

ACE抑制肽的研究进展

赵 越, 张孚嘉, 吴 楠, 双 全*

(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘 要: 随着高血压患者的大幅增加和人们对健康的重视, 血管紧张素转换酶(ACE)抑制肽作为有效的降血压多肽, 又因无毒副作用, 使其成为近些年的研究热点。文章综述了ACE抑制肽的作用机理和研究历史, 从植物及动物方面介绍了多肽的来源, 并阐述了直接酶解法、发酵法、固相合成法制备ACE抑制肽方法, 以及从体外活性检测和体内活性检测介绍ACE抑制肽检测方法, 希望为ACE抑制肽的深入研究提供依据。

关键词: ACE抑制肽; 作用机理; 来源; 制备; 活性检测

中图分类号: TQ464.7

文章编号: 0254-5071(2020)01-0006-06

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2020.01.002

引文格式: 赵越, 张孚嘉, 吴楠, 等. ACE抑制肽的研究进展[J]. 中国酿造, 2020, 39(1): 6-11.

Research progress of ACE inhibiting peptide

ZHAO Yue, ZHANG Fujia, WU Nan, SHUANG Quan*

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: With the dramatic increase in the number of patients with hypertension and people's attention to health, angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides have become an effective blood pressure lowering peptide due to its non-toxic side effect and it has become a research hotspot in recent years. In this paper, the mechanism and research history of ACE inhibitory peptides were reviewed. The source of the peptides were introduced from the aspects of plant and animal, and the direct enzymatic hydrolysis, fermentation, solid phase synthesis for the preparation of ACE inhibitory peptides were expounded, and *in vitro* and *in vivo* ACE inhibitory peptides activity detection method was introduced, in order to provide the basis for further study of the ACE inhibitory peptides.

Key words: ACE inhibitory peptide; mechanism of action; source; preparation; activity detection

世界卫生组织将高血压列为人群健康的头号危险因素, 它是引起全世界人口死亡率上升的主要病因, 约影响15%~20%的成年人的健康^[1]。2010年, 高血压导致940万人死亡, 占全球伤残死亡率的7.0%。据估计在2030年, 将会导致2 330万人死亡^[2]。心血管疾病有关的治疗费用约高达1 060亿欧元, 约占整个欧盟医疗支出总额的9%, 给社会带来了很大的经济负担。据报道, 全世界大约有2/3的高血压患者生活在发展中国家, 特别是亚洲国家, 其高血压人数的增长率最高。高血压是引起流行性心血管疾病(中风、心肌梗塞、心脏病等)的主要病因之一, 47%的冠心病和54%的脑中风患者是由高血压引起的^[3]。成人高血压占比为30%~45%, 且随着年龄的增长患病人数急剧增加。高血压的典型定义是血压在140/90 mmHg以上的水平, 血压值120~139/80~89 mmHg与低于120/80 mmHg的血压水平相比, 前者心血管疾病发病率和死亡率大幅增加^[4]。虽然高血压的控制与多种代谢途径有关, 但血管紧张素转换酶的调节是一个关键调控因素。

1 ACE抑制肽的研究历史及作用机制

1.1 ACE抑制肽作用机制

血管紧张素转换酶(angiotensin-I converting enzyme, ACE)是从人体组织和体液中发现的一种二肽羧肽酶, 在人体心血管系统中起着至关重要的作用。ACE通过将血管紧张素I转化成血管紧张素II来提高血压。血管紧张素转化酶抑制肽(Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides, ACEI)是通过抑制血管紧张素II的合成或促进缓激肽的释放, 抑制ACE活性从而降低血压。ACE主要有两种亚型—人体体细胞ACE(somatic ACE, sACE)和睾丸ACE(testis ACE, tACE), 它们由同源的C-ACE和N-ACE组成, 而tACE与sACE的C域相同, 但sACE在其N端含有一个独特的36-残基序列。有研究表明, C域对于体内血压的控制具有明显作用^[5]。肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)和激肽释放酶-激肽系统(kallikrein-kinin system, KKS)在调节血压和维持体液平衡方面发挥着重要作用。在RAS系统中, ACE通过将非活性形式的十肽-血管紧张素I(angiotensin I)

收稿日期: 2019-06-04

修回日期: 2019-09-28

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31460443); 内蒙古自治区科技创新引导奖励资金项目(KCJ2018011)

作者简介: 赵 越(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。

*通讯作者: 双 全(1964-), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品科学。

转化为一种强效的血管收缩剂八肽—血管紧张素II (Angiotensin II), 血管紧张素II是一种有效的血管收缩剂, 能使血压上升^[6]; 在KKS系统中, ACE抑制了缓激肽的分解, 缓激肽是一种血管舒张剂, 可降低血压, 将缓激肽分解为一个无活性的片段, 从而使血压升高, ACE会通过双重作用提高血压, 即刺激血管收缩和抑制血管舒张。

