

海洋源降血压肽研究进展

胡学佳, 戴致远*, 张晓颀, 叶剑
(浙江工商大学海洋食品研究院 杭州 310035)

摘要 高血压作为世界性健康问题,影响着全球各行各业的人们。食源性降血压肽以有效且无毒副作用的优点成为近年的研究热点。海洋物种约占全球生物多样性总量的一半,其中含有的蛋白是制备降血压肽的重要原料。本文综述血管紧张素转化酶抑制肽的降血压机理、构效关系,降血压肽来源及制备方法,总结生产中存在的问题及发展趋势,旨在为今后海洋源降血压肽的开发利用提供理论依据。

关键词 海洋源; 血管紧张素转换酶; 降血压肽; 研究进展

文章编号 1009-7848(2022)08-0353-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.08.038

随着社会的发展,焦虑和压力的与日俱增,高血压患者人数呈现逐年递增的趋势。据世界卫生组织统计,在 2020 年非传染性疾病类别中,高血压等心血管疾病患病人数占较大比例,2025 年,高血压人口预计增加到 15.6 亿^[1]。高血压是一种常见的慢性医学疾病,主要分为原发性高血压和继发性高血压。原发性高血压与遗传、生活习惯、环境以及血管结构等各种复杂因素相关^[2]。继发性高血压是由肾内分泌和心血管功能障碍等引发的^[3]。据美国心脏病学会的指南,当收缩压大于 140 mm Hg 及舒张压大于 90 mm Hg 时,即高血压症状^[4]。当血管长期承受过度的压力泵送血液时,就会导致冠心病、动脉硬化、外周动脉疾病、肾脏疾病和中风等高风险疾病^[5]。

高血压患者主要通过服用降压药物(包括 ACE 抑制剂、利尿剂、 β -受体阻滞剂、 α -受体阻滞剂、钙通道阻滞剂、肾上腺素能抑制阻断剂等)来进行治疗^[6],其中血管紧张素转换酶(Angiotensin converting enzyme, ACE)是调节血压的主要因素,在调节哺乳动物的血压以及盐平衡和流体中起着重要作用^[7]。ACE 抑制剂是治疗高血压的主要药物(包括卡托普利、福辛普利和赖诺普利 3 大类)^[8]。这些药物虽效果显著,但都伴随着严重的副作用^[9],如头痛、快速心率、头晕、咳嗽、味觉障碍和

皮疹等不良症状^[10]。从天然产物中开发 ACE 抑制剂,成为当前的研究热点^[11]。

海洋占地球表面积的 71%,是世界未来的食品基地,海洋产品更是人类摄取蛋白质的主要来源。据统计,海洋所提供食品的能力是陆地的 1 000 倍^[12]。海洋物种约占全球生物多样性总量的一半,由于海洋环境的特异性和多样性,导致海洋蛋白不论是一级序列还是其氨基酸组成均与陆地蛋白有所差异。总而言之海洋蛋白成为筛选新型 ACE 抑制肽的重要蛋白来源^[13]。

1 ACE 抑制肽作用机制

高血压病因十分复杂,目前普遍认为肾素-血管紧张素系统(RAS)和激肽释放酶-激肽系统(KKS)在调节血压方面发挥着重要作用^[14],在 RAS 和 KKS 系统中,ACE 均起着至关重要的作用^[15]。ACE 抑制肽通过抑制 ACE 活性,从而影响 ACE 在 RAS 和 KKS 中的调节作用,调节过程如图 1 所示。在 RAS 系统中,人体的肾小球旁器会分泌一种肾素水解酶进入血液中,将肝脏分泌的血管紧张素原分解成 I 型血管紧张素^[16],ACE 通过将二肽(HL)从活性极低的 I 型血管紧张素(NRVYIH-PFHL)中释放出来,进而降解成活性很强的 II 型血管紧张素(NRVYIHPF),II 型血管紧张素是导致血压升高的主要物质之一,其通过使血管强烈收缩,促进醛固酮分泌,进而增加外周血管阻力,使 Na^+ 和水滞留,导致血压升高^[17]。当 ACE 抑制肽作用于 ACE 时,ACE 无法使血管紧张素 I 转化血

收稿日期: 2021-08-30

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC0311205)

作者简介: 胡学佳(1994—),女,博士

通信作者: 戴致远 E-mail: dzy8587@126.com

管紧张素 II,使得血压下降。在 KKS 中,舒缓激肽原经激肽释放酶的水解作用,形成舒缓激肽 RPPGFSPFR。ACE 催化舒缓激肽,导致其脱去 C 端的两个氨基酸残基而失去活性,造成血压升高。

