

黑豆肽对 *L*-NAME 诱导的小鼠高血压症的预防与改善作用

黄鑫玉, 邵奔, 程大伟, 徐梦丹, 李雪玲, 李梅青*

(安徽农业大学食品与营养学院 农业农村部江淮农产品精深加工与资源利用重点实验室
安徽省特色农产品高值化利用工程研究中心 合肥 230036)

摘要 本实验利用 *N*-硝基-*L*-精氨酸甲酯(*L*-NAME)诱导的高血压小鼠模型,探究制备的黑豆血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽(BSP, <3 ku)对高血压小鼠的预防、改善功效及机理。将小鼠分为正常组、高血压模型组、赖诺普利药物组、BSP 低、中、高剂量组(25, 50, 100 mg/kg)、*L*-NAME 诱导同时灌胃 BSP 高剂量预防组(*L*-NAME+BSP 组),连续灌胃 4 周后,进行血浆生理指标检测及心脏、肾脏组织病理切片观察。结果表明:BSP 中、高剂量组对高血压小鼠具有显著的降压作用($P<0.05$),能够抑制小鼠血浆中 ACE、血管紧张素 II (Ang II)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、白细胞介素-6(IL-6)及内皮缩血管肽-1(ET-1)含量的上升($P<0.05$),显著升高一氧化氮(NO)含量($P<0.05$),避免小鼠肾素-血管紧张素(RAS)系统紊乱,提示 BSP 具有抗炎及维持正常血管细胞功能的功效,减轻了小鼠心脏损伤、纤维化和肾脏炎症浸润程度。同时,*L*-NAME 延缓了小鼠高血压症状的发生速度,显示出良好的预防作用。结论:该食源性黑豆 ACE 抑制肽通过调节 RAS 系统起到预防及改善小鼠高血压症的作用。

关键词 黑豆; ACE 抑制肽; 膳食预防; 降血压; RAS 系统

文章编号 1009-7848(2024)11-0138-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.11.014

高血压为在全球范围高度流行的慢性疾病,每年约 1 040 万人死于高血压,是导致人口死亡的主要原因之一^[1]。血管紧张素转化酶(ACE)作为生物体内调控血压的一种关键酶,在生物体内的血压平衡稳态中发挥重要的作用。目前,临床上广泛使用的降血压药物为 ACE 抑制类药物,如卡托普利、赖诺普利、依那普利等,其降血压作用方式为抑制高血压患者体内 ACE 的活性,阻止血管紧张素-I (Angiotensin-I, Ang-I)转换为血管紧张素-II (Angiotensin-II, Ang-II),从而起到显著的降低血压作用^[2]。然而,随着 ACE 抑制类药物的长期使用,会产生咳嗽、味觉失灵、皮疹等副作用^[3-4],而且高血压疾病迁延反复,几乎无法治愈。故而,全球范围对于高血压疾病的控制如今更倾向于前期预防而非后期治疗^[5-6]。因此,开发绿色天然、安全无副作用的食源性 ACE 抑制肽(Angiotensin-converting enzyme inhibiting peptide, ACEIP)作为膳食补充剂,用于预防、改善高血压症状,对于提高居民健康水平,缓解医疗压力具有很大的社会意义^[7]。

许多研究显示,可从大豆、芝麻、金枪鱼等多种植物、动物蛋白中水解分离制得 ACEIP^[8-9]。其中,豆类来源的生物活性肽,因来源广,价格低及蛋白质含量高等工业生产优势而被关注^[10]。黑豆 [*Glycine max*(L.)merr.]营养价值较高,蛋白质含量 35%左右。有报道称,由黑豆蛋白中水解分离的生物活性肽具有抗氧化、降血糖、降血压等功效^[11-13]。

鉴于目前的研究聚焦于对高血压疾病的后期改善及治疗,对高血压发病的前期预防鲜有研究报道。课题组前期研究发现黑豆蛋白水解物具有良好的体外 ACE 抑制作用^[14]。本研究将通过动物实验,探究黑豆 ACE 抑制肽(<3 ku)对高血压疾病的预防及改善作用,旨在为将黑豆肽作为一种预防、改善高血压的膳食补充剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料:黑豆,购于超市,原产地内蒙古通辽。

实验动物:C57BL/6J 雄性小鼠 60 只,7 周龄,18~20 g,SPF 级,购于江苏华创信诺医药科技有限公司。许可证号:SCXK(苏)2020-0009。

碱性蛋白酶(200 000 U/g),江苏锐阳生物科技有限公司;DA201-C 大孔树脂、G-15 葡聚糖凝

收稿日期:2023-11-12

第一作者:黄鑫玉,女,硕士生

通信作者:李梅青 E-mail:lmq@ahau.edu.cn

胶,合肥博美生物科技有限公司;3 ku 超滤膜,美国 Pall 公司;赖诺普利,江苏天士力帝益药业有限公司;L-NAME、4%多聚甲醛溶液,上海源叶生物科技有限公司;定量试剂盒,南京建成生物工程研究所有限公司。

