

## 豌豆肽生物活性与作用机制研究进展

高正杰<sup>1</sup>, 焦叶<sup>1</sup>, 刘岩杰<sup>1</sup>, 蒲明慧<sup>1</sup>, 陈茂龙<sup>1</sup>, 程云辉<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>长沙理工大学食品与生物工程学院 长沙 410114

<sup>2</sup>齐鲁工业大学食品科学与工程学院 济南 250353

**摘要** 豌豆蛋白是一种安全性高,健康营养,价格低廉的植物蛋白。近年来,越来越多具有生物活性的豌豆肽被挖掘出来,豌豆生物活性肽的开发既可以高值化利用植物蛋白,又对维护人类健康起到积极作用。本文以豌豆肽为对象,重点围绕豌豆肽发挥活性的体内外效果、相关调节方式以及关键信号通路等方面,概述豌豆肽生物活性与作用机制的研究进展,具体包括抗氧化、辅助降血压、辅助降血糖、抗菌、免疫调节、抗肿瘤、调节肠道菌群和促进益生菌生长等活性,并展望豌豆肽未来的研究方向,以期对豌豆生物活性肽的深入研究与综合利用提供参考。

**关键词** 豌豆肽; 生物活性; 作用机制

**文章编号** 1009-7848(2024)07-0377-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.07.037

豌豆作为一种有利于粮食安全和农业可持续发展的重要豆类作物,目前在全球 90 多个国家种植,年产量约 1 400 万 t<sup>[1]</sup>。豌豆成熟籽粒的蛋白含量在 20%左右;豌豆蛋白无过敏<sup>[2]</sup>,并且含有 8 种人体必需氨基酸,其中 7 种的含量均接近 FAO/WHO 推荐模式值<sup>[3]</sup>,在食品领域应用潜能巨大,许多国家已将豌豆蛋白作为原料或者辅料应用到植物蛋白固体饮料、人造肉、香肠、能量棒、曲奇饼干以及面条等产品中<sup>[4]</sup>。

植物蛋白功能化与高值化应用是践行“大食物观”,实现“健康中国 2030”战略规划目标的重要举措。将豌豆蛋白制备成生物活性肽不失为实现其高值化应用的有效途径。近年来,豌豆肽<sup>[5]</sup>已被证实具有抗氧化、辅助降血压、辅助降血糖和调节肠道菌群等多种功能活性(见图 1),在保健食品、特医食品等领域显示出广阔的应用前景。目前对豌豆肽的研究主要集中于提取制备、分离纯化、结构鉴定和活性评价等方面,有关豌豆肽生物活性及其作用机制的基础研究还相对薄弱,制约了其开发与利用。本文重点围绕豌豆肽发挥活性的体内外效果、相关调节方式以及关键信号通路等

方面,概述豌豆肽的生物活性及其作用机制的研究现状,旨在为豌豆生物活性肽的深入研究与开发应用提供理论参考。

### 1 抗氧化活性及其机制

当机体受到刺激产生过量的活性氧自由基会诱发氧化应激损伤,造成细胞损伤和死亡,从而导致衰老或引发相关慢性疾病<sup>[6]</sup>。抗氧化肽因可作为天然抗氧化剂而备受关注,其作用机制<sup>[7]</sup>主要表现为:1)通过提供氢或电子直接清除活性氧(ROS),如肽段中带正电荷的碱性氨基酸可作为有效氢供体与自由基结合形成稳定复合物,进而阻断自由基链式反应;2)通过维持金属元素原价态或与金属离子螯合而阻止氧化,如肽段中的酸性氨基酸可作为金属离子的有效电子供体或螯合剂;3)提高抗氧化酶活力;4)参与调节氧化还原相关通路<sup>[8]</sup>。

#### 1.1 抗氧化活性效果

近年来,不少学者开展了豌豆蛋白酶解物抗氧化活性效果研究。张树成等<sup>[9]</sup>研究表明分子质量小于 1 000 u 的豌豆蛋白中性蛋白酶解物对超氧阴离子自由基清除率可达 79.3%,分子质量集中在 200~800 u。赵丹等<sup>[10]</sup>研究发现分子质量小于 1 000 u 的豌豆蛋白碱性蛋白酶和复合蛋白酶协同酶解物清除 DPPH 和 ABTS 自由基的 IC<sub>50</sub> 分别为 2.57 mg/mL 和 1.32 mg/mL,ORAC 值为 896.35

收稿日期: 2024-03-22

基金项目: 湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30587);  
泰山产业领军人才项目(LJNY202004)

第一作者: 高正杰,女,硕士生

通信作者: 程云辉 E-mail: cyh@csust.edu.cn



图1 豌豆肽的生物活性

Fig.1 Biological activity of pea peptides

$\mu\text{mol TE/g}$ ,并在7 d内能在一定程度上抑制亚油酸的自氧化,也证实豌豆蛋白酶解物可抑制氧化应激状态下的 HepG2 细胞中 ROS 的积累。谷红等<sup>[11]</sup>研究发现豌豆蛋白风味蛋白酶解物对 DPPH、羟自由基的清除率分别为 31.23% 和 26.03%,且灌胃豌豆蛋白酶解物的小鼠模型与空白组相比,小鼠血清中 SOD、CAT 水平明显升高、丙二醛(MDA)含量明显降低。上述研究表明豌豆肽能提高 CAT、SOD、GSH-px 等抗氧化酶系活力,抑制 ROS 积累,降低 MDA 含量,减少脂质过氧化,从而增加抗氧化防御能力。