ACE 抑制肽能有效抑制 ACE 的活性,从而阻断 RSA 的升血压作用,同时有助于 KKS 的降压作用,最终起到治疗高血压疾病的作用。

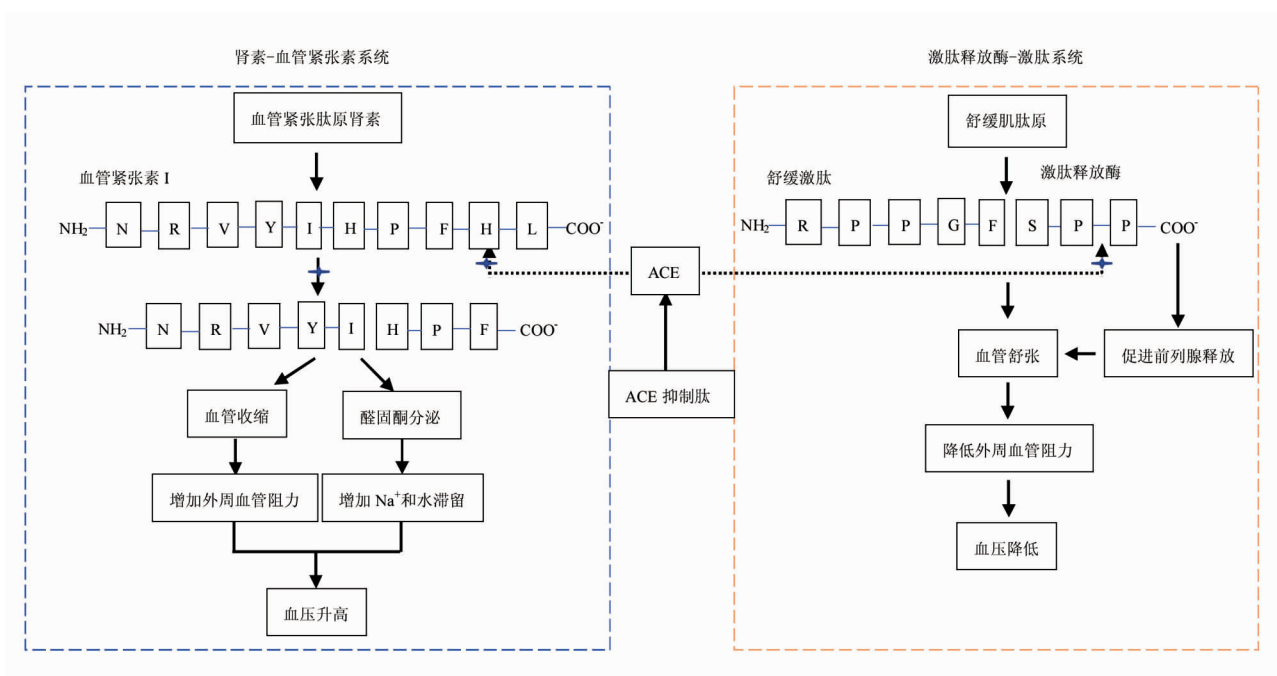


图 1 ACE 抑制肽的降压机制

Fig.1 Antihypertensive mechanism of ACE inhibitory peptides

2 ACE 活性抑制肽的结构与活性关系

ACE 抑制肽是酶抑制剂,其结构直接影响着抑制 ACE 的能力。影响 ACE 抑制肽活性的主要因素包括分子质量、肽链长度和氨基酸序列等^[18]。大量研究表明,ACE 抑制肽通常为分子质量小的短肽。由于短肽容易与 ACE 活性位点结合,且易吸收进入血液循环并保持其活性,因此 2~12 个氨基酸短链肽的 ACE 抑制肽活性更强^[19]。涂丹等^[20]利用碱性蛋白酶从罗非鱼鱼鳞中制备 ACE 抑制肽,结果表明活性最高的 ACE 抑制肽分子质量均分布于 300~3 000 u 之间,其抑制率为 88.26%。Zhao 等^[21]以海参为原料,采用酶解法制备降血压肽,将酶解产物按分子质量分为 <10 ku、<5 ku 和 <1 ku 3 种类型,其中分子质量 <1 ku 的 ACE 抑制活性最高,IC₅₀ 值为 35 μmol/L。虽然大部分长链肽由于不能和 ACE 的活性位点结合,没有 ACE 抑制活性,但晶体学研究表明,具有螯合锌原子酸性氨基酸【天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)】的长肽

具有 ACE 抑制活性,由此可见氨基酸序列组成也尤为重要^[22]。研究表明酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、亮氨酸和精氨酸的存在对 ACE 抑制肽活性有显著影响^[23]。贾俊强等^[24]对 270 种 ACE 抑制肽组成进行统计分析,结果如表 1 所示,ACE 抑制肽的抑制活性主要在于 N 端或 C 端的氨基酸^[25]。当活性肽的 C 端是疏水氨基酸【如 Glu、丙氨酸(Ala)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)】时,抑制活性较强。当活性肽 N 端是 Phe、Tyr、Ala、色氨酸(Trp)、脯氨酸(Pro)和甘氨酸(Gly)时,有利于提高活性肽的 ACE 抑制活性^[26]。另外,大量被证实具有 ACE 抑制活性的肽中至少含有一个 Gly 残基或 Pro 残基^[27]。ACE 抑制肽的氨基酸的序列有如下特点:1) 二肽含有大量疏水侧链的氨基酸;2) 三肽结构中第 1 残基处是芳香氨基酸,第 2 残基处是正电荷氨基酸,第 3 残基处是疏水氨基酸^[28];3) ACE 抑制四肽的序列的第 1 位是 Tyr 和半胱氨酸(Cys),第 2 位是组氨酸

表 1 降血压肽链两端氨基酸性质分析表^[25]Table 1 Property analysis table of two terminal amino acids of antihypertensive peptides^[25]

氨基酸性质	出现频率/%
C 端非疏水氨基酸	40.0
C 端疏水氨基酸	60.0
N 端非疏水氨基酸	46.7
N 端疏水氨基酸	53.3
两端均为非疏水氨基酸	17.0
两端均为疏水氨基酸	30.4
肽链两端至少一个疏水氨基酸	83.0
N 端芳香族氨基酸	17.4
C 端芳香族氨基酸	26.7

(His)、Trp 和甲硫氨酸(Met),第 3 位是异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、缬氨酸(Val)和 Met,第 4 位是 Trp,且其抑制作用与 C 端氨基酸有关^[29]。

3 海洋 ACE 来源

海洋蛋白源具有很高的生物价值,在人体中发挥各种保健功能,提高身体健康水平。海洋源降血压肽首次在名为“bekasam”的发酵鱼中被发现^[30]。此后,在鱼类、甲壳类、贝类和藻类中发现了各种降压肽。表 2 列出了部分海洋源降压肽的相关研究。

