



Composés bioactifs

Effets hypoglycémiants des peptides bioactifs d'origine alimentaire

Hypoglycemic effects of bioactive peptides from dietary origin

Naourez KTARI¹, Najiba ZEGHAL², Moncef NASRI¹

¹Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie-Université de Sfax, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax, B.P. 1173-3038 Sfax, Tunisie.

²Laboratoire de Physiologie Animale. Département des Sciences de la Vie. Faculté des Sciences, BP 1171, 3000 Sfax, Université de Sfax, Tunisie.

Reçu le 22 avril 2014, Accepté le 1er juin 2014.

*Auteur correspondant : naourez.ktari@yahoo.fr

Résumé Le diabète mellitus (DM) est un véritable problème de santé publique à travers le monde. Outre l'insuline, plusieurs traitements hypoglycémiants, synthétiques et administrés par voie orale, sont disponibles pour le traitement du diabète ou pour la prévention et/ou la suppression des complications à long terme de cette maladie. Cependant, ces traitements peuvent engendrer des effets secondaires. De ce fait, la découverte et le développement de nouveaux agents naturels antidiabétiques sont d'un grand intérêt. Comparé à la médecine moderne, les peptides bioactifs sont considérés comme des molécules saines sans effets secondaires. En se basant sur leurs compositions et leurs séquences en acides aminés, les peptides bioactifs exercent plusieurs activités biologiques, i.e. hypotensive, antioxydante, antithrombotique, hypocholestérolémiante, hypoglycémiante, etc. Ces peptides sont obtenus par hydrolyse enzymatique des protéines dans des conditions contrôlées et sous l'effet d'enzymes protéolytiques appropriées. Par ailleurs, les peptides bioactifs et les hydrolysats protéiques peuvent être utilisés comme ingrédients dans les aliments fonctionnels et pharmaceutiques pour améliorer la santé humaine et prévenir certaines pathologies. Cette revue porte sur l'hydrolyse enzymatique des protéines alimentaires comme un nouveau procédé de production d'hydrolysats protéiques et de peptides à effet hypoglycémiant.

Mots clés : *Peptides bioactifs, Diabète mellitus, Activité hypoglycémique, Protéolyse, Protéines alimentaires*

Abstract Diabetes mellitus (DM) is a major health problem in the world. In addition to insulin, several synthetic oral hypoglycemic agents are available for DM treatment or to prevent and/or delay long-term complications of type 2 diabetes mellitus. However, these agents are associated with serious secondary effects and toxicity. Therefore, research and development of new and natural specific anti-diabetic agents are of great interest. Compared to modern medicine, bioactive peptides are considered to be safe, with no secondary effects. Based on their amino acids composition and sequences, bioactive peptides have often been reported to exhibit various biological activities, e.g. antihypertensive, antioxidative, antithrombotic, hypoglycaemic, hypocholesterolemic and antibacterial activities. Peptides can be obtained by enzymatic hydrolysis of whole protein sources by appropriate proteolytic enzymes under controlled conditions, followed by post-hydrolysis processing to isolate bioactive peptides. Therefore, because of their health-enhancing potential and safety profiles biopeptides and protein hydrolysates may be used as ingredients in functional foods and pharmaceuticals thus improving human health and preventing some diseases. In this review, we have focused on the enzymatic hydrolysis process of dietary proteins as a new and interesting research area for the production of hypoglycemic protein hydrolysates and biopeptides.

Keywords: *Bioactive peptides, Diabetes mellitus, Hypoglycemic activity, Proteolysis, Dietary proteins*

Introduction

Il est bien connu que les produits de la digestion des protéines contenues dans les aliments ont été uniquement considérés comme un apport en acides aminés (AA) essentiels, AA non essentiels et en azote, indispensables à la biosynthèse des protéines et des acides nucléiques de l'organisme. Il est bien établi actuellement que les protéines issues de sources diverses, aussi bien animales que végétales, contiennent dans leur séquence primaire des peptides qui, une fois libérés, sont capables d'influencer la physiologie de l'organisme [1]. En fait, les hydrolysats protéiques sont des sources de plusieurs peptides bioactifs. De par leurs multiples fonctions ou activités, les peptides intéressent particulièrement les industries agro-alimentaires. En effet, ils ont été utilisés pour leurs propriétés nutritionnelles [2], sensorielles [3] et fonctionnelles [4]. Les secteurs de la cosmétique et pharmaceutique s'intéressent également à ces

peptides pour leurs activités biologiques ou physiologiques. En effet, de nombreuses études ont montré que les peptides, peuvent être biologiquement actifs et exercer des effets anti-hypertensifs, anti-coagulants, hypocholestérolémiant, anti-microbiens, anti-cancéreux, immunomodulants [5]. Ils peuvent également posséder des activités anti-oxydantes et hypoglycémiantes. Généralement, les peptides bioactifs sont constitués de 2 à 20 AA [6]. Vu l'augmentation considérable de diabétiques et les effets secondaires que peuvent engendrer les médicaments antidiabétiques, de nombreux chercheurs ont évalué l'action pharmacologique des plantes médicinales utilisées depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. Récemment, de nombreuses sociétés pharmaceutiques se sont orientées vers les hydrolysats protéiques, considérés comme source importante de mélanges peptidiques biologiquement actifs, comme agents thérapeutiques. En effet, les

peptides thérapeutiques offrent une efficacité, une sélectivité et une spécificité qu'il est difficile d'atteindre avec des petites molécules [7]. De plus, les peptides s'accumulent peu dans les tissus et leurs produits de dégradation sont des AA, ce qui diminue grandement les risques de toxicité. Finalement, ils offrent une diversité structurale supérieure aux petites molécules [8].