1.2 仪器与设备

AL104 型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;BP-2000 小动物无创血压分析系统,美国 Visitech system 公司;TU-1950 紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器公司;Alpha-2 冷冻干燥机,英国 LABCONCO 公司;3-18KS 台式高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司;iMark 酶标仪,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 BSP 样品的制备 参考前期研究^[14],黑豆经干燥后粉碎,无水乙醚脱脂,碱提酸沉法提取黑豆蛋白;配制 3 g/100 mL 黑豆蛋白溶液,按 6 g/100 mL 加入碱性蛋白酶,50 °C 下酶解 2 h,期间保持 pH 值为 9,4 000 r/min 离心 10 min,收集水解液;水解液使用 DA201-C 大孔树脂进行脱盐;脱盐后的溶液经 0.22 μm 微滤膜过滤后,使用 3 ku 的超滤膜进行分级。BSP 溶液超滤质量浓度为 200 μg/mL,在室温条件下进行超滤,压力小于 5 MPa,收集分子质量 3 ku 以下组分,经冷冻干燥后,制成黑豆 ACE 抑制肽(BSP),用于后续实验。

1.3.2 动物饲养方式及分组 动物实验由安徽农业大学实验动物伦理委员会审核通过,伦理审查编号为 AHAU2022006。所有小鼠均进行 1 周的适应性喂养,饲养温度为 18~22 °C,湿度为 50%~60%。

适应性喂养后的小鼠,随机取其中 16 只分为正常对照组(Con)和 L-NAME+BSP 高剂量预防组(L-NAME+BSP)。正常对照组采用饮用水灌胃 8 周,L-NAME+BSP 高剂量预防组将 L-NAME 溶液代替饮用水,同时灌胃高剂量 BSP 溶液 4 周。

其余 44 只采用 0.5 mg/mL L-NAME 溶液代替饮水构建高血压模型^[15],以小鼠收缩压(Systolic blood pressure, SBP)升高 20 mmHg 为建模成功标准。4 周后选取建模成功的小鼠随机分为 5 组:高血压模型组(L-NAME)、赖诺普利药物组

(Lisinopril, 6.1 mg/kg, 剂量由人与小鼠药物剂量换算系数确定)、低剂量组(25 mg/kg)、中剂量组(50 mg/kg)、高剂量组(100 mg/kg),所有小鼠继续饮用含 L-NAME 饮用水,药物组及低、中、高剂量组分别采用赖诺普利水溶液和 BSP 水溶液进行灌胃。

1.3.3 小鼠血压测定 使用 BP-2000 小动物血压计测定小鼠血压,每 7 d 进行一次血压测定,测定前所有小鼠在血压计上适应 5 min,温度设定为 37 °C。

1.3.4 小鼠血浆生化指标测定 小鼠经 4 g/100 mL 水合氯醛麻醉后眼眶取血,置于含肝素的离心管中,在 4 °C、4 000 r/min 条件下离心 10 min,取血浆备用。血浆中血管紧张素转化酶(ACE)、血管紧张素-2(Ang II)、内皮素-1(ET-1)、白介素-6(IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)采用酶联免疫分析试剂盒测定。一氧化氮(NO)含量采用硝酸还原酶法测定。

1.3.5 小鼠心脏及肾脏切片染色 解剖小鼠后取其心脏及肾脏,置于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h 以上,在通风橱中取出脏器,将其修切平整,进行脱水浸蜡、包埋、取心脏、肾脏蜡块进行组织切片;将切片脱蜡后,用苏木素染 5 min,自来水冲洗多余染料,1%分化液分化 10 s,自来水洗涤,氨水反蓝 10 s,自来水洗涤,伊红染色 5 min,无水乙醇 I、II、III 梯度脱水各 5 min,二甲苯 I、II 透明各 5 min,最后采用中性树脂封片后进行显微镜观察。同理,对心脏进行 Masson 染色,切片脱蜡后浸于 Masson A 液中浸泡过夜,自来水冲洗,浸染于 Masson B、C 液体积比 1:1 染液中 1 min,自来水冲洗,1%盐酸酒精分化数秒,自来水冲洗,Masson D 液浸染 6 min,自来水漂洗,Masson E 液浸染 1 min,Masson F 液浸染 20 s,1%冰醋酸漂洗分化数秒,无水乙醇脱水,二甲苯透明 5 min,中性树脂封片后进行显微镜观察。

1.4 统计分析

统计分析数据用平均数±标准差(SEM)表示。组间差异分析采用单因素方差分析(ANOVA)检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