3.1 鱼类

鱼类是高质量蛋白质的重要来源。目前,大多数研究是以鱼类蛋白质作为抗高血压肽的来源。Yang 等^[31]选用木瓜蛋白酶酶解军曹鱼,并采用超滤进行分离,制备出降血压肽,经动物实验表明,筛选出的降血压肽显著降低了原发性高血压大鼠的鼠的收缩压(SBP)。Taheri 等^[32]以鲭为研究对象,采用胃蛋白酶水解,超分馏法分离,得到蛋白水解物 FPH-I(<1 ku)、FPH-II(1~3 ku)、FPH-III(3~10 ku)和 FPH-IV(>10 ku)4 种不同组分,其 IC₅₀ 值在 0.45~1.86 mg/mL 之间,FPH-I (IC₅₀ 为 0.45 mg/mL)的活性较高。通过分析这 4 种组分的氨基酸分布发现,FPH-I 组分中有大量的疏水氨基酸,可以作为氢供体并抑制 ACE 活性。王晶晶等^[33]以远东拟沙丁鱼肌肉为原料,通过双酶水解法(动物蛋白水解酶和风味蛋白酶)制备其酶解产物,通过超滤膜将其进行分离,运用色谱法对其进

一步纯化,得到两种 ACE 抑制肽,分别为 Val-Glu-Pro-Leu-Pro(IC₅₀ 为 22.9 μmol/L)和 Pro-Ala-Leu(IC₅₀ 为 12.2 μmol/L)。Wijesekara 等^[34]以海龙鱼为原料,利用碱性蛋白酶制备粗肽,经多步分离纯化得到氨基酸序列为 Thr-Phe-Pro-His-Gly-Pro 和 His-Trp-Thr-Thr-Arg 的两种多肽。

3.2 甲壳类

甲壳类降血压肽具有分子质量小、易吸收等特点^[35]。Cao 等^[36]使用胃蛋白酶来水解中国毛虾,制备出具有 ACE 抑制活性的水解物,通过凝胶过滤法(Gel filtration chromatography, GFC)和反相高效液相色谱法(Reverse-phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC)分离,得到抑制率为 92.7%的肽序列(Leu-His-Pro)。Zhang 等^[37]以中国毛虾为研究对象,经水解超滤制备出具有 ACE 抑制活性的毛虾水解液,通过胃肠道消化模拟和动物实验表明,该水解液具有较强的降压作用。He 等^[38]利用芽孢杆菌产生的蛋白酶对中国毛虾进行酶解,通过超滤、凝胶渗透层析和反相高效液相色谱分离纯化出 3 种具有较高 ACE 抑制活性的新型肽并对其序列进行鉴定,分别为 Phe-Cys-Val-Leu-Arg-Pro,Ile-Phe-Val-Pro-Ala-Phe 和 Lys-Pro-Pro-Glu-Thr-Val。

3.3 贝类

海洋贝类以其高产量和高蛋白优势,成为降血压肽中的研究的热点^[39]。Ou 等^[40]以牡蛎为研究对象,利用酸性蛋白酶制备出 ACE 抑制率为 71.71%的酶解产物。Wu 等^[41]利用碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶水解鲍鱼性腺,通过凝胶过滤柱层析和埃德曼降解法,分离鉴定出 ACE 抑制肽 Ala-Met-Asn,其分子质量小于 1 ku,IC₅₀ 值为 106.24 μg/mL。Wang 等^[42]对牡蛎中的降血压肽进行研究,经过优化,选取胃蛋白酶为酶解牡蛎蛋白的最佳蛋白酶,将酶解产物用 Sephadex LH-20 凝胶过滤层析和 RP-HPLC 进行进一步分离纯化,从而制备出一种新的降血压肽(Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe),对其进行 ACE 抑制活性检测,IC₅₀ 值为 66 μmol/L,并且该肽具有良好的热稳定性和 pH 值稳定性。最后,将经胃蛋白酶处理制备的牡蛎水解蛋白以 20 mg/kg 的剂量喂食原发性高血压大鼠(SHR),结果表明该肽具有降血压活性。

3.4 藻类

海洋中藻类植物的产量比小麦总产量多 20 倍,并且藻类植物中含有丰富的生物活性物质,其中降血压活性肽的研究相对较多^[43]。Li 等^[44]对海洋小球藻中的降压肽进行研究,结果发现蛋白酶 N 水解液具有最高的 ACE 抑制活性,通过分离提纯得到 Trp-Val、Val-Trp、Ile-Trp 和 Leu-Trp 4 种降压肽;Barkia 等^[45]采用木瓜蛋白酶对微藻的蛋白质提取物进行酶解,将水解液给原发性高血压大鼠口服 5 d 后发现血压降低 17 mm Hg。

3.5 其它海洋原料

根据以往文献发现,学者们不仅以常见的海洋生物为研究对象,进行了降血压肽的相关研究,

也对肠腔动物、软体动物中的降血压肽进行了研究报道。Balti 等^[46]以乌贼肌肉为研究对象,并对其进行酶解和层析,分离纯化出 9 种 ACE 抑制肽并分别用 ESI-MS 和 ESI-MS/MS 测定其分子质量和氨基酸序列,并通过动物实验证明其具有明显的降压活性。Ikeda 等^[47]利用蛋白酶将冻干乌贼进行水解制备 ACE 抑制肽,并采用 Sephadex G-25 凝胶过滤色谱和反相高效液相色谱进行分离纯化得到 Glu-Lys-Ser-Tyr-Glu-Leu-Pro, Val-Glu-Leu-Tyr-Pro 和 Ala-Phe-Val-Gly-Yyr-Val-Leu-Pro 3 种肽,这 3 种肽 IC₅₀ 值分别为 18.02、5.22 μmol/L 和 14.41 μmol/L,结果表明这 3 种肽具有较好的降压活性。

