УДК 577.112.083/122.2

ПРОТЕЇНИ КАЗЕЇНОВОГО КОМПЛЕКСУ МОЛОКА КОРІВ (*Bos taurus*) ЯК ПОПЕРЕДНИКИ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ ПЕПТИДІВ

А. В. ЮКАЛО, Л. А. СТОРОЖ, В. Г. ЮКАЛО

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

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

Отримано 25.05.2011

В огляді наведено дані щодо складу протеїнів казеїнового комплексу молока корів (*Bos taurus*), їх класифікації. Викладено сучасні уявлення про формування біологічної цінності казеїнів як природних харчових протеїнів, які передусім відповідають класичним вимогам до харчових протеїнів (збалансований амінокислотний склад, доступність дії протеолітичних ензимів шлунково-кишкового тракту). Окрім того, в останні роки встановлено, що казеїни є попередниками низки біологічно активних пептидів, що дало підставу вважати ці протеїни харчовими прогормонами. Серед продуктів протеолітичного розщеплення казеїнів виявлено пептиди, які впливають на серцево-судинну (антитромботичні й антигіпертензивні), нервову (агоністи та антагоністи опіоїдних рецепторів), травну (казофосфопептиди, глікомакропептид к-казеїну), імунну (імуномодуляторні та антимікробні пептиди) системи. База даних про біологічно активні пептиди казеїнового походження інтенсивно поповнюється новими видами біоактивних пептидів з антиканцерогенною і противірусною дією, пептидів, які стимулюють синтез ДНК, тощо. В огляді детально описано шляхи утворення і властивості груп біоактивних пептидів. Показано, що казеїнові пептиди є стійкими до дії травних протеаз, можуть всмоктуватися в кишечнику, проникати в кров'яне русло і виявляти свою біологічну дію. Також наведено результати досліджень, які свідчать про утворення біоактивних казеїнових пептидів у ферментованих молочних продуктах унаслідок дії протеаз молокозсідальних препаратів та молочнокислих бактерій. Зокрема, авторами доведено утворення в модельній системі казокінінів — антигіпертензивних казеїнових пептидів з α_{S1}- і β-казеїнів. Явище утворення біоактивних пептидів розширює не лише уявлення про біологічну цінність казеїнів, але й про саме поняття біологічної цінності харчових протеїнів. Наведено приклади практичного застосування біоактивних пептидів, розглянуто шляхи використання їх для створення нових видів дієтичних і функціональних харчових продуктів.

Ключові слова: казеїн, біологічно активні пептиди, протеоліз, функціональні молочні продукти.

Молоко і протеїнові молочні продукти мають високу біологічну цінність. Це передусім пов'язано з високим ступенем збалансованості амінокислотного складу молочних протеїнів порівняно з так званим ідеальним харчовим протеїном, амінокислотний склад якого відповідає потребам організму людини. До того ж протеїни молока добре перетравлюються протеолітичними ензимами шлунково-кишкового тракту. Причому, головні протеїни молока — казеїни здатні однаково добре розщеплюватися протеолітичними ензимами в нативному і денатурованому стані [1, 2].

Казеїн складається з чотирьох головних і низки мінорних протеїнових фракцій. Останні дані (шоста редакція) щодо фракційного складу і номенклатури казеїнів було опубліковано Комітетом з номенклатури, класифікації і методології молочних протеїнів Американської асоціації молочних наук у 2004 р. [3]. Фракції протеїнів казеїнового комплексу коров'ячого молока та окремі поліпептиди, які утворюються в результаті їх розщеплення природними ензимами молока, можна ідентифікувати методом електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) [4–6] (рис. 1).

Аналіз даних щодо біологічної цінності казеїну свідчить про невідповідність його біологічної цінності й перетравлюваності [7]. Казеїни мають високий показник перетравлюваності (97%) і відносно низькі показники біологічної цінності (68%) та чистої утилізації протеїну (66%). Це може бути пов'язано з іншими важливими функціями казеїнів або продуктів їх протеолізу.

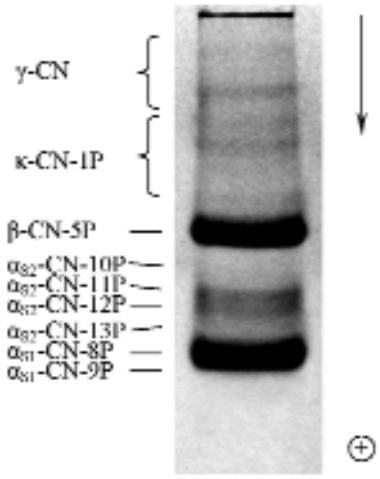


Рис. 1. **Електрофореграма казеїну коров'ячого молока, отримана з використанням лужної системи ПААГ у присутності сечовини [6]**

Ще наприкінці 70-х років минулого століття було встановлено, що окремі фрагменти первинної структури протеїнів казеїнового комплексу молока, які вивільняються у вигляді пептидів у процесі травлення, можуть мати фізіологічну активність в організмі тварин у період молочного живлення [2]. Такий висновок було зроблено в результаті дослідження властивостей глікомакропептиду, що утворюється на початкових стадіях дії травних протеїназ (хімозину і пепсину) на казеїнові міцели [8]. Виявилось, що глікомакропептид (ГМП) є сильним інгібітором шлункової секреції та моторики [9].

Уперше біологічно активні пептиди з протеїнів казеїнового комплексу, дія яких не була безпосередньо пов'язана з процесами травлення, було виділено в 1979 р. у Мюнхені групою Віктора Брантла (Інститут Макса Планка) [10]. Шляхом екстрагування в суміші хлороформ–метанол і використання різних видів рідинної хроматографії та гель-фільтрації йому вдалося виділити з ензиматичного гідролізату загального казеїну декілька пептидних препаратів, що були стійкими до дії пронази і виявляли опіоїдну активність. Згодом ці пептиди дістали назву казоморфінів [11–13].

У 80–90-ті роки минулого століття було проведено низку досліджень ензиматичних гідролізатів казеїнів, отриманих *in vitro*, гастроінтестинальних гідролізатів, одержаних *in vivo*, а також синтетичних пептидів, які відповідали первинній структурі казеїнів. У результаті було виявлено біологічно активні пептиди, які можуть утворюватись під час розщеплення різних фракцій протеїнів казеїнового комплексу [14–17]. Такі пептиди впливають на функцію різних фізіологічних систем організму (рис. 2). Зокрема, було ідентифіковано агоністи та антагоністи опіатних рецепторів, інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму, антитромботичні пептиди, імуномодуляторні пептиди, біоактивні фосфопептиди, пептиди, які пригнічують розвиток патогенних мікроорганізмів. У 1991 р. нами було встановлено можливість утворення таких біоактивних пептидів з протеїнів казеїнового комплексу молока під дією ензимів протеолітичних систем лактококів і протеаз, що їх використовують у виробництві ферментованих молочних продуктів [18]. Дослідження біоактивних пептидів з казеїнів активно проводять і в наш час. Постійно поповнюється база даних щодо біологічно активних пептидів, які утворюються в процесі перетравлювання казеїнів, відкрито нові види біологічної активності (антиканцерогенна дія, стимуляція синтезу ДНК, антивірусна дія і т. д.) [19–22].