1.2 ACE抑制肽的研究简史

ACE抑制肽的发现于1965年, FERREIRA S H^[7]从蝮蛇体内发现缓激肽增强因子, 1970年^[8], 用超滤法在蝮蛇体内提取分离出9个具有增强缓激肽作用的肽段, 每个肽段有5~13个氨基酸残基, 这些肽段在组成上相似, 且脯氨酸含量较高, 同时大多肽段含有谷氨酸、精氨酸和色氨酸。研究证明, 这些多肽抑制循环激素如缓激肽和血管紧张素II的失活和释放。1971年, ONDETTI M A等^[9]用固相合成法合成了缓激肽增强因子-壬肽抗压素 (teprotide), 并将ACE抑制剂应用于临床。1977年, CUSHMAN D W等^[10]根据ACE底物的化学及分子动力学模型设计出ACE活性的结构模型, 同年ONDETTI M等^[11]根据已知的ACE模型的活性位点人工合成了新的抗高血压药物—卡托普利。随着对血管紧张素转换酶抑制剂的深入研究, 又诞生了培哚普利、雷米普利、赖诺普利和曲多普利等ACE抑制剂, 并被广泛应用于高血压的临床试验和治疗。但经长期研究表明, 部分患者服用人工合成ACE抑制剂后出现咳嗽、头晕、疲劳、血管水肿, 钾水平升高等不良反应, 长期服用对人体各器官产生毒副作用, 而食源性ACE抑制肽具有成本低、无副作用的优点, 有望成为理想的功能性食品。1979年, OSHIMA G等^[12]采用细菌胶原酶水解明胶分离提纯了食源性ACE抑制肽。1982年, MARUYAMA S等^[13]从酪蛋白的水解液中分离提纯出具有ACE抑制活性的肽段, 这是首次从乳蛋白源中提取出ACE抑制肽, 为后续乳源提取奠定了基础。1995年, NAKAMURA Y等^[14]采用瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 两种混合菌株作为发酵剂, 研制出具有ACE抑制活性的酸奶“Calpis”, 并从中提取出了ACE抑制肽活性的短肽IPP (Ile-Pro-Pro) 和VPP (Val-Pro-Pro)。经研究表明, 水母性腺^[15], 虹鳟鱼^[16], 蚕蛹蛋白^[17], 乳清蛋白^[18]等众多食品中都可分离提取ACE抑制肽。因此, 从食品中寻找ACE抑制肽并利用这些肽取代化学合成抑制剂已成为本研究领域的发展趋势。

2 ACE抑制肽来源

2.1 植物来源ACE抑制肽

从植物中分离ACE抑制肽来源丰富、成本较低、分离及纯化较为方便。MA F F等^[19]采用液相二级质谱法从银杏种子中分离得到三条多肽序列TNLDWY (Thr-Asn-Leu-Asp-Trp-Tyr)、RADFY (Arg-Ala-Asp-Phe-Tyr)、RVFDGAV (Arg-Val-Phe-Asp-Gly-Ala-Val), 其ACE的半抑制浓度 (50% inhibit-

ing concentration, IC₅₀) 分别为1.932 $\mu\text{mol/L}$ 、1.35 $\mu\text{mol/L}$ 和1.006 $\mu\text{mol/L}$, 采用分子对接的方法进行了研究, 结果表明, 该多肽能与ACE紧密结合, 并与S1、S2和S10活性位点的氨基酸残基进一步相互作用。马洪鑫等^[20]采用直接加热法从苜蓿叶提取出蛋白, 分别用碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、风味蛋白酶、胰蛋白酶6种酶进行酶解, 获得酶解产物。通过筛选得木瓜蛋白酶ACE抑制率最高为(90.69 \pm 2.77)%, 其最佳酶解工艺为pH值7.5, 酶解时间4 h, 酶解底物质量分数4%。SUN Z L等^[21]用胰蛋白酶水解海棠从中分离和鉴定出以下3种ACE抑制肽: IGETGP (Ile-Gly-Glu-Thr-Gly-Pro), GATGPAGYV (Gly-Ala-Thr-Gly-Pro-Ala-Gly-Tyr-Val) 和GAFPGGLVGRP (Gly-Ala-Phe-Gly-Pro-Gly-Gly-Leu-Val-Gly-Arg-Pro), 其ACE的IC₅₀分别为19.07 $\mu\text{mol/L}$ 、27.42 $\mu\text{mol/L}$ 和31.26 $\mu\text{mol/L}$ 。LI M Q等^[22]利用微波辅助酶法从碱性磷酸酶水解黑豆蛋白中提取ACE抑制肽, 其多肽的ACE抑制活性为70.38%。余虹等^[23]采用风味蛋白酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶和木瓜蛋白酶酶解龙须菜蛋白, 最终筛选出胰蛋白酶为ACE抑制肽的适宜蛋白酶, 抑制率为72.37%。