表 2 海洋源降血压肽的研究

Table 2 Study on antihypertensive peptides derived marine sources

海洋源	酶	分离纯化	肽序列	抑制活性	参考文献
沙丁鱼	动物蛋白酶、 风味蛋白酶	超滤、色谱法	Val-Glu-Pro-Leu-Pro	22.9 μmol/L	[33]
			Pro-Ala-Leu	12.2 μmol/L	
海龙鱼	碱性蛋白酶	RP-HPLC	Thr-Phe-Pro-His-Gly-Pro	0.62 mg/mL	[34]
			His-Trp-Thr-Thr-Arg	1.44 mg/mL	
牙鲆肌肉	胃蛋白酶	超滤、GFC、RP-HPLC	Met-Glu-Val-Phe-Val-Pro	79 μmol/L	[48]
			Val-Ser-CIn-Leu-Thr-Arg	105 μmol/L	
大西洋鲑	胃蛋白酶	RP-HPLC	Gly-Gly-Pro-Ala-Gly-Pro-Ala-Val	-	[49]
			Gly-Pro-Val-Ala、Pro-Pro、Gly-Phe		
大马哈鱼	胰蛋白酶	GFC、RP-HPLC	Gly-Leu-Pro-Leu-Asn-Leu-Pro	18.7 μmol/L	[50]
牡蛎	胃蛋白酶	Sephadex LH-20 凝胶 过滤层析、RP-HPLC	Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln- Arg-Phe	66 μmol/L	[42]
鲍鱼	乳蛋白酶	色谱柱	Ala-Met-Asn	106.24 μg/mL	[41]
中国毛虾	芽孢杆菌产生的蛋白酶	超滤 凝胶渗透层析、RP- HPLC	Phe-Cys-Val-Leu-Arg-Pro	12.3 mol/L	[38]
			Ile-Phe-Val-Pro-Ala-Phe	3.4 mol/L	
			Lys-Pro-Pro-Glu-Thr-Val	24.1 mol/L	
小球藻	蛋白酶 N	RP-HPLC	Trp-Val、	307.61 μmol/L	[44]
			Val-Trp	0.58 μmol/L	
			Ile-Trp	0.50 μmol/L	
			Leu-Trp	1.11 μmol/L	
乌贼	碱性蛋白酶	Sephadex G-25 凝胶 过滤色谱、RP-HPLC	Val-Glu-Leu-Tyr-Pro	5.22 μmol/L	[47]
			Ala-Phe-Val-Gly-Yyr-Val-Leu- Pro	14.41 μmol/L	
			Glu-Lys-Ser-Tyr-Glu-Leu-Pro	18.02 μmol/L	

4 抗高血压肽的分离

生物活性肽是由氨基酸组成,肽键连接,具有特定的功能特性,对身体健康有益的特定蛋白质片段,例如抗氧化、抗菌、抗糖尿病和免疫调节等。从以往的文献中看,生产降血压肽的最常用的方法有酶解法、化学合成法和基因工程法 3 种^[51]。

4.1 酶解法

酶解法是目前获得降血压肽最常用的方法,通过选用合适的酶,在最优的反应条件下使 ACE 抑制肽活性片段得以释放。制备降血压肽常用的蛋白酶主要包括碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶等^[52]。不同的酶有不同的酶解条件,其中温度和 pH 值是影响酶解的最主要因素^[53]。表 3 中列出了制备海洋源降血压肽常用酶的最佳温度和 pH 值。Li 等^[54]利用胃蛋白酶水解鳕鱼骨架制备降血压肽,通过超滤膜获得 ACE 抑制率最高的组分,采用 SP-Sephadex C-25 凝胶

过滤色谱和反相高效液相色谱对 ACE 抑制肽进行进一步的纯化分离,最终制得 IC₅₀ 值为 14.7 μmol/L 的降血压肽 Phe-Gly-Ala-Ser-Thr-Ara-Gly-Ala。Wang 等^[42]选用胃蛋白酶酶解牡蛎蛋白,并采用 Sephadex LH-20 凝胶过滤色谱和反相高效液相色谱对 ACE 抑制肽进行分离,制备出具有序列 Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr-Gln-Arg-Phe 的九肽,通过动物实验,证明其 ACE 抑制活性的有效性。Liu 等^[55]采用酶法从珍珠牡蛎肉蛋白中制备降血压抑制肽,采用超滤、聚乙二醇甲基醚改性的固定化金属离子亲和介质以及反相高效液相色谱对其水解产物进行分离纯化得到 2 种新型的 ACE 抑制肽(His-Leu-His-Thr 和 Gly-Trp-Ala)。结果表明,2 种肽均具有较高 ACE 抑制活性值,IC₅₀ 值分别为 (458.1 ± 3.2) μmol/L 和 (109.3 ± 1.5) μmol/L,可通过降低大鼠血压来证明其降压活性。酶解法的优点是成本较低,安全性能高,无毒副作用。