Рис. 2. **Функції біоактивних пептидів із казеїнів [19]**

Казоморфіни і казоксини — агоністи й антагоністи опіатних рецепторів

Казоморфіни — перші біологічно активні пептиди, які було виділено з ензиматичних гідролізатів казеїну [10, 11]. Віктор Брантл зі співробітниками встановили, що фрагментові β-казеїну β-CN (f 60–70) притаманна опіоїдна морфіноподібна активність; він отримав назву β-казоморфін. Пізніше було встановлено, що β-казоморфіни та їхні синтетичні аналоги є агоністами μ- і κ-опіатних рецепторів і за внутрішньошлункового введення щурам спричинюють аналгезію [12]. Крім того, ці пептиди, подібно до морфію, викликають сонливість, пригнічення

дихання, гіпотензію, брадикардію [23]. Анальгетична дія β-казоморфіну досягає піку через 10 хв після введення пептиду і зникає повністю через 30 хв унаслідок відщеплення *N*-термінального залишку тирозину. Амідний аналог β-казоморфіну — β-казоморфін-4-амід (морфіцептин) виявляє сильнішу дію на центральну нервову систему, ніж морфін [24]. β-Казоморфіни виявлено в аналогічних ділянках первинної структури β-казеїнів людини і вівці [25, 26]. Вважають, що материнське молоко, яке містить β-казоморфіни, забезпечує нормалізацію сну в немовлят і заспокоює їх [27]. У результаті протеолізу пепсином було виявлено також опіоїдні пептиди з α_{S1}-казеїну. Вони отримали назву екзорфінів [28, 29]. Ліганди опіоїдних рецепторів казеїнового походження належать до екзогенних атипових опіоїдних пептидів. Вони відрізняються за структурою від типових ендогенних лігандів (динорфіни, енкефаліни, ендорфіни), хоча мають спільні риси в будові. Спільною структурною особливістю ендогенних і екзогенних опіоїдних пептидів є наявність тирозинового залишку в *N*-термінальному положенні молекули (крім екзорфінів) і додаткового ароматичного залишку (Фен або Тир) у третьому або четвертому положенні, що важливо для формування сайта зв'язування з опіатними рецепторами [25]. Негативний заряд, локалізований навколо фенольної гідроксильної групи тирозину, є необхідним для вияву опіоїдної активності. Відсутність тирозинового залишку призводить до втрати біологічної активності опіоїдів [24]. Окрім того, дуже важливим для активності опіоїдних пептидів є також залишок проліну, який впливає на просторову орієнтацію тирозину і фенілаланіну в пептидному ланцюзі [30]. Казоморфіни можуть також впливати на різні ланки обміну речовин (ліпідний обмін, секреція гормонів, інтестинальний транспорт амінокислот) [31–34].

Казоморфіни розглядають як екзогенні ліганди опіоїдних рецепторів [35]. Проте було показано, що в окремих випадках вони можуть діяти як ендогенні регулятори. Казоморфіни можуть звільнятися молочною залозою у жінок під час вагітності, переноситися через кров та зв'язуватися з опіатними рецепторами і, таким чином, брати участь в ендокринній регуляції вагітності, стимулюючи вивільнення пролактину [36, 37].

З трипсинових і пепсинових гідролізатів коров'ячого к-казеїну було виділено два пептиди з вираженою антагоністичною активністю до μ- і меншою мірою до к-опіатних рецепторів [38]. Такі пептиди отримали назву казоксинів. Механізм їхнього впливу подібний до дії налоксону. Характеристику ідентифікованих опіоїдних пептидів казеїнового походження наведено в табл. 1.

Ще одне важливе питання, пов'язане з дією цих пептидів, стосується їхньої стійкості і здатності зв'язуватися відповідними опіатними рецепторами. Так, було показано, що β-казоморфін стійкий до дії трипсину, хімотрипсину і карбоксипептидаз А і Б [39, 40]. Проте він може розщеплюватися карбоксипептидазою V з утворенням фрагменту Тир-Про-Фен, який ще зберігає активність. Повна втрата активності β-казоморфіну настає за дії пептидилдипептидази IV (КФ 3.4.14.1). Цей ензим виявлено в багатьох тканинах тварин і людини. Незважаючи на чутливість до травних пептидаз кишечника, β-казоморфіни, очевидно, можуть проникати в кров'яне русло і досягати своїх рецепторів у нервовій системі у вигляді своїх попередників — проказоморфінів, стійких до дії пептидаз. Проказоморфіни утворюються з казеїнів у результаті дії шлункових і панкреатичних протеїназ. Після досягнення рецептора захисна амінокислотна послідовність проказоморфінів відщеплюється під час обмеженого протеолізу з утворенням активного пептиду [14].

Казокініни — пептиди з антигіпертензивною активністю

Серед біологічно активних пептидів казеїнового походження важливе місце посідають пептиди, здатні гальмувати дію ангіотензинперетворювального ензиму (АПЕ). Цей ензим є компонентом ренін-ангіотензин-альдостеронової системи організму і відіграє важливу роль у регулюванні кров'яного тиску та водно-електролітичного гомеостазу [41]. З казеїнів інгібітори АПЕ вперше виділили в 1982 р. Маруяма і співавт. з трипсинового гідролізату загального казеїну коров'ячого молока [42]. Пізніше було виділено низку пептидів, інгібіторів АПЕ, з продуктів ензиматичного гідролізу різних фракцій протеїнів казеїнового комплексу. У багатьох випадках ці пептиди одержували хімічним синтезом. Ганс Мейзель [43] у 1993 р. запропонував казеїнові пептиди з АПЕ-інгібіторною дією називати казокінінами у зв'язку з подібністю їх дії до брадикініну. У табл. 2 наведено стислу характеристику відомих казокінінів [44].

Гальмування активності АПЕ казокінінами *in vitro* дало змогу встановити структурно-

Таблиця 1. **Опіоїдні пептиди казеїнового походження [35]**

Назва пептиду	Фрагмент казеїну	Амінокислотна послідовність	Вид активності	Специфічність до рецепторів (μ, δ, κ)
$\alpha_к$-CN екзорфін (1-7)	$\alpha_к$-казеїн (90-96)	RYLGYLE	агоніст	μ/δ << κ
$\alpha_к$-CN екзорфін (2-7)	$\alpha_к$-казеїн (91-96)	YLGYLE	агоніст	μ/δ
Казоксин D	$\alpha_{S1(л)}$-казеїн (158-162)	YVPFPPF	антагоніст	μ/δ
$\alpha_{S1(л)}$-Казоморфін (1-5)	$\alpha_{S1(л)}$-казеїн (158-162)	YVPFP	агоніст/ антагоніст	μ/δ <<< κ
$\alpha_{S1(л)}$-Казоморфін (1-5)-NH_2	$\alpha_{S1(л)}$-казеїн (158-162)	YVPFP-NH_2	агоніст/ антагоніст	μ << δ/κ
$\beta_к$-Казоморфін (1-7)	$\beta_к$-казеїн A_2 (60-66)	YPFPGPI	агоніст	μ > δ >> κ
Морфіцептин	$\beta_к$-казеїн A_2 (60-63)	YPFP-NH_2	агоніст	μ >> δ >> κ
Неоказоморфін	$\beta_к$-казеїн (114-119)	YPVEPF	агоніст	μ
$\beta_к$-Казоморфін (1-8)	$\beta_к$-казеїн (60-67)	YPFPGPIP	агоніст	μ >> δ, κ
$\beta_л$-Казоморфін (1-5)	$\beta_л$-казеїн (51-55)	YPFVE	агоніст	μ/δ >> κ
$\beta_л$-Казорфін	$\beta_л$-казеїн (41-44)	YPSF-NH_2	агоніст	μ
Валмуцептин	$\beta_л$-казеїн (51-54)	YPFV-NH_2	агоніст	μ > δ
N.N. $\beta_к$-фрагмент казеїну	$\beta_л$-казеїн (59-63)	YGFLP	агоніст	μ
Казоксин А	$\kappa_к$-казеїн (35-41)	YPSYGLN	антагоніст	μ
Казоксин С	$\kappa_к$-казеїн (25-34)	YIPIQYVLSR	антагоніст	μ
Казоксин-5	$\kappa_к$-казеїн (34-38)	RYPSY-OCH_3	антагоніст	μ > κ
Казоксин-6	$\kappa_к$-казеїн (33-38)	SRYPSY-OCH_3	антагоніст	μ > κ

Примітка: л — казеїни людини; к — казеїни коров'ячого молока.

