

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE**

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

Peptidi bioattivi e antiage

Relatore: Prof. Fernando Formaggio

Laureanda: Andrea Valentina Meneghini

1195043

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

Sommario

Introduzione	3
Cosa sono i peptidi bioattivi	4
L'invecchiamento cutaneo	5
Classificazione dei peptidi bioattivi	6
Peptidi segnale	6
Peptidi carrier	6
Inibitori della neurotrasmissione	7
Inibitori enzimatici	7
Peptidi per antiage e i loro effetti	9
Inibitori della collagenasi	9
Inibitori della ialuronidasi	9
Inibitori della tirosinasi	9
Peptidi antimicrobici.....	10
Peptidi con attività antiossidante	11
Peptidi con attività antinfiammatoria	12
Metodi di sintesi	13
Sintesi chimica.....	13
Sintesi peptidica classica in soluzione.....	13
Sintesi peptidica in fase solida	13
Sintesi peptidica in fase solubile	14
Metodo Biologico	14
Idrolisi enzimatica	14
Fermentazione microbica	15
Fonti naturali	16
Fonti animali	16
Carne	16
Specie marine	16
Derivati del latte.....	17
Derivati delle uova.....	17
Fonti vegetali	18
Conclusioni	19
Bibliografia	20

Introduzione

Questo elaborato si pone l'obiettivo di analizzare i peptidi bioattivi utilizzati nel campo cosmetico per la formulazione di prodotti antiage, partendo dall'analisi dei fattori che scatenano l'invecchiamento cutaneo.

Segue una classificazione dei peptidi bioattivi in base al loro meccanismo d'azione, per poi passare ad una descrizione dei metodi di sintesi più utilizzati.

Infine una breve discussione sulle fonti naturali da cui essi possono essere estratti con un occhio alle proprietà di interesse medico e antiage.

Negli ultimi decenni sono stati scoperti e sintetizzati una grande quantità di peptidi con importanti funzionalità biologiche. Essi vengono impiegati in ambito farmaceutico, cosmetico e alimentare (figure 1 e 2).

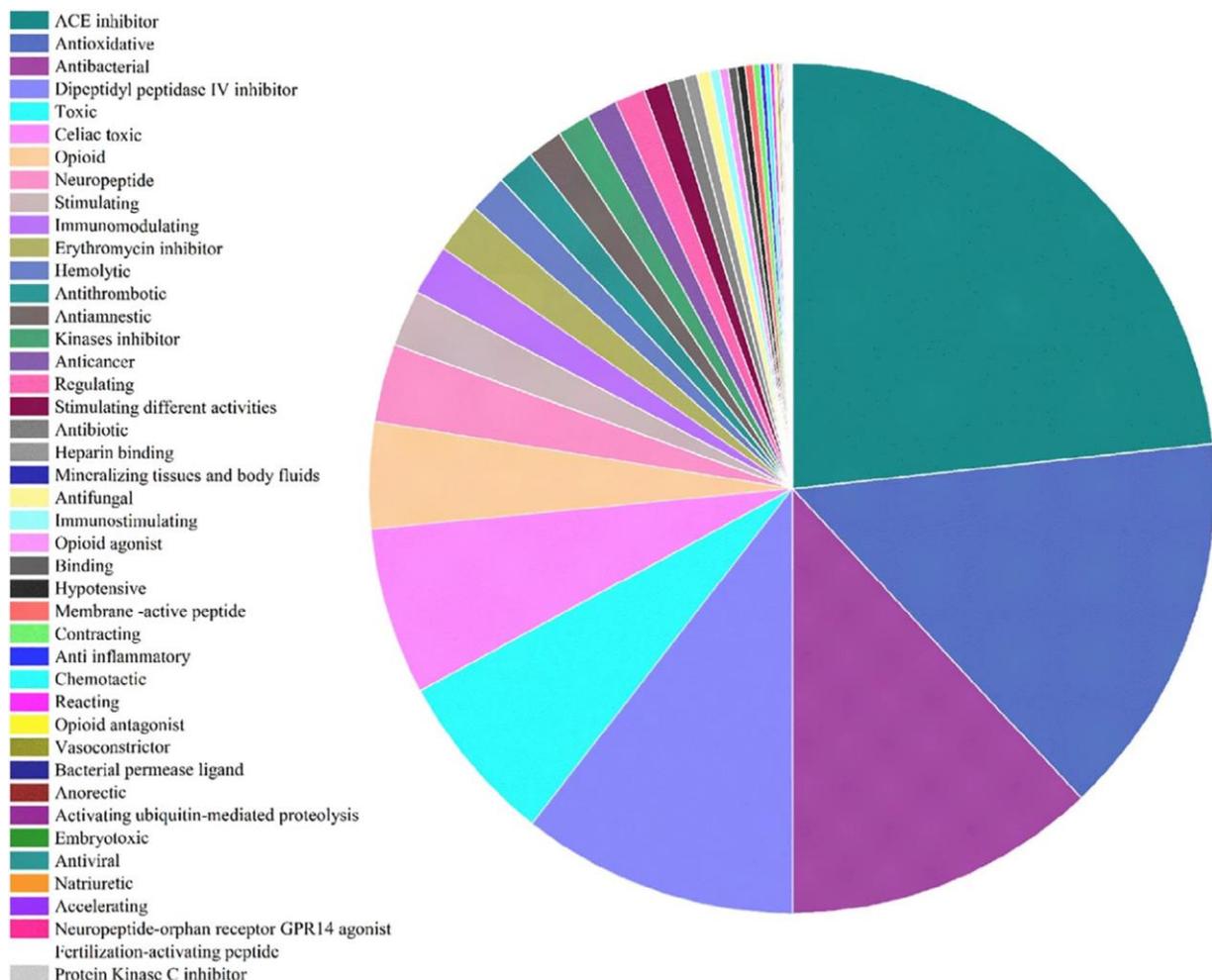


Figura 1: la proporzione di peptidi bioattivi legati alla salute e alla prevenzione delle malattie. (Kang, 2022)