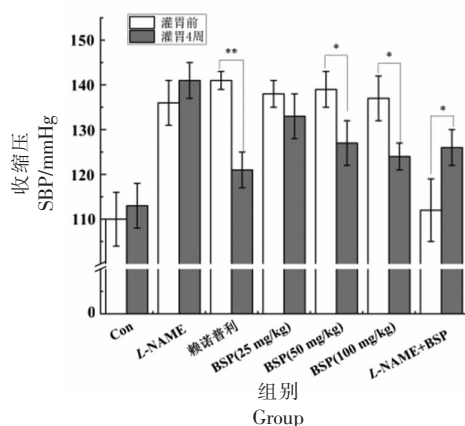
2 结果与分析

2.1 小鼠平均血压变化

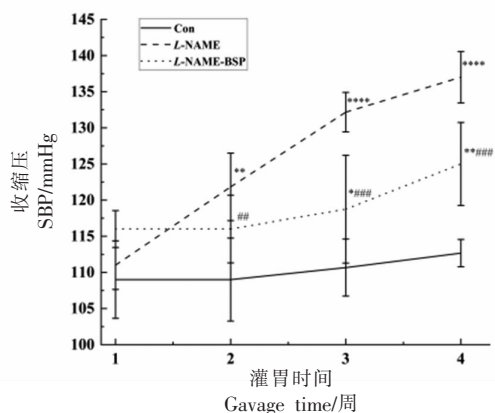
BSP 灌胃 4 周后各组小鼠血压平均值如图 1 所示。

由图 1a 可知,高血压模型小鼠仍保持高血压状态;赖诺普利灌胃 4 周对高血压小鼠具有极显著的降血压作用($P<0.01$),降低约 20 mmHg,基本降低至正常水平;低剂量 BSP 灌胃具有轻微的降血压作用($P>0.05$);中、高剂量 BSP 对高血压小鼠

具有显著的降压作用($P<0.05$),降压幅度约为 10 mmHg,即中、高剂量的 BSP 能够降低小鼠高血压,该结果与宋田源^[16]及 Jeong 等^[17]的研究结果一致。由图 1b 可知, L -NAME+BSP 组小鼠血压在灌胃 2 周时仍与正常组小鼠无显著性差异($P>0.05$),灌胃 4 周后血压虽升高了 15 mmHg 左右,但仍显著低于模型组小鼠血压($P<0.001$)。在小鼠高血压疾病发生的同时灌胃高剂量 BSP 能够明显减慢血压升高速度,起到延缓、预防高血压的作用。



(a) BSP 灌胃前、后各组小鼠平均收缩压比较



(b) 灌胃期间 L -NAME+BSP 预防组小鼠血压变化情况

注:a 图中,“*”表示 $P<0.050$,“**”表示 $P<0.010$;b 图中,“*”表示与 Con 组比较,“#”表示与 L -NAME 组比较,“##”表示 $P<0.010$,“****”和“#####”均表示 $P<0.0001$ 。

图 1 小鼠平均血压变化

Fig.1 Changes in average blood pressure of mice

2.2 小鼠血浆 ACE 及 Ang II 含量测定

ACE 及 Ang II 是肾素-血管紧张素 (RAS) 系统的重要组成部分,在机体的血压控制上具有至关重要的作用,ACE 催化 Ang II 的产生,是血压升高的重要途径,ACE 抑制也是开发抗高血压功能性食品的目标^[18]。

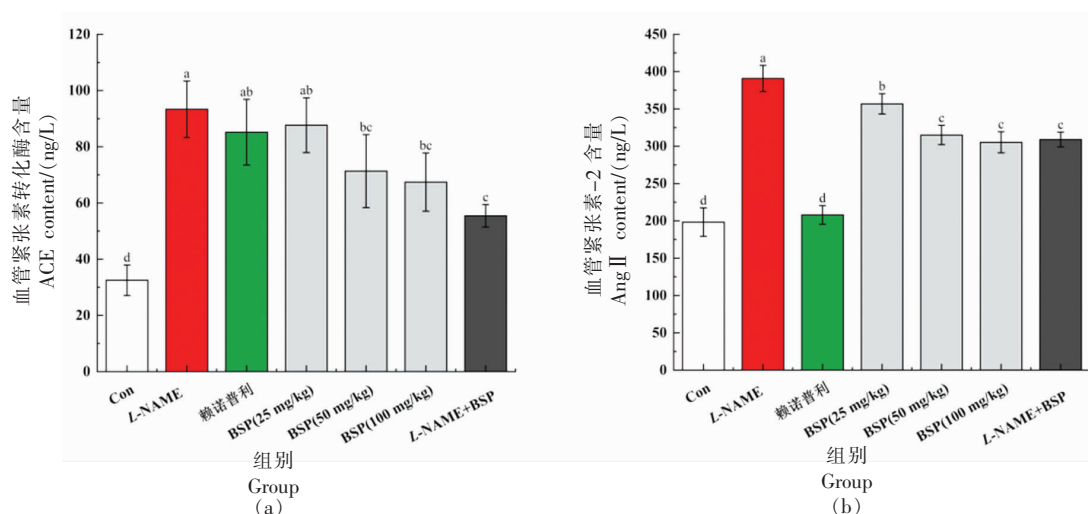
图 2 表明,高血压模型组小鼠血浆中 ACE、Ang II 含量显著升高($P<0.05$);中、高剂量组对小鼠血浆中 ACE 含量具有显著地抑制作用($P<0.05$);而低、中、高剂量组均显著降低了血浆中 Ang II 含量($P<0.05$),该结果与丁振江^[19]和刘飞等^[20]的研究结果一致。 L -NAME+BSP 组对 ACE、Ang II 含量的抑制作用与高剂量组相当。BSP 能够对 L -NAME 诱导的 RAS 轴失调起到显著地预防作用,这可能是其能够预防、延后 L -NAME 所致高血压的一个重要原因^[21,22]。