Le diabète

Le diabète est une maladie fréquente connue depuis fort longtemps. C'est un syndrome clinique hétérogène et une affection chronique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines. Il est attribué à l'incapacité du corps à produire suffisamment d'insuline ou de l'utiliser correctement [9]. Sa prévalence à travers le monde, et ses complications constituent un sujet d'actualité. Lorsque la glycémie n'est pas bien régulée et la normoglycémie n'est pas rapidement rétablie, des complications sévères peuvent conduire jusqu'au coma, entraînant parfois des atteintes neurologiques irréversibles [10]. D'autres complications peuvent accompagner l'épidémie du diabète (type 1 et type 2), des complications microangiopathiques comme les maladies rénales (néphropathies) [11] et des troubles oculaires (rétinopathies) [12] dont le facteur de risque majeur est l'hyperglycémie, et les complications macroangiopathiques comme les maladies cardiovasculaires (MCV) [13] dont les facteurs de risque sont l'hyperglycémie, l'insulinorésistance, des carences en insuline, la présence d'acides gras libres dans le sang, l'hypertension, l'hyperlipidémie et l'inflammation [14]. Ces complications sont responsables à l'échelle mondiale d'une augmentation de la morbi-mortalité chez les patients diabétiques et constituent un véritable problème de santé publique. La prévalence du diabète est étroitement liée aux modes de vie. Le développement rapide de cette maladie dans la plupart des pays, s'est effectué en parallèle avec les changements culturels et sociaux : l'urbanisation croissante, les changements alimentaires, la réduction de l'activité physique et le vieillissement démographique. En effet, dans les

sociétés modernes, la qualité de vie et de travail est augmentée sans pour autant que l'hygiène de vie soit améliorée. Le mode de vie devient de plus en plus sédentaire et donc moins d'efforts fournis. De plus, l'alimentation classique est devenue plus riche en protéines, en graisses, en sucres et pauvres en fruits et légumes. La consommation moyenne de nourriture, en termes de calories, augmente de plus en plus dans le monde, particulièrement dans les pays en voie de développement [15]. Ainsi, une véritable épidémie d'obésité apparaît chez les enfants et les adolescents. C'est pourquoi la prévention du diabète de type 2 repose essentiellement sur les modifications du style de vie et de l'alimentation et de la pratique sportive.

Les traitements antidiabétiques: de l'efficacité à la toxicité

Outre l'exercice physique et une alimentation équilibrée et appropriée qui peuvent réduire et prévenir la prévalence du diabète, certains traitements thérapeutiques diminuent aussi l'impact de cette maladie. Les sulfamides, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sont les principales classes d'antidiabétiques oraux disponibles pour le traitement des patients atteints de diabète de type 2 [16]. Le but de ces traitements est de réduire l'hyperglycémie en activant la sécrétion endogène de l'insuline ou en renforçant ses effets. On distingue les antidiabétiques qui ont une action sur l'insulino-résistance (biguanides, thiazolidinediones) principalement indiqués chez les patients diabétiques obèses [17], ceux qui ont une action sur l'insulino-sécrétion (sulfamides, glinides) indiqués pour les patients présentant une obésité très sévère [18] et les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase indiqués pour les patients souffrant d'un diabète non insulino-dépendant [19]. Généralement, tous ces agents antidiabétiques présentent différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament. Les sulfamides provoquent un état d'hypoglycémie. Cet effet est considéré comme principal à côté de l'hyponatrémie, l'hépatite, les atteintes hématologiques, l'éventuelle réaction dermatologique ainsi qu'un gain de poids dû à

l'hyperinsulinémie. La metformine, le biguanide le plus commercialisé dans le monde, provoque une acidose lactique, une fatigue, des nausées et une toxicité rénale [20]. Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase ont des effets secondaires sur le système digestif (flatulence, douleur abdominale et diarrhée) à cause de la fermentation des sucres non absorbés. L'acarbose est un médicament appartenant à la classe des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase. C'est un analogue structural de fragments d'amylase. Ainsi, la proximité de forme de l'acarbose et de l'amidon lui permet de se fixer sur l'amylase. Son affinité avec cette enzyme est plus élevée que celle de l'amidon. La prise orale de l'acarbose réduit l'activité de l'amylase et a donc un effet hypoglycémiant. L'acarbose présente divers effets secondaires, comme les gaz, le ballonnement et la diarrhée [20].

Une meilleure connaissance de la pathogénie diabétique a permis ces dernières années le développement de nouvelles molécules antidiabétiques ayant pour but d'atteindre les objectifs thérapeutiques. Des analogues du glucagon-like peptide-1 (GLP-1) résistants à la dipeptidyl-peptidase-IV (DPP-IV) et des inhibiteurs de la DPP-IV sont actuellement explorés et les résultats des essais cliniques confirment leur efficacité sur le contrôle de l'équilibre glycémique chez les diabétiques de type 2 [21]. En effet, GLP-1 est une hormone peptidique qui potentialise l'effet du glucose sur la sécrétion d'insuline. Elle est libérée par des cellules endocrines de l'épithélium intestinal lors du passage des nutriments. L'activation des récepteurs de GLP-1 stimule la sécrétion d'insuline et active également la transcription du gène de l'insuline, stimule la prolifération et la survie des cellules et diminue la mort cellulaire. Enfin, le GLP-1 inhibe la sécrétion de glucagon, ralentit la vidange gastrique et stimule la satiété [22]. GLP-1 est dégradée très rapidement en métabolites inactifs par la DPP-IV chez les patients diabétiques de type 2.

Peptides d'origine naturelle à vertus antidiabétiques

Plusieurs peptides naturels à activité hypoglycémique ont été identifiés. En 1981, Khanna *et al.* [23] ont isolé le polypeptide-P à partir des fruits, des