## 1.2 抗氧化活性机制

抗氧化机制研究通常可从清除活性氧自由基、螯合金属离子,抑制脂质过氧化反应以及激活机体的抗氧化防御系统等方面开展,Keap1-Nrf2-ARE 作为机体内重要的内源性抗氧化调节信号通路(见图2)也备受关注。在正常生理状态下,Keap1 与 Nrf2 在细胞质中相结合,机体可保持正常的氧化还原稳态;然而在氧化应激下,Keap1 的构象发生变化,Keap1 与 Nrf2 分离,活化的 Nrf2 进入细胞核且与抗氧化反应元件(ARE)的特异性 DNA 序列结合,促进抗氧化蛋白的表达,从而增强机体的抗氧化活性<sup>[12-13]</sup>。Zhao 等<sup>[14]</sup>从豌豆蛋白碱性蛋白酶解物中得到 YLVN、EEHLCFR 和 TFY 3 条抗氧化肽,利用计算机模拟分子对接发现其

抗氧化机制可能与肽段占据 Keap1-Nrf2 结合位点进而激活 Keap1-Nrf2 通路高度相关。Li 等<sup>[15]</sup>研究发现豌豆肽能保护大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞(PC12)免受铅诱导的氧化应激损伤,蛋白质免疫印迹证实豌豆肽降低了氧化损伤细胞中 Keap1 表达,增加了 Nrf2 表达,表明豌豆肽参与了 Keap1-Nrf2 抗氧化通路的调节作用。

豌豆抗氧化肽可参与相关信号通路 Keap1-Nrf2-ARE 的调节,维持 Nrf2 的完整性是减少氧化损伤的关键,豌豆抗氧化肽可占据 Keap1 与 Nrf2 的结合位点,从而增加 Nrf2 在细胞核中水平,发挥抗氧化作用。已有研究发现豌豆抗氧化肽在补充有机硒<sup>[16]</sup>,改善疲劳<sup>[17]</sup>及慢性神经性疾病<sup>[18]</sup>等方面亦有一定的辅助作用,因此探究豌豆抗氧化肽对机体氧化应激的影响及其作用机制具有重要意义。

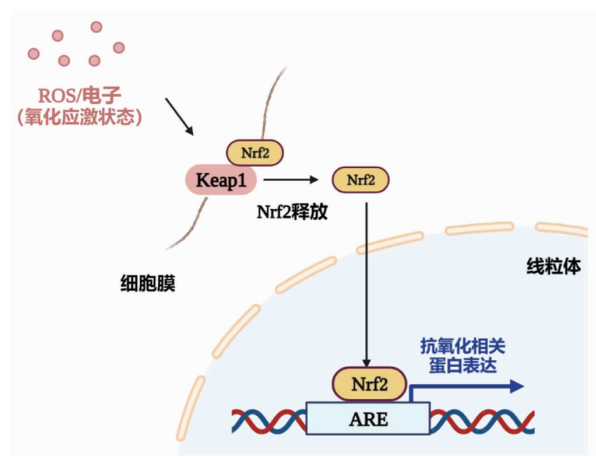


图2 Keap1-Nrf2-ARE 通路

Fig.2 Keap1-Nrf2-ARE pathway

## 2 辅助降血压活性及其机制

降血压机制如图3所示。血管紧张素原被肾小球旁细胞分泌的肾素催化,转变为无生理活性的十肽血管紧张素 I (NRVYIHPFHL, Ang I), Ang I 在血管紧张素转换酶(ACE)作用下,形成八肽血管紧张素 II (NRVYIHPF, Ang II)。Ang II 一方面可通过引起血管收缩而升高血压;另一方面可通过刺激肾上腺皮质分泌醛固酮,促进肾小管重吸收钠离子和水等,而升高血压<sup>[19]</sup>。血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 可酶解 Ang I 和 Ang II 羧基端的 1

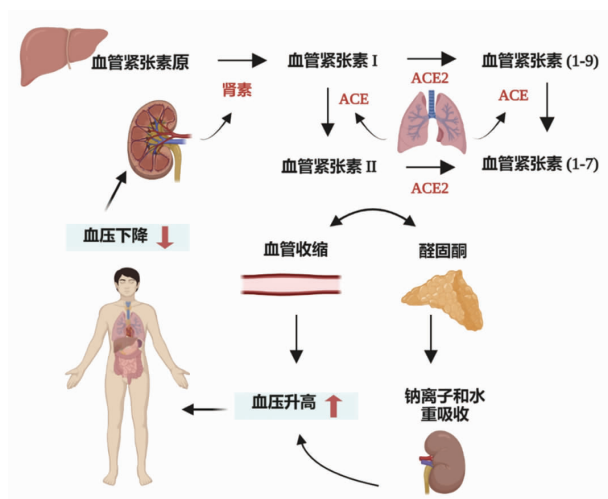


图 3 降血压的作用机制

Fig.3 Mechanism of action for lowering blood pressure

个氨基酸残基,分别形成血管紧张素 1-9(Ang 1-9)和血管紧张素 1-7(Ang 1-7),从而产生降血压作用。目前临床上调节血压的药物有卡托普利、洛沙坦、阿利吉仑等<sup>[20]</sup>,然而长期使用上述药物会引起人体代谢紊乱、肝肾损害等副作用,源于食品蛋白质具有降血压作用的肽,被认为是更安全的降血压药物替代品<sup>[21]</sup>。近年来,已从豌豆蛋白酶解物中发现了 ACE 抑制肽或 ACE2 上调肽,它们对维持血压健康水平发挥了积极作用。