表 3 不同蛋白酶制备 ACE 抑制肽的最佳条件

Table 3 Optimum condition for the preparation ACE using different enzymes

酶	缓冲溶液	温度/℃	pH 值	参考文献
碱性蛋白酶	磷酸盐缓冲液	50	8.5	[34]
木瓜蛋白酶	磷酸盐缓冲液	50	6.5	[56]
胃蛋白酶	磷酸盐缓冲液	37	2.3	[57]
酸性蛋白酶	磷酸盐缓冲液	45	4.5	[58]
风味蛋白酶	磷酸盐缓冲液	50	7.0	[59]
α-糜蛋白酶	甘氨酸-盐酸缓冲液	60	8.0	[60]
胰蛋白酶	磷酸盐缓冲液	60	8.0	[61]
中性蛋白酶	磷酸盐缓冲液	48	7.0	[62]
复合蛋白酶	磷酸盐缓冲液	50	7.5	[63]
菠萝蛋白酶	甘氨酸-盐酸缓冲液	55	5.5	[54]

4.2 化学合成法

化学合成制备法分为液相合成法和固相合成法,该方法是将已知序列进行多肽合成,以提高制备效率。1963 年, Merrifield^[64]研究发明了固相合成法。与经典液相合成法相比,固相合成法的应用范围更广泛,该方法分离纯化更加简便、快捷且可自动化操作。陆东涛等^[65]完成了海洋环肽 stylisamide I 的全合成,以 2-氯三苯甲基氯树脂(简称二氯树脂)为载体,选用 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯和 *N,N*-二异丙基乙胺

为缩合试剂依次连接 9-苄氧羰基保护的氨基酸,在三氟乙醇的作用下将直链肽从树脂上切割下来,然后使用 (3H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶-3-氧基) 三-1-吡咯烷基六氟磷酸盐, *N*-羟基-7-氮杂苯并三氮唑和 *N*-甲基吗啡啉在溶液中完成环合,最后在三氟乙酸的处理下脱去侧链保护基,获得环肽粗品。经反相高效液相色谱对所合成的环肽粗品进行纯化,终产物纯度 98.9%。Kem 等^[66]对海葵毒素的结构进行了全合成,首先对 8 个关键结构片段进行合成,然后选择性引入双键对接,

最终完成海葵毒素全分子的合成。固相合成多肽已成为合成多肽的主要方法,广泛应用于合成小肽。化学合成法多用于人工合成药物的制备,然而,其具有成本高、有毒副作用和化合物残留等缺点。

4.3 基因工程法

近些年,重组技术的迅速发展为降血压肽的开发利用开启了新篇章。该方法在已知 ACE 抑制肽氨基酸序列的前提下,通过将目标肽克隆到载体上,进而构建重组基因工程菌,通过工程菌发酵制备 ACE 抑制肽^[67]。吴亚丽等^[68]利用基因工程手段将高活性的降血压肽单体克隆到大肠杆菌融合表达载体 DGEX-4T-2 之上,构建了重组降血压肽基因工程菌。通过细胞破碎和酶解制得融合蛋白 GST-AHP,利用高效液相色谱对融合蛋白进行酶切,分离纯化得到较高活性的降血压肽段。基因工程法存在的主要问题是短肽容易被蛋白酶降解^[69],该方法适合制备长肽和蛋白质,然而,ACE 抑制肽大部分为短肽,因此基因工程法制备降血压肽受到很大限制。

5 ACE 抑制肽的评价方法

随着人们对 ACE 抑制肽的关注度与日俱增,建立方便可靠的 ACE 抑制肽检测方法也日益迫切,目前的检测方法主要包括体外检测 ACE 抑制活性和体内检测 ACE 抑制活性两种方法。

体外检测 ACE 抑制活性常用的主要有分光光度法和高效液相色谱法。分光光度法利用 ACE 水解底物,根据吸光度的变化来测定 ACE 活性。*N*-[3-(2-呋喃基)丙烯酰]-*L*-苯丙氨酰-甘氨酸-甘氨酸(FAPGG)和马脲酰组氨酰亮氨酸(HHL)是测定 ACE 抑制肽的常用底物。有研究表明,FAPGG 和 HHL 均可有效的测定 ACE 抑制肽活性,然而,FAPGG 的稳定性要远远好于 HHL,因此使用 FAPGG 做底物不仅灵敏度高,还可以减少化学物质的消耗,节约试验成本^[70]。尽管分光光度法非常有效,但该方法也存在着明显的不足,例如操作复杂、耗时且对痕量样品的分析有限。高效液相色谱法通过 UV 监测器检测马尿酸的含量以确定 ACE 活性。该方法虽操作简单,灵敏度高,但测样前需要大量的流动相和时间清洗柱子,以减少检

测结果的误差,在检测过程中难以实现高通量。

体内测定 ACE 抑制活性又称动物实验法,该试验通常以原发性高血压大白鼠为实验对象,将不同剂量的待检样品通过口服给药或静脉注射后测量大鼠血压的变化,通过记录摄入 ACE 抑制肽前后收缩压的变化,判断 ACE 抑制肽的活性。Jung 等^[60]采用 α -糜蛋白酶水解黄鳍鲷鱼骨架蛋白质制备了降血压多肽 Met-Ile-Phe-Pro-Gly-Ala-Gly-Gly-Pro-Glu-Leu,其 IC_{50} 值为 28.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$,将制备的多肽喂食原发性高血压大鼠,结果表明大鼠血压明显下降。Barkia 等^[45]以海洋硅藻作为降血压肽的新来源,选用木瓜蛋白酶水解海洋硅藻,并持续 5 d 将水解液喂食原发性高血压大鼠,结果表明 400 mg/kg 剂量的水解液可以使原发性高血压大鼠血压降低约 17 mm Hg。

