

血管紧张素转化酶抑制肽的研究进展*

何海伦 陈秀兰 孙彩云 张玉忠**
(山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

摘要 血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)在血压调节方面起着重要的作用,当其受到抑制时血压就会降低。许多合成的 ACE 抑制剂被广泛地应用于临床,但会造成多种副作用。近年来,对天然 ACE 抑制肽的研究表明,一些来源于蛋白酶解产生的活性肽可以对 ACE 起到有效的抑制作用。综述了血管紧张素转化酶的抑制肽的降压原理,种类和来源以及结构特点等的研究进展,并对其应用前景进行了展望。
关键词 降压肽 血管紧张素转化酶(ACE) 血管紧张素转化酶抑制剂

高血压是威胁成年人健康的一个主要因素,当成人血压超过 21.3/12.7Kpa 便认为患有高血压症。近年来,随着人们生活水平的提高,高血压的发病率也呈上升趋势,全世界大约有 20% 的成年人受此威胁。高血压会引起患者心、脑、肾等器官损坏,并与脂质代谢紊乱和糖尿病有密切关系,严重时危及生命。因此,抗高血压药物的研究越来越引起国内外学者的重视。根据各类药物在血压调节系统中的主要影响及作用部位,传统上将降压药物分为五大类(表 1)^[1]。

表 1 抗高血压药物的分类

类别	代表药物
干扰肾上腺素能神经药物	可乐定、美加明、利血平、甲基多巴
血管扩张药物	肼苯哒嗪、硝普钠
钙拮抗剂药物	硝苯地平、维拉帕米、硫氮卓酮
利尿降压药物	氢氯噻嗪
血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂	卡托普利、洛沙坦、ACE 抑制肽

随着科学的发展,人们已经不仅仅满足于药物的治疗效果,对其安全性也愈加重视,而天然来源的 ACE 抑制肽作为一种降血压药物,符合了人们的这种需要。1965 年 Ferreira^[2] 首次在南美茅头蝮蛇(*Bothrops jararaca*) 毒液中发现了 ACE 抑制肽之后,多种 ACE 抑制肽应运而生。天然来源的 ACE

抑制肽具有安全性高,毒副作用小,易吸收等特点,有着合成化学药物不可比拟的优越性,成为抗高血压药物研究的热点之一。本文综述 ACE 抑制肽的研究进展,并对其应用进行了展望。

1 ACE 抑制肽降压的原理

在人的生理过程中,血压的调节主要是受到肾素-血管紧张素系统和激肽-激肽生成酶系统一对拮抗体系相互作用控制的。肾素进入血液,将血浆中的血管紧张素原 Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val Tyr Ser R 水解为血管紧张素 I (AT1) Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu,在血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme,简称 ACE)的作用下,血管紧张素 I 转化成血管紧张素 II (AT II) Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe,血管紧张素 II 可加强心肌的收缩力,并同时使血管平滑肌收缩造成血压上升。另一方面,激肽-激肽释放酶系统也受到 ACE 的调控,它可使具有血管舒张作用的缓激肽转变为没有活力的缓释肽,两个系统在 ACE 的协同作用下,造成了人体内血压的升高。如果能够抑制 ACE 的活性,就可以实现降压作用。ACE 抑制肽是一种 ACE 抑制剂,多数为竞争性抑制剂,也有少数的非竞争性和反竞争性抑制剂,如 Kazuya Nakagomi 等(2000) 在人血浆的胰蛋白酶酶解液中分离得到 2 种 ACE 抑制肽,它们分别通过非竞争性和反竞争性的作用机制,抑制 ACE 的活性,减少血管紧张素 II 的生成,从而抑制血压升高。

收稿日期: 2004-04-30 修回日期: 2004-06-02

* 国家“863”计划海洋生物技术主题资助项目(2003AA625040, 2003AA628100)