graines et des tissus du melon amer (*Momordica charantia* L. Var. *abbreviata* Ser). Ce polypeptide présente des propriétés insulino-mimétiques et hypoglycémiantes très efficaces lorsqu'il est administré par voie sous cutanée à des patients atteints de diabète de type 1 [24]. Le polypeptide-P, appelé également l'insuline végétale, fonctionne en imitant l'action de l'insuline humaine dans l'organisme [25]. En 1998, un autre peptide hypoglycémiant MC6 de 18 AA (accession : AAX06814) a été également isolé à partir du melon amer. Récemment, Liu *et al.* [26] ont réalisé l'expression du peptide MC6 dans *E.coli*. En 2008a, Yuan *et al.* [27] ont purifié à partir de la même plante un peptide soluble nommé MC2-1-5 doué d'activité hypoglycémiant. Ce peptide possède une masse moléculaire de l'ordre de 3405,5 Da. La séquence N-terminale de ses 10 premiers AA est NH₂-Gly-His-Pro-Tyr-Tyr-Ser-Ile-Lys-Lys-Ser. Ce peptide, administré par voie orale à une dose de 2 mg/kg, réduit le niveau du glucose sanguin de 61,7% chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane. Des travaux réalisés par Lavigne *et al.* [28] ont montré que l'administration de protéines de morue améliore la glycémie et la sensibilité à l'insuline chez des rats soumis à un régime hypercholestérolémiant. Cet effet est attribué entre autre à l'amélioration du transfert membranaire du transporteur du glucose. Des études plus poussées menées par Ouellet *et al.* [29] ont montré que ces protéines améliorent également la sensibilité à l'insuline chez des patients résistants à l'action de l'insuline. Huang et Wu [30] ont purifié et caractérisé à partir du foie de requin un nouveau peptide antidiabétique de 17 résidus dont l'effet est de réduire le niveau de glucose plasmatique chez des souris diabétiques. La séquence N-terminale des 15 premiers AA est NH₂-Met-Leu-Val-Gly-Pro-Ile-Gly-Ala-Ala-Lys-Val-Val-Tyr-Glu-Gln-. Des travaux de Jang *et al.* [31] ont montré que des peptides obtenus à partir du soja noir réduisent le taux de glucose dans le sang et améliorent la tolérance du glucose chez des souris diabétiques. L'évaluation clinique a montré un effet bénéfique de ces peptides dans le contrôle du taux de glucose chez des patients diabétiques [32]. Récemment, Li *et al.* [33] ont isolé et identifié un nouveau complexe polysaccharide-peptide nommé LB-1b, à partir du champignon *P. abalonus*,

doué d'activités antioxydante, antiproliférative et hypoglycémiant chez des souris rendus diabétiques avec la tetraoxypyrimidine. Le complexe LB-1b possède une séquence N-terminale NH₂-Ile-Pro-Lys-Glu-Arg-Lys-Glu-Phe-Gln-Gln-Ala-Gln-His-Leu-Lys qui présente une similarité avec certaines enzymes antioxydantes à savoir l'hydroperoxide reductase, la thioredoxine peroxidase et la thiol peroxidase.

Approche enzymatique de production de peptides bioactifs à partir de protéines alimentaires

Plusieurs méthodes peuvent être appliquées pour la production de peptides actifs. Les biopeptides peuvent être soit synthétisés à partir d'AA ou bien générés par hydrolyse enzymatique ou chimique de protéines alimentaires ou même par fermentation. En effet, la présence de diverses protéases dans l'aliment permet la formation de peptides bioactifs dans certains aliments transformés. Le processus de fermentation implique généralement des enzymes issues de microorganismes. Enfin, les technologies d'ADN recombinant peuvent également être utilisées pour produire des peptides bioactifs [34]. L'hydrolyse chimique des protéines alimentaires présente tellement de désavantages qu'elle n'est quasiment pas utilisée dans le cadre d'applications alimentaires ou pharmacologiques. En effet, les modifications chimiques sont drastiques ce qui entraîne une destruction ou une perte totale de certains AA, une production de molécules toxiques et une production importante d'AA libres. L'hydrolyse acide des protéines conduit à la destruction totale du tryptophane, à la destruction partielle de la méthionine et à la transformation de la glutamine et de l'asparagine en leurs acides correspondants. L'hydrolyse alcaline par contre provoque la racémisation des AA et la destruction de certains AA comme la cystéine, la sérine et la thréonine [35]. Il en résulte alors des composés potentiellement toxiques. Enfin, l'hydrolyse chimique est non spécifique ce qui la rend peu reproductible [2]. Réalisée dans des conditions douces (pH 6-8) et température (40-60 °C), l'hydrolyse enzymatique des protéines ne

présente pas les inconvénients de l'hydrolyse chimique. Ainsi, la composition en AA des hydrolysats protéiques est similaire à celle de la matière première. De ce fait, l'hydrolyse enzymatique des protéines n'affecte pas la valeur nutritionnelle de la protéine source. De plus, L'hydrolyse enzymatique des protéines alimentaires est caractérisée par le degré d'hydrolyse (DH) qui représente le pourcentage de liens peptidiques coupés lors de l'hydrolyse. La valeur du DH peut être déterminée en utilisant la formule suivante décrite par Adler-Nissen [36]:

$$DH \% = \frac{B \times Nb}{MP} \times \frac{1}{\alpha} \times \frac{1}{h_{tot}} \times 100$$

B = base consommée (l) ; Nb = normalité de la base ; MP = masse de protéine (N facteur Kjeldahl) (kg) ; h_{tot} = nombre total des liaisons peptidiques de la protéine en grammes équivalent par kg ; α = degré de dissociation. Les valeurs de α et h_{tot} sont données par les fiches techniques des enzymes "Novo Enzymes". La notion du DH est souvent utilisée pour suivre et contrôler l'hydrolyse mais également pour caractériser l'hydrolysats formé. Selon Turgeon *et al.* [37], sa mesure permet de maximiser la reproductibilité des propriétés fonctionnelles, nutritionnelles, organoleptiques et physiologiques des hydrolysats obtenus. Le DH dépend de la spécificité de l'enzyme et des conditions d'hydrolyse notamment, le rapport enzyme/substrat (E/S) et le temps d'incubation qui peut varier entre 15 minutes pour la libération de peptides antibactériens [38] et 7 heures pour les peptides antioxydants [39]. L'hydrolyse enzymatique par des enzymes exogènes appropriées est la méthode la plus couramment utilisée pour produire des peptides bioactifs. Plusieurs enzymes digestifs (pepsine, trypsine et chymotrypsine), bactériennes (alcalase, subtilisine, etc.) voire même d'origine végétale (papaïne, ficine, etc.) ont été appliquées pour la génération d'hydrolysats protéiques actifs à partir de diverses protéines. Par ailleurs, pour obtenir un hydrolysats protéique ayant un DH élevé (enrichi en peptides de longueurs moyennes des chaînes peptidiques), un mélange de protéases est souvent utilisé. L'utilisation des enzymes permet un certain contrôle de la réaction d'hydrolyse et de ses produits [2]. Les protéases hydrolysent les