### 2.1 抑制 ACE 活性

Li 等<sup>[22]</sup>从豌豆分离蛋白碱性蛋白酶酶解物中鉴定出 IR、KF 和 EF 3 种二肽,其中 IR 对 ACE 和肾素抑制活性较强,其  $IC_{50}$  分别为 2.25 mg/mL 和 9.2 mg/mL。Aluko 等<sup>[23]</sup>发现豌豆蛋白嗜热菌蛋白酶酶解物中的 LTFPG、IFENLQN 和 FEGTVFENG 对 ACE 和肾素活性的抑制作用显著,以 30 mg/kg 体质量的剂量给 SHR 分别灌胃 3 种肽,灌胃 LTFPG 组的 SHR 的收缩压下降最快,2 h 后达到最大效应,可降低 37 mmHg。Li 等<sup>[24]</sup>通过自发性高血压大鼠(SHR)以及高血压人体受试者验证了分子质量小于 3 000 u 的豌豆蛋白嗜热菌蛋白酶酶解物(PPH-3)具有降血压作用,给 SHR 以 200 mg/kg 体质量的剂量灌胃 PPH-3 后,发现可降低收缩压,在 4 h 达到最大降低值 19 mmHg,并证实灌胃 PPH-3 的 SHR 的血浆中 Ang II mRNA 的表达

量减少 45%;在人体试验中,服用 PPH-3 的小组在第 2 周和第 3 周的收缩压比未服用组分别降低 5,6 mmHg。伍强<sup>[25]</sup>将灵芝菌丝中鉴定的 ACE 抑制肽 SYP 作用于 Ang I 诱导的人主动脉内皮细胞(HAEC),发现 SYP 可通过阻断 ACE-Ang II-AT1R 通路进而激活一氧化氮合酶/一氧化氮/环鸟苷酸(eNOs/NO/cGMP)信号通路,SYP 可抑制 ACE 活性阻断 Ang II 生成,下调受体 AT1R 的基因表达,从而使内皮缩血管-1(ET-1)表达下调,进而激活内皮素 B 受体(ET<sub>B</sub>R),ET<sub>B</sub>R 可促使 eNOs 发生磷酸化,促进一氧化氮(NO)释放,生成 cGMP,发挥舒张血管的功能。

### 2.2 上调 ACE2 表达

豌豆肽也可通过上调 ACE2 来辅助降血压。Liao 等<sup>[26]</sup>将胃蛋白酶和嗜热菌蛋白酶顺序消化的豌豆蛋白酶解物作用于大鼠胸大动脉平滑肌细胞(A7r5),可显示出上调 ACE2 表达的活性,鉴定出 ACE2 上调肽为 AKSLSDRFSY,并发现 AKSLSDRFSY 消化物中的两种肽片段(LSDRFS 和 SDRFSY)显示出与母体肽相当的活性,这两个肽片段可能是 AKSLSDRFSY 在 A7r5 细胞中上调 ACE2 表达的关键片段。Wang 等<sup>[27]</sup>发现豌豆来源肽 LRW 可减少血管平滑肌细胞(VSMCs)中 Ang II 引发的超氧化物的产生,LRW 上调了 ACE2 和相关受体 MasR 的表达,可通过调节 ACE2-Ang1-7-MasR 通路达到辅助降血压的功效。刘维维等<sup>[28]</sup>对牡蛎肽 ACE2 活性研究表明,在 ACE2-Ang1-7-MasR 通路中,ACE2 可将 Ang II 进一步转化为 Ang1-7,Ang1-7 具有血管扩张作用,能通过 MasR 受体介导内皮型一氧化氮合酶活化,达到舒张血管的效果。

近年来,关于豌豆肽降血压作用及机制的研究不仅局限于 ACE 抑制肽,ACE2 上调肽的研究也日益受到关注。豌豆 ACE 抑制肽可通过阻断 ACE-Ang II-AT1R 通路使血压下降,当其作用于 ACE 时,ACE 无法使 Ang I 转化为 Ang II,下调 AT1R 基因表达,从而影响 eNOs/NO/cGMP 信号通路,发挥舒张血管的作用;同时,豌豆肽还可通过调节 ACE2-Ang1-7-MasR 通路而达到舒张血管的效果,此方面研究还需深入探讨。

### 3 辅助降血糖活性及其机制

糖尿病是一种慢性代谢病,分为 I 型和 II 型。I 型糖尿病为自身免疫性疾病;II 型糖尿病是由于胰岛素供应不足或胰岛素在靶细胞内不能发挥正常生理作用,导致体内糖、蛋白质及脂肪代谢发生紊乱而发生的<sup>[29]</sup>。目前 II 型糖尿病主要通过二甲双胍、西格列他钠、阿卡波糖等药物治疗,然而这些药物对人体产生的消化不良、增重和提高心血管疾病发病率等副作用不容忽视,寻求更安全的降血糖功能因子成为研究热点。食源性降血糖肽显示出具有辅助治疗 II 型糖尿病的潜力,其中来源于豌豆蛋白的降血糖肽表现出潜在的辅助降血糖效果,其作用机制主要包括缓解胰岛素抵抗,抑制消化酶活性和抑制二肽基肽酶-IV (DPP-IV) 活性。