** 通讯作者, 电子信箱: zhangyz@sdu.edu.cn

2 ACE抑制肽的检测方法

目前ACE抑制肽活力主要采用体外和体内(动物实验)两种方法进行检测。

动物实验即原发性高血压鼠(sponataneously hypertensive rat, SHR)的活体检测方法,通过测量SHR摄入ACE抑制肽前后动脉收缩压的变化来测定ACE抑制肽作用的强弱。一般用16~30周龄的老鼠,采取口服或注射给药方式,血压测定用切尾法,并用MK-2000血压计测量^[3]。李年生等(2003)对此方法进行了改进,首先为麻醉的大鼠静脉注射六甲铵,以去除与肾素-血管紧张素无关的调节系统的影响,再依次注射ACE抑制肽和血管紧张素I,然后测定大鼠血压的变化。

体外检测现在常用的方法有三种,第一种是紫外分光光度法,由Cushman等^[4]提出。根据ACE在体内可以特异性地切下肽C末端两个氨基酸的作用原理,选择含有马尿酸(Hip)的三肽作为底物,并加入ACE和ACE抑制肽共同反应。在ACE把C末端二肽切下来后,通过在228nm测定Hip的光吸收,来确定ACE抑制肽的活力。第二种是色谱法,这种方法是在紫外分光光度法的基础上发展而来的,通过高压液相色谱仪及色谱柱检测产物中Hip的含量。该方法具有灵敏度高,准确性好的特点,目前有关ACE抑制肽的研究多采用这种方法^[5]。Wu Jianping等(2002)采用对称性C₁₈柱对ACE抑制反应进行检测,进一步提高了分离效率,缩短了分析时间。第三类,可见分光光度法,将底物换成了furanacryloyl-Phe-Gly-Gly(FAPGG),FAPGG本身带有蓝色,在ACE作用后光吸收减弱,不用乙酸乙酯浸提,不用高压液相色谱检测,更为方便实用^[6]。

此外,金等^[7]提出了用酶偶联法测定血管紧张素转化酶的方法,前步反应与Cheung和Cushman法一致,以Hip-Gly-Gly为底物,生成Hip和双甘肽Gly-Gly,再加入L- γ -谷氨酰-3-羧基-4-硝基苯胺(GGCN)和 γ -谷氨酰基转移酶(GGT),催化GGCN与Gly-Gly偶联,产生的3-羧基-4-硝基苯胺于410nm检测,此方法操作简便,重复性好,适用于手工操作。

3 ACE抑制肽的种类和来源

自1970年以来,不断有新的降压肽被发现,化

学合成的,从天然物质中分离提取的,更多的是蛋白经蛋白酶酶解产生的肽段。用于酶解的蛋白种类很多,其中主要是陆地蛋白资源,如大豆蛋白,乳蛋白,肌肉蛋白,卵蛋白、血清蛋白等^[8~10]。ACE抑制肽还从蔬菜蛋白,麸皮玉米醇溶蛋白,大麦醇溶蛋白,大蒜和油菜籽中被分离出来^[11~13]。国内的一些研究者在我国的特色食品,如即墨老酒、腐乳汁中也发现了具有降压作用的肽^[14]。近年来,海洋蛋白的酶解产物中也陆续发现了大量的降压肽,如沙丁鱼,金枪鱼、鲑鱼、小虾、螃蟹、海藻的酶解物中都发现了具有新的氨基酸序列的降压肽^[15,16]。海洋蛋白以其储藏量大、种类多等特点正逐步成为通过酶解筛选ACE抑制肽的重要原料,日益受到人们的关注,我们研究组正在从事海洋蛋白资源中分离降高血压活性肽的相关工作。很多蛋白通过蛋白酶酶解以后,酶解产物中都含有ACE抑制肽(表2),根据氨基酸序列的不同,它们的IC₅₀值从0.2 μ M~500 μ M不等。