функціональний зв'язок між будовою пептидних інгібіторів та їх спорідненістю до АПЕ [43]. На особливу увагу заслуговують фізіологічні ефекти, продемонстровані казокінінами *in vivo*. Передусім було показано антигіпертензивну дію казокінінів за їх внутрішньовенного введення спонтанно-гіпертензивним (SHR) щурам [45, 46]. Пероральне введення SHR-щурам трипсинового гідролізату загального казеїну спричиняло антигіпертензивний ефект [47]. Виявлено антигіпертензивну дію препарату у добровольців, які споживали трипсиновий гідролізат загального казеїну по 10 г двічі на добу протягом чотирьох тижнів [48].

Антигіпертензивні властивості пептидів, утворених з протеїнів казеїнового комплексу молока, залежать від здатності цих пептидів досягати тканин-мішеней, долаючи при цьому природні бар'єри (дія ендотеліальних та циркуляторних пептидаз, можливість проникнення в кров'яне русло). У зв'язку з цим резистентність до розщеплення пептидазами є необхідною передумовою за перорального чи внутрішньовенного використання.

Фізіологічні ефекти казокінінів, уведених перорально, дають підстави вважати, що такі пептиди здатні в активній формі абсорбуватися в кишечнику. Це підтверджується даними про те, що ди- і трипептиди легше всмоктуються в кишечнику, ніж амінокислоти чи більші олігопептиди [50, 51]. Пептиди, які містять пролін, є стійкішими до деградації травними ензимами, а пептиди, які мають Про-Про-послідовність у *С*-термінальній ділянці молекули, резистентні до деградації пролінспецифічними пептидазами — пролідазами [52, 53]. У зв'язку із цим казокініни можуть бути стійкими до дії травних ензимів, здатні проникати в організм і виявляти антигіпертензивний ефект. Часткове розщеплення пептидів може призводити до підвищення АПЕ-інгібіторної дії [49].

У лабораторії кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя нами було проведено комплекс досліджень, на основі яких доведено утворення біологічно активних пептидів, зокрема казокінінів, під час протеолізу α_{S1}- і β-казеїнів ензимами

Таблиця 2. **Антигіпертензивні пептиди казеїнового походження [44]**

Протеїн-попередник	Фрагмент	Первинна структура	IC_{50}[1] (μ моль/л)	Ензимний гідроліз	Пептидний синтез
α_{S1}-Казеїн	f (23-34)	FFVAPFPEVFGK	77	+	–
	f (23-27)	FFVAP	6	+	–
	f (24-27)	FVAP	10	–	+
	f (25-27)	VAP	2	–	+
	f (27-30)	PFPE	> 1000	–	+
	f (28-34)	FPEVFGK	140	+	–
	f (32-34)	FGK	160	–	+
	f (104-109)	YKVPQL	22	+	–
	f (142-147)	LAYFYP	65	+	–
	f (143-148)	AYFYPE	106[2]	+	–
	f (157-164)	DAYPSGAW	98	+	–
	f (194-199)	TTMPLW	16	+	–
	f (197-199)	PLW	36	–	+
	f (198-199)	LW	50	–	+
β-Казеїн	f (57-64)	SLVLPVPE	39	+	–
	f (60-66)	YPFPGPIP	500	–	+
	f (74-76)	IPP	5	+	–
	f (84-86)	VPP	9	+	–
	f (108-113)	EMPFPK	423[2]	+	–
	f (169-174)	KVLPVP	5	–	+
	f (169-175)	KVLPVPQ	1000	+	–
	f (177-179)	AVP	340	–	+
	f (177-181)	AVPYP	80	–	+
	f (177-183)	AVPYPQR	15	+	–
	f (179-181)	PYP	220	–	+
	f (181-183)	PQR	>400	+	–
	f (193-198)	YQQPVL	280	+	–
	f (193-202)	YQQPVLGPVR	300	–	+
к-Казеїн	f (25-34)	YIPIQYVLSR	Не визнач.	–	+
	f (35-41)	YPSYGLNY	Не визнач.	–	+
	f (58-59)	YP	720	+	+
	f (108-110)	IPP	5	+	–

Примітки:
1. Концентрація пептидів, за якої активність АПЕ гальмується на 50%.
2. IC_{50} показано у мкг/мл препаратів пептидів чи протеїнових гідролізатів з АПЕ-інгібіторною активністю. Наприклад, фрагменти 23-27 і 104-109 α_{S1}-казеїну гальмували активність АПФ *in vitro*, проте антигіпертензивний ефект *in vivo* був відсутній [45, 49].

молочнокислих бактерій та молокозсідальних препаратів [54–56]. Роботу було проведено в умовах модельної системи, яка відображала реальні протеолітичні процеси у виробництві ферментованих молочних продуктів [57–59]. Результати свідчать про можливість утворення біоактивних пептидів казеїнового походження у ферментованих молочних продуктах.

Імуномодуляторні властивості продуктів протеолізу казеїнів

Імуномодуляторні властивості окремих пептидів казеїнового походження становлять значний теоретичний і практичний інтерес. Такі пептиди було виділено з різних фракцій казеїну (табл. 3). Зокрема, було встановлено, що пептидні гідролізати α_{S1}-казеїну впливають на функцію імунної системи [60]. З'ясовано, що як панкреатичний, так і трипсиновий гідролізати α_{S1}-казеїну істотно гальмують проліферацію лімфоцитів селезінки мишей і пеєрових бляшок кролів, тимчасом як пептидні препарати, отримані за допомогою пепсину і хімотрипсину, не мали ефектів за їх уведення *in vitro* в культуру клітин, поділ яких стимулювався мітогенами [61]. Пізніше було виявлено, що пептиди, отримані в процесі протеолізу α_{S1}-казеїну пепсином і трипсином, суттєво пригнічували проліферацію периферичних кров'яних мононуклеоцитів людини *in vitro*, індуковану мітогеном [62]. На відміну від цього, оброблення α_{S1}-казеїну лише трипсином спричиняло вивільнення *C*-кінцевого залишку протеїну, представленого пептидом TTMPLY, який посилював продукцію антитіл та активував фагоцитоз *in vitro* [61].