2.2 动物来源ACE抑制肽

动物来源ACE抑制肽以家畜、海洋生物和蛋类来源为主。MUGURUMA M等^[24]采用凝胶渗透色谱法和反相高效液相色谱法从猪骨骼肌球蛋白中提取出两种多肽KRVTY (Lys-Arg-Val-Ile-Gln-Try) 和VKAGF (Val-Lys-Ala-Gly-Phe), ACE的IC₅₀分别为6.1 μmol 和0.3 μmol , 经研究表明即使在烹调后, 骨骼肌中的抗高血压多肽仍具有ACE抑制活性。JIANG Z等^[25]经碱性蛋白酶酶解琵琶鱼中纯化出两条ACE抑制肽为TFPHGP (Thr-Phe-Pro-His-Gly-Pro) 和HWTTRQ (His-Trp-Thr-Thr-Gln-Arg), 并采用分子对接与分子动力学模拟的方法, 研究ACE抑制肽与其受体ACE的相互作用及两条多肽复合物中的时间应力和结合能, 发现氨基酸Glu384和Glu411是ACE抑制活性的关键残基。JIANG S S等^[26]采用Plastein反应对海参蛋白其进行改性, 制备出活性高、稳定性好的ACE抑制肽, 且X射线衍射 (x-ray diffraction, XRD) 谱图在7.9°和13.6°处出现了两个新的衍射峰, 表明从肽中获得新的产物, 并且经过Plastein反应后肽的热稳定性增强, 肽的热转变温度从120 $^{\circ}\text{C}$ 提高到134 $^{\circ}\text{C}$, ACE抑制肽水解产物活性也得到了提升。SUN S Q等^[26]用5种不同的蛋白酶 (胰蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、碱性蛋白酶) 水解海洋大球藻从中提取出两条新肽为FGMPLDR (Phe-Gly-Met-Pro-Leu-Asp-Arg) 和MELVLR (Met-Glu-Leu-Val-Leu-Arg), 其ACE的IC₅₀值分别为219.35 $\mu\text{mol/L}$ 和236.85 $\mu\text{mol/L}$, 采用分子对接方法发现, 氢键与ACE的Zn²⁺的相互作用, 对这两种多肽的ACE抑制活性有一定的促进作用。KHUEYCHAI S等^[27]采用阴离子交换层析法对鸵鸟

蛋清中的卵清蛋白进行了纯化,得到多肽YV,其ACE的 IC_{50} 值为63.97 $\mu\text{g/mL}$,经分子对接后发现,YV的ACE活性主要归因于YV与ACE的S1和S2口袋位点之间的氢键;经胃肠消化处理后发现,YV仍具有ACE抑制活性,且YV对人红细胞、人角质形成细胞(HaCaT)和人肺成纤维细胞(MRC-5)均无毒副作用,所以,YV可用于新型降血压产品的开发。

乳制品是ACE抑制肽的重要来源之一,而牛奶是乳中最常用的乳源提取物。ULUKO H等^[28]采用中性酶解浓缩牛奶蛋白(MPC)从中提取出活性较高的ACE抑制肽,之后用分子质量8 kDa和3.5 kDa膜进行超滤以及0.2 kDa的膜进行纳米过滤以产生4个组分,分析表明,3.5 kDa膜回收了大量的ACE抑制肽,且活性较高。MARTIN M等^[29]使用胰蛋白酶水解乳清蛋白提取出具有ACE抑制肽活性的二肽LT(Lie-Trp),其ACE的 IC_{50} 为0.7 $\mu\text{mol/L}$ 。研究表明,ACE抑制肽二肽IW(Ile-Trp)对自发性高血压大鼠的血压有明显降低的作用,并且在临床实验中,单次口服50 mg IW制剂后,血浆ACE下降32%,因此,当高血压患者服用后,IW可能会具有良好的效果。ALHAJ O A^[30]用*L. helveticus*和*L. acidophilus*水解单峰骆驼乳,从中鉴定出多种多肽,但其C端位置为Tyr(Y)、Arg(R)和Pro(P)的多肽,具有较好的ACE抑制活性。PAMAR H等^[31]研究发现发酵羊乳是一种新的ACE抑制肽来源,具有两种潜在的乳酸菌培养物分别是干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)NK9和发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*),羊乳在发酵过程中表现出良好的蛋白水解、ACE抑制活性和双三肽酶活性。SAHINGIL D等^[32]采用*Lactobacillus casei*、*Lactobacillus helveticus*、*Lactobacillus delbrueckii* ssp.和*Lactobacillus plantarum*发酵奶酪,经响应面分析法优化发现,成熟温度为8~16 $^{\circ}\text{C}$,盐分浓度为2.5%~3.0%,熟化期为43 d时,ACE抑制肽活性最高。