活性肽一般都是以无活性的形式存在于蛋白质序列中,当蛋白通过加热、酸碱水解、蛋白酶解或微生物发酵等加工过程时被释放出来,成为有功能的活性肽。加热和酸碱处理蛋白条件剧烈,会对原料造成很大的破坏,而且后处理工序繁琐,专一性不强。而酶解方法条件温和,对环境污染小,简便可靠,所以,目前生产生物活性肽普遍采用酶解方法^[17]。常用的工具酶包括胰蛋白酶,碱性蛋白酶,胰凝乳蛋白酶,胃蛋白酶,木瓜蛋白酶,无花果蛋白酶,枯草蛋白酶,还有乳酸细菌发酵产生的蛋白酶。所使用的蛋白酶不同对ACE抑制肽的获取有很大的影响,Amhar等(1996)用7种不同的蛋白酶酶解乳清蛋白,发现木瓜蛋白酶,嗜热菌蛋白酶的酶解产物的ACE抑制活性较强,而胰蛋白酶的酶解产物对ACE抑制活性较弱。Arihara等^[18]用8种不同的蛋白酶酶解猪肉蛋白,嗜热菌蛋白酶酶解产物显示了较高的ACE抑制活性。因此,应根据蛋白资源的不同选择相应的工具酶,以便酶解物达到较好的ACE抑制效果。Suetsuna等^[19]还发现,将酶解液中得到的降压肽进一步酶解成更短的片段,往往比原来活性肽具有更高的ACE抑制活力。

表 2 来源于蛋白酶解物的血管紧张素转化酶抑制肽

Table 2 ACE inhibitory peptides from protein enzymatic hydrolysate

肽的氨基酸组成	蛋白酶	来源	研究者(年代)
RADHPF	胰凝乳蛋白酶	卵清蛋白	Matoba N 等 (1999)
DLP, DG	碱水解	大豆蛋白	Wu J P 等(2002)
HHL, GHKIATFQER	发酵	豆浆	Zae ir Skin 等(2001)
VY	碱性蛋白酶	沙丁鱼	Suetsuna K 等(1992)
LKPNM, LKP	嗜热菌蛋白酶	鲑鱼	Fujita H 等(1999)
AIYK, YKYY, KFYG, YNKL	胃蛋白酶	裙带菜	Suetsuna K 等(2000)
IVVE, AFL, FAL, AEL, VVPPA IAE, IAPG, VAF	胰蛋白酶	小球藻和螺旋藻	Suetsuna K 等(2001)
GLDIQK, LAHKAL, AGTWY, AVPYPQR, EMPFPK, YQQPVL, DAYPSGAW, AYFYP, VAGTWT, DELQDKIHPF	胰蛋白酶和胃蛋白酶	牛乳蛋白	Pihlantor Leppala A 等(1998)
YGL, VGINYWLHK, WLAHK, LAMA, LDAQSAPLR, VFK, VLDTDYK, ALPMH, CMENSA	胃蛋白酶, 胰蛋白酶	乳清蛋白	Pihlantor Leppala A 等(2000)
YGLF, YLLF, YL, HIR, IR	胃蛋白酶	牛奶	Mullally M M 等 (1996)
ALPMHIR	胰蛋白酶和胃蛋白酶	乳球蛋白	Mullally M M 等 (1997)
KVLVP, IPA	蛋白酶 K	酪蛋白	Alubakar A 等(1996)
FFVAPFPEVFGK	胰蛋白酶	酪蛋白	Manuyama S 等(1982)
FFVAP, AVPYPQR	脯氨酸专性内肽酶	酪蛋白	Manuyama S 等(1985)
TTMPLW	胰蛋白酶	酪蛋白	Manuyama S 等(1987)
YP	发酵(瑞士乳细菌 CPN4)	酸奶	Yamamoto N 等(1999)
VPP, IPP	发酵(瑞士乳杆菌)	酸奶	Masuda O 等(1996)
MNPPK, ITNP	胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶, 蛋白酶 E, 蛋白酶 K, 胃蛋白酶, 嗜热菌蛋白酶, 无花果蛋白酶, 木瓜蛋白酶	猪肉	Arihara K 等(2001)
GHL, GPV	碱性蛋白酶	猪皮凝胶	Se Kwon K 等(2001)
IY, RIY, VW, VWIS	胃蛋白酶, 胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶, 枯草蛋白酶, 嗜热菌蛋白酶	油菜籽蛋白	Marczak E D 等(2003)
KF, IF, IVY, MY, DGL, FY, TKY, LTF, FNF, AVL, GLY	胃蛋白酶, 胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶	蜂蜜蛋白	Matsui T 等(2002)
VW, VY, YW, RF	酶		
LRP, LSP, LNP, LPP	发酵	酒糟	Saito Y 等(1994)
IVY	水解	玉米醇溶蛋白	Miyoshi S 等(1991)
MRWRD, MRW, IAYKPAG, LRIPVA	胰蛋白酶	麦胚	Matsui T 等(2000)
	胃蛋白酶 胰蛋白酶复合酶解	菠菜核酮糖双磷酸羧化酶	杨严俊 等(2003)
GY	碱性蛋白酶	丝素	倪莉 等(2000)
YLYEIAR, LIY	胰蛋白酶	人血清蛋白	Kazuya Nakagami 等(2000)