2.3 小鼠血浆炎症反应标记物含量测定

图 3 表明,BSP 对小鼠机体炎症反应具有一定的改善作用,各剂量组 BSP 均对小鼠血浆中炎症因子 MCP-1、IL-6 的升高具有显著降低作用($P<0.05$),且其作用具有随剂量增加而加强的趋势; L -NAME+BSP 组对 IL-6 具有最佳的抑制作用。BSP 产生抗炎症作用的途径可能是抑制 L -NAME 诱导的高血压,从而保护血管内皮细胞及相关脏器免于过度损伤^[23],并由此抑制高血压初期炎症反应^[24],其生理作用更倾向于免疫提高,抗氧化应激,这与诸多研究结果相吻合^[25]。

2.4 小鼠血浆一氧化氮及内皮素-1 含量测定

NO 与 ET-1 相互抑制,共同维持血压稳态,其含量的稳态可反应血管内皮细胞的正常功能与否。实验结果表明,高血压模型组小鼠血浆中 NO 含量显著降低且 ET-1 含量显著升高;高剂量组和



注:不同字母表示数据之间存在显著性差异($P<0.05$),下同。

图 2 BSP 灌胃 4 周对高血压小鼠血浆 ACE 及 Ang II 含量的影响

Fig.2 Effects of BSP intake for 4 weeks on plasma ACE and Ang II contents in hypertensive mice

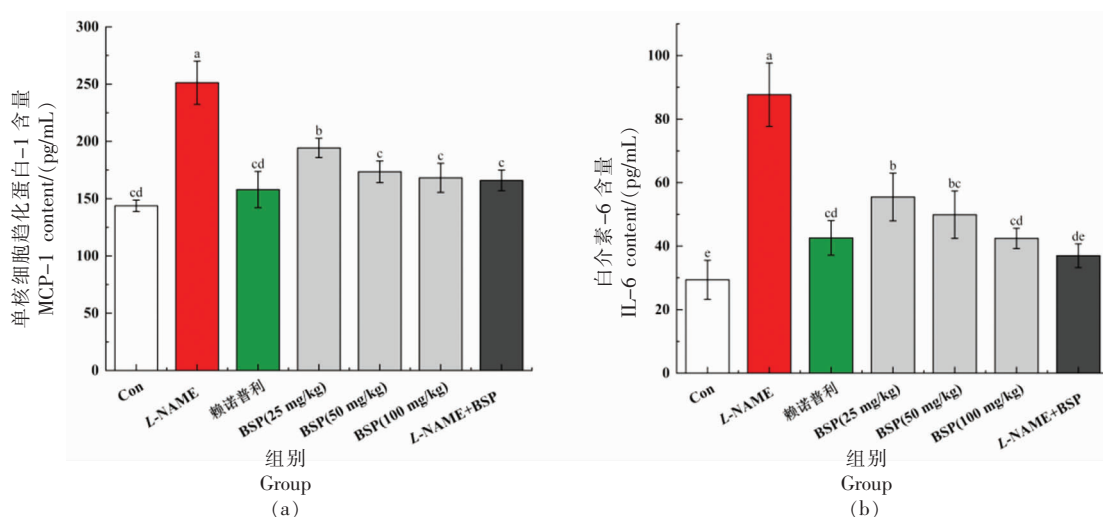


图 3 BSP 灌胃 4 周对高血压小鼠血浆 MCP-1 及 IL-6 含量的影响

Fig.3 Effects of BSP intake for 4 weeks on plasma MCP-1 and IL-6 contents in hypertensive mice

L-NAME+BSP 组显著改善、预防了 NO 含量降低 ($P<0.05$),同时对 ET-1 含量上升有显著地抑制作用 ($P<0.05$)。这一结果表明,BSP 对维持血管内皮细胞中 NO/ET-1 的稳态^[26]、内皮细胞正常功能具有重要作用^[27],这可能是 BSP 对 *L*-NAME 诱导小鼠高血压具有显著的预防、延后作用的又一重要原因^[28]。

2.5 小鼠心脏病理学观察

图 5 显示,正常组小鼠心脏心肌细胞排列整齐规则,横纹清晰,心肌细胞形态完整;高血压模型小鼠心肌细胞肿胀变形,心肌横纹模糊,出现严重的间质出血,炎症浸润现象;赖诺普利组心肌细