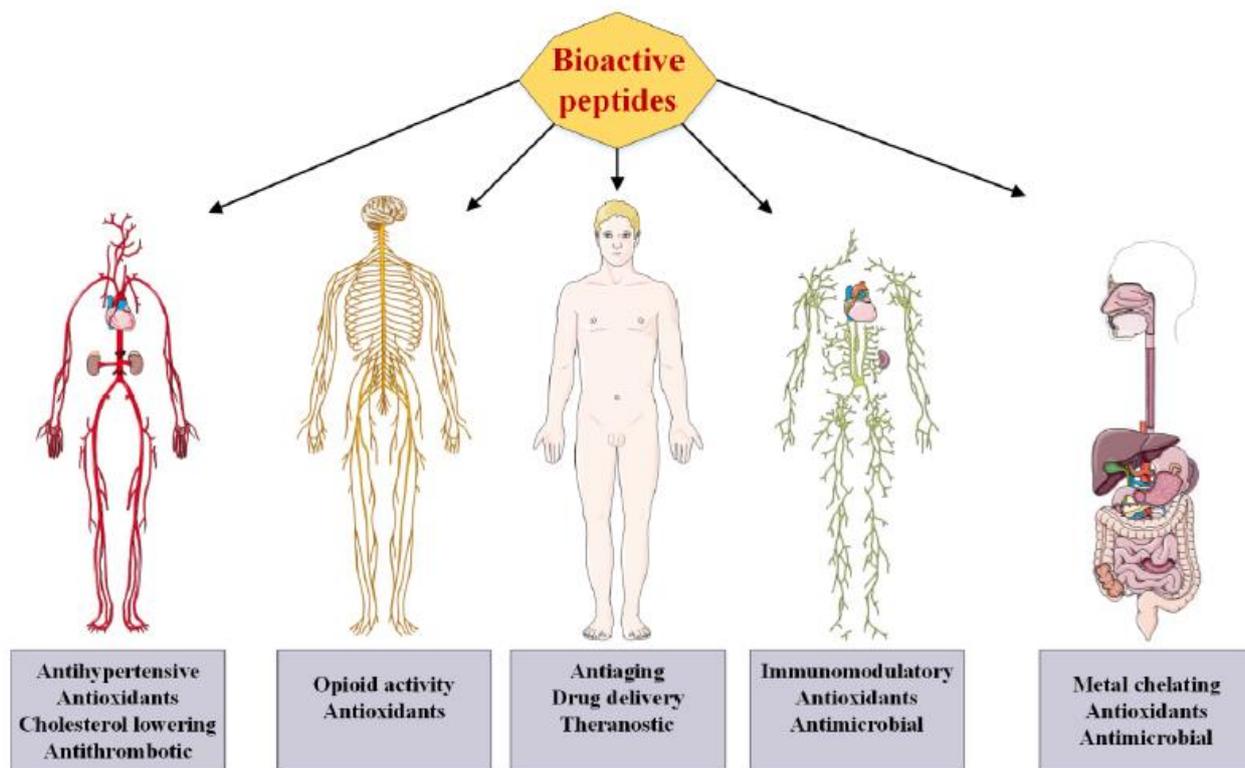


Figura 2: usi differenti dei peptidi bioattivi in base alle loro funzioni. (Akbarian, 2022)

Cosa sono i peptidi bioattivi

I peptidi sono corte catene di due o più amminoacidi uniti da legami peptidici. Gli α -amminoacidi sono gli elementi costitutivi delle proteine e quando sono uniti in catene formano i peptidi. I peptidi si differenziano dalle proteine per le loro dimensioni. Infatti, sono più piccoli e sono composti da massimo 50 amminoacidi. (Ngoc, 2023)

I peptidi bioattivi ricoprono ruoli funzionali in cellule o organismi viventi, grazie alla loro capacità di interazione con svariate macromolecole biologiche.

Il loro meccanismo d'azione è paragonabile a quello di ormoni e farmaci capaci di attivare meccanismi di trasduzione cellulare che controllano l'espressione di geni regolatori. I peptidi bioattivi endogeni sono coinvolti in numerosi ruoli terapeutici, ma ricoprono anche ruoli nutritivi fornendo alle cellule gli amminoacidi essenziali per la sintesi proteica e contribuendo al fisiologico rinnovamento proteico. (Apone, 2019)

Si possono trovare in forma libera o complessati ad altre strutture proteiche o molecolari. Gli amminoacidi principali che costituiscono i peptidi bioattivi sono arginina, lisina e prolina. (Akbarian, 2022)

I peptidi bioattivi sono diventati molto rilevanti in ambito farmaceutico, cosmetico e alimentare grazie alla grande varietà di funzioni biologiche ricoperte e alla facile reperibilità delle materie prime da cui essi possono essere prodotti, ovvero coltivazioni e scarti della filiera alimentare. (Ngoc, 2023)

Grazie alla loro funzione terapeutica e all'atossicità, queste molecole sono in grado di rimpiazzare i principi attivi di molti farmaci evitando così gli effetti collaterali che essi comportano. Inoltre, i peptidi bioattivi sono ipoallergenici, non si accumulano all'interno dell'organismo e sono efficaci anche a basse concentrazioni. (Bhandari, 2019) Possiedono anche un'elevata capacità di penetrazione negli strati cutanei. (Apone, 2019) Queste proprietà li rende adatti anche all'uso cosmetico antiage. (Agyei, 2011), (Akbarian, 2022)

L'invecchiamento cutaneo

I peptidi bioattivi possono essere utilizzati nel settore della cosmetica antiage grazie alle loro molteplici proprietà utilizzate in combinazione.

Durante il processo di invecchiamento si verificano alterazioni dell'attività di sintesi delle proteine cutanee, come collagene ed elastina, che sono fondamentali per donare elasticità e tono alla pelle, nonché un contemporaneo aumento della produzione di enzimi quali elastasi, collagenasi, tirosinasi e ialuronidasi, che sono implicati nella degradazione della matrice extracellulare. In seguito a questi eventi compaiono le prime linee di invecchiamento e rughe.

I peptidi antiage agiscono inibendo la produzione di questi enzimi e contrastando le principali cause di invecchiamento.

Il processo di invecchiamento della pelle è controllato da fattori interni ed esterni. Infatti si può suddividere in invecchiamento intrinseco ed estrinseco, che tuttavia avvengono in combinazione. (Aguilar-Toaláa, 2019)

L'invecchiamento intrinseco è dovuto alla genetica che, attraverso danneggiamenti del DNA e accorciamento dei telomeri dei cromosomi, determina una riduzione della capacità proliferativa cellulare che porta alla degenerazione del tessuto cutaneo tramite l'alterazione dell'attività di biosintesi della matrice extracellulare. (Rossiello, 2022)

Inoltre, questi processi inducono la formazione di grandi quantità di radicali liberi e la riduzione del flusso sanguigno che contribuiscono alla diminuzione dell'attività funzionale delle cellule cutanee. (Akbarian, 2022)

L'invecchiamento estrinseco è un processo determinato da fattori esterni non genetici. Questi fattori possono essere ambientali, come radiazioni ultraviolette e inquinamento atmosferico, o meccanici, come un movimento muscolare ripetuto che porta alla perdita di elasticità del tessuto, oppure possono derivare dallo stile di vita, come ad esempio la dieta. (Limbert, 2019)

L'esposizione a radiazioni ultraviolette induce la formazione di radicali liberi e causa danni al DNA influenzando sul normale funzionamento delle cellule della pelle. (Akbarian, 2022)

(Aguilar-Toaláa, 2019) (Akbarian, 2022) (Limbert, 2019) (Tobin, 2017) (Rossiello, 2022)

Classificazione dei peptidi bioattivi

I peptidi bioattivi possono essere classificati in quattro categorie in base al meccanismo d'azione: segnale, carrier, inibitori della neurotrasmissione e inibitori enzimatici.

Peptidi segnale

I peptidi segnale agiscono aprendo dei canali nelle membrane cellulari permettendo la traslocazione della sintesi proteica in uno specifico sito d'azione. Fanno parte di questa categoria tutti i peptidi bioattivi che stimolano la produzione di proteine (collagene ed elastina) nei fibroblasti della matrice extracellulare. Alcuni peptidi segnale operano come fattori di crescita inducendo la crescita e la migrazione nel processo di riparazione cellulare. I peptidi segnale più utilizzati sono (nota: il palmitoil da solo non è un peptide, ma un acido grasso, l'acido palmitico) il palmitoil tripeptide-5 (figura 3) e suoi analoghi.

La struttura dei peptidi segnali si può dividere in 3 zone: regione terminale amminica carica positivamente, regione centrale idrofobica e regione terminale carbossilica polare. (Ngoc, 2023) (Lima, 2018)

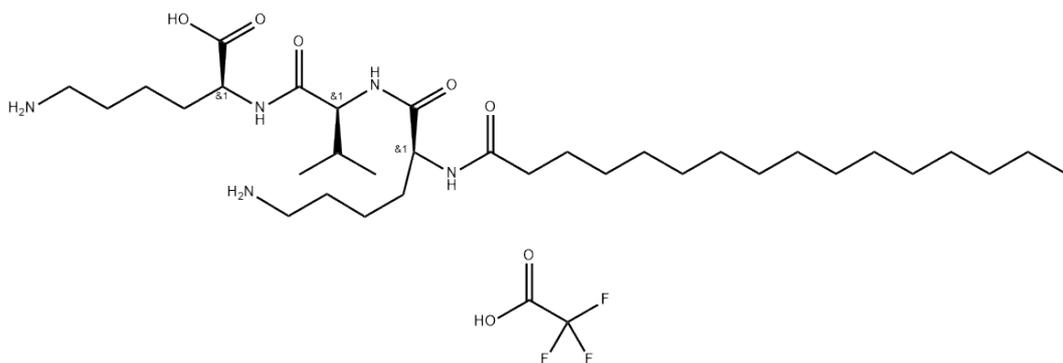


Figura 3: struttura chimica del palmitoil-tripeptide-5 [1]