Таблиця 3. **Імуномодуляторна дія казеїнових пептидів [60]**

	Пептид і його амінокислотна послідовність, яка відповідає фрагменту протеїну-попередника	**Спосіб протеолізу протеїну-попередника**	**Імунний ефект**
α_{S1}-Казеїн	Суміш пептидів	Панкреатин Трипсин Пепсин/хімотрипсин Пепсин/трипсин	↓проліферації лімфоцитів ↓проліферації лімфоцитів Немає ефекту *in vitro* з мітогенстимульованими лімфоцитами ↓проліферації периферичних кров'яних мононуклеарних клітин людини
	TTMPLY (194-199) RYLGYLE (90-96) RYLGYL (90-95) FFVAPEVFGK (23-34)	Трипсин	↑продукції антитіл, ↑фагоцитозу ↓інфекції, спричиненої *Klebsiella pneumoniae* ↑проліферації лімфоцитів, ↑активності природних кілерів, ↑міграції нейтрофілів ↑проліферації лімфоцитів, ↑активності природних кілерів, ↑міграції нейтрофілів Інгібітор АПФ, ↑фагоцитозу, ↑резистентність до інфекції *Klebsiella pneumoniae*
β-Казеїн	Суміш пептидів	Панкреатин Трипсин Пепсин/хімотрипсин Пепсин/трипсин	↓проліферації лімфоцитів ↓проліферації лімфоцитів Немає ефекту і*n vitro* з мітогенстимульованими лімфоцитами ↓проліферації лімфоцитів
	YQQPVLGPFPIIV (193-209) PGPIPN (63-68) LLY (191-193)	Пепсин/хімозин	↑проліферації лімфоцитів ↑продукції антитіл, ↑фагоцитозу ↑продукції антитіл, ↑фагоцитозу,↑антигензалежної проліферації лімфоцитів
	β-Казоморфін /YPFPGPIPNSL (60-70) β-Казоморфін /YPFPGPI (60-66) β-Казокінін /YQQPVLGPVR (193-202) APYPQA (177-183)	Трипсин	↓проліферації лімфоцитів, ↑резистентність мишей до інфекції *K. pneumoniae* ↓проліферації лімфоцитів за низьких концентрацій ↑проліферації лімфоцитів за високих концентрацій Інгібітор АПФ
к-Казеїн	Глікомакропептид к-казеїну (106-169)	Хімозин	↓проліферації лімфоцитів
	Фракції глікомакропептиду к-казеїну з різним вмістом N-ацетил-нейрамінової кислоти		↓фітогемаглютинініндукованої проліферації спленоцитів мишей ↓ліпополісахаридіндукованої проліферації спленоцитів мишей
Пара-к-казеїн	FFSNL (17-21) YG (38-39) Суміш пептидів	Трипсин Пепсин/трипсин *Lactobacillus casei*+ пепсин/трипсин	↑продукції антитіл, ↑фагоцитозу *in vitro* ↑проліферації лімфоцитів ↑проліферації лімфоцитів ↓проліферації лімфоцитів

За дії хімозину на α_{S1}-казеїн утворюється імуностимулювальний пептид під назвою ізрацидин, який відповідає N-кінцевій амінокислотній послідовності 1-23 α_{S1}-казеїну. Цей пептид підвищує резистентність мишей до інфекції, спричиненої *Staphilococcus aureus*. Окрім того, ізрацидин за внутрішньовенного введення мишам стимулював фагоцитарну відповідь *in vivo* на інфекцію, зумовлену *Candida albicans*. Також було показано, що введення ізрацидину у вим'я запобігає розвиткові маститів у корів та овець. Фрагментам 90-95 і 90-96 α_{S1}-казеїну притаманні опіатні властивості, а низка опіатних пептидів, зокрема β-ендорфінів, виявляють імуномодуляторні властивості *in vitro* та *in vivo*, зокрема посилюють проліферативну відповідь, підвищують активність природних кілерів та локомоцію нейтрофілів [63–65].

Залежно від концентрації β-казоморфін-7 (фрагмент 60-66 β-казеїну) і β-казокінін-10 (фрагмент 193-202 β-казеїну) можуть справляти протилежні модуляторні ефекти на проліферацію периферичних лімфоцитів крові людини. Зокрема, обидва пептиди за низьких концентрацій виявляють гальмівний вплив на мітогенстимульовану проліферацію культури Т-лімфоцитів *in vitro*, проте у високих конце-

нтраціях, навпаки, посилюють проліферацію клітин цієї культури [62]. Для β-казокінінів — пептидів, які гальмують активність ангіотензинперетворювального ензиму, характерною є здатність стимулювати фагоцитоз, який здійснюють перитонеальні макрофаги мишей, і запобігати розвиткові інфекції, спричиненої *Klebsiella pneumoniae*, після внутрішньовенного введення їх мишам у дозах не менше 0,5 мг/кг [25, 66]. Окрім того, β-казеїнові пептиди як інгібітори АПЕ впливають на регулювання активності імунної системи, запобігаючи розщепленню брадикініну [45].

Трипсиновий фрагмент Фен-Фен-Сер-Асп-Ліз (залишок 17-21 к-казеїну) та коров'ячий пара-к-казеїн (послідовність 1-105 к-казеїну) мають властивість посилювати утворення антитіл і збільшувати активність людських та мишачих макрофагів *in vitro* [67]. Тир-Глі (дипептидний фрагмент 38-39 к-казеїну) також притаманні імуномодуляторні властивості. Вважають, що він може проходити через інтестинальний бар'єр і діяти на периферичні лімфоцити. Зокрема, показано імуностимулювальний ефект цього дипептиду на проліферацію периферичних лімфоцитів крові людини *in vitro* [14, 62].

Вплив казеїнових фосфопептидів на засвоєння мінеральних речовин

Посттрансляційне фосфорилювання казеїнів відбувається в молочній залозі під час біосинтезу молока. Специфічність казеїнкінази, яка каталізує утворення фосфосеринових залишків, пов'язана з ділянками казеїнів, багатих на залишки серину і глутамінової кислоти, які утворюють так звані триплетні зони — СерР-СерР-СерР-Глу-Глу. Такі або подібні послідовності містяться в α_{S1}-казеїні (66-70), α_{S2}-казеїні (8-12, 56-60, 129-133) і β-казеїні (15-19) [68, 69]. Найважливішими властивостями казеїнових фосфопептидів (КФП) є здатність їх зв'язувати кальцій і переводити його в розчинну форму. КФП *in vitro* запобігають осадженню іонів кальцію за присутності фосфатів у лужному середовищі [70–72]. Однак дефосфорильовані пептиди втрачали здатність зв'язувати кальцій, цинк і залізо [73].

Різні методи було використано для кількісної характеристики взаємодії іонів кальцію з КФП [74]. Було встановлено, що константа зв'язування кальцію може набувати значень від 10^{-2}-10^{-3} $М^{-1}$ до 0,32 $мМ^{-1}$ для нефракціонованої суміші КФП і для очищеного пептиду α_{S1}-CN (f 59-79) 5P відповідно. *N*-термінальному фосфопептиду *β-CN (f 1-25)* притаманна здатність зв'язувати 4 молі іонів заліза на 1 моль пептиду [68]. Що стосується кальцію, то до 40 молів іонів кальцію може зв'язувати 1 моль КФП [75]. Більш наочно це виглядає у вагових співвідношеннях. Показано, що від 7,4 до 24,0 мг Ca^{2+} може утворити розчинну сіль із 1 мг суміші КФП, отриманої в результаті протеолізу казеїну різними протеїназами [73]. Розчини фосфату кальцію концентрацією до 1 М залишаються стабільними за присутності фосфопептидів, виділених з β-казеїну — β-*CN (f 1-25) 4P* і β-*CN (f 1-42) 5P* [70]. Крім того, присутність КФП у розчині гальмує утворення кристалів гідроксіапатиту [68].