胞排列较为整齐规则,心肌细胞轻微肿胀变形,无明显的炎性细胞浸润;与 *L*-NAME 组相比,低剂量 BSP 组心肌细胞排列相对整齐;中、高剂量组心肌细胞仅发生较为轻微的肿胀变形,无显著的细胞坏死、变性;*L*-NAME+BSP 组小鼠心肌细胞仅发生轻度肿胀变形。

心肌纤维化是心血管疾病发展恶化的重要因素。如图 6 所示,正常组小鼠心肌形态正常,无胶原沉积;*L*-NAME 组小鼠心脏蓝色胶原纤维大范围内沉积,显示出严重的心肌纤维化倾向;与 *L*-NAME 组相比,低剂量组小鼠心肌纤维化面积有所减小,而胶原纤维仍有较大面积积聚;中、高剂

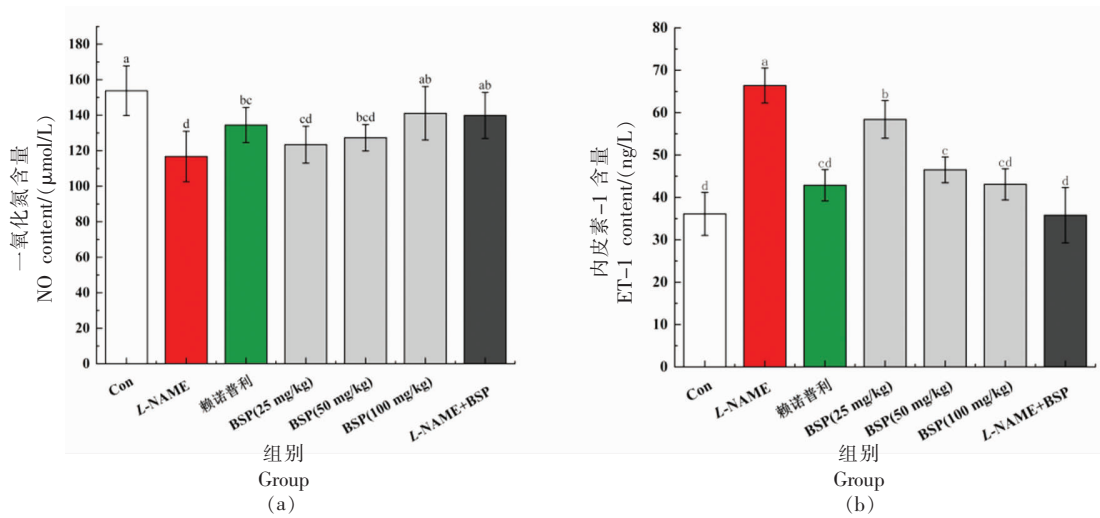


图4 BSP灌胃4周对高血压小鼠血浆NO及ET-1含量的影响

Fig.4 Effects of BSP intake for 4 weeks on plasma NO and ET-1 contents in hypertensive mice

量则显示出对小鼠心肌纤维化较好的改善作用,胶原纤维仅在小部分产生;BSP预防组小鼠与正常组无明显差异。

可以认为,BSP对于高血压小鼠心脏病变具有一定的保护作用,其可以减少心脏组织炎症的

发生^[29],减轻心肌细胞的变性损伤、纤维化^[30,31],并可在高血压发病前期显著预防心脏组织的损伤及纤维化^[32],且BSP对于高血压心脏病变的前期预防作用要强于其后期改善作用。

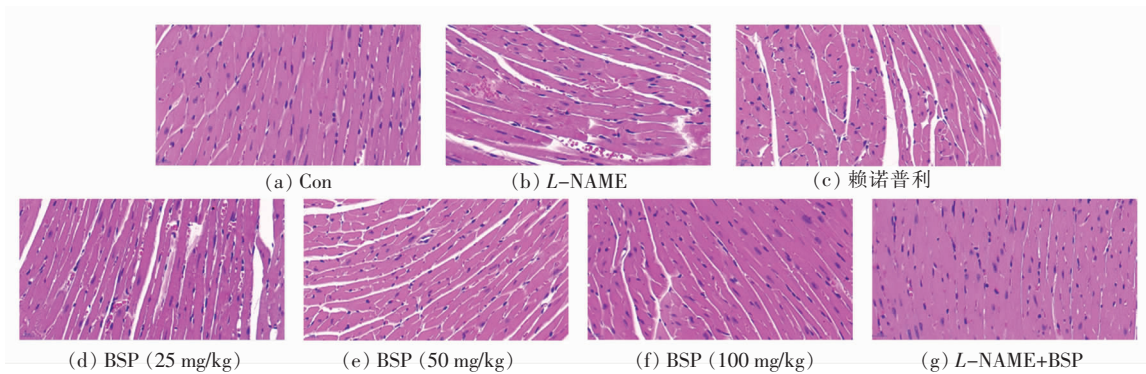


图5 BSP灌胃4周对高血压小鼠心脏心肌细胞形态的影响(400x)

Fig.5 Effects of BSP intake for 4 weeks on cardiac myocyte morphology in hypertensive mice (400x)