Peptidi carrier

I peptidi carrier trasportano e permettono l'assunzione alle cellule epiteliali di elementi essenziali per la guarigione del tessuto cutaneo, come il rame e il manganese. Sono necessari anche per la produzione di enzimi coinvolti nella sintesi di proteine della matrice le quali promuovono il rinnovamento cellulare. I peptidi carrier più rilevanti ed efficaci ad oggi sono il rame tripeptide Cu-GHK (figura 4) e il manganese tripeptide Mn-GHK. Quest'ultimo si è rivelato efficace anche come antiossidante nel trattamento dell'infiammazione indotta da radiazione solare. (Ngoc, 2023)

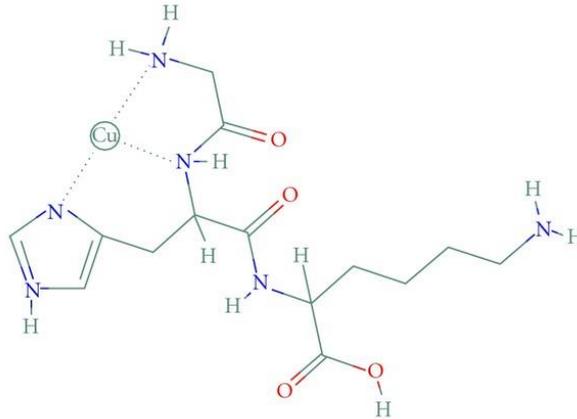


Figura 4: struttura chimica del tripeptide Cu-GHK. (Pickart, 2012)

Inibitori della neurotrasmissione

Fanno parte di questa categoria i peptidi che inibiscono la produzione di neurotrasmettitori rilasciati dei neuroni. In particolare, nel campo della cosmetica antiage questi peptidi vengono utilizzati per impedire la produzione di acetilcolina, che è il neurotrasmettore responsabile della contrazione muscolare, inducendo un rilassamento muscolare nella zona trattata. Tra i peptidi inibitori della neurotrasmissione il più noto è l'esapeptide-3 (figura 5) commercializzato con il nome Argireline®. Inoltre, questi peptidi presentano il vantaggio secondario di apportare una maggiore idratazione al tessuto cutaneo.

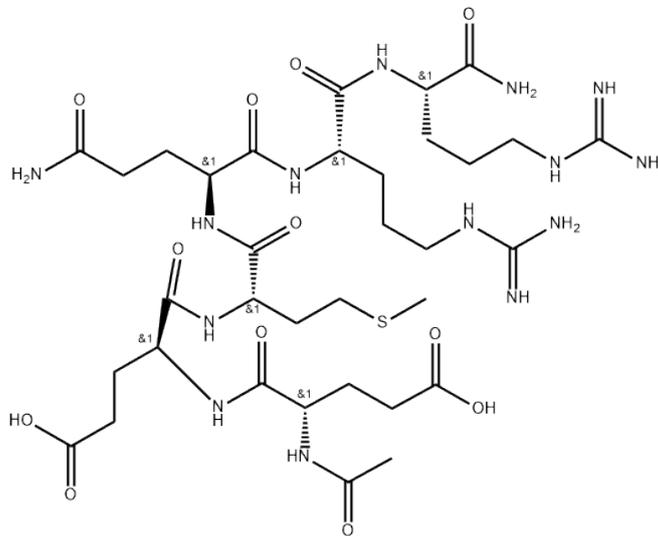


Figura 5: struttura chimica dell'esapeptide-3 (Argireline®) [2]

Esistono anche peptidi in grado di inibire la neurotrasmissione cutanea superficiale e che mirano all'attenuazione dell'infiammazione riducendo i sintomi di patologie quali la dermatite da contatto. (Ngoc, 2023) (Lima, 2018)

Inibitori enzimatici

Sono peptidi capaci di inibire direttamente o indirettamente gli enzimi responsabili della degradazione delle proteine della matrice extracellulare e altre proteine legate ai processi

infiammatori e ossidanti o nei processi ad esse collegati. I peptidi che agiscono da inibitori enzimatici sono innumerevoli così come gli effetti ad essi correlati, tra i quali il contrasto dell'infiammazione e dell'ossidazione dovuta a radiazione solare, inducendo apoptosi delle cellule danneggiate. Oltre alle proprietà di interesse cosmetico ricoprono altri ruoli biologici importanti. Infatti, alcuni inibitori enzimatici possono regolare la pressione sanguigna e il livello dei lipidi nel sangue. (Ngoc, 2023)

Peptidi per antiage e i loro effetti

La letteratura attuale dimostra che molti peptidi bioattivi provenienti da fonti diverse possiedono effetto antiage. È possibile produrre peptidi multifunzionali che possono donare una parziale o completa copertura dai vari fattori che inducono l'invecchiamento cutaneo. Di seguito, una serie di peptidi descritti in base alle loro funzioni biologiche e al loro potenziale uso cosmetico. (Akbarian, 2022)

Inibitori della collagenasi

Il collagene è la principale proteina strutturale del derma e la proteina più abbondante nel corpo umano. Esistono 16 tipi di collagene ma il 90% è composto da collagene di tipo I, II e III. Conferisce forza e supporto alla pelle oltre a renderla flessibile ed elastica. Per mantenere la pelle compatta viene prodotto e degradato continuamente, ma con l'invecchiamento questo equilibrio viene a mancare. Infatti, la riduzione di collagene è riconducibile all'aumento della produzione di enzima collagenasi che lo degrada ad un ritmo superiore rispetto alla sua produzione. Sono stati individuati una serie di peptidi in grado di inibire la produzione di collagenasi, alcuni dei quali sono riportati in figura 6. (Akbarian, 2022) (Aguilar-Toaláa, 2019) (Ngoc, 2023)

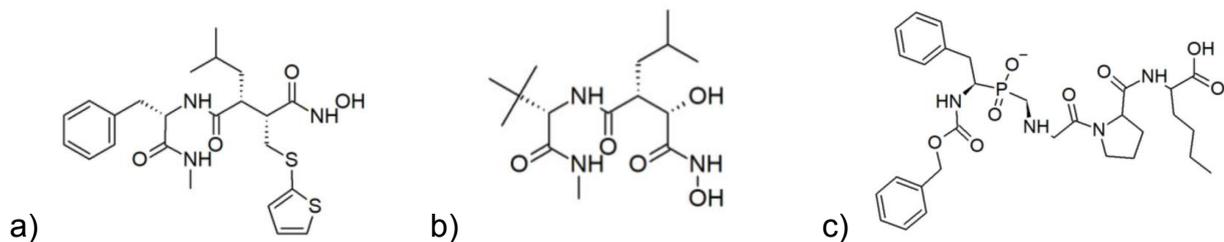


Figura 6: strutture di alcuni peptidi inibitori di collagenasi: a) batimastat, b) marimastat, c) Phosphinic peptide Z-Phe-ψ(PO₂CH₂)-Gly-Pro-Nle. (Ledwoń, 2021)

Inibitori della ialuronidasi

L'acido ialuronico è un biopolimero in grado di legare grandi quantità di acqua. Si trova nella pelle, nella matrice extracellulare e in molte altre parti del corpo in quanto componente del tessuto connettivo, ad esempio nel liquido sinoviale delle articolazioni. È associato all'idratazione della pelle e alla rigenerazione cellulare. Il calo di acido ialuronico nella pelle è associato ad un incremento della produzione di enzima ialuronidasi. L'industria cosmetica attualmente propone prodotti ad uso topico per l'integrazione di acido ialuronico, ma risulta irritante per la pelle soprattutto ad elevate concentrazioni. Per questo motivo la ricerca si sta spostando verso l'inibizione della sua degradazione. (Akbarian, 2022) (Aguilar-Toaláa, 2019) (Ngoc, 2023)