#### 3.1 缓解胰岛素抵抗

当胰岛素与胰岛素受体(InsR)在结合过程中发生信号传导障碍时,将发生胰岛素抵抗<sup>[30]</sup>。胰岛素受体底物-1/磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶(IRS-1/PI3K/AKT)是与胰岛素抵抗相关的主要信号通路<sup>[31]</sup>,胰岛素通过与 InsR 结合激活胰岛素受体底物(IRS),进而激活 PI3K/AKT 级联反应,随后 AKT 活性区 Ser473 位点的磷酸化被激活,通过作用于下游底物分子来调节细胞的生长和新陈代谢,从而缓解胰岛素抵抗。崔欣悦等<sup>[32]</sup>将商业豌豆肽作用于胰岛素诱导的 HepG2 细胞,InsR 的表达水平提高 1.19~1.34 倍,其葡萄糖消耗量提高 1.31~1.68 倍,对 HepG2 细胞内胰岛素抵抗的形成具有一定缓解作用。王赛等<sup>[33]</sup>给 II 型糖尿病小鼠灌胃从豌豆蛋白中性蛋白酶酶解物中分离得到的豌豆低聚肽,其中高剂量(500 mg/kg 体质量)灌胃组小鼠的血糖较模型组小鼠降低了 23.97%,体质量增加了 12.24%,肝脏中 PI3K、AKT 的表达分别提高了 278.49%和 21.78%,肝细胞损伤则降低。Zhu 等<sup>[34]</sup>发现 VLP、LLP、VA 和 LL 4 种豌豆肽对胰岛素诱导的 HepG2 细胞中的葡萄糖代谢和缓解氧化应激表现出积极作用,VLP、LLP、VA 和 LL 上调了 IRS-1 的表达,并促进了 AKT 的 Ser473 磷酸化。

#### 3.2 抑制消化酶活性

豌豆肽可通过抑制  $\alpha$ -淀粉酶、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶

和胰腺脂肪酶等消化酶活性来减少吸收到体内的葡萄糖和能量。Awosika 等<sup>[35]</sup>使用碱性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶分别酶解豌豆蛋白,得到的 4 种酶解物都可抑制  $\alpha$ -淀粉酶、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和胰腺脂肪酶活性,其中  $\alpha$ -淀粉酶、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶最高抑制率分别为 30.52%和 53.35%,抑制胰腺脂肪酶活性最低,其  $IC_{50}$  为 3.95 mg/mL;且肽与肽之间能协同抑制胰腺脂肪酶活性,酶动力学研究表明肽可分别通过竞争性、非竞争性抑制降低  $\alpha$ -淀粉酶、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性。Jiang 等<sup>[36]</sup>在大豆蛋白胰蛋白酶酶解物中鉴定出具有较高  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的 2 条三肽 Gly-Ser-Arg 和 Glu-Ala-Lys,通过分子对接发现 2 条三肽能很好地进入  $\alpha$ -葡萄糖苷酶分子的活性口袋并与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性位点残基分别形成 4 个和 5 个氢键,2 条三肽和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之间也产生了强烈的范德华力和  $\pi$ -阴离子相互作用,从而抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性。糖类的消化吸收与消化酶作用密切相关,抑制消化酶活性可减慢淀粉等水解成葡萄糖的进程,进而延缓葡萄糖的吸收,肽可通过氢键、范德华力等与消化酶分子活性位点上的残基相互作用,抑制消化酶活性,进而影响糖类消化吸收。

#### 3.3 抑制 DPP-IV 活性

DPP-IV 是一种细胞表面的丝氨酸蛋白酶,可分解多种活性肽,包括胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 和葡萄糖依赖性促胰岛素分泌多肽 (GIP);DPP-IV 抑制剂可提高内源性 GLP-1 和 GIP 的水平,促进胰岛  $\beta$  细胞释放胰岛素,同时抑制胰岛  $\alpha$  细胞分泌胰高血糖素,从而提高胰岛素水平,降低血糖<sup>[37]</sup>。Wei 等<sup>[38]</sup>评估了碱性蛋白酶和中性蛋白酶双酶顺序酶解豌豆蛋白得到的豌豆寡肽对高脂饮食和链脲佐菌素诱导的 II 型糖尿病小鼠的血糖和血脂状态的影响,发现在 C 端带有脯氨酸残基的 4 种豌豆寡肽 ALP、LLP、VLP 和 SP 皆可抑制 DPP-IV 活性,显著降低糖尿病模型小鼠的血糖、脂质含量以及肝脂肪沉积水平;豌豆寡肽还可提高糖尿病模型小鼠的葡萄糖耐量,促进糖原合成,并保护肝脏和肾脏的肾皮质组织。吉薇<sup>[39]</sup>从南极磷虾酶解物中鉴定的 AP、IPA 和 IPA VF 3 种 DPP-IV 抑制肽对糖尿病斑马鱼皆有一定降血糖

功效,并证明肽与 DPP-IV 抑制类型均为竞争性、可逆性抑制。Kong 等<sup>[40]</sup>在核桃蛋白碱性蛋白酶酶解物中鉴定出 9 种新型的 DPP-IV 抑制肽,分子对接揭示这些肽可通过氢键、疏水相互作用、 $\pi$ -阳离子键和  $\pi$ - $\pi$  键与 DPP-IV 相互作用。

豌豆肽辅助降血糖作用可能主要涉及 3 个方面机制,豌豆肽可对 IRS-1/PI3K/AKT 信号通路产生一定调节作用,上调 IRS-1 表达,促进 AKT 的 Ser473 磷酸化,进而缓解胰岛素抵抗;消化酶通过氢键与豌豆肽结合,可降低酶自身与多糖之间的结合率,多糖因无相应酶催化而不能降解为葡萄糖,因此可减少葡萄糖产生;豌豆肽还可通过氢键、疏水相互作用等方式与 DPP-IV 相互作用,抑制 DPP-IV 活性,进而提高内源性 GLP-1 和 GIP 的水平,提高胰岛素水平,降低血糖。