3 ACE抑制肽制备策略

生产制备ACE抑制肽的主要方法有四种^[33]:(1)酶解法,分为直接酶解法和间接酶解法两种。酶解法是通过酶分解蛋白质制备ACE抑制肽,是目前最为常用的方法。其优点是成本较低,安全性能高,无毒副作用。(2)化学合成法,分为液相和固相化学方法。化学合成法多用于人工合成药物的制备,但其成本偏高,具有毒副作用和残留化合物。(3)天然生物活性肽的直接提取,是直接天然产物中提取ACE抑制肽,无需经过体外水解。(4)基因工程法,此方法适合生产蛋白质和长肽,但是ACE抑制肽几乎都是短肽,因此基因工程法受到限制。

3.1 直接酶解法

酶解法是选用合适的酶水解蛋白质,从而使ACE抑制肽活性片段释放。目前常用的酶有:碱性蛋白酶、中性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、胶原蛋白酶等。ZHENG Y等^[34]采用碱性酶、风味酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶水解椰饼蛋白

提取出具有ACE抑制肽活性的三条多肽:KAQYPYV(Lys-Ala-Gln-Tyr-Pro-Tyr-Val)、KIIHYN(Lys-Ile-Ile-Ile-Tyr-Asn)和KILYIG(Lys-Ile-Leu-Ile-Tyr-Gly)。采用超滤法、Sephadex凝胶层析法和反相高效液相色谱法对三种新型多肽进行分离,其ACE的 IC_{50} 分别为37.06 mmol/L、58.72 mmol/L和53.31 mmol/L。PAN D等^[35]使用胰蛋白酶水解乳清蛋白纯化出具有ACE抑制肽活性的二肽LL(Leu-Leu)。经分子对接发现,抑制肽通过疏水作用与Ala354、Ala356、Phe391、Phe512、Val518残基接触,通过亲水作用与His353、383、387、410、513、Glu384、411、Arg522残基接触。BINCY B等^[36]使用胃蛋白酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶水解马克面粉鉴定出具有ACE抑制肽活性的多肽TVGM TAKF(Thr-Val-Gly-Met-Thr-Ala-Lys-Phe)和QLLQQ(Gln-Leu-Leu-Leu-Gln-Gln),其ACE的 IC_{50} 分别为30.3 $\mu\text{mol/L}$ 和75.0 $\mu\text{mol/L}$ 。YANG X X等^[37]用碱性蛋白酶、中和酶、胰蛋白酶和木瓜蛋白酶对蜜蜂蛹的多肽进行酶解筛选出具有ACE抑制活性的8个多肽,其中抑制活性较高的三个ACE抑制肽是AVFPSIVMGR(Ala-Val-Phe-Pro-Ser-Ile-Val-Gly-Arg)、PPVLVFV(Pro-Pro-Val-Leu-Val-Phe-Val)和PGKVIT(Pro-Gly-Lys-Val-His-Thr),其ACE的 IC_{50} 分别为6.64 $\mu\text{mol/L}$ 、47.7859 $\mu\text{mol/L}$ 和223.869 $\mu\text{mol/L}$,此外,在模拟硅胶胃肠消化中,肽段AVFPSIVGR和PGKVHIT易被胃蛋白酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶分解,肽段PPVLVFV易被胃蛋白酶和糜蛋白酶分解。

3.2 发酵法

发酵法又称间接酶解法^[38],是利用微生物代谢过程中产生的酶,水解发酵物中蛋白质,再从发酵液中提取具有ACE抑制活性的多肽。SHU G等^[39]为提高发酵山羊乳的ACE抑制肽的产量,利用*Lactobacillus bulgaricus* LB6发酵羊奶,采用响应面法(response surface method, RSM)对发酵山羊乳中添加营养成分进行了研究,结果表明,最佳添加量为大豆蛋白胨0.35%、葡萄糖1.2%和酪蛋白0.15%时,ACE抑制率显著提高。李利军等^[40]对采用微生物发酵的方法发酵调味品(酱油、黄豆酱、豆腐乳、食醋、甜面酱等)进行了综合性概括,发现发酵调味品具有良好的ACE抑制活性,且调味品在日常生活中应用广泛,具有很好的开发价值。SOLANKI D等^[41]利用鼠李糖杆菌(*L. rhamnosus*) MTCC 5945 (NS4)发酵骆驼乳提取出具有ACE抑制活性的多肽,研究发现多肽的氨基酸序列为MQTDIMIFTIGPA(Met-Gln-Thr-Asp-Ile-Met-Ile-Phe-Thr-Ile-Gly-Pro-Ala),ACE抑制肽源于 α_{S1} -酪蛋白。马英辉等^[42]以大豆分离蛋白为基质,通过微生物发酵法筛选出一株具有高ACE抑制活性的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) BS90,当大豆蛋白含量为5%,初始pH 9,培养温度35 $^{\circ}\text{C}$,培养时间为40 h时ACE抑制率高达81.8%,较优化前提高了13.4%。