liaisons peptidiques, formant alors un mélange de peptides et d'AA. La composition peptidique des mélanges varie selon la nature du substrat protéique [40], la spécificité de la protéase utilisée [41] ainsi que les conditions de mise en œuvre de l'hydrolyse. En effet, la composition initiale des substrats protéiques, les poissons à titre d'exemple, diffère en fonction de l'espèce, de la partie étudiée, des conditions physiologiques de l'animal, des conditions de stockage.... De plus, les enzymes utilisées pour l'hydrolyse protéolytique sont classées en fonction de leurs groupements fonctionnels. A titre d'exemple, La trypsine, une protéase à sérine, a une affinité pour la lysine et

l'arginine, alors que la pepsine, une protéase acide, a une affinité pour les acides aminés hydrophobes [42]. L'optimisation de ces paramètres est un objectif majeur dans le développement de ce procédé. En effet, chaque enzyme active possède sa propre gamme de pH et de température [43]. De plus, la vitesse de la réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la concentration en enzymes et peut être modifiée par la présence d'inhibiteurs ou d'activateurs. Selon les propriétés visées, l'hydrolyse enzymatique des protéines peut être plus ou moins complète. Une hydrolyse poussée conduit à la génération de peptides solubles de petites tailles moléculaires (<15 AA). Elle permet

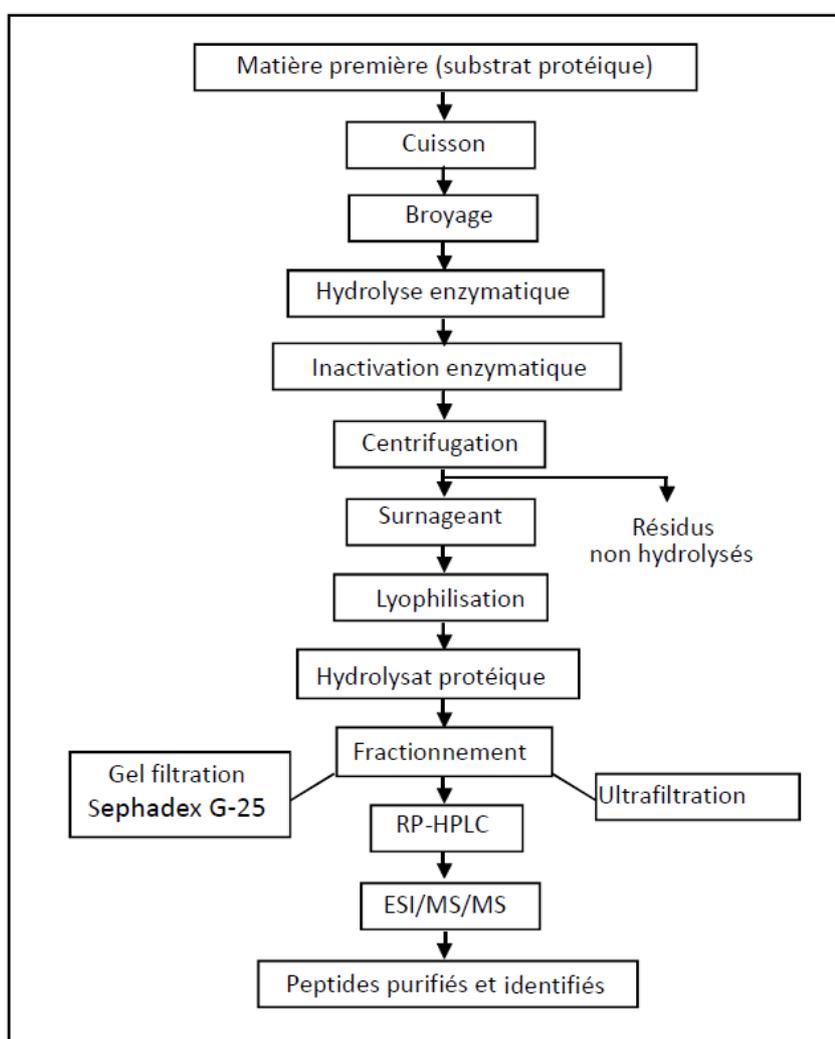


Fig. 1.

Protocole général de production des hydrolysats protéiques et des peptides bioactifs

HPLC-RP : Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography ;

ESI/MS/MS: Electrospray ionization tandem mass spectrometry.

l'obtention d'hydrolysats utilisables dans les formulations diététiques, dans les milieux de culture pour microorganismes ou possédant potentiellement des peptides bioactifs. Une hydrolyse limitée permet quant à elle d'obtenir des peptides de plus haute taille moléculaire (>15 AA) aux propriétés fonctionnelles intéressantes. Le procédé de préparation des hydrolysats protéiques et de purification et identification des peptides passe essentiellement par les étapes présentées sur la Fig. 1.

L'obtention et l'identification de peptides reposent en général, comme illustré sur la Fig. 1, sur l'hydrolyse ménagée et contrôlée des protéines, suivie de méthodes systématiques de fractionnement et de purification [44]. Les biopeptides sont généralement en faible concentration dans les hydrolysats protéiques ce qui justifie leur fractionnement en vue de leur isolement et leur identification. L'hydrolysats protéique le plus efficace subit dans une première étape soit un fractionnement sur une colonne de gel filtration Sephadex G-25, soit une ultrafiltration. Les fractions les plus actives seront soumises à un nouveau fractionnement par chromatographie liquide haute performance sur une colonne de silice C_{18} en phase inverse (HPLC-RP). Les peptides de fractions sortie HPLC-RP seront identifiés par spectrométrie de masse dite en « tandem » ou ESI/MS/MS.