Висока доступність кальцію, який надходить у травний тракт з казеїнами у складі молочних продуктів, пояснюється здатністю КФП доставляти іони кальцію у розчинному вигляді до активних і пасивних транспортувальних систем кальцію у кишечнику. Підтвердженням цього слугують результати досліджень *in vivo*, які свідчать про можливість утворення КФП у травному тракті, а також їхню стійкість до протеолітичного розщеплення і дефосфорилювання [76]. У дослідах на тваринах встановлено підвищення рівня засвоєння кальцію за присутності КФП, отриманих різними способами [77–80]. Для дослідження властивостей і біологічної дії використовують КФП, одержані ензиматичним гідролізом загального казеїну або його фракцій [73, 81–83]. Ідентифіковані КФП подано в табл. 4.

Таблиця 4. **Казеїнові фосфопептиди**

Первинна структура пептиду[1]	Фрагмент	Біологічна активність
DIGΣEΣTEDQAMEDIM	α_{S1}-CN (f 143-58) 2P	Зв'язування мінералів
QMEAEΣIΣΣΣEEIVPNBVEQK	α_{S1}-CN (f 59-79) 5P	Зв'язування мінералів, імуномодуляторна
KNTMEHVΣΣΣEESII ΣQETYKQEKNMAINPSK	α_{S2}-CN (f 1-32) 4P	Зв'язування мінералів, імуномодуляторна
GΣΣΣEEΣAEV	α_{S2}-CN (f 55-64) 4P	Зв'язування мінералів
FQΣEEQQQTEDELQDK	β-CN (f 33-48) 1P	Зв'язування мінералів
RELEELNVPGEIVEΣLΣΣΣEESITRINK	β-CN (f 1-25/28) 4P	Зв'язування мінералів, імуномодуляторна

Примітка. [1] Σ — залишок фосфосерину.

Антитромботичні пептиди казеїнового походження

Серед біологічно активних пептидів, які походять з протеїнів казеїнового комплексу молока, є й такі, що впливають на процеси зсідання крові. Утворення кров'яного згустку є важливим механізмом захисту від втрат крові, які виникають внаслідок ушкодження судин чи тканин. Як гемокоагуляція, так і зсідання молока є важливими фізіологічними коагуляційними процесами. Існує велика подібність між цими процесами. Людський фібриноген (γ-ланцюг) має схожу первинну структуру з коров'ячим к-казеїном чи глікомакропептидом (ГМП), який з нього утворюється. У 1978 р. Jolles et al. [84] припустили, що γ-ланцюг фібриногену і к-казеїн виникли від спільного попередника протягом останніх 450 млн. років. Існують структурні та функціональні подібності між γ-ланцюгом С-кінцевого додекапептиду (400-411), який бере участь у процесі зв'язування з рецепторами тромбоцитів та різними пептидами з фрагмента 106-116 коров'ячого к-казеїну, які одержали назву «казоплателіни» (табл. 5).

Таблиця 5. **Порівняння амінокислотних послідовностей фібриногену і пептиду з коров'ячого к-казеїну [85]**

Додекапептид γ-ланцюга фібриногену	^{400}H-H-L-G-G-A-K-Q-A-G-D-V^{411}
Ундекапептид к-казеїну	^{106}M-A-I-P-P-K-K-N-Q-D-K^{116}
γ-Ланцюг фібриногену	^{169}I-K-P-L-K-K-A-N-Q-Q-F^{177}

Процеси розщеплення фібриногену тромбіном і розщеплення к-казеїну молокозсідальним ензимом хімозином теж мають певну подібність. Як зсідання крові, так і зсідання молока визначаються процесами обмеженого протеолізу; тромбін розщеплює два Арг-Гліз залишки, унаслідок чого утворюється фібрин і фібринопептиди, а хімозин розщеплює унікальний зв'язок Фен-Мет, утворюючи пара-к-казеїн і ГМП. Короткі розчинні пептиди (фібринопептиди та казоглікопептиди) утворюються в обох процесах — зсідання крові і молока, відповідно. Як фібрино-, так і казоглікопептиди мають різну амінокислотну послідовність, проте їм притаманний загальний негативний заряд, і жоден з пептидів не містить залишків цистеїну чи триптофану. ε-Аміногрупи лізину, можливо, залучені в процеси агрегації як фібрину, так і казеїну. Кальцій також відіграє важливу роль у другій фазі зсідання молока і в процесі агрегації фібринових мономерів. Простетичні групи, утворені залишками цукрів, не відіграють істотної ролі в процесах зсідання, проте гальмують активність хімозину чи тромбіну.

к-Казеїн гальмує тромбініндуковану агрегацію і тромбініндуковану секрецію серотоніну *in vitro*, досягаючи 50% гальмування за концентрації 10 μM [85]. На відміну від к-казеїну, пара-к-казеїн не виявляє жодної активності. ГМП (106-116) гальмує як тромбін, так і АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів, зумовлюючи 50%-не гальмування за концентрації 10 μM і 250 μM, відповідно. В експериментальній моделі *in vivo* на щурах з використанням спрямованого лазерного пучка, який спричинив ушкодження в ендотелії брижової артерії, було показано, що внутрішньовенне введення ГМП призводило до 65%-го гальмування тромбогенезу [85].

Гальмування агрегації тромбоцитів здійснюється за участю пептидів зі специфічною структурною конформацією. Так, ГМП-похідні пептиди 106-112 і 113-116 (трипсиновий гідролізат) справляють значно меншу інгібіторну дію, ніж повний фрагмент 106-116 [86]. Наявність лізинового залишку в послідовності 112-116 трипсинового гідролізату ГМП посилює його дію у 222 рази порівняно з фрагментом 113-116 [87].

Підсумовуючи наведені в огляді дані, слід зазначити, що явище утворення біологічно активних пептидів під час протеолізу казеїнів розширює не тільки наші уявлення про біологічну цінність протеїнів молока, але й саме поняття біологічної цінності харчових протеїнів. Також це може сприяти глибшому розумінню складної будови та гетерогенності казеїнів, які поряд із забезпеченням потреб організму в амінокислотах виконують важливі захисні та регуляторні функції.

Отримані нами експериментальні результати можна узагальнити у вигляді схеми (рис. 3). На схемі показано шляхи утворення біоактивних пептидів (зокрема, інгібіторів АПЕ) за дії на казеїни протеолітичних ензимів молочнокислих бактерій, а також молокозсідальних протеаз. Це доводить, що біоактивні казеїнові пептиди утворюються у ферментованих молочних продуктах, що може бути важливою складовою їхньої біологічної цінності.

Біологічно активні пептиди (БАП) казеїнового походження можуть мати застосування в лікуванні та профілактиці захворювань у людей. Із цією метою їх можна отримувати шляхом органічного синтезу і використовувати як біологічно активні до-



