alimentaires sur la santé " Lignée cellulaire Caco-2" . : **2015** :103–111.
- Lee SY ; Show PL ; Ling TC ; Chang JS. Perturbation en une seule étape et récupération des protéines de *Chlorella vulgaris* à l'aide d'ultrasons et de solutions aqueuses tampons liquides ioniques comme solvants extractifs ; *Biochemical Engineering Journal*, **2017**, 124 : 26-35.
- Lee SY ; Hur SJ. Peptides antihypertenseurs provenant de produits animaux, d'organismes marins et de plantes. *Chimie alimentaire.* **2017**, 228 :506–517.
- Lehmann A : Ecallantide (DX-88), un inhibiteur de la kallikréine plasmatique pour le traitement de l'angio-œdème héréditaire et la prévention de la perte de sang en chirurgie cardiothoracique à la pompe. *Expert Opin Biol Ther.* août **2008** ;8,8 :1187-99.
- Li W ; O'Brien-Simpson ; Nouveau-Mexique ; Hossain MA ; Wade JD. Le groupe 9-fluorénylméthoxycarbonyl (Fmoc) dans la synthèse chimique des peptides - Son passé, son présent et son avenir. *Aust. J. Chem.* **2019**, 73 :271–276.

- Liu Y ; Pischetsrieder M. Identification et quantification relative des peptides bioactifs séquentiellement libérés lors de la digestion gastro-intestinale simulée du kéfir commercial *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2017**, 65 9 :1865-1873.
- Liu Y; Luo J ; Xu C ; Ren F; Peng C ; Wu G ; Zhao J. Purification, caractérisation et clonage moléculaire du gène d'une protéine antimicrobienne spécifique aux graines de pokeweed. *Physique Végétale*. **2000**, 122 :1015-1024.
- Liu Z ; Wang S ; Hu M. *Bases de l'absorption orale. Développement de formes posologiques orales solides*. 2e éd. Elsevier ; Amsterdam, Pays Bas : **2016** :263–288.
- Lorenzen CP ; Meisel H. Influence de l'action de la trypsine dans le lait de yaourt sur la libération de fractions riches en caséinophosphopeptides et les propriétés physiques des produits fermentés. *Int. J. Dairy Technol.* **2005**, 58 :119–124.
- Lundquist P ; Artursson P. Absorption orale de peptides et de nanoparticules dans l'intestin humain : opportunités, limites et études dans les tissus humains. *Adv. Déliv. Rév.* **2016**, 106 :256–276.
- Mancini GJ ; Baker S ; Bergeron J ; Fitchett D ; Frohlich J ; Genest J ; Gupta M ; Hegele RA ; Ng D ; Pearson GJ. Diagnostic, prévention et gestion des effets indésirables et de l'intolérance aux statines : mise à jour du groupe de travail sur le consensus canadien. *Peut. J. Cardiol.* **2016**, 32 :35–65.
- Marchiando AM ; Graham WV ; Turner JR. Barrières épithéliales dans l'homéostasie et la maladie. *Anne. Rev. Pathol. Méca. Dis.* **2010**, 5 :119–144.
- Marciniak A ; Suwal S ; Naderi N ; Pouliot Y; Doyen A. Amélioration de l'hydrolyse enzymatique des protéines alimentaires et de la production de peptides bioactifs à l'aide de la technologie à haute pression hydrostatique. *Tendances Food Sci. Technol.* **2018**, 80 :187–198.
- Marson ; député Belleville ; Lacour S ; Hubinger MD. Fractionnement membranaire d'hydrolysats de protéines à partir de sous-produits : récupération de composés précieux à partir de levures épuisées *Membranes*, **2021**, 11, 1 :1 – 19.
- Matsui T. Les peptides sont-ils des composés résorbables ? *J. Agric. Chimie alimentaire.* **2018**, 66 :393–394.
- Meisel H ; Walsh D ; Murray B ; FitzGerald R. Peptides opposés de l'ECA. Dans *Protéines et peptides nutraceutiques dans la santé et la maladie* ; CRC Press LLC : Boca Raton, Floride, États-Unis, **2006** :269–315.
- Memarpoor-Yazdi, M. ; Asoodeh, A.; Chamani, J. Un nouveau peptide antioxydant et antimicrobien à partir d'hydrolysats de lysozyme de blanc d'œuf de poule. *J. Fonction. Nourriture* **2012**, 4 :278–286.
- Mine Y Li-Chan E, Jiang B. éditeurs. *Protéines et peptides bioactifs comme aliments fonctionnels et nutraceutiques*. Oxford : Wiley Blackwell ; **2010**.