6 结论

高血压是心血管疾病的主要病因,由于高血压没有明显症状,因此被称为“无声杀手”^[71]。与降压药合成药物的严重副作用相比,海洋源降压肽更容易被人体吸收利用,且没有任何副作用。因此,海洋源 ACE 抑制肽在世界范围内受到广泛的关注。然而,目前 ACE 抑制肽临床应用较少,需要进一步研究其临床功效、在人体内的生物利用度和组织亲和力等。其次,ACE 抑制肽的分离纯化存在操作复杂,成本较高且难以实现工业化生产等方面的不足。在 ACE 抑制肽的研发中着重弥补临床应用和工业化生产中的不足,将成为未来海洋源 ACE 抑制肽的研究难点和重点。

参 考 文 献

- [1] KEARNEY P M, WHELTON M, REYNOLDS K, et al. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data[J]. *Lancet*, 2005, 365(9455): 217-223.
- [2] BRAVO F I, CAPDEVILA A M, MARGALEF M, et al. Novel antihypertensive peptides derived from chicken foot proteins[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(12): 12-20.
- [3] TILLIN T, HUGHES N A. Hypertension and ethnic group - a coat of many colours[J]. *British Medical*

- Journal, 2021, 332(7550): 1138.
- [4] BAPTISTE D L, HAMILTON J B, FORONDA C, et al. Hypertension among adults living in Haiti: An integrative review [J]. Journal of Clinical Nursing, 2018, 27(13/14): 2536–2545.
- [5] JAYAPAL P, MANOKARAN M, ARUN J. A critical review on food protein derived antihypertensive peptides [J]. Drug Invention Today, 2019, 11(7): 1509–1514.
- [6] TAVARES T, SEVILLA M A, MALCATA F X. Acute effect of whey peptides upon blood pressure of hypertensive rats, and relationship with their angiotensin-converting enzyme inhibitory activity [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2012, 56(2): 316–324.
- [7] JE J Y, PARK P J, JI Y K, et al. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from *Alaska pollack* (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(26): 7842–7845.
- [8] ONDETTI M, RUBIN B, CUSHMAN D J S. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: New class of orally active antihypertensive agents [J]. Science, 1977, 196(4288): 441–444.
- [9] MARTINEZ-MAQUEDA D, MIRALLES B, RECIO I, et al. Antihypertensive peptides from food proteins: A review [J]. Food & Function, 2012, 3(4): 350–361.
- [10] WIJESEKARA I, KIM S K. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitors from marine resources: Prospects in the pharmaceutical industry [J]. Marine Drugs, 2010, 8(4): 1080–1093.
- [11] DAROIT D J, BRANDELLI A. *In vivo* bioactivities of food protein-derived peptides – a current review [J]. Current Opinion in Food Science, 2021, 39(6): 120–129.
- [12] 马永钧, 杨博. 世界海洋鱼油资源利用现状与发展趋势 [J]. 中国油脂, 2010, 35(11): 1–3.
MA Y J, YANG B. Utilization status and development trend of world's marine fish oil [J]. China Oils and Fats, 2010, 35(11): 1–3.
- [13] NAKAJIMA K, YOSHIE-STARK Y, OGUSHI M. Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates [J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 844–851.
- [14] MORALES-CAMACHO J I, ESPINOSA-HERNANDEZ E, ROSAS-CARDENAS F F, et al. Insertions of antihypertensive peptides and their applications in pharmacy and functional foods [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(6): 2493–2505.
- [15] KO S C, MIN C K, LEE J K, et al. Effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide purified from enzymatic hydrolysates of *Styela plicata* [J]. European Food Research & Technology, 2011, 233(6): 915–922.
- [16] MAJUMDER K, CHAKRABARTI S, MORTON J S, et al. Egg-derived ACE-inhibitory peptides IQW and LKP reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 13(5): 50–60.
- [17] KORCZEK K, TKACZEWSKA J, MIGDA W. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates in fish products – A review [J]. Czech Journal of Food Sciences, 2018, 36(3): 195–207.
- [18] CEREN D D, AYSUN Y, FUNDA K G, et al. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from plants [J]. Nutrients, 2017, 9(4): 316.
- [19] 刘文颖, 林峰, 陈亮, 等. 食源性低聚肽的血管紧张素转化酶(ACE)抑制作用 [J]. 食品科技, 2016, 41(2): 9–13.
LIU W Y, LIN F, CHEN L, et al. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of food-origin oligopeptides [J]. Food Science and Technology, 2016, 41(2): 9–13.
- [20] 涂丹, 张益奇, 叶繁, 等. 酶解制备鱼鳞蛋白降血压肽的工艺优化 [J]. 核农学报, 2019, 33(1): 120–128.
TU D, ZHANG Y Q, YE F, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis preparation of antihypertensive peptide from fish scale protein by response surface method [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(1): 120–128.
- [21] ZHAO Y H, LI B F, LIU Z Y, et al. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate [J]. Process Biochemistry, 2007, 42(12): 1586–1591.
- [22] SUI K C, HAMAJIMA H, ISMAIL A, et al. Health promoting properties of protein hydrolysates produced from oil palm (*Elaeis guineensis*) kernel [J]. Food Science & Biotechnology, 2014, 23(4): 1279–1285.
- [23] CUIE G, ROBERT D. Plant food-derived angiotensin