Рис. 3. **Можливі шляхи утворення біологічно активних пептидів із казеїнів**

бавки. Іншим шляхом може бути підбір штамів молочнокислих бактерій, які здатні у процесі виробництва ферментованих молочних продуктів розщеплювати казеїни з утворенням певних біоактивних пептидів [88]. На сьогодні кисломолочні продукти з антигіпертензивними властивостями виробляють у Японії («Калпіс»), Фінляндії («Еволюс»). Їхні антигіпертензивні властивості виявляються завдяки утворенню двох трипептидів (VPP/IPP) з β-казеїну за дії протеолітичних ензимів *L. helveticus*. Перспективним також видається одержання препаратів біоактивних пептидів у результаті специфічного протеолізу загального казеїну або його фракцій з подальшим використанням у дієтичних або функціональних харчових продуктах. У Нідерландах і Данії вже виготовляють окремі інгредієнти, що містять біологічно активні фосфопептиди («Каполак», Данія), інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму («ТенсВіда», Нідерланди) [89–91]. В Україні проводять дослідження шляхів утворення біоактивних пептидів казеїнового походження з антигіпертензивною дією, однак продукти, у яких би використовувались казеїнові біологічно активні пептиди, ще не розроблено.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Горбатова К. К.* Биохимия молока и молочных продуктов. — СПб: Гиорд, 2001. — 320 с.
2. *Черников М. П.* Протеолиз и биологическая ценность белков (казеины как собственно пищевые белки). — М.: Медицина, 1975. — 231 с.
3. *Farrell H. M., Jimenez-Flores R., Bleck G. T.* Nomenclature of the proteins of cows' milk — sixth revision // J. Dairy Sci. — 2004. — V. 87, N 6. — P. 1641–1674.
4. *Юкало В. Г.* Електрофорез білків молока // Мед. хімія. — 2000. — № 4. — С. 79–82.
5. *Юкало В. Г.* Електрофорез білків казеїнового комплексу в анодній системі поліакриламідного гелю // Вет. біотехнол. — 2007. — № 11. — С. 246–251.
6. *Yukalo V., Storozh L., Lisovska T.* The scheme of casein protein complex fractionation in natural conditions / First European food congress. — Ljubljana, 2008. — P. 48.
7. *Горбатова К. К.* Химия и физика белков молока. — М.: Колос, 1993. — 192 с.
8. *Черников М. П., Никольская Г. В., Стан Е. Я.* Гидролиз казеина и некоторых его компонентов протеиназами желудочно-кишечного

тракта // Биохимия. — 1967. — Т. 32, № 6. — С. 1122–1127.
9. *Стан Е. Я.* Казеины молока и их физиологически активные пептиды // Вопр. питания. — 1987. — № 1. — С. 3–9.
10. *Brantl V., Teschemacher H., Henschen A., Lottspeich F.* Novel opioid peptides derived from casein (β-Casomorphins) 1. Isolation from bovine casein peptone // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. — 1979. — V. 360, N 9. — P. 1211–1216.
11. *Brantl V., Teschemacher H.* A material with opioid activity in bovine milk and milk products // Naunyn — Schmiedebergs Archiv fur experimentelle Pathologie und Pharmakologie. — 1979. — V. 306. — P. 301–304.
12. *Brantl V., Pfeiffer A., Herz A.* Antinociceptive potencies of β-Casomorphin analogs as compared to their affinities towards μ and δ opiate receptor sites in brain and periphery // Peptides. — 1982. — V. 3. — P. 793–797.
13. *Brantl V., Neubert K.* Opioid peptides derived from food proteins // Trends Pharmacol. Sci. — 1986. — V. 7, N 1. — P. 6–7.
14. *Meisel H.* Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins // Biopolymers. — 1997. — V. 43, N 1. — P. 119–128.
15. *Meisel H.* Overview on milk protein-derived peptides // Int. Dairy Journal. — 1998. — V. 8. — P. 363–373.
16. *Meisel H., Bochelmann W.* Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties // Antonie van Leeuwenhock. — 1999. — V. 76. — P 207–215.
17. *Dziuba J., Minkiewicz P., Nalecz D., Iwaniak A.* Database of biologically active peptide sequences // Nahrung. — 1999. — V. 43, N 3. — P. 190–195.
18. *Юкало В. Г., Шуляк Т. Л.* Протеолиз казеинов ферментами молочнокислих бактерий // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Химические превращения пищевых полимеров». — Калининград: ИНЭОС АН СССР. — 1991. — С. 22.
19. *Silva S. V., Malcata F. X.* Caseins as source of bioactive peptides // Intern. Dairy J. — 2005. — V. 15. — P. 1–15.
20. *Hartmann R., Meisel H.* Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications // Curr. Opin. Biotechnol. — 2007. — V. 18. — P. 163–169.
21. *Haque E., Chand R., Kapila S.* Biofunctional Properties of Bioactive Peptides of Milk Origin // Food Rev. Intern. — 2009. — V. 25, N 1. — P. 28–43.
22. *Srinivas S., Prakash V.* Bioactive Peptides from Bovine Milk *a*-Casein: Isolation,Characterization and Multifunctional properties // Intern. J. Pept. Res. Therap. — 2010. — V. 16. — P. 7–15.
23. *Ramabadran K., Bansinath M.* Pharmacology of β-casomorphins, opioid peptides derived from milk proteins // Asia-Pacific J. Pharmacol. — 1989. — V. 4. — P. 45.
24. *Chang K. J., Killian A., Hazum E.* Morphiceptine (NH_4-Tyr-Pro-Phe-Pro-$CONH_2$): a potent and specific agonist for morphine (μ) receptors // Science. — 1981. — V. 212, N 4490. — P. 75–77.
25. *Schlimme E., Meisel H.* Bioactive peptides derived from milk proteins. Structural, physiological and analytical aspects // Nahrung. — 1995. — V. 39, N 1. — P. 1–20.
26. *Yoshikawa M., Yoshimura T., Chiba H.* Opioid peptides from milk proteins // Agric. Biol. Chem. — 1984. — V. 48, N 12. — P. 3185–3187.
27. *Fiat A. M., Jolles P.* Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects. // Mol. Cell. Biochem. — 1989. — V. 87. — P. 5–30.
28. *Loukas S., Varoucha D., Zioudrou C.* Opioid activities and structures of α-casein — derived exorphins // Biochemistry. — 1983. — V. 22, N 19. — P. 4567–4573.
29. *Zioudrou C., Streaty R. A., Klee W. A.* Opioid peptides derived from food proteins (The Exorphins) // J. Biol. Chem. — 1979. — V. 254, N 7. — P. 2446–2449.
30. *Mierke D. F., Nobner G., Schiller P. W.* Morphiceptin analogs containing 2-aminocyclopentane carboxylic acid as a peptidomimetic for proline // Intern. J. Pept. Prot. Res. — 1990. — V. 35, N 1. — P. 35–45.
31. *Brandsch M., Brust P., Neubert K.* β-Casomorphins — chemical signals of intenstinal transport system / β-Casomorphins and related peptides: recent developments. — Weinheim: VCH, 1994. — P. 207–219.
32. *Meisel H., FitzGerald R. J.* Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences // Brit. J. Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — S. 27–31.
33. *Pfeuffer M., Barth C.A.* Influence of casomorfin on plasma lipid levels and lipid secretion rates // Milchwissenschaft. — 1988. — V. 43, N 10. — P. 643–645.
34. *Schusdziarra V., Schick R., Dela Fuente A.* Effect of β-casomorphins and analogs on insuline release in dogs // Endocrinology. — 1983. — V. 112. — P. 1948–1951.
35. *Teschemacher H.* Opioid receptor ligands derived from food proteins // Curr. Pharmaceut. Design. — 2003. — V. 9, N 16. — P. 1331–1344.
36. *Assargard U., Larsson C., Norby U.* Human β-casomorphin-5 containing peptides in human body fluids / β-Casomorphins and related peptides: recent developments. — Weinheim: VCH, 1994. — P. 247–254.