Inibitori della tirosinasi

Un ulteriore inestetismo che causa invecchiamento cutaneo è legato alla pigmentazione della pelle. La produzione di melanina, il principale pigmento della pelle, è indotta dall'enzima tirosinasi. Con l'invecchiamento la produzione di questo enzima aumenta

promuovendo la formazione di macchie chiare o scure, nei e melasma. L'enzima tirosinasi è un enzima i cui siti attivi contengono rame. Pertanto, per contrastarlo vengono utilizzati dei peptidi in grado di bloccare i siti attivi o chelare il rame, alcuni di questi peptidi sono riportati in figura 7. (Akbarian, 2022) (Aguilar-Toaláa, 2019) (Ngoc, 2023)

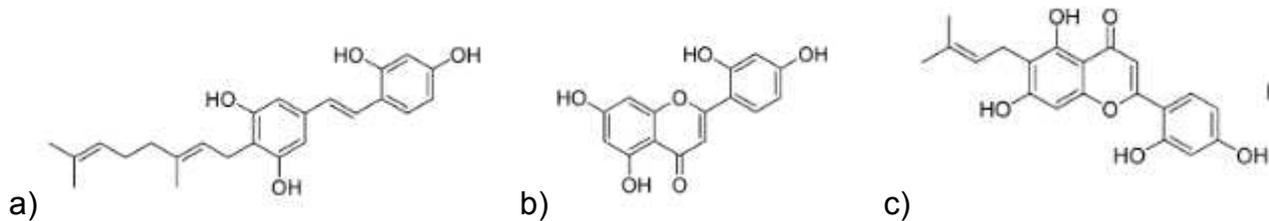


Figura 7: strutture di alcuni peptidi inibitori di tirosinasi: a) chlorophorin, b) norartocarpetin, c) artocarpesin. (Hsiao, 2014)

Peptidi antimicrobici

La pelle possiede la capacità di eliminare i patogeni che si presentano sulla sua superficie, ma con l'invecchiamento questa funzione diventa sempre meno efficace. Per questo motivo si possono sviluppare malattie cutanee quali psoriasi e rosacea.

Inoltre, a tutte le età si possono manifestare acne e dermatite in seguito ad uno squilibrio del microbiota cutaneo. Sono stati individuati una serie di peptidi che presentano attività antimicrobica e risultano efficaci nel contrastare questi inestetismi grazie alla loro capacità di formare canali transmembrana sulla membrana dei microorganismi dannosi causandone la morte. (Akbarian, 2022) (Aguilar-Toaláa, 2019) (Ngoc, 2023) (Bhandari, 2019)

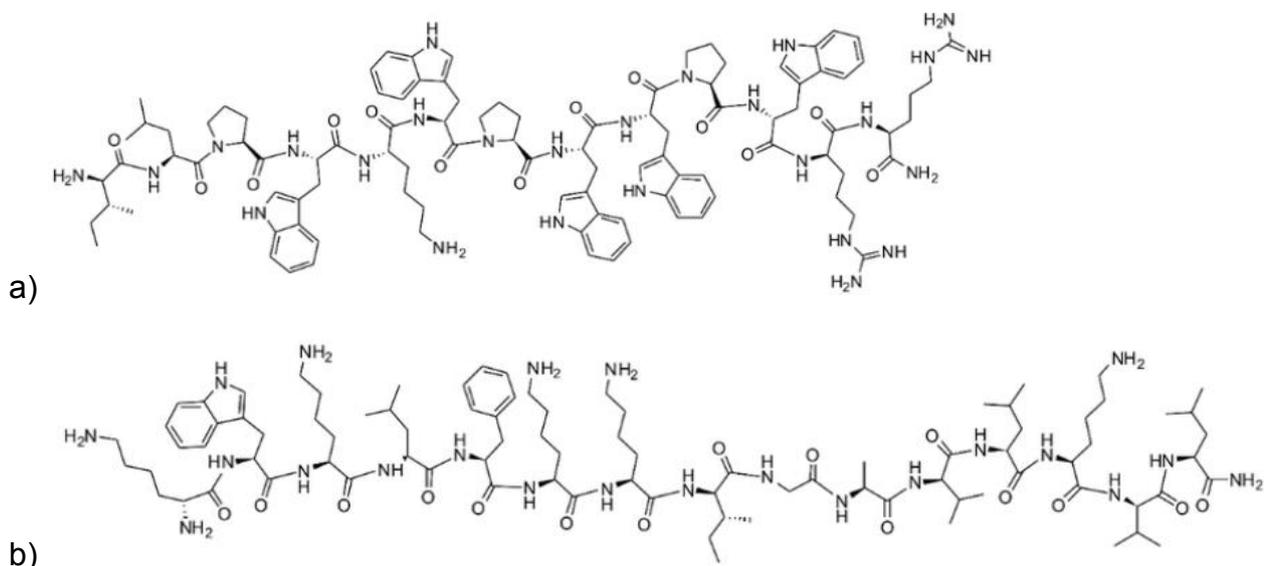


Figura 8: strutture di alcuni peptidi antimicrobici: a) indolicidin, b) cecropin A (1-7)-melittin (2-9) hybrid. (Johnson, 2018)

Altri peptidi antimicrobici agiscono inibendo l'attività intracellulare come la sintesi degli acidi nucleici, la sintesi della parete cellulare, i processi di divisione cellulare o bloccando il trasporto del ferro. (Ngoc, 2023)

È stato scoperto che la lattoferrina B, che comprende i residui da 14 a 41 nella lattoferrina del latte, esercita attività antimicrobica provocando l'aggregazione di peptidi nella membrana citoplasmatica i quali causano la formazione di canali che la destabilizzano portando alla morte della cellula batterica. (Zambrowicz, 2013)

Altri peptidi non interagiscono direttamente con i microorganismi bersaglio ma rafforzano la risposta immunitaria. Ad alte concentrazioni sono in grado di debellare l'infezione mentre a concentrazioni inferiori regolano la presenza di patogeni.

Sono stati eseguiti numerosi studi sulle proprietà immunoregolatrici dei peptidi e si è constatato che questo effetto è dovuto alla loro capacità di stimolare la proliferazione dei linfociti e la secrezione di citochine. Alcuni peptidi estratti dalle uova di gallina inducono la formazione di linfociti T e i peptidi ottenuti dall'idrolisi dell'albumina con chimotripsina e pepsina mostrano anch'essi attività immunoregolatrice. (Zambrowicz, 2013)