- Mizuno S ; Matsuura K ; Sorti ; Nishimura S ; Kajimoto O ; Yabune M ; Kajimoto Y ; Yamamoto N. Effet antihypertenseur de l'hydrolysate de caséine dans une étude contrôlée par placebo chez des sujets présentant une pression artérielle normale élevée et une hypertension légère. *Br. J. Nutr.* **2005**, 94 :84–91.
- Mock LW, Green PC ; Boyer KD. Spécificité et dépendance au pH pour le clivage de l'acylproline par la prolidase. *J Biol Chem*, **1990** 265 :19600–19605.
- Mohanty DP ; Mohapatra S ; Misra S. « et col. » Les peptides bioactifs dérivés du lait et leur impact sur la santé humaine – Une revue. *Journal saoudien des sciences biologiques*, **2016** , 23 :577–583.
- Mohebi GH ; Nabipour I ; Vazirizadeh A. La Mer, la future pharmacie. *ISMJ* **2014** , 17 :748–788.
- Mojica L ; De Mejia EG ; Granados-Silvestre MA ; Menjivar M. Évaluation du potentiel hypoglycémique d'un isolat de protéine hydrolysée de haricot noir et de ses peptides purs à l'aide d'approches in silico, in vitro et in vivo. *J.Fonction. Nourriture* **2017** ,31 :274–286.
- Moller NP ; Scholz-Ahrens KE ; Roos N . Peptides et protéines bioactifs d'origine alimentaire : indication d'effets sur la santé. *Eur J Nutr* (**2008**) 47 :171–182.
- Morales González JA (ed) Stress oxydatif et maladies dégénératives chroniques - un rôle pour les antioxydants. InTechOpen, Londres Puchalska P, Marina ML, García MC Développement d'une méthodologie de spectrométrie de masse quadripolaire à ionisation par électrospray par chromatographie liquide à haute performance pour la détermination de trois peptides hautement antihypertenseurs dans les cultures de maïs. *J Chromatogr*, **2013**, 1285 : 69-77.
- Naderi N ; Maison JD ; Pouliot Y ; Doyen A. Effets du traitement à haute pression hydrostatique sur les composés d'oeufs de poule et les ovoproduits *Compr. Rev Food Sci. Sécurité alimentaire.* **2017** , 16 :707–720.
- Naito H ; Suzuki H. Une autre preuve de la formation in vivo de phosphopeptide dans la lumière intestinale d'origine alimentaire-caséine. *Agr Biol Chimie* **1974**, 38 :1543-1545.
- Nawrot R ; Barylski J ; Nowicki G ; Broniarczyk J ; Buchwald W ; Goździcka-Józefiak A. Peptides antimicrobiens végétaux. *Folia Microbiol.* **2014** , 59 :181–196.
- Newstead S ; Drew D ; Cameron AD ; Postis VL ; Xia X ; Fowler PW Ingram JC ; Carpenter EP ; Sansom MS ; McPherson MJ ; Baldwin SA ; Iwata S. Crystal structure of a procaryotic homologue of the mammalian oligopeptide-proton symporters, PepT1 et PepT2. **2011**.
- Nicolae Solcan Jane Kwok Philip W Fowler Alexander D Cameron David Drew So Iwata Simon Newstead ; Mécanisme d'accès alterné dans la famille POT des transporteurs d'oligopeptides ; *Le journal EMBO* , **2012** ,31 : 3411-3421.