37. *Koch K., Wiedemann K., Drebes E.* Human β-casomorfin-8 imunoreactive material in the plasma of women during pregnancy and after delivery // Reg. Pept. — 1998. — V. 20. — P. 107–117.
38. *Yoshikawa M., Tani F., Ashikaga T.* Purification and characterization of an opioid antagonist from peptic digest of bovine κ-casein // Agr. Biol. Chem. — 1986. — V. 50, N 11. — P. 2951–2954.
39. *Teschemacher H., Koch G., Brantl V.* Milk protein — derived opioid receptor ligands // Biopolymers. — 1997. — V. 43. — P. 99–117.
40. *Teschemacher H., Umbach M., Hamel V.* No evidence for the presence of beta — casomorphins in human plasma after ingestion of cows milk or milk products // J. Dairy Res. — 1986. — V. 53. — P. 135–138.
41. *Ганонг В. Ф.* Фізіологія людини: Пер. з англ. — Львів: БаК, 2002. — 784 с.
42. *Maruyama S., Suzuki H.* A peptide inhibitor of angiotensin-I-converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein // Agric. Biol. Chem. — 1982. — V. 46. — P. 1393–1394.
43. *Meisel H.* Casokinins as bioactive peptides in the primary structure of casein / Food Proteins — Structure Functionality. — New York: VCN Weihheim, 1993. — P. 67–75.
44. *Fitzgerald R. J., Meisel H.* Milk protein — derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme // Brit. J. Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — P. 33–37.
45. *Maruyama S., Mitachi H., Awaja J.* Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory of the C-terminal hexapeptide of casein // Agric. Biol. Chem. — 1987. — V. 51. — P. 2557–2561.
46. *Yamamoto N., Akino A., Takano T.* Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from Lactobacillus helveticus CP 790 // J. Dairy Sci. — 1994. — V. 77. — P. 917–922.
47. *Karaki H., Doi K., Sugano S.* Antihypertensive effect of tryptic hydrolysate of milk casein in spontaneously hypertensive rats // Comp. Biochem. Physiol. — 1990. — V. 96. — P. 367–371.
48. *Sekiya S., Kobayashi Y., Kita E.* Antihypertensive effect of tryptic hydrolysate of casein on normotensive and hypertensive volunteers // J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci. — 1992. — V. 45. — P. 513–517.
49. *Maeno M., Yamamoto N., Takano T.* Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by proteinase from Lactobacillus helveticus CP 790 // J. Dairy Sci. — 1996. — V. 79, N 8. — P. 1316–1321.
50. *Adibi S. A.* Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption // J. Clin. Invest. — 1971. — V. 50. — P. 2266–2275.
51. *Hara H., Funabiki R., Iwata M., Yamazuki K.* Portal absorption of small peptides in rats under unrestrained conditions // J. Nutr. — 1984. — V. 114. — P. 1122–1129.
52. *Mock W. L., Green P. C.* Mechanism and inhibition of prolidase // J. Biol. Chem. — 1990. — V. 265, N 32. — P. 19606–19610.
53. *Yoshioka M., Erickson R. H., Woodley J. F. et al.* Role of rat intestinal brush–border membrane angiotensin-converting enzyme in dietary protein digestion // Amer. J. Physiol. — 1987. — V. 253. — P. 781–786.
54. *Юкало В. Г.* Вплив продуктів протеолізу α_{S1}–казеїну на активність ангіотензин-перетворюючого ферменту // Укр. біохім. журн. — 2001. — Т. 73, № 5. — С. 28–32.
55. *Yukalo V. G.* Casokinins: their generation and usage // Nutra Bayers Guide. — Milano. Italy: B5 Srl. — 2004. — P. 10–12.
56. *Yukalo V. G., Luhovyy B. L.* The obtaining of bioactive peptide material from proteolysis α_S- and β-casein // Abstracts of the 27th European Peptide Symposium: Journal of Peptide Science — 2002. — Suppl. to V. 8. — P. 185.
57. *Yukalo V. G., Luhovyy B. L.* Proteolysis of α_{S1}- and β-caseins by Lactococci // Ernahrungsforschung. — 2000. — V. 45, N 3. — P. 205–206.
58. *Юкало В. Г., Луговий Б. Л.* Утворення антигіпертензивних пептидів при модельному протеолізі β-казеїну // Фізіол. журн. — 2000. — № 3. — С. 78–83.
59. *Юкало В. Г.* Модельна протеолітична система для виділення біоактивних пептидів з протеїнів казеїнового комплексу // Мат. IX Укр. біохім. з'їзду. — К.: ІБ НАН України. — 2006. — С. 236.
60. *Gill H. S., Dull F., Rutherfurd K. J., Cross M. L.* Immunoregulatory peptides in bovine milk // Brit. J. Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — P. 111–117.
61. *Otani H., Hata I.* Inhibition of proliferative responses of mouse spleen lymphocytes and rabbit Peyer's patch cells by bovine milk caseins and their digests // J. Dairy Res. — 1995. — V. 62. — P. 339–348.
62. *Kayser H., Meisel H.* Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins // FEBS Lett. — 1996. — V. 383. — P. 18–20.
63. *Elitsur Y., Luk G. D.* Beta-casomorphin (BCM) and human colonic lamina propria lymphocite proliferation // Clin. Experim. Immun. — 1991. — V. 85. — P. 493–497.
64. *Lahov E., Regelson W.* Antibacterial and immunostimulating casein–derived substances from milk, casecidin, isracidin peptides // Food Chem. Toxicol. — 1996. — V. 34. — P. 131–145.
65. *Migliore-Somour D., Jolles P.* Casein, a prohormone with an immunomodulating role for