Peptides à effet hypoglycémiant issus de l'hydrolyse enzymatique

De nombreux hydrolysats protéiques et peptides modulateurs du métabolisme glucidique ont été caractérisés à partir de protéines alimentaires de sources variées. Dans ce contexte, Matsui *et al.* [45] ont identifié à partir d'un hydrolysats du muscle de sardine, généré par l'action d'une protéase alcaline de *Bacillus licheniformis*, deux peptides portant les séquences Val-Trp ($IC_{50} = 22,6$ mM) et Try-Tyr-Pro-Leu ($IC_{50} = 3,7$ mM) doués d'activité antidiabétique. Des études menées par Yuan *et al.* [46] ont montré que l'hydrolyse enzymatique du melon amer (*Momordica charantia*) avec l'alcalse 2.4L génère des peptides qui abaissent la glycémie lorsqu'ils sont administrés à des souris rendues diabétiques par l'alloxane. Toutefois, l'administration des protéines intactes est sans effet sur le taux

de glucose dans le sang. Morifuji *et al.* [47] ont identifié à partir d'un hydrolysats de protéines du lactosérum, 7 dipeptides (Ile-Val, Leu-Val, Val-Leu, Ile-Ile, Leu-Ile, Ile-Leu et Leu-Leu) présentant des propriétés stimulatrices de la captation du glucose, à la fois en modèle cellulaire et musculaire (cellules L6 et muscle épitrochlearis). En 2009, Kim *et al.* [48] ont identifié à partir de la fibroïne, le principal constituant de la soie, un hexapeptide (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Tyr) capable à la fois d'améliorer la captation du glucose dans un modèle *in vitro* d'adipocytes résistantes à l'insuline (3T3-L1) et de rétablir une normo-sensibilité des cellules à l'insuline par l'activation de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) et de la protéine kinase B (AKT). De même, en 2008, Hu *et al.* [49] ont rapporté que des hydrolysats protéiques obtenus par digestion enzymatique de la fibroïne de soie avec l'élastase présentent une activité antidiabétique *in vivo*. D'après ces auteurs, l'effet antidiabétique est exercé par suppression de l'absorption des carbohydrates dans l'intestin et par diminution du niveau de glucose postprandial. Zhu *et al.* [50] ont montré que des oligopeptides obtenus à partir de la peau du saumon présentent une forte activité antidiabétique en protégeant les cellules β pancréatiques de l'apoptose. Nakaoka *et al.* [51] ont noté que l'hydrolysats enzymatique de l'hémoglobine bovine ou porcine ainsi que le peptide de séquence peptidique "Leu-Ser-Glu-Leu" purifié à partir de cet hydrolysats pouvaient réduire la glycémie et améliorer la sécrétion de l'insuline. Cet effet est exprimé par l'amélioration de l'expression du transporteur insulino-dépendant du glucose (GLUT-4) et de la protéine UCP2 (UnCoupling Protein 2) dans le muscle des souris rendus diabétiques avec la streptozotocine. Deux peptides ayant les séquences peptidiques Gly-Glu-Tyr (MW = 367 Da) et Gly-Tyr-Gly (MW = 295 Da) ont été purifiés à partir d'un hydrolysats de soie du *bombyx mori*. Ces peptides présentent également une activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase avec des IC_{50} égales à 2,7 et 1,5 mg.mL⁻¹, respectivement [52]. De même, Yu *et al.* [53] ont purifié, à partir de l'hydrolysats protéique du blanc d'œuf, obtenu par digestion avec l'alcalse, deux peptides de séquences peptidiques Arg-Val-Pro-Ser-Leu-Met et Thr-Pro-Ser-Pro-Arg. Ces peptides présentent une activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase avec des concentrations inhibitrices IC_{50} égales à 23,07 et 40,02 μ mol.L⁻¹, respectivement.

En 2012, Yu *et al.* [54] ont purifié le peptide ayant la séquence Lys-Leu-Pro-Gly-Phe à partir d'hydrolysats protéiques de l'albumine. Ce peptide libéré par action de l' Alcalase présente à la fois une activité inhibitrice de l' α -glucosidase et de l' α -amylase avec des concentrations inhibitrices IC_{50} de l'ordre de $59,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ et $120 \mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivement. Des travaux de Sarmadi *et al.* [55] ont montré que des autolysats protéiques préparés à partir du cacao (*Theobroma cacao L.*) inhibent l' α -amylase, diminuent la glycémie et améliorent la sécrétion d'insuline chez des rats rendus diabétiques par la streptozotocine. Li-Chan *et al.* [56] ont isolé à partir des hydrolysats protéiques de la peau de saumon obtenus par action de l'Alcalase, la bromelaïne et la flavourzyme, deux peptides doués d'activité inhibitrice de la dipeptidyl-peptidase IV exerçant ainsi un effet antidiabétique. Les deux peptides Gly-Pro-Ala-Glu (372,4 Da) et Gly-Pro-Gly-Ala (300,4 Da), exercent une activité inhibitrice de la dipeptidyl-peptidase IV dose dépendante avec des IC_{50} de l'ordre de $49,6$ et $41,9 \mu\text{M}$, respectivement. Etant donné que le ralentissement de l'absorption des glucides est associé à un meilleur contrôle glycémique, des inhibiteurs de l' α -amylase et l' α -glucosidase ont été développés pour retarder l'absorption intestinale des glucides. L'acarbose est l'inhibiteur de l' α -amylase et de l' α -glucosidase le plus largement utilisé. Récemment, des travaux menés par Ktari *et al.* [57] ont montré que des hydrolysats protéiques, préparés à partir du muscle de zebra blenny (*Salaria basilisca*) sous l'action d'enzymes endogènes digestives de la même espèce, de la sardinelle (*Sardinella aurita*) et de l'émissole lisse (*Mustelus mustelus*), exercent une forte action inhibitrice sur l'activité α -amylase. De plus, l'administration de ces hydrolysats protéiques chez des rats de souche Wistar rendus diabétiques par l'alloxane a permis de réduire le taux de glucose et celui de HbA1c sériques ainsi que la présence de gouttelettes graisseuses formées au niveau du foie des rats diabétiques. Récemment, des études ont montré l'effet bénéfique des hydrolysats de protéines du lactosérum dans le traitement du diabète. En effet, les hydrolysats protéiques de l' α -lactalbumine, β -lactoglobuline, albumine et lactoferrine obtenus par digestion pepsique présentent des activités inhibitrices de la dipeptidyl-peptidase IV et de l' α -glucosidase [58,59]. De plus, le dipeptide L-Leucyl-L-Isoleucine

a montré une grande efficacité dans la translocation du transporteur insulino-dépendant du glucose (GLUT-4) à la membrane plasmique et à la captation accrue de glucose par le muscle squelettique [60]. Higuchi *et al.* [61] ont montré que l'administration orale des hydrolysats protéiques de grains de maïs exerce un effet antidiabétique en stimulant la sécrétion de GLP-1 et GIP et en améliorant la tolérance au glucose chez des rats normaux et des rats de souche Goto-Kakizaki diabétiques. Quelques exemples de peptides et d'hydrolysats protéiques doués d'activités hypoglycémiques sont résumés dans le Tableau I.