- Nongonierma AB ; FitzGerald RJ. Les preuves scientifiques du rôle des peptides bioactifs dérivés des protéines du lait chez l'homme : une revue. *J. Fonction. Aliments* **2015** , 17 :640–656.
- Nováková L ; Holčápek M ; Jirásko R ; Lísa M. Couplage UHPLC/MS : Comment sélectionner une configuration appropriée, *Monographies de chromatographie RSC* ,**2012**, 16 :186-210.
- Nováková L ; Svoboda P ; Pavlík J. Chromatographie liquide ultra-haute performance, *Chromatographie liquide : Fondamentaux et instrumentation : Deuxième édition*, **2017**, 1 :719-769.
- Omkvist DH ; Larsen SB ; Nielsen CU ; Steffansen B ; Olsen L ; Jørgensen FS ; Brodin B. Une relation quantitative structure-activité pour la translocation des tripeptides via le transporteur de peptides Couplés au proton humain, hPEPT1 (SLC15A1) *AAPS J* **2010** ; 12 : 385–396.
- Organisation mondiale de la santé. Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles 2014. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; **2014**
- Ouais YQ ; Yu J ; Polyak SW ; Horsley JR ; Abell AD. Contrôle photopharmacologique des peptides antimicrobiens cycliques. *ChimBioChem* **2018** ,19 :2591-2597.
- Ozawa A ; Cai Y ; Lindberg I. Production de peptides bioactifs dans un système in vitro. *Anal. Biochimie.* **2007**, 366 :182–189.
- Pandey M ; Kapila S ; Kapila R . Évaluation du potentiel ostéoprotecteur des peptides bioactifs antioxydants dérivés du lactosérum (YVEEL) et inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (YLLF) chez des rats ovariectomisés. *Fonction alimentaire* **2018** , 9:4791–4801.
- Pandey R ; Rameshkumar KB ; Kumar B. Méthode de spectrométrie de masse en tandem par chromatographie liquide à ultra haute performance pour la détermination simultanée de plusieurs constituants bioactifs dans les extraits de fruits de *Myristica fragrans* et ses formulations polyherbales commercialisées utilisant une commutation de polarité, *Journal of Separation Science*,**2015**, 38,8 :1277-1285.
- Pearman NA ; Ronander E ; Smith AM ; Morris GA. L'identification et la caractérisation de nouveaux peptides bioactifs dérivés du foie de porc, *Current Research in Food Science*,**2020**, 3 :314.
- Perez de Souza L ; Alseekh S ; Scossa F ; Fernie AR. Variantes de spectrométrie de masse haute résolution en chromatographie liquide ultra-haute performance pour la recherche en métabolomique *Nature Methods*,**2021**, 18,7 :733-746.
- Pojić M ; Mišan A ; Tiwari B. Technologies éco-innovantes pour l'extraction de protéines destinées à la consommation humaine à partir de sources renouvelables de protéines d'origine végétale *Trends in Food Science & Technology*,**2018**, 75 :93.
- Pouvoirs JPS ; Rozek A ; Hancock RE. Relations structure-activité pour le peptide antimicrobien cationique en épingle à cheveux  $\beta$  polyphémusine I. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Protéines Proteom.* **2004** , 1698 :239–250.