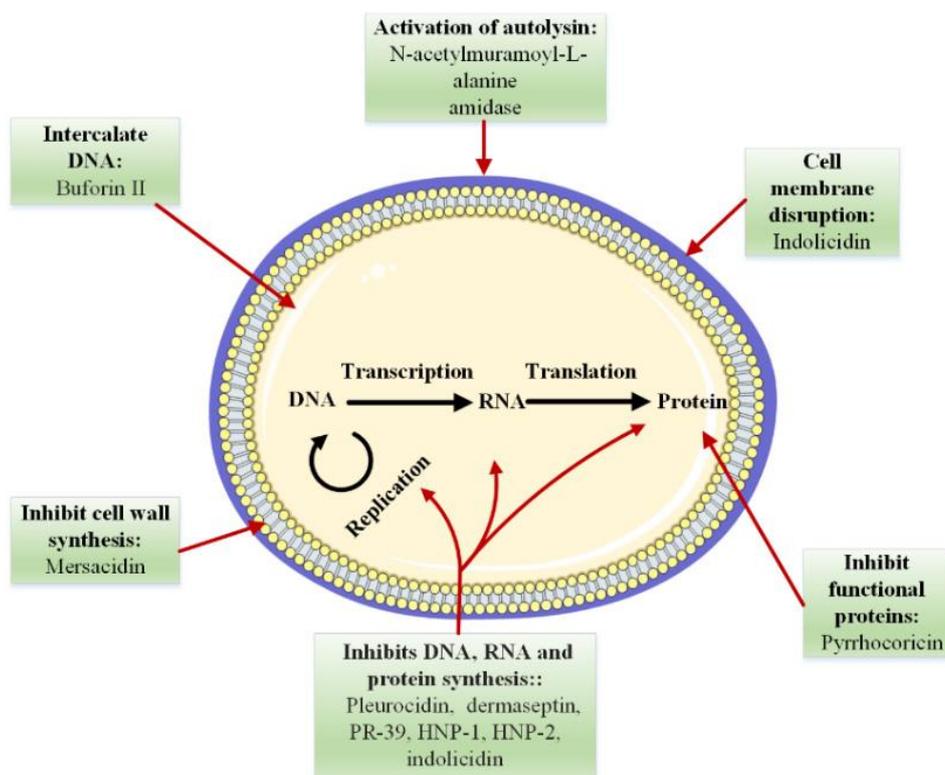


Figura 9: schema relativo alle varie tipologie di meccanismo dei peptidi antimicrobici. (Akbarian, 2022)

Peptidi con attività antiossidante

Se nel corpo e in particolare nella pelle si accumulano troppe specie reattive all'ossigeno, ovvero radicali liberi, i tessuti possono incorrere in stress ossidativo, che è implicato nello sviluppo di malattie cutanee quali il cancro. I radicali liberi si sviluppano se la pelle è esposta a radiazioni ultraviolette o a sostanze che contengono a loro volta radicali liberi, come ad esempio solventi. Per limitare lo stress ossidativo è possibile utilizzare dei peptidi antiossidanti i quali agiscono direttamente contro le specie reattive all'ossigeno, neutralizzandole tramite trasferimento protonico, trasferimento elettronico o chelazione dei metalli ossidanti legati a tali specie. L'utilizzo di questi peptidi antiossidanti è utile al contrasto del foto-invecchiamento cutaneo a carico di radicali liberi. (Aguilar-Toaláa, 2019) (Bhandari, 2019) (Ngoc, 2023) (Akbarian, 2022)

Fonte	Sequenza
Sardina (fibra muscolare)	MY
Latte	MHIRL, YVEEL, WYSLAMAASDI
Tonno (ossa)	VKAGFAWTANQQLS
Ostrica	PVMGD
Soia	LLPHH, VNHDHQN, LVNHDHQN,
Riso	FRDEHKK, KHDRGDEF

Tabella 1: fonti di peptidi antiossidanti con le relative sequenze amminoacidiche. R: alanina; R: arginina; N: asparagina; D: acido aspartico; C: cisteina; E: acido glutammico; D: glutamina; G: glicina; H: istidina; Hp: idrossiprolina; I: isoleucina; L: leucina; K: lisina; M: metionina; F: fenilalanina; P: prolina; S: serina; T: treonina; W: triptofano; Y: tirosina; V: valina. (López-García, 2022)

Peptidi con attività antinfiammatoria

Un ulteriore problema che si verifica con l'invecchiamento è legato allo squilibrio del sistema immunitario che non è più in grado di fronteggiare fenomeni infiammatori. I peptidi con attività antinfiammatoria sono in grado di trasportare cellule immunitarie direttamente nei siti in cui è presente un'inflammatione inducendo angiogenesi e riparazione dei tessuti danneggiati. (Ngoc, 2023)

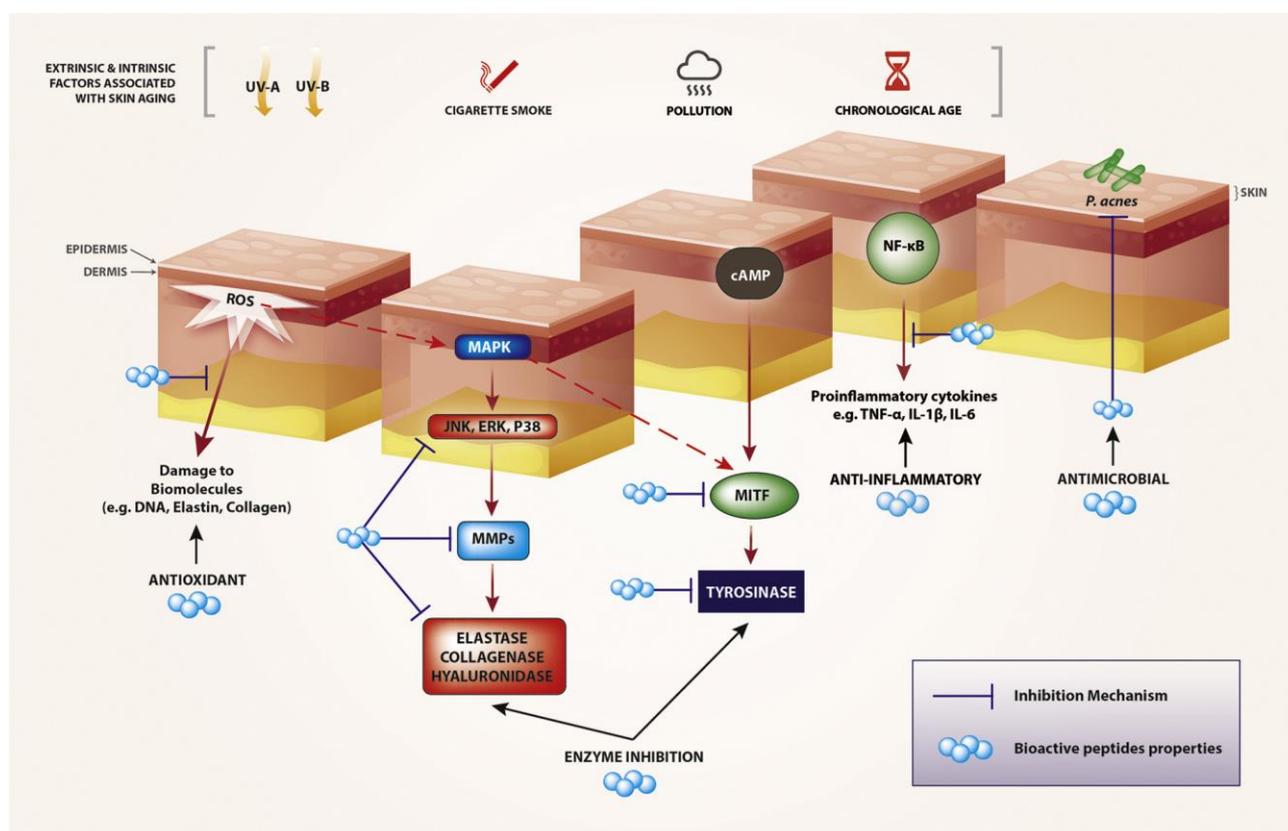


Figura 10: schema relativo ai meccanismi dei peptidi bioattivi in relazione al loro potenziale utilizzo in cosmetica antiage. (Aguilar-Toaláa, 2019)

Metodi di sintesi

Sintesi chimica

Sintesi peptidica classica in soluzione

La sintesi peptidica classica in soluzione (CSPS, Classic Solutions Peptide Synthesis) implica la reazione di condensazione di un gruppo carbossilico di un amminoacido con il gruppo amminico di un secondo amminoacido, al fine di ottenere la sequenza peptidica desiderata. (Sharma, 2022). Nel 1953 ha rappresentato un grande successo la prima sintesi dell'insulina. (Akbarian, 2022)

Sono necessarie strategie di protezione dei gruppi funzionali per prevenire la formazione di prodotti secondari con le catene laterali degli amminoacidi. (Sharma, 2022)

È possibile utilizzare un eccesso del reagente per velocizzare la reazione, ma nonostante ciò la CSPS rimane un metodo di sintesi lento in quanto ogni intermedio viene isolato e caratterizzato prima della reazione successiva in modo da evitare la formazione di prodotti secondari e ottenere un prodotto più puro. Ciò aumenta i costi di produzione e comporta delle perdite nella resa. Questo metodo non è adatto alla produzione di peptidi a catena lunga, anche per motivi di scarsa solubilità dei peptidi molto lunghi in solventi organici. La CSPS rimane comunque valida per la sintesi di peptidi di piccole dimensioni. (Sharma, 2022) (Akbarian, 2022) (T. Kimmerlin, 2008)

Sintesi peptidica in fase solida

Nel 1963 Robert Bruce Merrifield introduce la sintesi peptidica in fase solida (SPPS, Solid Phase Peptide Synthesis), che semplifica il procedimento della sintesi classica rimuovendo gli stadi di purificazione degli intermedi.