Stabilité des peptides bioactifs

Les peptides biologiquement actifs, libérés suite à l'hydrolyse enzymatique *in vitro*, présentent une opportunité de valorisation des protéines alimentaires à des fins alimentaires pour les aliments fonctionnels et thérapeutiques dans le secteur pharmaceutique. Toutefois, cette opportunité repose sur la démonstration de l'efficacité des peptides bioactifs dans l'organisme vivant, et ce, afin de valider leurs activités et leurs effets physiologiques. Pour accroître et renforcer le potentiel d'application des peptides bioactifs dans ce secteur, il est primordial de vérifier et de confirmer leur intégrité structurale et leur activité biologique au cours du processus de la digestion. Pour les peptides les plus susceptibles à l'attaque par les enzymes digestives, il est aussi important d'envisager des modes de protection afin de préserver leur activité biologique au niveau des organes cibles. Généralement, les peptides thérapeutiques sont très rapidement dégradés par les protéases digestives et les peptidases principalement localisées dans le sang, le foie ou encore les reins [63] et leur durée de vie dans l'organisme humain est de l'ordre de quelques minutes. Cependant, plusieurs travaux ont montré que les peptides de petites tailles sont plus résistants à la dégradation gastro-intestinale que les peptides de tailles élevées. En effet, Ohsawa *et al.* [64] ont montré que les tripeptides Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro sont résistants à l'action des peptidases et peuvent atteindre intacts leurs cibles. Ceci assure que les petits peptides qui exercent des bioactivités *in vitro* seront conservés et pourraient exercer leurs effets biologiques *in vivo*. Différentes méthodes ont été envisagées pour empêcher

Tableau I. Exemple de peptides et hydrolysats protéiques doués d'activités hypoglycémiques

Substrats	Enzymes	Hydrolysats protéiques ou peptides	Activités	Références
Blanc d'oeuf	Alcalase	Arg-Val-Pro-Ser-Leu-Met Thr- Pro- Ser- Pro- Arg	Inhibition de l'Alpha-glucosidase	[53]
Soie du bombyx mari	Protease N	Hydrolysats protéiques Gly-Glu-Tyr Gly- Tyr- Gly	Induction de l'activité des cellules β pancréatiques Inhibition de l'alpha-glucosidase	[62] [52]
Fibroïne de soie	Elastase	Hydrolysats protéiques	Suppression de l'absorption des carbohydrates dans l'intestin	[49]
	Chymotrypsine pepsine	Gly- Ala- Gly- Ala- Gly- Tyr	Amélioration de la captation du glucose dans des adipocytes résistantes à l'insuline (3T3-L1). Etablissement d'une normo-sensibilité des cellules à l'insuline par l'activation de la PI3-Kinase et d'AKT.	[48]
Peau de saumon	Alcalase Bromelaine Flavourzyme	Gly- Pro- Ala- Glu Gly- Pro- Gly- Ala	Inhibition de la dipeptidyl-peptidase IV	[56]
Muscle de sardine	Protéase alcaline de B.licheniformis	Val- Trp Try- Tyr- Pro- Leu	Inhibition de l'alpha - glucosidase	[45]
Cacao (Theobromo cacao L.)		Autolysats protéiques	Inhibition de l'alpha - amylose	[55]
Muscle de zebra blenny (S. basilica)	Enzyme endogène de poissons	Hydrolysats protéiques	Inhibition de l'alpha - amylose	[57]
Peau de saumon	Protéases	Oligopeptides	protégeant les cellules β pancréatiques de l'apoptose	[50]
Hémoglobine bovine ou porcine	Protéases	Hydrolysats protéiques Leu- Ser- Glu- Leu	Amélioration de l'expression de GLUT4 et de UCP2	
Melon amer (M. charantia)	Alcalase 2. 4L	Hydrolysats protéiques	Diminution du taux de glucose dans le sang	[46]
Albumine	Alcalase	Lys- Leu- Pro- Gly- P he	Inhibition de l'alpha - glucosidase et de l'alpha-amylose	[54]
Protéines du lactosérum	Pepsine	Hydrolysats protéiques	Inhibition de l'alpha - glucosidase et de la dipeptidyl-peptidase	[58,59]

l'action enzymatique gastrointestinale. Les C-amidations et les N-acétylations empêchent l'action des exopeptidases ainsi que l'utilisation d'acides aminés D, β ou non naturels, moins sensibles à la dégradation enzymatique [65]. Les cyclisations au travers de ligations Nter-Cter, d'anneaux lactames ou de ponts disulfures sont également proposées [63]. Enfin, d'autres modifications chimiques des peptides telles que la liaison d'acides gras ou la pegylation (attachement d'unités de polyéthylène glycol) ont pour but d'augmenter le poids moléculaire et donc le temps de demi-vie [66-68]. Enfin, la co-administration d'un peptide avec des inhibiteurs d'enzymes est également une voie qui a été explorée [63].

Conclusion

La génération d'hydrolysats protéiques ou de fractions peptidiques par protéolyse enzymatique représente une voie prometteuse pour des applications thérapeutiques. L'utilisation de peptides hypoglycémiant dérivés de séquences primaires pour moduler l'activité biologique représente une approche potentiellement intéressante pour le traitement du diabète mellitus. Bien que peu de travaux aient décrit l'effet hypoglycémiant de quelques biopeptides, des investigations sont nécessaires pour la détermination de leurs mécanismes d'action dans la réduction du taux de glucose dans le sang chez des rats rendus diabétiques.

Conflit d'intérêts

Il n'y a pas de conflit d'intérêts dans de ce travail.