- Quiros A ; Chichon R ; Recio I ; López-Fandiño R. L'utilisation d'une pression hydrostatique élevée pour favoriser la protéolyse et la libération de peptides bioactifs à partir de l'ovalbumine. *Chimie alimentaire*. **2007** , 117 :1734-1739.
- Ratner RE ; Dickey R , Fineman M : "Remplacement de l'amyline par le pramlintide en complément d'une thérapie à l'insuline pour améliorer le contrôle glycémique et pondéral à long terme chez les patients atteints de diabète de type 1 : essai randomisé contrôlé d'un an." *Diabet Med*, **2004** 21,11 :1204-1212.
- Ray T ; Kar D ; Pal A. Ciblage moléculaire du sein et les cellules cancéreuses du côlon par l'apoptose médiée par PAR1 grâce à un nouveau peptide pro-apoptotique. *Apoptose* **2018** ;23 :679-94.
- REALuko . Peptides dérivés de protéines alimentaires : production, isolement et purification, RY Yada (Ed.), *Proteins in Food Processing*, Woodhead Publishing **2018** :389-412.
- Reddi S ; Mada SB ; Kumar N. Effet antiostéopénique du peptide dérivé de caséine de lait de bufflonne (NAVPITPTL) chez des rats ovariectomisés. *Int J Pept Res Ther* doi\_ **2018** .
- Regazzo D ; Molle D ; Gabai G ; Tome D ; Dupont D ; Leonil J ; Boutrou R. monocouche. *Mol. Nutr. Rés alimentaire*. **2010** ; 54 :1428–1435.
- Renukuntla J ; Vadlapudi AD ; Patel A ; Boddu SHS ; Mitra AK. Approches pour améliorer la biodisponibilité orale des peptides et des protéines. *Int. J.Pharm.* **2013** ; 447 : 75–93.
- Righard L ; Carlsson-Jonsson A ; Nyberg F. Augmentation des niveaux de  $\beta$  -casomorphine-8 immunoréactive dans le lait des femmes allaitantes atteintes de mammite. *Peptides* **2014**, 51 :54–58.
- Roblet C ; Aktar MJ ; Mikhaylin S ; Pilon G ; Gill T ; Marette A ; Bazinet L. Amélioration de l'absorption du glucose dans les cellules musculaires par des fractions peptidiques séparées par électrodialyse avec membrane de filtration à partir d'hydrolysats de protéines de trame de saumon. *J. Fonction. Nourriture* **2016** ,22 :337–346.
- Rodriguez-Aller M ; Gurny R ; Veuthey JL ; Guilleme D. Coupling ultra high-pressure liquid chromatography with mass spectrometry: Constraints and possible applications, *Journal of Chromatography A*, **2013**, 1292 :2-18.
- Roos N ; Mahe S ; Benamouzig R. Les immunoglobulines marquées au <sup>15</sup>N du colostrum bovin sont partiellement résistantes à la digestion dans l'intestin humain. *J Nutr* ,1995, 125 :11238–11244.
- Rubio-Aliaga I ; Daniel H. Transporteurs de peptides et leurs rôles dans les processus physiologiques et la disposition des médicaments. *Xénobiotique*. juil . **2008** ;38 (7-8) :1022-42.

- Rudolph S ; Lunow D ; Kaiser S ; Henle T. Identification et quantification des peptides inhibiteurs de l'ECA dans les hydrolysats enzymatiques de protéines végétales. *Chimie alimentaire*. **2017** ;224 :19–25.
- Rustad T ; Storrø I ; Slizyte R. Possibilités d'utilisation des sous-produits marins. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2011** , 46 :2001–2014.
- Rutherford-Markwick, K. Les protéines alimentaires comme source de peptides bioactifs aux fonctions diverses. *Journal britannique de la nutrition*, **2012** , 108 (S2) :149-157.
- Safarik ; Safarikova M. Techniques magnétiques pour l'isolement et la purification de protéines et de peptides. *Biomagnetic Research and Technology*, **2004**, 2 : 7.
- Salamat-Miller N ; Johnston TP. Stratégies actuelles utilisées pour améliorer le transport paracellulaire de polypeptides thérapeutiques à travers l'épithélium intestinal. *Int. J.Pharm.* **2005** , 294 :201–216.
- Salas CE ; Badillo-Corona JA ; Ramírez-Sotelo G ; Oliver-Salvador C. Peptides biologiquement actifs et antimicrobiens de plantes. *BioMed Res. Int.* **2015** , 2015, 102129.
- Sasaki M ; Bosman BW; Tan PS. Comparaison des activités protéolytiques dans divers lactobacilles. *J. Produits laitiers Res.* **1995** , 62, 601–610.
- Shah P ; Hsiao FSH ; Ho YH ; Chen CS. Le protéome cible les peptides antimicrobiens de ciblage intracellulaire. *Protéomique* **2016** ,16, 1225–1237.
- Shahidi F ; Zhong Y. Peptides bioactifs. *J.AOAC Int.* **2008** , 91 :914–931.
- Shai Y. Mécanisme de la liaison, de l'insertion et de la déstabilisation des membranes bicouches phospholipidiques par des peptides lytiques membranaires non sélectifs antimicrobiens et cellulaires  $\alpha$ -hélicoïdaux. *Biomembrane* ,**1999**,1462 :55–70.
- Shimizu M ; Tsunogai M ; Arai S. Transport transépithélial d'oligopeptides dans la cellule intestinale humaine, Caco-2. *Peptides*. **1997** ; 18 : 681–687.
- Siow HL, Gan CY. Extraction, identification et relation structure-activité des peptides antioxydants et inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase des graines de cumin (*Cuminum cyminum*). *Aliments fonctionnels J* **2016**, 22 :1–12.
- Sorensen MJ ; Anderson BG ; Kennedy RT. Chromatographie liquide au-dessus de 20 000 PSI, Tendances en chimie analytique : *TRAC*,**2020** :124.
- Staats PS ; Yearwood T ; Charapata SG. "Ziconotide intrathécal dans le traitement des douleurs réfractaires chez les patients atteints de cancer ou du SIDA : essai contrôlé randomisé." *JAMA*, **2004**, 291,1 :63-70.
- Stec B. Plant thionins—La perspective structurale. *Cellule. Mol. Vie Sci. CMLS* **2006** , 63 :1370–1385.