Questa tecnica prevede l'utilizzo di un supporto polimerico solido in grado di proteggere selettivamente il gruppo carbossilico. Il primo amminoacido presenta dei gruppi protettori sul gruppo amminico e sui gruppi laterali in modo tale da permettere il legame tra il gruppo carbossilico e il supporto. Successivamente viene rimosso il protettore sul gruppo amminico così da poter essere libero di reagire con il secondo amminoacido. La strategia introdotta da Merrifield prevedeva l'uso del Boc (figura 11) per proteggere il gruppo α -amminico. Negli anni '70 venne introdotto il gruppo Fmoc (figura 11). Attualmente il più utilizzato è Fmoc perché si rimuove in condizioni basiche blande e consente quindi di essere selettivi se per altre funzionalità reattive si usano gruppi protettori rimossi in condizioni acide. Infatti, è importante utilizzare dei gruppi protettori nelle catene laterali per evitare che anche queste formino legami ammidici o esterei non voluti.

Il metodo SPPS permette di accorciare i tempi di produzione e di aumentare le rese ed è pure applicabile su scala industriale. Tuttavia, presenta alcuni svantaggi tra cui l'utilizzo di grandi quantità di solventi poiché, per evitare la formazione di sottoprodotti, dopo ognuno dei numerosi passaggi sintetici va lavato accuratamente il supporto solido su cui si fa crescere il peptide.

(Akbarian, 2022) (Sharma, 2022) (B.L. Bray, 2003) (Varnava, 2019) (T. Kimmerlin, 2008)

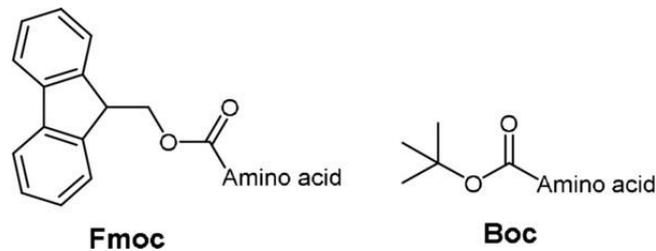


Figura 11: strutture chimiche dei protettori amminici Fmoc e Boc. (Varnava, 2019)

Sintesi peptidica in fase solubile

La sintesi peptidica in fase solubile è un metodo ibrido tra la sintesi in fase solida e la sintesi classica che unisce le migliori caratteristiche di entrambe.

La procedura prevede una reazione in fase omogenea come nella sintesi classica, ma evitando l'eccesso di reagenti e la crescita della catena peptidica su un supporto, come nella sintesi in fase solida. In questo caso si utilizzano come supporto piccole molecole o polimeri solubili che facilitano la solubilizzazione e la manipolazione del peptide. Il peptide viene infine separato per filtrazione, precipitazione o estrazione.

Questa tecnica è molto vantaggiosa in quanto prevede l'utilizzo di quantità di solvente esigue, è applicabile a livello industriale, richiede l'impiego di poche risorse energetiche, i materiali necessari sono economici e i supporti possono essere riutilizzati, a differenza dei supporti utilizzati nella SPPS. (Sharma, 2022)

Metodo Biologico

La bio-produzione di peptidi prevede lo sfruttamento della capacità produttiva di cellule modificate attraverso l'ingegneria genetica. È possibile modificare tratti genetici di cellule batteriche, abitualmente *Escherichia coli*, inducendo l'espressione di peptidi o loro precursori.

Questa tecnica risulta molto più veloce rispetto alla sintesi chimica ed è anche una valida alternativa all'idrolisi di proteine alimentari, che è limitata dalla concentrazione della proteina nella fonte impiegata. (Zambrowicz, 2013) Tuttavia, non sempre è possibile la biosintesi, soprattutto quando si vogliono preparare peptidi o proteine modificate rispetto a quanto codificato nel DNA. Pertanto, spesso la biosintesi è utilizzata insieme alla sintesi chimica: prima viene prodotto il peptide di partenza sfruttando il tratto genetico che lo esprime, poi viene modificato con metodi chimici. (Akbarian, 2022)

Idrolisi enzimatica

L'idrolisi enzimatica permette di ricavare i peptidi dall'idrolisi delle proteine tramite l'utilizzo di enzimi digestivi o proteasi commerciali. È un processo facilmente controllabile e condotto in condizioni blande dal quale si ottiene un prodotto sicuro, perché non vengono utilizzati solventi organici o sostanze tossiche. Inoltre, è possibile utilizzare enzimi digestivi. Tutto ciò rende i peptidi ottenuti ideali per l'utilizzo alimentare e farmaceutico.

L'idrolisi enzimatica prevede tre varianti:

- idrolisi enzimatica con enzimi derivanti da piante o microorganismi (es. papaina);
- idrolisi enzimatica con enzimi digestivi (es. pepsina e tripsina);

- fermentazione microbica.

Dall'idrolisi enzimatica si ottengono vari peptidi che devono essere separati e purificati tramite precipitazione, filtrazione tramite membrana o separazione con cromatografia liquida.

Questo processo è facilmente eseguibile in laboratorio, ma non nelle produzioni di dimensioni maggiori dove si ottengono rese molto più basse. Tuttavia, essendo molto economico rispetto alle sintesi viste precedentemente risulta comunque vantaggioso.

Su scala industriale gli enzimi possono essere ancorati ad una superficie solida. In questo modo è possibile controllare meglio le condizioni di reazione, riutilizzare gli enzimi ed evitare idrolisi successive generando prodotti secondari. Inoltre, si può impiegare la produzione continua utilizzando particolari reattori dotati di membrane ultrafiltranti. Si ottengono così rese maggiori abbassando i costi di produzione.

Ulteriori passaggi quali idrolisi microonde-assistita, pretrattamento delle proteine con ultrasuoni, alta pressione permettono di incrementare la bioattività dei peptidi

La bioattività delle miscele peptidiche ottenute dipende anche dal tipo di enzimi utilizzati per l'idrolisi, dalle condizioni di reazione, dalle proteine di partenza e dal grado di idrolisi.

(Bhandari, 2019) (Akbarian, 2022) (Kang, 2022)

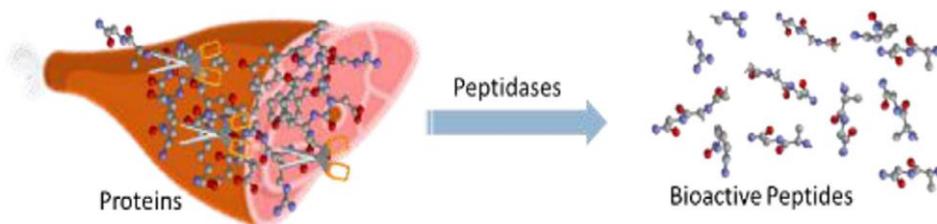


Figura 12: idrolisi enzimatica. (Kang, 2022)

Fermentazione microbica

La fermentazione microbica di peptidi riguarda l'idrolisi delle proteine attraverso l'uso di enzimi prodotti da cellule batteriche, come ad esempio *Lactobacillus* e *Bacillus*. È un metodo che rivela numerosi vantaggi: disponibilità di abbondanti fonti di enzimi, rese alte e bassi costi di produzione. Infatti, i microorganismi sono una fonte più economica di proteasi perché le colture batteriche richiedono pochi nutrienti e hanno un tempo di crescita veramente ridotto. Nel caso del *Lactobacillus* le proteasi sono escrete lungo la parete cellulare per cui l'estrazione risulta facile e veloce.