## 4 其它活性及其机制

除抗氧化、辅助降血压和降血糖活性外,豌豆肽在抗菌、免疫调节、抗肿瘤、调节肠道菌群和促进益生菌生长等方面也表现出积极作用。

### 4.1 抗菌活性及其机制

与抗生素相比,植物抗菌肽作用于细菌、真菌、病毒等的优势为不易诱导耐药性<sup>[41]</sup>。张秋萍<sup>[42]</sup>采用木瓜蛋白酶酶解豌豆蛋白,纯化后得到分子量范围为 1.9~3.7 ku 的抗菌肽,在 10 mg/mL 质量浓度下对金黄色葡萄球菌的抗菌效果与 10.72 U/mL 的硫酸卡那霉素、2.08 U/mL 的庆大霉素的抗菌效果相当,并具有耐热性,且在 pH 6.0 时抗菌效果最好;该抗菌肽含有 9 种氨基酸,其中谷氨酸含量高达 35.46%。Mohan 等<sup>[43]</sup>鉴定了商业豌豆多肽中的所有肽序,据肽序长度、计算机预测的抗菌活性特征和理化性质等筛选抗菌肽,从 P54 储藏蛋白 271~292 残基 NuriPep1653 的排名最高,其序列为 VRGLAPKKS LWPFGGPFKSPFN,并发现 NuriPep1653 在质量浓度为 12  $\mu$ g/mL 时,对鲍曼不动杆菌具有较强杀菌作用,与 8  $\mu$ g/mL 粘菌素的杀菌效果相当。不少学者的研究<sup>[44]</sup>皆表明抗菌肽的抗菌活性大多取决于其携带的正电荷及其两亲性,豌豆肽抗菌机制可能基于两个方面,其一是豌豆抗菌肽表现出的两亲性能改变微生物细胞

膜的通透性,促使细胞形态结构变化,以致细胞膜破裂,细胞死亡;其二是带正电荷的豌豆抗菌肽可通过与细胞膜上的阴离子产生静电相互作用,结合到微生物细胞膜上,形成跨膜离子孔道,破坏微生物细胞中的离子平衡而起到抗菌作用。

### 4.2 免疫调节活性及其机制

豌豆肽对环磷酰胺致免疫抑制小鼠的免疫功能具有一定的改善作用。张敏佳等<sup>[45]</sup>给环磷酰胺致免疫抑制小鼠灌胃商业豌豆肽,发现与模型组相比,灌胃豌豆肽组体质量无统计学差异,外周白细胞数量显著升高至  $3.56 \times 10^9/L$ ;CD3<sup>+</sup> T 淋巴细胞百分比显著升高至 26.07%;CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞百分比虽有所改善,但差异不显著;与体液免疫功能相关的免疫球蛋白 IgG、IgM 含量显著升高;细胞因子 IFN- $\gamma$  浓度显著降低;骨髓有核细胞数量为  $48.83 \times 10^5/mL$ ,DNA 含量为 0.015  $\mu$ g/ $\mu$ L,皆显著降低。豌豆肽能通过改善免疫器官发育、骨髓抑制状态、免疫球蛋白含量、T 淋巴细胞亚群百分比和细胞因子水平改善环磷酰胺致免疫抑制小鼠的免疫功能。目前鲜见豌豆肽免疫机制的研究报道,可借鉴大米或其它谷物蛋白酶解物/肽免疫调节活性的研究<sup>[46]</sup>,从激活细胞受体刺激细胞因子产生,诱导 T 细胞分化,促进免疫球蛋白产生,影响巨噬细胞吞噬作用等方面深入探讨。

### 4.3 抗肿瘤活性及其机制

潘芬<sup>[47]</sup>研究发现豌豆蛋白碱性蛋白酶酶解产物(APPH)和胰蛋白酶酶解产物(TPPH)对人肝癌细胞株、人乳腺癌细胞株、人胃癌细胞株、人肺癌细胞株 4 种常见癌细胞的生长均有抑制作用,其中 APPH 对 4 种癌细胞的抑制率最大抑制率达 60%以上;从 APPH 中可分离纯化出 4 个肽段,分别为 IPVNRPGQLQ、YGPTPVRDGFK、VTPGATDDQMD-GVRK、GQTPLFPRO,肽段中含有的精氨酸、脯氨酸及疏水性氨基酸可能有助于抗肿瘤活性的发挥。Fan 等<sup>[48]</sup>对活性肽 ZXR-2d 抗肿瘤机理的研究表明,肽的抗肿瘤活性可能涉及两方面机制,一是引起细胞坏死的肽主要是阳离子肽,能结合癌细胞膜表面的负电基团,引起细胞裂解;二是肽进入癌细胞后,会干扰线粒体膜,导致线粒体膜电势降低,细胞色素 C 释放至细胞质,同时释放大量活性

氧,最终激活细胞凋亡蛋白酶,引起细胞凋亡。

#### 4.4 调节肠道菌群和促进益生菌生长活性及其机制

肠道菌群失调是肠道菌群与机体之间形成的相互依存、制约的共生关系被破坏的现象。潘芬等<sup>[49]</sup>研究了豌豆蛋白碱性蛋白酶酶解物对 17 株常见益生菌生长的影响,发现添加 4 mg/mL 酶解物可显著改善干酪乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌在 MRS 培养基中的生长情况,菌体密度提高了 10.78%~49.34%,活菌数提高了 1~3 个数量级,表明豌豆蛋白碱性蛋白酶酶解物可显著促进益生菌生长,提高益生菌存活率。朱艳等<sup>[50]</sup>发现一种商业发酵豌豆蛋白肽具有良好的调节肠道菌群的效果,通过腹腔注射盐酸林可霉素建立肠道菌群紊乱小鼠模型,模型鼠在灌胃豌豆蛋白肽后,其肠道菌群结构以及结肠病理变化皆得到不同程度改善,当灌胃剂量为 1.6 g/kg 体质量时,模型鼠与正常小鼠的菌群多样性和优势物种的丰度和构成极为相近,说明豌豆肽具有一定的调节肠道菌群的作用。Świątecka 等<sup>[51]</sup>发现豌豆蛋白胃蛋白酶酶解物可刺激乳酸杆菌、肠球菌属对人结肠癌细胞(Caco-2)的黏附性,酶解物可作为细菌黏附和 Caco-2 细胞代谢活性的潜在调节剂。李山林<sup>[52]</sup>发现淮山多肽可促进鼠李糖乳杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌及短双歧杆菌等益生菌的增殖效果,分子质量小于 3 000 u 的淮山多肽能促进嗜酸乳杆菌和短双歧杆菌的体外增殖,且增殖效果与其中谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸和苯丙氨酸的含量较高有关,进而推测肽的氨基酸组成及分子质量大小与调节肠道菌群、促进益生菌生长活性具有一定的相关性。