4 ACE 抑制肽的结构特点

从表 2 中各种 ACE 抑制肽的氨基酸序列可以看出, 抑制 ACE 活性的肽具有以下结构特点: (1) 分子量比较低, 一般低于 1000 道尔顿, Hyun 等^[20]采用超滤的方法, 确证了这一点。而且分子量小利于肽在体内的吸收利用。(2) 疏水性的氨基酸残基占 60% 以上。研究发现 C 末端的两个氨基酸种类在结合血管紧张素转化酶的过程中起着关键作用, 如果是芳香族氨基酸或疏水性氨基酸残基, 则与 ACE 的结合能力强, 降压活性高^[21]。(3) Pro 的含

量高, 含 Pro 的降压肽的活性要高于不含 Pro 的降压肽。降压肽中的 Pro 还可以抑制体内蛋白酶对其的水解, 在体内起到更好的降压效果^[22]。

5 ACE 抑制肽的作用特点

目前, 大多用化学合成的 ACE 抑制剂如卡托普利 Captopril, 依那普利 Enalapril, 赖诺普利 Lisinopril 等药物来治疗高血压。这类药物具有作用时间短, 停药后血压易反弹等缺点。而且人工合成药物吸收排泄速度快, 会引起咳嗽, 丧失味觉, 肾脏损伤及血管神经性水肿等副作用^[23]。各种天然

来源ACE抑制肽是生物活性肽的一种,一般只包括几个氨基酸残基,可以快速地通过消化粘膜进入血液循环,起到降压的功能。它们对一些血压正常的动物或人没有降压作用,说明其对正常状态下的肾脏、血管的作用很小,具有安全性高,无毒副作用的特点。所以ACE抑制肽作为一种新的降压药物越来越受到人们的广泛关注。

6 ACE抑制肽的应用前景

由于天然ACE抑制肽没有什么毒副作用,具有合成降压药物所无法比拟的独特的优越性,而且它多存在于各种食物蛋白的酶解产物中,有着较大的应用价值和经济潜力,考虑到从酶解液中分离ACE抑制肽纯品的成本,更经济的途径是把酶解产物通过初步的分离后作为一种活性短肽的混合物加以使用。国内外的许多研究者也注意到了这个问题,主张开发具有调节血压作用的保健食品。混合肽粉不但具有较高的降血压功能,还具有一定的保健和营养价值,可以通过长期服用达到预防、控制、缓解、辅助治疗高血压的目的。

由于ACE抑制肽多是分子量较小的短肽,从酶解产物中分离得到并进行了序列分析后,可以考虑用肽的固相合成法来大批量的生产,这样要比直接从酶解产物中分离纯化可能更经济实惠,也可以满足药物生产的需要。

7 结束语

高血压症是当今最流行的心血管疾病,全球患病人数已愈5亿,因此,高血压防治已成为人类面临的一项艰巨任务。目前抗高血压药物研究向着长效化发展,希望可以制成缓释制剂,以加长在体内的疗效,而抗高血压肽本身具有高亲和力,稳定持久的药效,可使患者获得最佳的治疗效果,具有良好的发展前景。我国现在关于ACE抑制肽的研究还比较少,而且主要集中于对陆地蛋白资源的酶解物中降压肽的研究上。面对不断增加的高血压患者和人们对天然药物的青睐,如何利用各种蕴藏丰富海洋蛋白资源获取新型的、高活力的降压肽是需要我们致力研究的重要内容。