- I converting enzyme inhibitory peptides[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(12): 5113–5120.
- [24] 贾俊强, 马海乐, 王振斌, 等. 降血压肽的构效关系研究[J]. *中国粮油学报*, 2009, 24(5): 110–114.
- JIA J Q, MA H L, WANG Z B, et al. Structure–activity relationship of antihypertensive peptides[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2009, 24(5): 110–114.
- [25] FORGHANI B, EBRAHIMPOUR A, BAKAR J, et al. Enzyme hydrolysates from *stichopus horrens* as a new source for angiotensin–converting enzyme inhibitory peptides[J]. *Evidence–based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 2012(13): 1–9.
- [26] MAHMOODANI F, GHASSEM M, BABJI A S, et al. ACE inhibitory activity of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) skin and bone gelatin hydrolysate[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(9): 1847–1856.
- [27] BHAT Z F, KUMAR S, BHAT H F. Antihypertensive peptides of animal origin: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(3): 566–578.
- [28] MONGKONKAMTHORN N. Production of protein hydrolysate containing antioxidant and angiotensin–I–converting enzyme (ACE) inhibitory activities from tuna (*Katsuwonus pelamis*) blood[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 8(11): 1518.
- [29] IWANIAK A, MINKIEWICZ P, DAREWICZ M. Food - originating ACE inhibitors, including antihypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(2): 114–134.
- [30] SHARMA P, SHARMA D, KAUR S, et al. Recently isolated food –derived antihypertensive hydrolysates and peptides: A review[J]. *Food Chemistry*, 2020, 346(6): 128719.
- [31] YANG P, JIANG Y C, HONG P Z, et al. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats of cobia (*Rachycentron canadum*) head papain hydrolysate[J]. *Food Science & Technology International*, 2013, 19(3): 209–215.
- [32] TAHERI A, ANAHITA B G. Antioxidant and ACE inhibitory activities of kawakawa (*Euthynnus affinis*) protein hydrolysate produced by skipjack tuna pepsin[J]. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2019, 29(4): 1–19.
- [33] 王晶晶, 吉薇, 吉宏武, 等. 远东拟沙丁鱼酶解产物的降血压效果评价及其 ACE 抑制肽的分离纯化与鉴定[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(4): 63–68.
- WANG J J, JI W, JI H W, et al. Antihypertensive effect of enzymatic hydrolysate from *Sardinops melanosticta* muscle on spontaneously hypertensive rats and identification of its angiotensin–converting enzyme (ACE) inhibitory peptide[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2016, 42(4): 63–68.
- [34] WIJESEKARA I, QIAN Z J, RYU B M, et al. Purification and identification of antihypertensive peptides from seaweed pipefish (*Syngnathus schlegeli*) muscle protein hydrolysate[J]. *Food Research International*, 2011, 44(3): 703–707.
- [35] 蔡燕萍, 余晓婉, 张庆春, 等. 水产品生物活性肽的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(16): 249–256.
- CAI Y P, YU X W, ZHANG Q C, et al. Research progress of bioactive peptides in aquatic products[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(16): 249–256.
- [36] CAO W H, ZHANG C H, HONG P Z, et al. Purification and identification of an ACE inhibitory peptide from the peptic hydrolysate of *acetes chinensis* and its antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2010, 45(5): 959–965.
- [37] ZHANG C H, CAO W H, HONG P Z, et al. Angiotensin I–converting enzyme inhibitory activity of *acetes chinensis* peptic hydrolysate and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2009, 44(10): 2042–2048.
- [38] HE H L, CHEN X L, SUN C Y, et al. Analysis of novel angiotensin–I–converting enzyme inhibitory peptides from protease –hydrolyzed marine shrimp *acetes chinensis* [J]. *Journal of Peptide Science*, 2010, 12(11): 726–733.
- [39] UMAPARVATHI S, MEENAKSHI S V, VIMALRAJ V, et al. Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hy-

- drolysate of oyster (*Saccostrea cucullata*) [J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014, 4(3): 343-353.
- [40] OU C. The ACE inhibiting activity and radical scavenging effects of oyster hydrolysates[J]. Science and Technology of Food Industry, 2005, 26(3): 59-62.
- [41] WU Q, CAI Q F, TAO Z P, et al. Purification and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from abalone (*Haliotis discus hannai Ino*) gonads[J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(1): 137-145.
- [42] WANG J P, HU J N, CUI J Z, et al. Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2008, 111(2): 302-308.
- [43] ADMASSU H, GASMALLA M, YANG R, et al. Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: Antihypertensive, antioxidant, and antidiabetic properties[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(1): 6-16.
- [44] LI Y Q, WANG L, FAN H B, et al. Optimization and scale-up preparation of egg white hydrolysate with angiotensin I converting enzyme inhibitory activity[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(6): 1762-1768.
- [45] BARKIA I, LAMYA A, HAMID A, et al. Indigenous marine diatoms as novel sources of bioactive peptides with antihypertensive and antioxidant properties[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(5): 1514-1522.
- [46] BALTI R, BOUGATEF A, SILA A, et al. Nine novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle protein hydrolysates and antihypertensive effect of the potent active peptide in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2015, 170(7): 519-525.
- [47] IKEDA A, ICHINO H, KIGUCHIYA S, et al. Evaluation and identification of potent angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from dwarf gulper shark (*Centrophorus atromarginatus*) [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2014, 39(2): 107-115.
- [48] KO J Y, KANG N, LEE J H, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from an enzymatic hydrolysate of flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) muscle as a potent anti-hypertensive agent [J]. Process Biochemistry, 2016, 51(4): 535-541.
- [49] NEVES A C, HARNEDY P A, O'KEEFFE M B, Peptide identification in a salmon gelatin hydrolysate with antihypertensive, dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidant activities[J]. Food Research International, 2017, 100(1): 112-120.
- [50] LEE J K, JEON J K, BYUN H G. Antihypertensive effect of novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) skin in spontaneously hypertensive rats [J]. Food Chemistry, 2014, 7(1): 381-389.
- [51] 吴青海. *Lactobacillus delbrueckii* QS306 的 ACE 抑制活性及其抑制肽理化特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- WU H Q. Study on the ACE inhibitory ability of *Lactobacillus delbrueckii* QS306 and physical and chemical properties of inhibitory peptides [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015.
- [52] WIKANDARI P R, YUANITA L. Pengaruh degradasi enzim proteolitik terhadap aktivitas angiotensin converting enzyme inhibitor bekasam dengan *Lactobacillus plantarum* b1765 (the effect of degradation of proteolytic enzyme on angiotensin converting enzyme inhibitor activity of bekasam with *Lactobacillus plantarum* B1765) [J]. Jurnal Agritech, 2016, 36(2): 170.
- [53] MOODIE, DOUGLAS S. The global burden of cardiovascular disease [J]. Congenital Heart Disease, 2016, 11(3): 213-213.
- [54] LI Y, ZHOU J, ZENG X X, et al. A novel ACE inhibitory peptide Ala-His-Leu-Leu lowering blood pressure in spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of Medicinal Food, 2016, 19(2): 181-186.
- [55] LIU P, LAN X, YASEEN M, et al. Purification, characterization and evaluation of inhibitory mechanism of ACE inhibitory peptides from pearl oyster (*Pinctada fucata martensii*) meat protein hydrolysate [J]. Marine Drugs, 2019, 17(8): 463-476.
- [56] 王硕, 木泰华, 李鹏高. 胃蛋白酶水解甘薯蛋白制备血管紧张素转化酶抑制肽的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(8): 2-7.
- WANG S, MU T H, LI P G. Preparation of an-

- giotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from sweet potato protein by optimization of pepsin hydrolyzation[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(8): 2-7.
- [57] ALEMAN A, GOMEZ-GUILLEN M C, MONTERO P. Identification of ace-inhibitory peptides from squid skin collagen after *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 790-795.
- [58] ZOU P, WANG J L, HE G Q, et al. Purification, identification, and *in vivo* activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide, from ribbonfish (*Trichiurus haumela*) backbone[J]. Journal of Food Science, 2014, 4(1): 90-95.
- [59] RAGHAVAN S, KRISTINSSON H G J. ACE-inhibitory activity of tilapia protein hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2009, 117(4): 582-588.
- [60] JUNG W K, MENDIS E, JE J Y, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2006, 94(1): 26-32.
- [61] AKAGVNDVZ Y, MOSQUERA M, GIMENEZ B, et al. Sea bream bones and scales as a source of gelatin and ACE inhibitory peptides[J]. LWT- Food Science and Technology, 2014, 55(2): 579-585.
- [62] LAN X D, LIAO D K, WU S G, et al. Rapid purification and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from lizard fish protein hydrolysates with magnetic affinity separation[J]. Food Chemistry, 2015, 182(7): 136-142.
- [63] THEODORE A E, KRISTINSSON H G. Angiotensin converting enzyme inhibition of fish protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolate[J]. John Wiley & Sons, Ltd, 2007, 87(12): 2353-2357.
- [64] MERRIFIELD R. Solid phase peptide synthesis I the synthesis of a tetrapeptide[J]. Journal of the American Chemical Society, 1963, 85(14): 2149-2154.
- [65] 陆东涛, 刘超, 秦路平, 等. 海洋环肽 stylissamide I 的全合成研究[J]. 药学实践杂志, 2019(5): 444-449.
- LU D T, LIU C, QIN L P, et al. The total solid synthesis of marine cyclopeptide stylissamide I [J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2019(5): 444-449.
- [66] KEM W R, PENNINGTON M W, NORTON R S. Sea anemone toxins as templates for the design of immunosuppressant drugs [J]. Perspectives in Drug Discovery and Design, 1999, 15-16(1): 111-129.
- [67] 王志国. 重组基因工程菌制备降血压肽及其降血压活性检测[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- WANG Z G. The preparation and activity detection of expressed antihypertensive peptides from recombinant *E. coli* BL21 by genetic engineering [D]. Changchun: Jilin University, 2012.
- [68] 吴亚丽, 邓毛程, 梁世中. 利用重组基因工程菌制备降血压肽的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(1): 55-58.
- WU Y L, DENG M C, LIANG S Z. Processing technologies for preparation of antihypertensive peptides from recombinant *E. coli* BL21[J]. Modern Food Science & Technology, 2008, 24(1): 55-58.
- [69] 杜芳. 降压肽重组基因工程乳酸菌的降压效果及其作用机制研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- DU F. Studies on antihypertensive effect and mechanism of recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing angiotensin converting enzyme inhibitory peptide[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011.
- [70] SHALABY S M, ZAKORA M, OTTE J. Performance of two commonly used angiotensin-converting enzyme inhibition assays using FA-PGG and HHL as substrates[J]. Journal of Dairy Research, 2006, 73(2): 178.
- [71] 王琳琳, 陈立, 李建科. 食源血管紧张素转化酶抑制肽研究进展[J]. 中国果菜, 2020, 40(6): 71-76.
- WANG L L, CHEN L, LI J K. Research progress of natural dietary ACE inhibitory peptide[J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(6): 71-76.

Research Progress on Antihypertensive Peptides Derived Marine Sources

Hu Xuejia, Dai Zhiyuan*, Zhang Xiaodi, Ye Jian

(*Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035*)

Abstract Hypertension, as a worldwide health problem, affects people from all walks of life. In recent years, antihypertensive peptides from food have become a research hotspot because of their efficacy and non-toxic side effects. Marine species account for about half of the world's biodiversity, in which the protein is an important raw material for the preparation of bio-active peptides. This paper aimed to review angiotensin converting enzyme inhibition mechanism, antihypertensive peptide structure-activity relationships, the source and preparation of antihypertensive peptide, and summary the existing problems and development trends in production, which was expected to provide a strong theoretical basis for the development and utilization of antihypertensive peptides derived marine sources in the future.

Keywords marine sources; angiotensin converting enzyme; antihypertensive peptides; research progress