## 5 总结与展望

豌豆肽生物活性的挖掘以及作用机制的探究,对豌豆肽类功能性食品研究与开发具有重要意义。本文概述了近年来豌豆肽的生物活性及其作用机制的研究现状,重点探讨了抗氧化、辅助降血压与降血糖活性及其机制。抗氧化活性及其作用机制包括增强抗氧化防御能力以及调节关键信号通路 Keap1/Nrf2-ARE;辅助降血压活性及其作用机制包括抑制 ACE 活性和上调 ACE2 表达 2

条途径;辅助降血糖活性及其作用机制涉及缓解胰岛素抵抗、抑制消化酶活性和抑制 DPP-IV 活性 3 个方面。然而,目前关于豌豆肽生物活性作用机制的研究还有待在分子靶点、构效关系、安全性及体内消化吸收等方面重点展开:1) 针对生物活性机制不明确的问题,可考虑在化学体系、细胞模型、动物模型以及人体试验中进一步确定豌豆肽发挥其生物活性的分子靶点;2) 针对豌豆肽功能结构与生物活性关系尚不清晰的问题,可通过生物信息学、计算机辅助分子模型评估结构特性、活性位点以及作用方式等深入探究其构效关系;3) 针对豌豆肽安全性及体内消化吸收机制不明确的问题,可采用体外模拟胃肠消化以及细胞、动物模型在豌豆肽的细胞毒性、消化稳定性、吸收方式以及转运机制等方面深入开展研究;4) 豌豆肽各种生物活性作用机制具有一定关联性,可考虑从评估活性依据探究量效关系,从调节相关信号通路中寻找相关的关键信号分子等途径,探究其关联作用机制。

## 参 考 文 献

- [1] BURSTIN J, KREPLAK J, MACAS J, et al. *Pisum sativum* (Pea)[J]. Trends in Genetics, 2020, 36(4): 312-313.
- [2] FAN B, GAURAV N, PETER B, et al. Impact of plasma reactive species on the structure and functionality of pea protein isolate[J]. Food Chemistry, 2022, 371: 131135.
- [3] LU Z X, HE J F, ZHANG Y C, et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 60(15): 1-13.
- [4] JIAO G, SUN C X, CORKE H, et al. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 1835-1876.
- [5] 徐忠, 王友健, 陈晓明, 等. 豌豆蛋白及豌豆抗氧化肽研究进展[J]. 食品工业, 2020, 41(6): 258-262.

- XU Z, WANG Y Z, CHEN X M, et al. Research progress on pea protein and pea antioxidant peptides [J]. *The Food Industry*, 2020, 41(6): 258–262.
- [6] ANA P C C, FRANCISCO E S L, FRANCISCA F N A, et al. Antioxidant peptides from plants: A review[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2023, 23: 95–104.
- [7] LI Y, YU J M. Research progress in structure–activity relationship of bioactive peptides[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2015, 18(2): 147–156.
- [8] PAN M F, LIU K X, YANG J Y, et al. Advances on food–derived peptidic antioxidants–A review [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(9): 799.
- [9] 张树成, 隋杨林, 杨进洁, 等. 抗氧化性豌豆蛋白肽的分离制备工艺研究[J]. *现代食品*, 2023, 29(8): 58–61.
- ZHANG S C, SUI Y L, YANG J J, et al. Study on the separation and preparation of antioxidant pea protein peptides [J]. *Modern Food*, 2023, 29(8): 58–61.
- [10] 赵丹, 刘晓兰, 郑喜群. 量子化学计算及分子对接技术对豌豆蛋白源抗氧化肽 YLVN、TFY 的抗氧化作用机制研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(7): 131–138.
- ZHAO D, LIU X L, ZHENG X Q. Research on antioxidant mechanism of pea protein–derived antioxidant peptides YLVN and TFY based on quantum chemical calculation and molecular docking technology[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(7): 131–138.
- [11] 谷红, 王远丽, 毛绍春, 等. 不同酶制备豌豆蛋白水解物及其抗氧化活性研究[J]. *食品科技*, 2023, 48(5): 231–236.
- GU H, WANG Y L, MAO S C, et al. Preparation of pea protein hydrolysate with different enzymes and its antioxidant activity [J]. *Food Science and Technology*, 2023, 48(5): 231–236.
- [12] LV R Z, DONG Y F, BAO Z J, et al. Advances in the activity evaluation and cellular regulation pathways of food–derived antioxidant peptides [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 122: 171–186.
- [13] ZHU Y S, LAO F, PAN X, et al. Food protein–derived antioxidant peptides: Molecular mechanism, stability and bioavailability [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(11): 1622.
- [14] ZHAO D, LIU X L. Purification, identification and evaluation of antioxidant peptides from pea protein hydrolysates [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2023, 28(7): 2952.
- [15] LI N, WEN L D, WANG F Y, et al. Alleviating effects of pea peptide on oxidative stress injury induced by lead in PC12 cells via Keap1/Nrf2/TXNIP signaling pathway [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 964938.
- [16] QIN X Y, ZHANG J T, LI G M, et al. Structure and composition of a potential antioxidant obtained from the chelation of pea oligopeptide and sodium selenite [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 64: 103619.
- [17] 彭爽. 挤压协同酶解豌豆蛋白肽的制备工艺优化及抗疲劳作用研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2021.
- PENG S. Extrusion and synergistic enzymatic hydrolysis of pea protein peptide optimization and anti–fatigue effect research [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2021.
- [18] ASEN N D, ALUKO R A. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of antioxidant peptides obtained from enzymatic pea protein hydrolysates and their ultrafiltration peptide fractions [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(11): e14289
- [19] JAKUBCZYK A, KARASÍ M, BARANIAK B, et al. The impact of fermentation and in vitro digestion on formation angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from pea proteins [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 3774–3780.
- [20] 张烁, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 豌豆 ACE 抑制肽对诱导损伤的 EA.hy.926 细胞的保护作用 [J]. *食品与机械*, 2022, 38(10): 187–193.
- ZHANG S, ZHENG X Q, LIU X L, et al. Protective effects of the pea ACE inhibitory peptide on induced damage of EA.hy.926 cells [J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(10): 187–193.
- [21] PUJIASTUTI D Y, GHOYATULAMIN M N, ALAMSJAH M A, et al. Marine organisms as potential sources of bioactive peptides that inhibit the activity of angiotensin I–converting enzyme: A review [J]. *Molecules*, 2019, 24(14): 2541.