Questa tecnica presenta anche degli svantaggi: il meccanismo di azione non è ancora del tutto chiaro e l'utilizzo di microorganismi patogeni vivi potrebbe non essere completamente sicuro. Infatti, i ceppi più efficaci sono anche i più pericolosi e per questo tra quelli disponibili è possibile utilizzarne soltanto alcuni.

È stato dimostrato che l'impiego di fermentazioni multiple, così come la combinazione di vari enzimi, si traduce in un aumento della produzione di peptidi bioattivi.

(Akbarian, 2022) (Zambrowicz, 2013) (Kang, 2022)

Fonti naturali

Le proteine di origine animale e vegetale contengono porzioni attive all'interno della sequenza di amminoacidi di cui sono composte. Per questo sono ottime fonti di peptidi bioattivi. La caratterizzazione dei peptidi bioattivi ricavati dall'idrolisi delle proteine di origine naturale ha messo in evidenza la loro ampia varietà di funzioni biologiche nutrienti e curative. (Ngoc, 2023)

Fonti animali

I peptidi di origine animale sono molto utilizzati nella cosmetica. Le fonti più comuni sono carne, latte, uova e pesce. Secondo la letteratura, i peptidi di origine animale hanno svariate proprietà: regolazione della pressione sanguigna, stimolazione del sistema nervoso, sono antibatterici e nutrienti. (Kang, 2022)

Carne

La carne è ricca di sostanze indispensabili per l'essere umano quali amminoacidi essenziali, acido folico, vitamina B12, ferro ed è una ricca fonte per l'estrazione di peptidi bioattivi con innumerevoli funzionalità. Inoltre, la carne è una fonte di peptidi molto concentrata. Infatti, da 1kg di carne di suino si possono ricavare fino a 2,7 g di carnosina, un dipeptide con proprietà antiossidanti dovute alla capacità di trattenere i metalli di transizione come il rame e lo zinco. (Akbarian, 2022)

Altri peptidi sono in grado di intervenire sullo stress ossidativo a carico del tessuto nervoso. (Kang, 2022)

In un'ottica di economia circolare, i peptidi di origine animale rappresentano un vantaggio in quanto gli scarti della filiera alimentare, nel caso specifico gli scarti della macellazione ad esempio il sangue, sono una ricca fonte di proteine. (Akbarian, 2022)

Specie marine

Anche i peptidi derivanti da materie prime di origine marina possiedono alti valori nutrizionali e ottime proprietà cosmetiche. L'ambiente marino è completamente diverso da quello terrestre. Gli organismi che lo popolano si sono evoluti per adattarsi a condizioni estreme: mancanza di luce, basse temperature, alta pressione. Per questo motivo i peptidi di origine marina possiedono proprietà importanti e peculiari adatte alla conservazione della salute e alla prevenzione e cura di malattie croniche.

Tra le svariate proprietà dei peptidi di origine marina, la più importante è legata alla cura del cancro. Infatti, si sono rivelati validi sostituti dei farmaci chemioterapici ma senza effetti collaterali. Molti peptidi attivi contro il cancro sono stati estratti da spugne e molluschi. La Jaspamide è un peptide ciclico antitumorale (figura 13), estratto dalle spugne del genere *Jaspis* e *Hemisstrella*, che induce l'apoptosi nelle cellule umane leucemiche. Il peptide ciclico Geodiamolide H (figura 13), estratto dalle spugne *Geodia corticostylifera*, ha proprietà antitumorali nei confronti del cancro al seno.

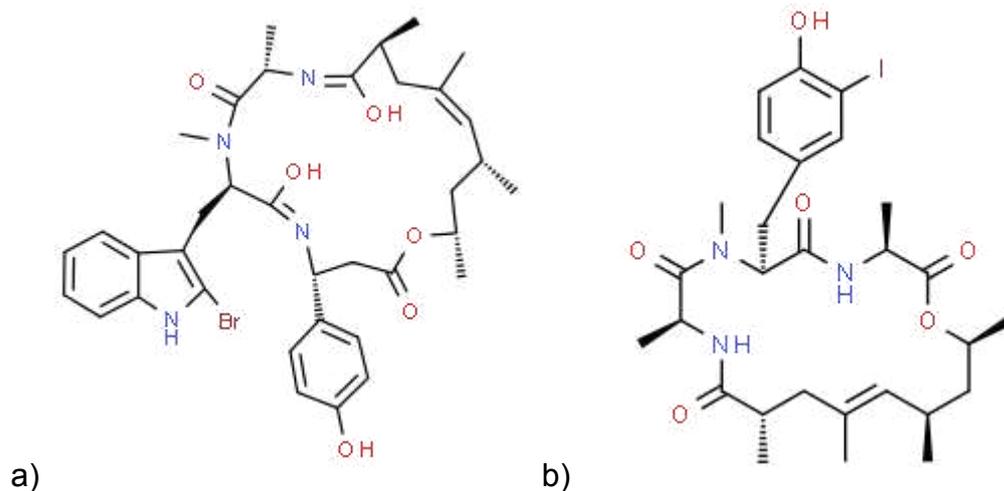


Figura 13: struttura molecolare di Jasparamide (a) [3]e Geodiamolide H (b). [4]

Molti peptidi di origine marina hanno funzioni utili per lo sviluppo di nuovi farmaci in quanto possono indurre la morte di cellule specifiche attraverso vari meccanismi: apoptosi, inibizione dell'angiogenesi, inibizione della riproduzione cellulare.

Gli scarti della pesca, che rappresentano il 75% del pescato totale, sono una risorsa fondamentale per l'estrazione di questa tipologia di peptidi. Oltre a fornire risorse utili per la cura e il benessere umano, il riutilizzo di queste sostanze di scarto è un mezzo per ridurre l'inquinamento ambientale.

(Ngoc, 2023) (Akbarian, 2022) (Kang, 2022)

Derivati del latte

Le proteine del latte sono considerate la fonte animale più importante per la produzione dei peptidi bioattivi, prodotti principalmente dall'idrolisi di caseina e siero. Sono facilmente solubili in acqua, resistenti alle alte temperature e in ambiente acido, sono altamente digeribili.

Nell'essere umano i peptidi derivanti dalle proteine del latte sono endogeni e agiscono come antimicrobici e immunoregolatori. Sono stati individuati nei succhi gastrici di neonati allattati al seno. Infatti, il latte ricopre un ruolo fondamentale nella crescita e nel benessere degli esseri umani fin dalla nascita. Alcuni peptidi originati dal latte materno presentano delle proprietà analgesiche sul sistema nervoso centrale.

I peptidi derivati dal latte sono molto utilizzati in medicina per le loro proprietà benefiche. Essi sono ACE inibitori, antitrombotici, antitumorali, antiossidanti, antibatterici, immunoprotettori e aumentano l'assorbimento di minerali.

(Akbarian, 2022) (Ngoc, 2023) (Kang, 2022)

Derivati delle uova

Anche le uova rappresentano un'importante fonte di peptidi di origine animale. Sono molto importanti per la creazione di farmaci orali in quanto sono resistenti all'idrolisi nel tratto intestinale. Buona parte delle proteine nelle uova è rappresentata dal lisozima. I peptidi da esso ricavati hanno proprietà antimicrobiche, antitumorali, immunoregolatrici e antiipertensive.