3.3 固相合成法

固相合成是将索要合成多肽的氨基酸C端的羧基固定于不溶性的高分子树脂,然后进行氨基酸缩合反应以延长肽链。ORIO L P等^[43]以脱脂大麻籽为原料提取ACE抑制肽,采用Fmoc固相合成法合成了四种潜在的ACE抑制活性肽,即GVLY (Gly-Val-Leu-Tyr)、IEE (Ile-Glu-Glu)、LGV (Leu-Gly-Val)和RVR (Arg-Val-Arg),其中测得GVLY的ACE的 IC_{50} 为 $(16 \pm 1.5) \mu\text{mol/L}$ 、LGV为 $(145 \pm 13) \mu\text{mol/L}$ 、RVR为 $(526 \pm 33) \mu\text{mol/L}$ 。YANG S等^[44]采用微波辅助固相合成法合成了14种新型ACE抑制剂,其中抑制活性最高的短肽为LAPF (Leu-Arg-Pro-Phe),其ACE的 IC_{50} 为 $0.26 \mu\text{mol/L}$,经分子对接发现,活性位点S1、S2口袋处多肽与tACE相结合,多肽与tACE结合的位点受肽C端L型或D型氨基酸构型的影响。HUANG M Y等^[45]根据 α_{SI} -酪蛋白序列,采用Fmoc固相合成法合成三肽,通过高效液相色谱法检测马尿酸的浓度为 0.005 mmol/L ,筛选出与三肽抑制活性相对应的ACE抑制肽,结果表明,含有疏水氨基酸或脯氨酸的三肽与N端含有芳香氨基酸的三肽具有相同的抑制活性。MAHTA M等^[46]从酿酒酵母蛋白水解液中分离出ACE抑制肽YGKPVAVPAR (Tyr-Gly-Lys-Pro-Val-Ala-Val-Pro-Ala-Arg),通过固相合成法得到YGKHVAVHAR (Tyr-Gly-Lys-His-Val-Ala-Val-His-Ala-Arg)、GKPVAVPA (Gly-Lys-Pro-Val-Ala-Val-Pro-Ala)、GKHVAVHA (Gly-Lys-His-Val-Ala-Val-His-Ala)和PAR (Pro-Ala-Arg)四种结构类似物,其ACE的 IC_{50} 分别为 $(139.554 \pm 2.3) \mu\text{mol/L}$ 、 $(61.91 \pm 1.2) \mu\text{mol/L}$ 、 $(463.230 \pm 3.56) \mu\text{mol/L}$ 、 $(135.135 \pm 2.1) \mu\text{mol/L}$ 、 $(514.024 \pm 5.86) \mu\text{mol/L}$,采用分子对接模拟发现肽序列与ACE通过氢键、疏水、亲水和静电相互作用结合。

4 ACE抑制肽活性检测方法

4.1 体外活性检测

体外活性检测常采用以下方法,分光光度法、荧光法、放射化学法、高效液相色谱法和毛细管电泳方法。目前最常用的是CUSHMAN D W等^[47]建立的紫外分光光度法,该方法以马尿酸组氨酸亮氨酸(Hip-His-Leu, HHL)作为基质,按照特定的顺序依次加入定量的ACE和ACE抑制肽,经过反应后,用乙酸乙酯提取HHL后,使用紫外分光光度计在波长228 nm处测定HHL的最大吸光度。因为其设备及操作简便,是目前实验室最常用的检测手段。色谱法在波长228 nm处用检测器测吸光度值,其结果精度较高效液相色谱法准确,检测过程更为快捷。

4.2 体内活性检测

ACE抑制肽体内活性检测是以动物实验为主,一类是对原发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)为实验对象,通过短期或长期的灌胃实验,定期检测实验对象的血压值,从而验证ACE抑制肽的体内活性。第二类是对已麻醉的大鼠静脉注射六甲铵药物,之后注射ACE抑