- Stotz HU ; Thomson J ; Wang Y. Défensines végétales : défense, développement et application. Signal de l'usine. *Comportement* **2009** , 4 :1010-1012.
- Sugano K ; Kansy M ; Artursson P ; Avdeef A ; Bendels S ; Di L ; Ecker GF ; Faller B ; Fischer H ; Gerebtzoff G et al. Coexistence de processus passifs et médiés par des transporteurs dans le transport de médicaments. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010** ; 9 : 597–614.
- Sunnchez A ; Vunzquez A. Peptides bioactifs : Une revue. *Qualité Alimentaire Saf.* **2017** ,1 :29–46.
- Susnea I ; Bernevic B ; Wicke M ; Ma L ; Liu S ; Schellander K ; Przybylski M ; Susnea I ; Przybylski M ; Wicke M ; Ma L ; Liu S ; Schellander K. Application de la spectrométrie de masse MALDI-TOF à l'analyse du protéome à l'aide d'une électrophorèse sur gel sans tache, *Top Curr Chem*, **2012**, 331 :37-54
- Tang W ; Zhang H ; Wang L ; Qian H ; Qi X. Séparation ciblée du peptide antibactérien de l'hydrolysate protéique des eaux usées de cuisson d'anchois par dialyse à l'équilibre. *Chimie alimentaire.* **2015** , 168 :115–123.
- Taylor LT. Chromatographie fluide supercritique pour le 21e siècle. *J. Supercrit. Fluides* **2009** , 47 :566-573.
- Terras FR ; Eggermont K ; Kovaleva V ; Raikhel NV ; Osborn RW ; Kester A ; Rees SB ; Torrekens S ; Van Leuven F ; Vanderleyden J. Petites protéines antifongiques riches en cystéine du radis : leur rôle dans la défense de l'hôte. *Cellule végétale* **1995** , 7 :573–588.
- Tovar-Perez EG ; Guerrero-Becerra L ; Lugo-Cervantes E. Activité antioxydante des hydrolysats et des fractions peptidiques de la glutéline de la graine de cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). *CyTA J Food.* **2017**, 15 :489–96
- Trinidad-Calderón PA ; Acosta-Cruz E ; Rivero-Masante MN ; Díaz-Gómez JL ; García-Lara S ; López-Castillo LM. Peptides bioactifs du maïs : de la structure à la santé humaine, *Journal of Cereal Science* 2021 :100.
- Udenigwe CC. Protéines et peptides alimentaires : biofonctions émergentes, applications alimentaires et biomatériaux, (1ère édition), Royal Society of Chemistry **2021**.
- Van Den Broek I ; Smit NPM ; Romijn FPHTM ; Van Der Laarse A ; AM Deelder, YEM Van Der Burgt, CM Cobbaert, Évaluation de l'efficacité de la digestion interspécimen de la trypsine avant la quantification absolue des protéines basée sur la surveillance des réactions multiples avec des calibrateurs de protéines natives, *Journal of Proteome Research*, **2013** ,12,12 :5760-5774.
- Vermeirssen V ; Van Camp J ; Verstraete W. Biodisponibilité des peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I. *Br. J. Nutr.* **2004** ; 92 :357–366.