Dall'idrolisi del lisozima si ricavano anche peptidi ampiamente utilizzati nell'industria alimentare come additivi che impediscono la proliferazione batterica. (Akbarian, 2022) (Ngoc, 2023)

Fonti vegetali

I peptidi creati tramite sintesi chimica e quelli derivati da fonti animali, pur essendo ampiamente utilizzati, non godono di buona considerazione da parte dei consumatori, i primi a causa della potenziale presenza di residui tossici, i secondi per motivi etici o salutistici. Va tuttavia ricordato che nei Paesi UE le proteine animali sono sottoposte a controlli rigorosi al fine di evitare contaminazioni da patogeni nocivi per l'essere umano.

Per questi motivi la ricerca ha individuato fonti di peptidi bioattivi anche nelle proteine di origine vegetale. I consumatori associano gli ingredienti di origine vegetale ad una maggiore sicurezza e sostenibilità. Inoltre, questa tendenza risponde alla sempre maggiore richiesta di prodotti vegani che non derivino da fonti di origine animale. (Apone, 2019)

Dalle piante si ricavano numerosi peptidi antibatterici che sono naturalmente presenti sulla loro superficie come la thionin, il primo peptide vegetale identificato, che ricopre un ruolo fondamentale nella protezione delle piante dai batteri agendo ad ampio spettro contro batteri Gram-positivi e Gram-negativi. (Akbarian, 2022)

I peptidi ricavati dalla soia ricoprono una gamma molto vasta di ruoli funzionali. Infatti, rappresentano degli ottimi candidati nell'utilizzo in campo cosmetico. (Akbarian, 2022) (Ngoc, 2023) (Kang, 2022)

Conclusioni

La maggiore conoscenza dei peptidi bioattivi cosmetici ha portato allo sviluppo di una nuova generazione di prodotti di origine naturale. Nel futuro le strategie di sintesi verranno migliorate in modo tale da ottenere rese migliori, peptidi bioattivi multifunzionali puri senza potenziali residui tossici. A tale scopo, i prodotti più interessanti sembrano essere i peptidi bioattivi di origine vegetale ottenuti dall'idrolisi enzimatica delle rispettive proteine.

La popolazione delle nazioni benestanti è destinata ad invecchiare sempre di più. Si stima che nei prossimi decenni l'aspettativa di vita raggiungerà i 100 anni. Per questo motivo è importante sviluppare prodotti che riescano a contrastare l'invecchiamento fisico, così da garantire uno stile di vita migliore. La pelle è l'organo più esteso del corpo e ricopre numerose funzioni regolatrici. Pertanto, essa va preservata attraverso l'utilizzo di prodotti preventivi antiage non solo per motivi estetici ma anche per evitare di incorrere nelle numerose patologie dovute alla degradazione del tessuto cutaneo.

Bibliografia

- Aguilar-Toalá, J.E.; Hernández-Mendoza, A.; González-Córdova, A.F.; Vallejo-Cordoba, B.; Liceaga, A.M. *Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products*. *Peptides*. **2019** Dec;122:170170. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170170.
- Ageyi, D.; Danquah, M.K. *Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides*. *Biotechnol Adv*. **2011** May-Jun;29(3):272-7. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.001
- Akbarian, M.; Khani, A.; Eghbaltpour, S.; Uversky, V.N. *Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action*. *International Journal of Molecular Sciences*. **2022**; 23(3):1445. <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>
- Apone, F.; Barbulova, A.; Colucci M.G. *Plant and Microalgae Derived Peptides Are Advantageously Employed as Bioactive Compounds in Cosmetics*. *Front Plant Sci*. **2019** 10:756. doi: 10.3389/fpls.
- Bray, B.L. *Large-scale manufacture of peptide therapeutics by chemical synthesis*. *Nat Rev Drug Discov*. **2003** Jul;2(7):587-93. doi:10.1038/nrd1133.
- Bhandari, D.; Rafiq, S.; Gat, Y. *et al. A Review on Bioactive Peptides: Physiological Functions, Bioavailability and Safety*. *Int J Pept Res Ther*. **2020**; 26, 139–150. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5>
- Hsiao, N.W.; Tseng, T.S.; Lee, Y.C.; Chen, W.C.; Lin, H.H.; Chen, Y.R.; Wang, Y.T.; Hsu, H.J.; Tsai, K.C. *Serendipitous discovery of short peptides from natural products as tyrosinase inhibitors*. *J Chem Inf Model*. **2014** Nov 24;54(11):3099-111. doi: 10.1021/ci500370x
- Johnson, B.; Taitt, C.; Gleaves, A.; Archibong, E.; Monk, S.; Leska, I. *Colorimetric Biosensor: Porphyrin Variations*. **2018**.
- Kang, L.; Han, T.; Cong H., Yu, B.; Shen, Y. *Recent research progress of biologically active peptides*. *BioFactors*. **2022**; 48: 575–596. <https://doi.org/10.1002/biof.1822>
- Kimmerlin, T.; Seebach, D. *'100 years of peptide synthesis': ligation methods for peptide and protein synthesis with applications to β -peptide assemblies*. *The Journal of Peptide Research*. **2005**, 65: 229-260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.2005.00214.x>
- Ledwoń, P.; Papini, A.M.; Rovero, P.; Latajka, R. *Peptides and Peptidomimetics as Inhibitors of Enzymes Involved in Fibrillar Collagen Degradation*. *Materials* **2021**, 14, 3217. <https://doi.org/10.3390/ma14123217>
- Lima, T.N.; Pedriali Moraes, C.A. *Bioactive Peptides: Applications and Relevance for Cosmeceuticals*. *Cosmetics*. **2018**; 5(1):21. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010021>
- Limbert, G.; Masen, M.A.; Pond, D.; Graham, H.K.; Sherratt, M.J.; Jobanputra, R.; McBride, A. *Biotribology of the ageing skin - Why we should care*. *Biotribology*. **2019**; 17, 75-90. <https://doi.org/10.1016/j.biotri.2019.03.001>

López-García, G.; Dublan-García, O.; Arizmendi-Cotero, D.; Gómez Oliván, L.M. *Antioxidant and Antimicrobial Peptides Derived from Food Proteins*. *Molecules*. **2022** Feb 16;27(4):1343. doi: 10.3390/molecules27041343.

Ngoc, L.T.N.; Moon, J.Y.; Lee, Y.C. *Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics*. *Cosmetics*. **2023**; 10(4):111. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10040111>

Pickart, L.; Vasquez-Soltero J.M.; Margolina A. *The human tripeptide GHK-Cu in prevention of oxidative stress and degenerative conditions of aging: implications for cognitive health*. *Oxid Med Cell Longev*. **2012**. doi: 10.1155/2012/324832

Rossiello, F.; Jurk, D.; Passos, J.F.; D'Adda di Fagagna, F. *Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases*. *Nat Cell Biol*. **2022** Feb;24(2):135-147. doi:10.1038/s41556-022-00842-x.

Sharma, A.; Kumar, A.; De la Torre, B.G.; Albericio, F. *Liquid-Phase Peptide Synthesis (LPPS): A Third Wave for the Preparation of Peptides*. *Chem Rev*. **2022** Aug 24;122(16):13516-13546. doi:10.1021/acs.chemrev.2c00132.

Tobin, D.J. *Introduction to skin aging*. *J Tissue Viability*. **2017** Feb;26(1):37-46. doi:10.1016/j.jtv.2016.03.002.

Varnava, K.G.; Sarojini, V. *Making Solid-Phase Peptide Synthesis Greener: A Review of the Literature*. *Chem Asian J*. **2019** Apr 15;14(8):1088-1097. doi:10.1002/asia.201801807.

Zambrowicz, A.; Timmer, M.; Polanowski, A.; Lubec, G.; Trziszka, T. *Manufacturing of peptides exhibiting biological activity*. *Amino Acids*. **2013** Feb;44(2):315-20. doi:10.1007/s00726-012-1379-7.

SITOGRAFIA

[1] https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB42490021_EN.htm

[2] https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB41092600_EN.htm

[3] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21430692.html>

[4] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10471265.html>