- [22] LI H, ALUKO R E. Identification and inhibitory properties of multifunctional peptides from pea protein hydrolysate[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(21): 11471–11476.
- [23] ALUKO R E, GIRGIH A T, HE R, et al. Structural and functional characterization of yellow field pea seed (*Pisum sativum* L.) protein-derived anti-hypertensive peptides[J]. *Food Research International*, 2015, 77: 10–16.
- [24] LI H, PRAIRIE N, UDENIGWE C C, et al. Blood pressure lowering effect of a pea protein hydrolysate in hypertensive rats and humans[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(18): 9854–9860.
- [25] 伍强. 灵芝菌丝 ACE 抑制肽的鉴定、抑制机理及其降血压分子机制研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020.
- WU Q. Identification, inhibition mechanism and anti-hypertension molecular mechanism of the angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from *Ganoderma lingzhi* mycelia[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2020.
- [26] LIAO W, FAN H B, LIU P, et al. Identification of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) up-regulating peptides from pea protein hydrolysate[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 60: 103395.
- [27] WANG X, BHULLAR K S, FAN H B, et al. Regulatory effects of a pea-derived peptide Leu-Arg-Trp (LRW) on dysfunction of rat aortic vascular smooth muscle cells against angiotensin II stimulation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(13): 3947–3953.
- [28] 刘维维. 基于 ACE2 活性的牡蛎 ACE 抑制肽研究[D]. 厦门: 集美大学, 2022.
- LIU W W. Study on Oyster (*Crassostrea gigas*) ACE inhibitory peptide based on ACE2 activity[D]. Xiamen: Jimei University, 2022.
- [29] GARZÓN A, VERAS F F, BRANDELLI A, et al. Purification, identification and in silico studies of antioxidant, antidiabetogenic and antibacterial peptides obtained from sorghum spent grain hydrolysate[J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2021, 153(1): 112414.
- [30] YUAN H E, HU Y Q, ZHU Y Z, et al. Metformin ameliorates high uric acid-induced insulin resistance in skeletal muscle cells[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2016, 443: 138–145.
- [31] YANG B, YUAN Y, ZHANG W, et al. Sturgeon protein-derived peptide KIWHTF prevents insulin resistance via modulation of IRS-1/PI3K/AKT signaling pathways in HepG2 cells[J]. *Journal of Functional Foods*, 2022, 94: 105126.
- [32] 崔欣悦, 张瑞雪, 周明, 等. 豌豆肽缓解胰岛素抵抗形成效果探究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(12): 145–148.
- CUI X Y, ZHANG R X, ZHOU M, et al. Effect of pea oligopeptides on relieving insulin resistance[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(12): 145–148.
- [33] 王赛, 孙婉婷, 王猛, 等. 豌豆低聚肽对 2 型糖尿病小鼠肝脏 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路的调节作用[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(2): 21–27.
- WANG S, SUN W T, WANG M, et al. Regulatory effect of pea oligopeptide on PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway in liver of type 2 diabetic mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(2): 21–27.
- [34] ZHU Y, ZHANG H X, WEI Y, et al. Pea-derived peptides, VLP, LLP, VA, and LL, improve insulin resistance in HepG2 cells via activating IRS-1/PI3K/AKT and blocking ROS-mediated p38MAPK signaling[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(11): e13454.
- [35] AWOSIKA T O, ALUKO R E. Inhibition of the *in vitro* activities of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase by yellow field pea (*Pisum sativum* L.) protein hydrolysates[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(6): 2021–2034.
- [36] JIANG M Z, YAN H, HE R H, et al. Purification and a molecular docking study of  $\alpha$ -glucosidase-inhibitory peptides from a soybean protein hydrolysate with ultrasonic pretreatment[J]. *European Food Research and Technology*, 2018, 244(11): 1995–2005.
- [37] 马昕悦, 刘鸣雨, 李熔, 等. 动物源性降糖肽的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(22): 438–444.
- MA X Y, LIU M Y, LI R, et al. Research progress of animal-derived hypoglycemic peptides[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(22): 438–444.
- [38] WEI Y, ZHANG R X, FANG L, et al. Hypo-