the newborn? // Experientia. — 1988. — V. 44. — P. 188–193.
66. *Jolles P., Fiat A. M., Migliore-Samour D. et al.* Peptides from milk proteins implicated in infant nutrion. — New York: Thieme medical publications, 1992. — P. 53–57.
67. *Sutas Y., Hurme M., Isolauri E.* Down-regulation of anti-CD3 antibody-induced IL-4 production by bovine hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes // Scand. J. Immun. — 1996. — V. 43. — P. 687–689.
68. *FitzGerald R. J.* Potential uses of caseinophosphopeptides // Int. Dairy J. — 1998. — V. 8. — P. 451–457.
69. *West D. W.* Phosphopeptides and calcium absorption // Dairyng in a changing world. — Brussels, Belgium: Int. Dairy Feder., 1990. — P. 1208–1216.
70. *Holt C., Timmins P. A., Errington N., Leaver J.* A core-shell model of calcium phosphate nanoclusters stabilized by beta-casein phosphopeptides, derived from sedimentation equilibrium and small-angle X-ray and neutron-scattering measurements // Eur. J. Biochem. — 1998. — V. 252. — P. 73–78.
71. *Holt C., Wahlgren N. M., Drakenberg T.* Ability of a β-CN phosphopeptide to modulate the precipitation of calcium phosphate by forming amorphous dicalcium phosphate nanoclusters // Biochem. J. — 1996. — V. 314. — P. 1035–1039.
72. *Sato R., Shindo M., Gunshin H. et al.* Characterization of phosphopeptide derived from bovine β-casein: an inhibitor to intraintestinal precipitation of calcium phosphate // Biochim. Biophys. Acta. — 1991. — V. 1077. — P. 413–415.
73. *Mc Donagh D., FitzGerald R. J.* Production of caseinophosphopeptides (CPP_S) from sodium caseinate using a range of commercial protease preparations // Int. Dairy J. — 1998. — V. 8. — P. 39–45.
74. *Perich J. W., Kelly D. P., Reynolds E. C.* Efficient solution-phase synthesis of phosphopeptides related to casein and stratherin // Int. J. Pept. Prot. Research. — 1992. — V. 40. — P. 81–88.
75. *Lee Y. S., Noguchi T., Naito H.* Phosphopeptides and soluble calcium in the small intestine of rats given a casein diet // Brit. J. Nutr. — 1980. — V. 43. — P. 457–467.
76. *Chabance B., Marteau P., Rambaud J. C. et al.* Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt // Biochimie. — 1998. — V. 80, N 2. — P. 155–165.
77. *Brommage R., Juillerat M., Jost R.* Influence of casein phosphopeptides and lactulose on intestinal calcium absorption in adult female rats // Lait. — 1991. — V. 71. — P. 173–180.
78. *Kitts D. D., Yuan Y. V.* Caseinphosphopeptide and calcium bioavailability // Trends Food Sci. Technol. — 1992. — V. 3. — P. 31–35.
79. *Kopra N., Seholz-Ahrens K. E., Barth C. A.* Effect of casein phosphopeptides on utilization of calcium in vitamin D-replete and vitamin D-deficient rats // Milchwiss. — 1992. — V. 47. — P. 488–493.
80. *Pointellart A., Gueguen L.* Absence d'effect de l'incorporation d'un phosphopeptide du lait sur l'utilisation du calcium et du phosphore chez le jeune pork // Repr. Nutr. Develop. — 1989. — V. 29. — P. 477–486.
81. *Berrocal R., Chanton S., Juillerat M. et al.* Tryptic phosphopeptides from whole casein. II. Physicochemical properties related to the solubilisation of calcium // J. Dairy Res. — 1989. — V. 56. — P. 335–341.
82. *Juilierat M. A., Beachler R., Berrocal R. et al.* Tryptic phosphopeptides from whole casein. I. Preparation and analysis by FPLC // J. Dairy Res. — 1989. — V. 56. — P. 603–611.
83. *Kasai T., Iwasaki R., Tanaka M., Kiriyama S.* Caseinophosphopeptides (CPP) in faeces and contents in digestive tract of rats fed casein and CCP preparations // Biosci. Biotech. Biochem. — 1995. — V. 59. — P. 26–30.
84. *Jolles P., Loucheux-Lefebvre M. H., Henschen A.* Structural relatedness of κ-casein and fibrinogen γ-chain // J. Molec. Evol. — 1978. — V. 11. — P. 271–277.
85. *Rutherfurd K. J., Gill H. S.* Peptides affecting coagulation // Brit. J. Nutr. — 2000. — V. 84, Suppl. 1. — S. 99–102.
86. *Maubois J. L., Leonil J.* Biologically active peptides from milk // Lait. — 1989. — V. 69, N 4. — P. 245–269.
87. *Maubois J. L., Leonil J., Trouve R., Bouhallab S.* Milk peptides with phisiological activities. III. Peptides with a cardiovascular effect: antitrombotic and antihypertensive activity // Ibid. — 1991. — V. 71. — P. 249–255.
88. *Algaron F., Miranda G., Le Bars D., Monnet V.* Milk fermentation by Lactococcus lactis with modified proteolytic systems to accumulate potentially bio-active peptides // Ibid. — 2004. — V. 84. — P. 115–123.
89. *Park Y. W.* Bioactive components in milk and dairy products. — USA: Wiley-Blackwell, 2009. — 426 p.
90. *Corredig M.* Dairy-derived ingredients: food and nutraceutical uses. — USA: CRC Press, 2010. — 690 p.
91. *Chandan R. C., Kilar a A.* Dairy ingredients for food processing. — USA: Wiley-Blackwell, 2011. — 522 p.

ПРОТЕИНЫ КАЗЕИНОВОГО КОМПЛЕКСА МОЛОКА КОРОВ (*Bos taurus*) КАК ПРЕДШЕСТВЕННИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

А. В. Юкало, Л. А. Сторож, В. Г. Юкало

Тернопольский национальный технический университет имени Ивана Пулюя

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

В обзоре приведены данные относительно состава протеинов казеинового комплекса молока коров (*Bos taurus*) и их классификации. Изложены современные представления о формировании биологической ценности казеинов как природных пищевых протеинов, которые в первую очередь отвечают классическим требованиям к пищевым протеинам (сбалансированный аминокислотный состав, доступность действия протеолитических энзимов желудочно-кишечного тракта). Кроме того, в последние годы установлено, что казеины являются предшественниками ряда биологически активных пептидов, что дало основание считать эти протеины пищевыми прогормонами. Среди продуктов протеолитического расщепления казеина обнаружены пептиды, влияющие на сердечно-сосудистую (антитромботические и антигипертензивные), нервную (агонисты и антагонисты опиоидных рецепторов), пищеварительную (казофосфопептиды, гликомакропептид к-казеина), иммунную (иммуномодуляторные и антимикробные пептиды) системы. База данных о биологически активных пептидах казеинового происхождения интенсивно пополняется новыми видами биоактивных пептидов с антиканцерогенным и противовирусным действием, пептидов, стимулирующих синтез ДНК, и др. В обзоре подробно описаны пути образования и свойства групп биоактивных пептидов. Показано, что казеиновые пептиды проявляют устойчивость к действию пищеварительных протеаз, могут всасываться в кишечнике, проникать в кровяное русло и проявлять свое биологическое действие. Также приведены результаты исследований, свидетельствующие об образовании биоактивных казеиновых пептидов в ферментированных молочных продуктах вследствие действия протеаз молокосвертывающих препаратов и молочнокислых бактерий. В частности, авторами доказано образование в модельной системе казокининов — антигипертензивных казеиновых пептидов с α_{S1}-и β-казеинов. Явление образования биоактивных пептидов расширяет не только представление о биологической ценность самих казеинов, но и само понятие биологической ценности пищевых протеинов. Приведены примеры практического использования биоактивных пептидов, рассмотрены пути использования их для создания новых видов диетических и функциональных пищевых продуктов.

Ключевые слова: казеин, биологически активные пептиды, протеолиз, функциональные молочные продукты.

COW MILK CASEIN COMPLEX (*Bos taurus*) PROTEINS AS PRECURSORS OF BIOACTIVE PEPTIDES

A.V. Yukalo, L. A. Storozh, V. G. Yukalo

Ternopil Ivan Pul'uj National Technical University

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

The data on composition and classification of bovine casein complex proteins have been reviewed. Modern views on the formation of biological value of caseins as the natural food proteins balanced for their amino acid composition and accessible to digestive enzymes in gastrointestinal tract were provided. Although caseins meet classical requirements to food proteins in terms of composition and digestibility, they are also known as precursors of multiple bioactive peptides that enable to consider them as food prohormones. Among the products of casein proteolytic degradation, the peptides with various physiological activities were detected. They include peptides affecting cardiovascular (antitrombotic and antihypertensive), nervous (agonists and antagonists of opiate receptors), digestive (casophosphopeptides, glycomacropeptide from κ-casein), and immune (peptides with immunomodulatory and antimicrobial activities) systems. The database on casein-derived bioactive peptides is being continuously updated with new peptides of detected activities that include anticancerogenic, antiviral, DNA synthesis-stimulating effects and others. The review provides detailed description on properties of certain groups of bioactive peptides and ways of production of these ones. The phenomena of partial resistance of casein peptides to digestive proteases, their limited but proven ability to be absorbed in the intestine, cross into the bloodstream and perform the biologic action are discussed. The results of studies showing the formation of bioactive casein peptides in fermented dairy products under the action of milk clotting enzymes and lactic acid microorganisms are reviewed. The authors present their own results on the formation of antihypertensive casein peptides from α_{S1}- and β-caseins. The phenomenon of the breakdown of food proteins to bioactive peptides expands not only the knowledge on biological value of caseins but more widely the term of biological value of food proteins by itself. The review contains practical applications on using bioactive peptides to develop new functional foods including products for special use.

Key words: casein, bioactive peptides, proteolysis, functional milk foods.