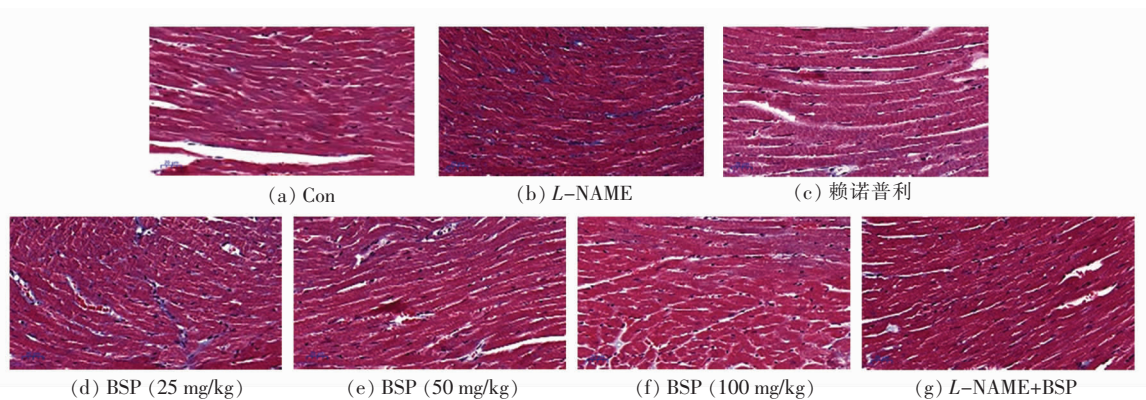


图6 BSP灌胃对L-NAME诱导高血压小鼠心脏心肌纤维化的影响(400x)

Fig.6 Effects of BSP intake on myocardial fibrosis in L-NAME-induced hypertensive mice (400x)

2.6 小鼠肾脏病理学观察

图 7 显示,正常组小鼠肾组织细胞结构正常,肾小球未见萎缩;*L*-NAME 组小鼠肾小球出现严重变形萎缩,系膜细胞增生,炎性细胞浸润现象;赖诺普利对高血压小鼠肾脏具有明显的保护作用,肾小球轻微变形,仅出现少量炎症浸润;相较于 *L*-NAME 组小鼠,低剂量组小鼠肾脏少量细胞出现空泡现象,肾小球仍显著变形萎缩;中、高剂

量组小鼠肾小球轻微变形,仅出现少量的炎症浸润;*L*-NAME+BSP 组小鼠肾组织细胞结构相对正常,肾小球未见明显萎缩变形。这与 Tsai 等^[33]和 Zhang 等^[34]的研究结果一致。该结果显示,BSP 灌胃对小鼠肾脏炎症反应具有显著地抑制作用,对肾小球萎缩病变,基底膜增厚具有显著地改善作用。高血压发病前期摄入 BSP 对肾脏病变的抑制与延后作用具有更实际的应用价值。

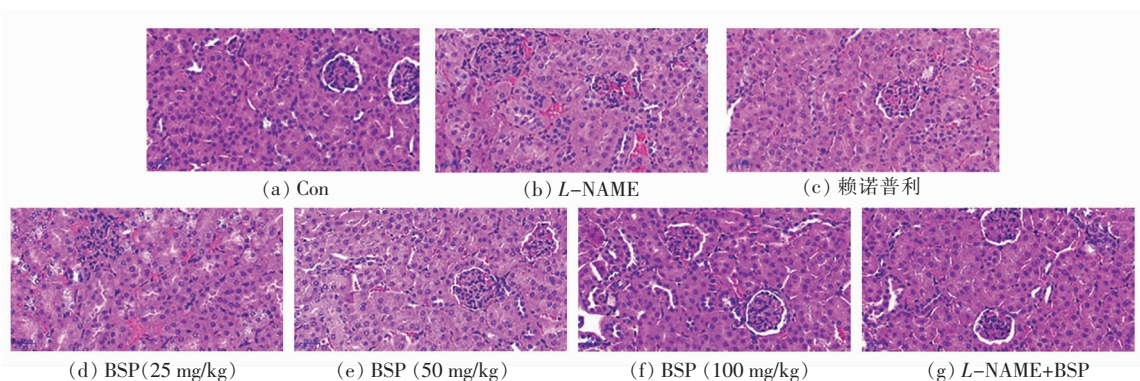


图 7 BSP 灌胃 4 周对高血压小鼠肾脏组织形态的影响(400x)

Fig.7 Effects of BSP intake for 4 weeks on renal histomorphology in hypertensive mice (400x)

3 结论

BSP 对高血压小鼠的降压作用具有一定的量效关系,中剂量 50 mg/kg 的 BSP 已具有显著地降血压功效。高剂量 100 mg/kg 的 BSP 可有效减慢小鼠高血压疾病发生的速度,对 *L*-NAME 诱导的小鼠高血压具有显著地预防和改善作用。BSP 可以通过有效避免高血压小鼠的 RAS 系统紊乱,维持血管内皮细胞的正常功能,改善机体炎症反应并保护心脏、肾脏免受高血压所引起的病理损伤,起到预防、改善高血压的功效。综上,黑豆 ACE 抑制肽可作为一种用于高血压前期预防和治疗期间的功能性食品。