制肽,测量血压判断ACE抑制肽活性^[48]。陶瑶等^[49]采用中性蛋白酶水解枸杞提取出具有ACE抑制肽活性的酶解液,对服用卡托普利和枸杞蛋白酶SHR大鼠与服用相等剂量生理盐水大鼠相比,服降压药及枸杞蛋白酶的大鼠血浆Ang II含量均降低,心脏和肾脏组织中ACE信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)表达也降低,可以说明枸杞蛋白酶解液是通过抑制ACE的活性,减少Ang II的产生而达到降血压的效果。BARKIA I等^[50]采用4种蛋白酶(风味酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶和胰蛋白酶)酶解天然海洋硅藻提取出具有ACE抑制肽的活性的多肽,给SHR大鼠每日口服 400 mg/kg 的硅藻水解物,5 d后其血压下降了 17 mmHg ,证明硅藻水解物具有良好的ACE抑制活性。LIN Y H等^[51]采用蛋白酶N1酶解小球藻(PN-1)提取出具有ACE抑制肽活性的多肽,ACE的 IC_{50} 为 0.035 mg/mL ,采用粒度排除色谱法将PN-1分离为7个组分,ACE抑制肽的氨基酸序列分别为WV (Trp-Val)、VW (Val-Trp)、IW (Ile-Trp)和LW (Leu-Trp),其ACE的 IC_{50} 分别为 $307.61 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.58 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.50 \mu\text{mol/L}$ 和 $1.11 \mu\text{mol/L}$,SHR大鼠口服 171.4 mg 的PN-1组分6 h后,收缩压和舒张压分别降低 20 mmHg 和 21 mmHg 。

5 存在的问题及前景分析

5.1 存在问题

越来越多食源性ACE抑制肽被研究,但大多数ACE抑制肽高活性结构并没有得到确定,其结构特性与抑制肽的构效关系还需进一步研究。其次,ACE的制备及分离纯化技术较为复杂,成本较高且难以批量生产。最后,体外活性检测并不稳定,不能完全体现体内降血压效果,因此还需进一步动物实验进行验证。

5.2 前景分析

高血压是最严重的心血管死亡的原因,与大多数疾病不同,高血压没有症状,因此被称为“无声杀手”。然而,积极使用抗高血压药物并不是完全合理的,患者处于次优状态。ACE抑制肽在血压调节中起着至关重要的作用,近些年,国内外学者对ACE抑制肽进行开发与研究,越来越多的食物中提取出新型且抑制活性较高的ACE抑制肽。一些研究表明,食源性ACE抑制肽是可以被人吸收利用的,还可预防和治疗多种疾病,因此,ACE抑制肽在世界范围内受到更多的关注。随着人们对ACE抑制肽的重视,新型食源性ACE抑制肽设计的营养食品是一个很有前途的研究领域。

参考文献:

- [1] CHOCKALINGAM A. Impact of world hypertension day[J]. *Can J Cardiol*, 2007, 23(7): 517-519.
- [2] HE R, YANG Y J, WANG Z G, et al. Rapeseed protein-derived peptides, LY, RALP, and GHS, modulates key enzymes and intermediate products of renin-angiotensin system pathway in spontaneously hypertensive rat[J]. *Sci Food*, 2019, 3: 1-6.