- Vig BS ; Stouch TR ; Timoszyk JK ; Quan Y ; Wall DA ; Smith RL ; Faria TN. Le pharmacophore PEPT1 humain fait la distinction entre le transport dipeptidique et la liaison. *J. Med. Chim.* **2006** ,49 :3636–3644.
- Volet K ; Durante L ; Crescenzi O ; Cafaro V ; Pizzo E ; Varcamonti M ; Zanfardino A ; Izzo V ; Di Donato A ; Notomista E. La puissance antimicrobienne des peptides antimicrobiens cationiques peut être prédite à partir de leur composition en acides aminés : application à la détection des peptides antimicrobiens « cryptiques ». *J. Théor. Biol.* **2017** , 419 :254– 265
- Voultsiadou ; E. Distribution de Demosponge en Méditerranée orientale : un gradient NW–SE. *Helgol. Mar. Rés.* **2005** , 59 :237–251.
- Wang B ; Li B. Effet du poids moléculaire sur le transport transépithélial et la dégradation de la peptidase des peptides dérivés de la caséine en utilisant le modèle cellulaire Caco-2. *Chimie alimentaire.* **2017** , 218 :1–8.
- Wang J ; Soleil B ; Lin Y ; Zhang H. Optimisation de l'extraction enzymatique assistée par ultrasons d'arabinoxylane de fils de blé. *Chimie alimentaire.* **2014** , 150 :482–488.
- Wang J ; Hu J ; Cui J ; Bai X ; Du Y ; Miyaguchi Y ; Lin B. Purification et identification d'un peptide inhibiteur de l'ECA à partir d'hydrolysats de protéines d'huîtres et effet antihypertenseur de l'hydrolysats chez des rats spontanément hypertendus. *Food Chem* **2008**,111,2 :302–308.
- Wang X ; Qiu N ; Liu Y. Effet de différents traitements thermiques sur la digestion in vitro des protéines de blanc d'œuf et identification de peptides bioactifs dans les produits digérés. *J Food Sci* **2018**, 83 :1140–1148.
- Wang Z ; Shan W ; Li H, et al. Le peptide MPAPO dérivé de PACAP facilite la cicatrisation des plaies cornéennes en favorisant la prolifération des cellules épithéliales cornéennes et la régénération des axones des cellules ganglionnaires du trijumeau. *Int J Biol Sci* **2019** ;15 :2676-91.
- Wesson KJ ; Hamann MT ; Keenam A. un peptide cyclique bioactif du mollusque marin *Pleurobranchus forskalii*. *J. Nat. Prod.* **1996** ,59 :629–631.
- Wijngaard H ; Hossain MB ; Rai DK ; Brunton, N. Techniques d'extraction de composés bioactifs à partir de sous-produits alimentaires d'origine végétale. *Rés alimentaire. Int.* **2012** , 46 :505-513.
- Wu H ; Zhu J, Diao W ; Wang C. Extraction enzymatique assistée par ultrasons et activité antioxydante des polysaccharides de la citrouille (*Cucurbita moschata*). *Glucides. Polym.* **2014** , 113 :314–324.
- Wu Y ; Liao H ; Liu LY ; Soleil F ; Chen HF ; Jiao WH ; Zhu HR ; Yang F ; Huang G ; Zeng DQ. Phakéfustatines A – C : cycloheptapeptides porteurs de kynurénine en tant que modulateurs RXR  $\alpha$  de l'éponge marine *Phakellia fusca*. *Org. Lett.* **2020** :22.