参 考 文 献

- [1] UNGER T, BORGHI C, CHARCHAR F, et al. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines[J]. Journal of Hypertension, 2020, 38(6): 982-1004.
- [2] MARTIN M, DEUSSEN A. Effects of natural peptides from food proteins on angiotensin converting enzyme activity and hypertension[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59 (8): 1264-1283.
- [3] CHEUNG I W Y, NAKAYAMA S, HSU M N K, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of hydrolysates from oat (*Avena sativa*) proteins by *in silico* and *in vitro* analyses[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57 (19): 9234-9242.
- [4] GU Y C, WU J P. LC-MS/MS coupled with QSAR modeling in characterising of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from soybean proteins[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2682-2690.
- [5] PANGESTUTI R, KIM S K. Bioactive peptide of marine origin for the prevention and treatment of non-communicable diseases[J]. Marine Drugs, 2017, 15(3): 67.
- [6] CAREY R M, WHELTON P K, COMMITTEE A A H G W. Prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: Synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline [J]. Annals of Internal Medicine, 2018, 168 (5): 351-358.

- [7] AFSHIN A, SUR P J, FAY K A, et al. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2019, 393 (10184): 1958–1972.
- [8] XU Z Q, WU C P, SUN-WATERHOUSE D X, et al. Identification of post-digestion angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean protein isolate: Their production conditions and *in silico* molecular docking with ACE [J]. *Food Chemistry*, 2021, 345: 128855.
- [9] WANG R D, LU X, SUN Q, et al. Novel ACE inhibitory peptides derived from simulated gastrointestinal digestion *in vitro* of sesame (*Sesamum indicum* L.) protein and molecular docking study[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 1059.
- [10] SUN X P, WANG M, XU C J, et al. Positive effect of a pea-clam two-peptide composite on hypertension and organ protection in spontaneously hypertensive rats[J]. *Nutrients*, 2022, 14(19): 4069.
- [11] REN J, LI S, SONG C, et al. Black soybean-derived peptides exerted protective effect against alcohol-induced liver injury in mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 87: 104828.
- [12] JANG E H, KO J H, AHN C W, et al. *In vivo* and *in vitro* application of black soybean peptides in the amelioration of endoplasmic reticulum stress and improvement of insulin resistance[J]. *Life Sciences*, 2010, 86(7/8): 267–274.
- [13] 张月圆. 醋豆降压肽的制备及其降压活性研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
ZHANG Y Y. Preparation of antihypertensive peptide of vinegar bean and study on its antihypertensive activity [D]. Beijing: Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [14] 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 Science and Technology*, 2018, 98: 358–365.
- [15] JIN L, LIN M Q, PIAO Z H, et al. Gallic acid attenuates hypertension, cardiac remodeling, and fibrosis in mice with N^G -nitro-*L*-arginine methyl ester-induced hypertension via regulation of histone deacetylase 1 or histone deacetylase 2[J]. *Journal of Hypertension*, 2017, 35(7): 1502–1512.
- [16] 宋田源. 大豆蛋白肽的降血压及改善血管功能损伤的作用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2022.
SONG T Y. Study on antihypertension and improving vascular dysfunction effects of soybean protein-derived peptides[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2022.
- [17] JEONG E W, PARK S Y, YANG Y S, et al. Black soybean and adzuki bean extracts lower blood pressure by modulating the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats [J]. *Foods*, 2021, 10(7): 1571.
- [18] AKINYEMI A J, THOME G R, MORSCH V M, et al. Effect of dietary supplementation of ginger and turmeric rhizomes on angiotensin-1 converting enzyme (ACE) and arginase activities in *L*-NAME induced hypertensive rats [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 17: 792–801.
- [19] 丁振江. 杜仲花粉对高血压大鼠降压作用及机制研究[D]. 郑州: 河南大学, 2019.
DING Z J. The study of eucommia pollen on blood pressure reduction and its mechanism in spontaneously hypertensive rats[D]. Zhengzhou: Henan University, 2019.
- [20] 刘飞, 苗建银, 杨余语, 等. 牛乳酪蛋白源 ACE 抑制肽对大鼠的降血压作用[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(7): 1–7.
LIU F, MIAO J Y, YANG Y Y, et al. Antihypertensive effect of the ACE inhibitory peptides derived from bovine casein in rats[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(7): 1–7.
- [21] LIAO W, BHULLAR K S, CHAKRABARTI S, et al. Egg white-derived tripeptide IRW (Ile-Arg-Trp) is an activator of angiotensin converting enzyme 2[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(43): 11330–11336.
- [22] LIAO W, FAN H B, DAVIDGE S T, et al. Egg white-derived antihypertensive peptide IRW (Ile-Arg-Trp) reduces blood pressure in spontaneously hypertensive rats via the ACE2/Ang (1–7)/Mas receptor axis[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(9): e1900063.
- [23] MAJUMDER K, LIANG G X, CHEN Y H, et al. Egg ovotransferrin-derived ACE inhibitory peptide IRW increases ACE2 but decreases proinflammatory genes expression in mesenteric artery of sponta-