- [3] SAMANEH A, DAVOOD K, HIOJJAT Z, et al. Healthy lifestyle behaviors and control of hypertension among adult hypertensive patients[J]. **Sci Report**, 2018, 8(1): 1-9.
- [4] LA VERDE M, MULE S, ZAPPALA G, et al. Higher adherence to the Mediterranean diet is inversely associated with having hypertension: is low salt intake a mediating factor[J]. **Int J Food Sci Nutr**, 2018, 69(2): 1-10.
- [5] JIANG Z, ZHANG H, BIAN X, et al. Insight into the binding of ACE-inhibitory peptides to angiotensin-converting enzyme: a molecular simulation [J]. **Mol Simulat**, 2018, 45(3): 1-8.
- [6] MAO X Y, NI J R, SUN W L, et al. Value-added utilization of yak milk casein for the production of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides[J]. **Food Chem**, 2007, 103(4): 1282-1287.
- [7] FERREIRA S H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in venom of *Bothrops jararaca*[J]. **Brit J Pharmacol Chemoth**, 1965, 24(1): 163-169.
- [8] FERREIRA S H, BARTELT D C, GREENE L J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom[J]. **Biochemistry**, 1970, 9(13): 2583-2593.
- [9] ONDETTI M A, WILLIAMS N J, SABO E F, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure, and synthesis[J]. **Biochemistry**, 1971, 10(22): 4033-4039.
- [10] CUSHMAN D W, CHEUNG H S, SABO E F, et al. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids[J]. **Biochemistry**, 1977, 16(25): 5484-5491.
- [11] ONDETTI M, RUBIN B, CUSHMAN D. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents[J]. **Science**, 1977, 196(4288): 441-444.
- [12] OSHIMA G, SHIMABUKURO H, NAGASAWA K. Peptide inhibitors of angiotensin I-converting enzyme in digests of gelatin by bacterial collagenase[J]. **Biochim Biophys Acta**, 1979, 566(1): 128-137.
- [13] MARUYAMA S, SUZUKI H. A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein[J]. **J Agr Chem Soc Jpn**, 2006, 46(5): 1393-1394.
- [14] NAKAMURA Y, YAMAMOTO N, SAKAI K, et al. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme[J]. **J Dairy Sci**, 1995, 78(6): 1253-1257.
- [15] ZHANG Q, SONG C C, ZHAO J, et al. Separation and characterization of antioxidative and angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from jellyfish gonad hydrolysate[J]. **Molecules**, 2018, 23(1): 2-15.
- [16] KETNAWA S, SUWAL S, JEN Y H, et al. Selective separation and characterisation of dual ACE and DPP-IV inhibitory peptides from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) protein hydrolysates[J]. **Int J Food Sci Technol**, 2019, 54(4): 1062-1073.
- [17] WU Q, JIA J, YAN H, et al. A novel angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from gastrointestinal protease hydrolysate of silkworm pupa (*Bombyx mori*) protein: Biochemical characterization and molecular docking study[J]. **Peptides**, 2015, 68: 17-24.
- [18] MARTIN M, HAGERMANN D, NGUYEN T T, et al. Plasma concentrations and ACE-inhibitory effects of tryptophan-containing peptides from whey protein hydrolysate in healthy volunteers[J]. **Eur J Nutr**, 2019, <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01974-x>.
- [19] MA F F, WANG H, WEI C K, et al. Three novel ACE inhibitory peptides isolated from *Ginkgo biloba* seeds: purification, inhibitory kinetic and mechanism[J]. **Front Pharmacol**, 2019, 9: 1-11.
- [20] 马洪鑫, 余琼, 李明生, 等. 苜蓿叶蛋白 ACE 抑制肽的制备[J]. 农产品加工, 2018(7): 1-7.
- [21] SUN Z L, QIN H L, CAO D, et al. Optimization of hydrolysis conditions for the isolation of angiotensin-i converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from *Rhopilema hispidum*[J]. **J Ocean U China**, 2018, 17(6): 1458-1464.
- [22] LI M Q, XIA S W, ZHANG Y J, et al. Optimization of ACE inhibitory peptides from black soybean by microwave assisted enzymatic method and study on its stability[J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2018, 98: 358-365.
- [23] 余虹, 操德群, 何艳丽, 等. 龙须菜蛋白酶解制备 ACE 抑制肽的工艺优化[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(2): 133-139.
- [24] MUGURUMA M, AHMED A M, KATAYAMA K, et al. Identification of pro-drug type ACE inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects *in vivo*[J]. **Food Chem**, 2009, 114(2): 516-522.
- [25] JIANG S S, ZHAO Y H, SHEN Q Q, et al. Modification of ACE-inhibitory peptides from *Acaudina molpadioidea* using the plastein reaction and examination of its mechanism[J]. **Food Biosci**, 2018, 26: 1-7.
- [26] SUN S Q, XU X T, SUN X, et al. Preparation and identification of ACE inhibitory peptides from the marine macroalga *Ulva intestinalis*[J]. **Marine Drug**, 2019, 17(3): 1-16.
- [27] KHUEYCHAI S, JANGPROMMA N, CHOOWONGKOMON K, et al. A novel ACE inhibitory peptide derived from alkaline hydrolysis of ostrich (*Struthio camelus*) egg white ovalbumin[J]. **Biochemistry**, 2018, 73: 235-245.
- [28] ULUKO H, ZHANG S, LIU L, et al. Pilot-scale membrane fractionation of ACE inhibitory and antioxidative peptides from ultrasound pretreated milk protein concentrate hydrolysates[J]. **J Funct Food**, 2014, 7: 350-361.
- [29] MARTIN M, KOPALIANI I, JANNASCH A, et al. Antihypertensive and cardioprotective effects of the dipeptide isoleucine-tryptophan and whey protein hydrolysate[J]. **Acta Physiol**, 2015, 215(4): 167-176.
- [30] ALHAJ A O. Identification of potential ACE-inhibitory peptides from dromedary fermented camel milk[J]. **CyTA-J Food**, 2017, 15(2): 191-195.
- [31] PAMAR H, HATI S, SAKURE A. *In vitro* and *in silico* analysis of novel ace-inhibitory bioactive peptides derived from fermented goat milk[J]. **Int J Pept Res Therapeut**, 2017, 24(3): 441-453.
- [32] SAHINGIL D, GOKCE Y, YUCEER M, et al. Optimization of proteolysis and angiotensin converting enzyme inhibition activity in a model cheese using response surface methodology[J]. **LWT-Food Sci Technol**, 2019, 99: 25-532.
- [33] 吴青海. *Lactobacillus delbrueckii* QS306 的 ACE 抑制活性及其抑制肽理化特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [34] ZHENG Y, LI Y, LI G. ACE-inhibitory and antioxidant peptides from coconut cake albumin hydrolysates: purification, identification and synthesis [J]. **RSC Adv**, 2019, 9(11): 5925-5936.
- [35] PAN D, CAO J, GUO H, et al. Studies on purification and the molecular mechanism of a novel ACE inhibitory peptide from whey protein hydrolysate[J]. **Food Chem**, 2012, 130(1): 121-126.