- glycemic effects and biochemical mechanisms of pea oligopeptide on high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43(12): e13055.
- [39] 吉薇. 南极磷虾蛋白源二肽基肽酶-IV(DPP-IV)抑制肽的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2017.  
JI W. Study on dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory peptides derived from Antarctic krill protein[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2017.
- [40] KONG X Z, ZHANG L N, SONG W G, et al. Separation, identification and molecular binding mechanism of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides derived from walnut (*Juglans regia* L.) protein[J]. *Food Chemistry*, 2021, 347: 129062.
- [41] 康媛媛, 孟珺, 王艳阳, 等. 抗菌肽功能特性与作用机制的研究进展[J]. *食品科技*, 2021, 46(1): 265-270.  
KANG Y Y, MENG J, WANG Y Y, et al. Research progress on functional characteristics and mechanism of antimicrobial peptides[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(1): 265-270.
- [42] 张秋萍. 豌豆分离蛋白酶解产生物活性肽的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.  
ZHANG Q P. Study on bioactive peptides prepared by enzymolysis of pea protein isolate[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [43] MOHAN N M, ZORGANI A, JALOWICKI G, et al. Unlocking NuriPep1653 from common pea protein: A potent antimicrobial peptide to tackle a pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2086.
- [44] 李秀. 抗菌肽的表达纯化及活性研究[D]. 上海: 东华大学, 2022.  
LI X. Expression, purification and activity of antimicrobial peptides[D]. Shanghai: Donghua University, 2022.
- [45] 张敏佳, 刘文颖, 贾福怀, 等. 豌豆肽对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(8): 135-140.  
ZHANG M J, LIU W Y, JIANG F H, et al. Effects of pea peptide on immune function in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(8): 135-140.
- [46] WEN L, CHEN Y H, ZHANG L, et al. Rice protein hydrolysates (RPHs) inhibit the LPS-stimulated inflammatory response and phagocytosis in RAW264.7 macrophages by regulating the NF-kappa B signaling pathway[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(75): 71295-71304.
- [47] 潘芬. 豌豆抗肿瘤活性肽的分离纯化及结构鉴定[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.  
PAN F. Isolation, purification and structure identification of pea antitumor peptides[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2018.
- [48] FAN R R, YUAN Y Y, ZHANG Q, et al. Isoleucine/leucine residues at "a" and "d" positions of a heptad repeat sequence are crucial for the cytolytic activity of a short anticancer lytic peptide[J]. *Amino Acids*, 2016, 49: 193-202.
- [49] 潘芬, 杨敏, 刘梦阳, 等. 豌豆蛋白酶解产物促进益生菌生长活性研究[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(2): 27-36.  
PAN F, YANG M, LIU M Y, et al. Growth-stimulating effects of pea protein hydrolysates on probiotics[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(2): 27-36.
- [50] 朱艳, 魏颖, 严建刚, 等. 发酵豌豆蛋白肽对盐酸林可霉素诱导的小鼠肠道菌群紊乱的调节作用[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(12): 106-116.  
ZHU Y, WEI Y, YAN J G, et al. Regulatory effect of fermented pea peptide on intestinal flora disturbance induced by lincomycin hydrochloride in mice[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(12): 106-116.
- [51] ŚWIAȚECKA D, MARKIEWICZ L H, WRÓBLEWSKA B. Experimental immunology pea protein hydrolysate as a factor modulating the adhesion of bacteria to enterocytes, epithelial proliferation and cytokine secretion -an *in vitro* study [J]. *Central European Journal of Immunology*, 2021, 37(3): 227-231.
- [52] 李山林. 淮山多肽体外促进益生菌生长作用的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.  
LI S L. Promoting effects of peptides from chinese yam on the growth of bifidobacteria *in vitro* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022.

## Research Progress on Bioactivity and Mechanism of Pea Peptide

Gao Zhengjie<sup>1</sup>, Jiao Ye<sup>1</sup>, Liu Yanjie<sup>1</sup>, Pu Minghui<sup>1</sup>, Chen Maolong<sup>1</sup>, Cheng Yunhui<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410114

<sup>2</sup>School of Food Science and Engineering, Qilu University of Technology, Jinan 250353)

**Abstract** Pea protein, a plant-based protein sourced from *Pisum sativum*, is distinguished by its high safety, nutritional efficacy, and cost advantages. This protein type has been the subject of growing interest due to its favorable nutritional profile and affordability, making it a viable alternative for a broad consumer base, including those following vegetarian or vegan dietary practices. In recent years, the field of bioactive peptide research has witnessed a surge in the exploration of peptides with biological activities derived from pea protein. The development and investigation of these peptides are of significant importance, as they not only represent a high-value application of plant proteins but also contribute positively to human health maintenance. This review delves into the bioactivity and mechanism of action of pea peptides, with a specific focus on the effects observed both *in vivo* and *ex vivo*, as well as the associated regulatory mechanisms and key signaling pathways. The documented bioactivities of pea peptides include, but are not limited to, antioxidant capabilities, auxiliary blood pressure reduction, glycemic control, antimicrobial properties, immunomodulatory effects, anti-tumor potential, intestinal flora regulation, and the promotion of probiotic growth. Furthermore, this review anticipates and proposes future research directions for pea peptides, aiming to offer a framework that guides the deeper investigation and holistic application of these bioactive peptides in nutritional science and public health.

**Keywords** pea peptide; biological activity; mechanism of action