- neously hypertensive rats[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2015, 59(9): 1735–1744.
- [24] 刘梦婷. 基于抗炎作用的小米糠多肽降血压活性研究[D]. 南京: 南京财经大学, 2022.
- LIU M T. Study on antihypertensive activity of millet bran polypeptide based on anti-inflammatory effect [D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics, 2022.
- [25] LIV Y Q, STRAPPE P, SHANG W T, et al. Functional peptides derived from rice bran proteins [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(2): 349–356.
- [26] WANG Y C, LI Y L, RUAN S Y, et al. Antihypertensive effect of rapeseed peptides and their potential in improving the effectiveness of captopril[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(7): 3049–3055.
- [27] ZHENG Y J, WANG X, ZHUANG Y L, et al. Isolation of novel ACE-inhibitory peptide from naked oat globulin hydrolysates *in silico* approach: Molecular docking, *in vivo* antihypertension and effects on renin and intracellular endothelin-1[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(4): 1328–1337.
- [28] ZHENG Y J, LI Y, ZHANG Y L, et al. Purification, characterization, synthesis, *in vitro* ACE inhibition and *in vivo* antihypertensive activity of bioactive peptides derived from oil palm kernel glutelin-2 hydrolysates[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 28: 48–58.
- [29] KARAMI Z, AKBARI-ADERGANI B. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2019, 56(2): 535–547.
- [30] HUANG C Y, NITHIYANANTHAM S, LIAO J Y, et al. Bioactive peptides attenuate cardiac hypertrophy and fibrosis in spontaneously hypertensive rat hearts[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2020, 28(1): 94–102.
- [31] HO J H, BASKARAN R, WANG M F, et al. Bioactive peptides and exercise modulate the AMPK/SIRT1/PGC-1 α /FOXO3 pathway as a therapeutic approach for hypertensive rats [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(7): 819.
- [32] KTARI N, BKHAIRIA I, NASRI R, et al. Zebra blenny protein hydrolysates as a source of bioactive peptides with prevention effect against oxidative dysfunctions and DNA damage in heart tissues of rats fed a cholesterol-rich diet[J]. *Food Research International*, 2017, 100: 423–432.
- [33] TSAI B C K, KUO W W, DAY C H, et al. The soybean bioactive peptide VHVV alleviates hypertension-induced renal damage in hypertensive rats via the SIRT1-PGC1 α /Nrf2 pathway[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 75: 104255.
- [34] ZHANG M, YAN Z, BU L, et al. Rapeseed protein-derived antioxidant peptide RAP alleviates renal fibrosis through MAPK/NF- κ B signaling pathways in diabetic nephropathy[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2018, 12: 1255–1268.

The Preventive and Improving Effects of Black Bean Peptide on L-NAME Induced Hypertension in Mice

Huang Xinyu, Shao Ben, Cheng Dawei, Xu Mengdan, Li Xueling, Li Meiqing*

(Key Laboratory of Jianghuai Agricultural Product Fine Processing and Resource Utilization of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Anhui Engineering Research Center for High Value Utilization of Characteristic Agricultural Products, College of Food and Nutrition, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract Black soya ACE inhibitory peptide (<3 ku) was prepared, and a hypertensive mouse model was established by using *N*-nitro-*L*-arginine methyl ester induction, the mice were divided into control group, hypertensive model group, lisinopril drug group, the BSP low, medium and high dose groups (25, 50, 100 mg/kg) and *L*-NAME-induced simultaneous gavage BSP high-dose prophylaxis group (*L*-NAME+BSP). After 4 weeks of continuous gavage, plasma physiological indices were tested and histopathological sections of heart and kidney were observed to investigate the preventive and

ameliorative efficacy of BSP and its mechanism of action on hypertensive mice. The middle and high dose groups of BSP had significant antihypertensive effects on hypertensive mice ($P<0.05$), inhibited the rise of ACE, Ang II, MCP-1, IL-6 and ET-1 in plasma of mice ($P<0.05$), and significantly increased NO content ($P<0.05$), avoided the disorders of the RAS system of mice, and possessed the efficacy of anti-inflammation and maintenance of the normal function of the vascular cells, and reduced the degree of cardiac damage, fibrosis and renal inflammatory infiltration in mice. Meanwhile, the L-NAME+BSP group delayed the onset of hypertension symptoms in mice, showing a favorable preventive effect. This food-derived black soya ACE inhibitory peptide acts to prevent and ameliorate hypertension in mice by modulating the RAS system.

Keywords black soya; ACE inhibitory peptide; dietary prevention; lowering blood pressure; RAS system