- Xu F ; Wang L ; Ju X ; Zhang J ; Yin S ; Shi J ; Son ; Yuan Q. Transport transépithélial de YWDHNNPQIR et son devenir métabolique avec cytoprotection contre le stress oxydatif dans les cellules Caco-2 intestinales humaines. *J. Agric. Chimie alimentaire*. **2017** , 65 :2056–2065.
- Xu Q ; Hong H ; Wu J ; Yan Y. Biodisponibilité des peptides bioactifs dérivés de protéines alimentaires à travers la membrane épithéliale intestinale : une revue. *Tendances Food Sci. Technol.* **2019** , 86 : 399–401.
- Yingying Zhu . Effets anticancéreux des composants bioactifs du soja et activités anti-inflammatoires du peptide de soja Lunasin , communauté française de Belgique université de Liège – Gembloux agro-bio tech , **2018**.
- Yoshimoto R ; Fischl M ; Orłowski RC, et coll. Enzyme de clivage postproline et comparaison dipeptidyl aminopeptidase post-proline de deux peptidases à haute spécificité pour les résidus proline. *J Biol Chem* : **1978** 253 :3708–3716.
- Yu HM ; Chen ST ; Wang KT. Efficacité de couplage améliorée dans la synthèse de peptides en phase solide par irradiation aux micro-ondes. *J. Org. Chim.* **1992** , 57 : 4781–4784.
- Zambrowicz A ; Timmer M ; Polanowski A ; Lubec G ; Trziszka T. Fabrication de peptides présentant une activité biologique. *Acides aminés* **2013** ,44 :315–320.
- Zampella A ; Sepe V ; Luciano P ; Bellotta F ; Monti MC ; D'Auria MV ; Jepsen T ; Petek S ; Adeline MT ; Laprévôte O et al. Homophymine A, un cyclodepsipeptide anti-VIH de l'éponge *Homophymia* sp. *J. Org. Chim.* **2008** , 73 :5319–5327.
- Zhang F ; Cui X ; Fu Y ; Zhang J ; Zhou Y ; Soleil Y ; Wang X ; Li Y ; Liu Q ; Chen T. Activité antimicrobienne et mécanisme de la caséine peptidique issue du lait maternel201. *Biochimie. Biophys. Rés. Commun.* **2017** , 485 :698–704.
- Zhao K ; Luo G ; Zhao GM ; Schiller PW ; Szeto HH. Transport transcellulaire d'un térapeptide opioïde à 31 charges nettes hautement polaire. *J. Pharmacol. Exp. Thérap.* **2003** ; 304 :425–432.
- Zhong H ; Marcus SL ; Li L. Hydrolyse acide assistée par micro-ondes de protéines combinées à la chromatographie liquide MALDI MS/MS pour l'identification des protéines. *Confiture. Soc. Spectre de masse.* **2005** , 16 :471–481.
- Zhuang H ; Tang N ; Dong ST ; Sun B ; Liu JB. Optimisation de la préparation de peptides antioxydants à partir de farine de gluten de maïs, *Journal of the Science of Food and Agriculture*,**2013**, 93, 13 :3264-3270.
- Zhuang H ; Tang N ; Yuan Y : Purification et identification des peptides antioxydants de la farine de gluten de maïs. *J Funct Foods* 5 : **2013** :1810–1821.
- Zou TB ; Lui TP ; Li HB ; Tang HW ; Xia EQ. La relation structure-activité des peptides antioxydants d'origine naturelle protéines. *Molécules* **2016**, 21 :72.



Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : TRAORE Soumana  
TOURE Mahamar Idrissa

## *Peptides Bioactifs : Sources, Modes de Production et Potentiels Thérapeutiques*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliqué

### **RESUME :**

Les peptides bioactifs sont un groupe de molécules biologiques enfouies dans la structure des protéines mères et deviennent actives après leur hydrolyse. Ils sont présents dans différents aliments comme le lait et ses dérivés, les produits fermentés, les végétaux et les produits de la mer. La majorité de ces peptides se compose de 2 à 20 acides aminés. Leur importance réside dans les différentes fonctions physiologiques, telles que les activités antimicrobiennes, anticancéreux, antihypertensives, antioxydantes, hypolipémiantes, opioïdes, ostéoprotecteurs, antidiabétiques, qui sont démontrées dans plusieurs travaux. Aujourd'hui, de nombreux groupes de peptides bioactifs sont commercialisés pour ces différents effets bénéfiques pour la santé. Ce travail passe en revue les sources, les différentes méthodes de production, les activités biologiques de ces biomolécules et aussi les techniques utilisées pour leur extraction et purification. Ces peptides sont, potentiellement, intéressants dans le développement de nouveaux aliments de prévention dits aliments-santé.

**Mots-clefs :** Peptide bioactif ; Fonction physiologique ; Méthode de production ; Extraction et purification

**Président de jury :** Mme Kassa Laouar Mounia (MCB- UFM-Constantine1)

**Encadreur :** Mme Boukhalfa Hayet (MCB- UFM-Constantine1)

**Examineur :** Mme Daoudi Hadjer (MCA- UFM-Constantine1)