Références

- Sharma S., Singh R., Rana S. Bioactive Peptides: A Review. *Int. J. Bioautomation* 2011; 15: 223-50.
- Clemente A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends Food Sci Technol* 2000; 11: 254-62.
- Gill I., López-Fandiño R., Jorba X., Vulfson EN. Biologically active peptides and enzymatic approaches to their production. *Enz Microb Technol* 1996; 18: 162-83.
- Panyam D., Kilara A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends Food Sci Technol* 1996; 7: 120-5.
- Yang R., Zhang Z., Pei X., Han X., Wang J., Wang L., et al. Immunomodulatory effects of marine oligopeptide preparation from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) in mice. *Food Chem* 2009; 113: 464-70.
- Ryan JT., Ross RP., Bolton D., Fitzgerald GF., Stanton C. Bioactive Peptides from Muscle Sources: Meat and Fish. *Nutrients* 2011; 3: 765-91.
- Hummel G., Reineke U., Reimer U. Translating peptides into small molecules. *Mol Biosyst* 2006; 2: 499-508.
- Ayoub M., Scheidegger D. Peptide drugs, overcoming the challenges, a growing business. *Chem today* 2006; 24: 46-8.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2014; 37: S81-S90.
- Said G. Les neuropathies diabétiques. *Neurol* 2009; 1: 40-4.
- Gariani K., de Seigneux S., Pechère-Bertschi A., Philippe J., Martin PY. Néphropathie diabétique. *Rev Med Suisse* 2012; 8: 473-9
- Shah CA. Diabetic retinopathy: A comprehensive review. *Indian J Med Sci* 2008; 62: 500-19.
- Potenza MA., Nacci C., Gagliardi S., Montagnani M. Cardiovascular complications in diabetes: lessons from animal models. *Curr Med Chem* 2011; 18: 1806-19.
- King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol* 2008; 79: 1527-34.
- Steven M., Haffner MD. Epidemiology of type 2 diabetes: Risk Factors. *Diabetes Care* 1998; 21: C3-C6.
- Bolen S., Feldman L., Vassy J., Wilson L., Yeh HC., Marinopoulos S., et al. Systematic review: comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2007; 147: 386-99.
- Molavi B., Rassouli N., Bagwe S., Rasouli N. A review of thiazolidinediones and metformin in the treatment of type 2 diabetes with focus on cardiovascular complications. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3: 967-73.
- Scheen AJ. Stratégie thérapeutique chez le patient diabétique de type 2 obèse. *STV* 2006; 18: 302-10
- Allannic H. Les inhibiteurs des alpha-

- glucosidases: leurs places dans la thérapeutique actuelle du diabète. *STV* 1997;9: 601-8.
20. Dey L., Attele AS., Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Altern Med Rev* 2002;7: 45-58.
 21. Lamounier RN., Pareja JC., Tambascia MA., Geloneze B. Incretins: Clinical physiology and bariatric surgery—correlating the entero-endocrine system and a potentially anti-dysmetabolic procedure. *Obes Surg* 2007; 17: 569-76.
 22. Madsbad S., Krarup T., Deacon CF., Holst JJ. Glucagon-like peptide receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of diabetes : A review of clinical trials. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 491-9.
 23. Khanna P., Jain SC., Panagariya A. Hypoglycemic activity of polypeptide-P from a plant source. *J Nat Prod* 1981;44: 648-55.
 24. Marles RJ., Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 1995;2: 137-89.
 25. Basch WE., Gabardi S., Ulbricht C. Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm* 2003; 60: 356-9.
 26. Liu SX., Fu ZP., Mu RM., Hu ZB., Wang FJ., Wang XR. Expression and characterization of *Momordica charantia* antihyperglycaemic peptide in *Escherichia coli*. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 1781-6.
 27. Yuan X., Gu X., Tang J. Purification and characterisation of a hypoglycemic peptide from *Momordica Charantia* L. Var. *abbreviata* Ser. *Food Chem* 2008 a; 111: 415-20.
 28. Lavigne C., Marette A., Jacques H. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am J Physiol* 2000; 278: 491-500.
 29. Ouellet V., Marois J., Weisnagel SJ., Jacques H. Dietary cod protein improves insulin sensitivity in insulin-resistant men and women: a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2007;30: 2816-21.
 30. Huang FJ., Wu WT. Purification and characterization of a new peptide (s-8300) from shark liver. *J Food Biochem* 2010; 34: 962-70.
 31. Jang H., Hyeon J., Won C., Lee H., Shin Chang S., Park C., et al. *In vivo* and *in vitro* application of black soybean peptides in the amelioration of endoplasmic reticulum stress and improvement of insulin resistance. *Life Sci* 2010;86: 267-74.
 32. Kwak JH., Lee JH., Ahn CW., Park SH., Shim ST., Song YD., et al. Black soy peptide supplementation improves glucose control in subjects with prediabetes and newly diagnosed type II diabetes mellitus. *J Med Food* 2010;13: 1307-12.
 33. Li N., Li L., Fang JC., Wong JH., Ng TB., Jiang Y., et al. Isolation and identification of a novel polysaccharide-peptide complex with antioxidant, anti-proliferative and hypoglycaemic activities from the abalone mushroom. *Biosci Rep* 2012;32: 221-28.
 34. Losacco M., Gallerani R., Gobetti M., Minervini F., De Leo F. Production of active angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine beta-casein by recombinant DNA technologies. *Biotechnol J* 2007;2: 1425-34.
 35. Fountoulakis M., Lahm HW. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *J Chromatogr A* 1998;826: 109-34.
 36. Adler-Nissen J. Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility. *J Agric Food Chem* 1976;24: 1090-3.
 37. Turgeon SL., Bard C., Gauthier SF. Comparaison de trois méthodes pour la mesure du degré d'hydrolyse de protéines laitières modifiées enzymatiquement. *Can Inst Food Sci Technol J* 1991;24: 14-8.
 38. Sila A., Nedjar-Arroume N., Hedhili K., Chataigné G., Balti R., Nasri M., et al. Antibacterial peptides from barbel muscle protein hydrolysates: Activity against some pathogenic bacteria. *LWT-Food Sci Technol* 2014;55: 183-88.
 39. Ktari N., Jridi M., Bkhairia I., Sayari N., Ben Salah R., Nasri, M. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from muscle of zebra blenny (*Salaria basilisca*) obtained with different crude protease extracts. *Food Res Int* 2012;49: 747-56.
 40. Cuvellier GF. Enzymologie et biocatalyse. Dans Biotechnologie. Tec et Doc, Lavoisier, Paris ; 1999, p. 319-42.
 41. Simpson BK., Haard NF. Cold-adapted enzymes from fish. In : Knorr D (editor). *Food Biotechnology*, New York: Marcel Dekker; 1987, p. 495-528.