- [36] BINCY B, LAXMI A, SAHAYOG J, et al. Purification, identification, and characterization of novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from alcalase digested horse gram flour[J]. **Food Sci Technol**, 2018, 52-58.
- [37] YANG X X, CHEN K N, LIU H G, et al. Purification and identification of peptides with high angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity from honeybee pupae (*Apis mellifera*) hydrolysates with in silico gastrointestinal digestion[J]. **Eur Food Res Technol**, 2019, 245(5): 35-54.
- [38] 吴楠, 双全, 许伟瀚. ACE 抑制肽的制备及其结构对活性的影响[J]. 中国酿造, 2016, 35(11): 54-58.
- [39] SHU G, SHI X, CHEN H, et al. Optimization of nutrient composition for producing ACE inhibitory peptides from goat milk fermented by *Lactobacillus bulgaricus* LB6[J]. **Probiot Antimicrob Prot**, 2019, 11(2): 723-729.
- [40] 李利军, 马英辉, 卢美欢. 发酵调味品中血管紧张素转化酶抑制肽的研究进展[J]. 中国酿造, 2018, 37(8): 1-4.
- [41] SOLANKI D, HATI S. Considering the potential of, *Lactobacillus rhamnosus*, for producing angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides in fermented camel milk (Indian breed)[J]. **Food Biosci**, 2018, 23: 16-22.
- [42] 马英辉, 李利军, 卢美欢. 血管紧张素转化酶抑制剂产生菌的筛选及发酵条件优化[J]. 中国酿造, 2018, 37(4): 72-76.
- [43] ORIO L P, BOSCHIN G, RECCA T, et al. New ACE-inhibitory peptides from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) proteins[J]. **J Agr Food Chem**, 2017, 65(48): 10482-10488.
- [44] SUN Y, HUANG D W, LI X H, et al. Microwave-assisted solid-phase synthesis, biological evaluation and molecular docking of angiotensin I-converting enzyme inhibitors[J]. **Chem Res Chinese U**, 2012, 28(1): 108-113.
- [45] HUANG M Y, LV J J, NI H J, et al. Synthesis and activity determination of angiotensin converting enzyme inhibitors derived from α s1-casein protein[J]. **Appl Mechan Mater**, 2011, 43: 253-256.
- [46] MAHTA M, SAEED M, MALIHEH S, et al. *In vitro* and *in silico* studies of novel synthetic ACE-inhibitory peptides derived from *Saccharomyces cerevisiae* protein hydrolysate[J]. **Bioorg Chem**, 2019, 87: 647-654.
- [47] CUSHMAN D W, CHEUNG H S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung[J]. **Biochem Pharmacol**, 1971, 20(7): 1637-1648.
- [48] 许伟瀚, 双全, 吴楠. 降血压肽研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(5): 216-220.
- [49] 陶瑶, 张亚辉, 陶秀娟, 等. 枸杞蛋白酶解液对自发性高血压大鼠的降血压机制研究[J]. 食品工业科技, 2019(10): 308-313.
- [50] BARKIA I, AIHAJ L, ABODUL HAMID A, et al. Indigenous marine diatoms as novel sources of bioactive peptides with antihypertensive and antioxidant properties[J]. **Int J Food Sci Technol**, 2018, <https://doi.org/10.1111/ijfs.14006>.
- [51] LIN Y H, CHEN G W, YEH C, et al. Purification and identification of angiotensin i-converting enzyme inhibitory peptides and the antihypertensive effect of *Chlorella sorokiniana* protein hydrolysates[J]. **Nutrients**, 2018, 10(10): 1-14.