42. Adler-Nissen J. Limited enzymic degradation of proteins: a new approach in the industrial application of hydrolases. *J Chem Tech Biotechnol* 1982; 32: 138-56.
43. Copeland RA. Enzymes: a practical introduction to structure, mechanism and data analysis. (ed. R.A. Copeland). Wiley-VCH inc, New-York; 1996, p. 306.
44. Gundry RL., White MY., Murray Cl., Kane LA., Fu Q., Stanley BA., et al. Preparation of proteins and peptides for mass spectrometry analysis in a bottom-up proteomics workflow. *Curr Protoc Mol Biol* 2009; 1-29.
45. Matsui T., Oki T., Osajima Y. Isolation and identification of peptidic alpha-glucosidase inhibitors derived from sardine muscle hydrolysate. *Z. Naturforsch* 1999; 54: 259-63.
46. Yuan X., Gu X., Tang J. Optimization of the production of *Momordica charantia* L. Var. *abbreviata* Ser. protein hydrolysates with hypoglycemic effect using Alcalase. *Food Chem* 2008 b; 111: 340-4.
47. Morifuji M., Koga J., Kawanaka K., Higuchi M. Branched-chain amino acid-containing dipeptides, identified from whey protein hydrolysates, stimulate glucose uptake rate in L6 myotubes and isolated skeletal muscles. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009; 55: 81-6.
48. Kim ED., Bayaraa T., Shin EJ., Hyun CK. Fibroin-Derived Peptides Stimulate Glucose Transport in Normal and Insulin-Resistant 3T3-L1 Adipocytes. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 427-33.
49. Hu C., Cui J., Ren F., Peng C. Enzyme hydrolysis of silk fibroin and the anti-diabetic activity of the hydrolysates. *Int J Food Eng* 2008; 4: 13.
50. Zhu CF., Peng HB., Liu GQ., Zhang F., Li Y. Beneficial effects of oligopeptides from marine salmon skin in a rat model of type 2 diabetes. *Nutrition* 2010; 26: 1014-20.
51. Nakaoka F., Sasakawa Y., Yamamoto K., Nakao M., Nakamura M., Tong C., et al. Anti-diabetic effects of globin digest and its active ingredient Leu-Ser-Glu-Leu in ICR mice, streptozotocin-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *Life Science* 2010; 86: 424-34.
52. Lee HJ., Lee HS., Choi JW., Ra KS., Kim JM., Suh HJ. Novel Tripeptides with α -Glucosidase Inhibitory Activity Isolated from Silk Cocoon Hydrolysate. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 11522-5.
53. Yu Z., Yin Y., Zhao W., Yu Y., Liu B., Liu J., et al. Novel peptides derived from egg white protein inhibiting alpha-glucosidase. *Food Chem* 2011; 129: 1376-82.
54. Yu Z., Yin Y., Zhao W., Liu J., Chen F. Anti-diabetic activity peptides from albumin against α -glucosidase and α -amylase. *Food Chem* 2012; 135: 2078-85.
55. Sarmadi B., Aminuddin F., Hamid M., Saaric N., Abdul-Hamid A., Ismail A. Hypoglycemic effects of cocoa (*Theobroma cacao* L.) autolysates. *Food Chem* 2012; 134: 905-11.
56. Li-Chan EC., Hunaq SL., Jao CL., Ho KP., Hsu KC. Peptides derived from Atlantic salmon skin gelatin as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 973-78.
57. Ktari N., Mnafgui K., Nasri R., Hamden K., Bkhairia I., Ben Hadj A., et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats. *Food Funct* 2013; 4: 1691-99.
58. Lacroix IME., Li-Chan E.C.Y. Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and α -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins. *J Agric Food Chem* 2013; 61: 7500-06.
59. Lacroix IME., Li-Chan E.C.Y. Isolation and characterization of peptides with dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity from pepsin-treated bovine whey proteins. *Peptides* 54; 2014: 39-48
60. Morato PN., Lollo PCB., Moura CS., Batista TM., Carneiro EM., Amaya-Farfan J. A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate increase translocation of GLUT-4 to the plasma membrane in Wistar rats. *Food Chem* 2013; 139: 853-59.
61. Higuchi N., Hira T., Yamada N., Hara H. Oral administration of corn zein hydrolysate stimulates GLP-1 and GIP secretion and improves glucose tolerance in male normal rats and Goto-Kakizaki rats. *Endocrinology* 2013; 154: 3089-98.
62. Jung EY., Lee HS., Lee HJ., Kim JM., Lee KW., Suh HJ. Feeding silk protein hydrolysates to C57BL/KsJ-db/db mice improves blood glucose and lipid profiles. *Nutr Res* 2010; 30: 783-90.
63. Werle M., Bernkop-Schnurch A. Strategies to improve plasma half-life time of peptide and protein drugs. *Amino Acids* 2006; 30: 351-67.
64. Ohsawa K., Satsu H., Ohki K., Enjoh M., Takano T., Shimizu M. Producibility and digestibility of

- antihypertensive β -casein tripeptides, Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro, in the gastrointestinal tract: analyses using an *in vitro* model of mammalian gastrointestinal digestion. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 854-58.
65. Fauchere JL., Thurieau C. Evaluation of the stability of peptides and pseudopeptides as a tool in peptide drug design. *Adv Drug Res* 1992; 23: 127-59.
66. Caliceti P., Veronese FM. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. *Adv Drug Delivery Rev* 2003; 55: 1261-77.
67. Harris JM., Chess RB. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 214-21.
68. Veronese FM., Pasut, G. PEGylation, successful approach to drug discovery. *Drug Discov Today* 2005; 10: 1451-58.