参考文献

- [1] 郭胜才,冯友根. 抗高血压药物研究新进展. 中国药学报, 2001, 36: 583~587

- [2] Ferreira S H. A bradykinin potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. Brit J Pharmacol, 1965, 24: 163~169
- [3] Nobuyuki Matoba, Hachiro Usui, Hiroyuki Fujita, et al. A novel antihypertensive peptide derived from ovalbumin induces nitric oxide mediated vasorelaxation in an isolated SHR mesenteric artery. FEBS Letters, 1999, 452: 181~184
- [4] Cushman D W, Cheung H S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. Biochem Pharmacol, 1971, 20: 1637~1648
- [5] Wu J P, Ding X L. Characterization of inhibition and stability of soy protein derived angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. Food Research International, 2002, 35: 367~375
- [6] Vermeiren V, Camp J V, Vertraete W. Optimisation and validation of an angiotensin converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. J Biochem Biophys Methods, 2002, 51: 75~87
- [7] 金化民, 张茨, 陈藏, 等. 酶偶联法测定血清血管紧张素转化酶. 中华医学检验杂志, 1998, 21: 362~365
- [8] Maeno M, Yamamoto N, Takano T. Identification of an Antihypertensive peptide from Casein Hydrolysate Produced by a protease from *Lactobacillus helveticus* CP790. Journal of Dairy Science, 1996, 79: 1316~1321
- [9] Nakashima Y, Arihara K, Sasaki A, et al. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. Journal of Food Science, 2002, 67: 434~437
- [10] Yoshii H, Tachi N, Ohba R, et al. Antihypertensive effect of ACE inhibitory oligopeptides from chicken egg yolks. Comparative Biochemistry and Physiology (Part C), 2001, 128: 27~33
- [11] Yang Y J, Marczak E D, Yokoo M, et al. Isolation and antihypertensive effect of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from spinach Rubisco. Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 4897~4902
- [12] Suetsuna K. Isolation and characterization of angiotensin I converting enzyme inhibitor dipeptide derived from *Allium sativum* L. (garlic). J Nutr Biochem, 1998, 9: 415~419
- [13] Marczak E D, Usui H, Fujita H, et al. New antihypertensive peptide isolated from rapeseed. Peptides, 2003, 24: 791~798
- [14] 倪莉, 饶平凡, 王璋. 腐乳中生理活性肽的分离和表征. 浙江农业大学学报, 1997, 23: 93~974
- [15] Yamamoto N. Antihypertensive peptides derived from food proteins. Biopolymers, 1997, 43: 129~134
- [16] Suetsuna K, Chen J R. Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. Marine Biotechnology, 2001, 3: 305~309
- [17] 何海伦, 陈秀兰, 张玉忠, 等. 海洋生物蛋白资源酶解利用的研究进展. 中国生物工程杂志, 2003, 23: 70~74
- [18] Arihara K, Nakashima Y, Mukai T, et al. Peptide inhibitors for angiotensin I converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. Meat Science, 2001, 57: 319~

324

[19] Suetsuna K, Nakano T. Identification of an antihypertensive peptide from peptic digests of wakame (*Undaria pinnatifida*). J Nutr Biochem, 2000, 11: 450~ 454

[20] Hyun C K, Shin H K. Utilization of bovine blood plasma proteins for the production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. Process Biochemistry, 2000, 36: 65~ 71

[21] Cheung H S, Wang F L, Ondetti M A, et al. Binding of peptide

substrates and inhibitors of angiotensin converting enzyme. The Journal of Biological Chemistry, 1980, 255: 401~ 407

[22] Kim S, Berwhistle W, Kim Y W. Peptide hydrolyses on the brush border and soluble fraction of small intestinal mucosa of rat and man. Journal of Clinical Investigation, 1972, 51: 1419~ 1430

[23] 季闽春, 王永铭, 陈斌艳. 血管紧张素转化酶抑制剂的皮肤不良反应. 中国临床药理学杂志, 1996, 12: 112~ 114

Research Progress in Inhibitory Peptides of Angiotensin Converting Enzyme

HE Hai lun CHEN Xiur lan, SUN Cair yun, ZHANG Yir zhong
(State Key Lab of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract Angiotensin converting enzyme (ACE) plays an important physiologic role in the blood pressure regulation. Specific inhibitors of ACE have shown itself to be useful as antihypertensive drugs. Many synthetic ACE inhibitors are available for clinical use, but some undesirable side effects may occur. Recently, there has been a trend toward development of natural ACE inhibitory peptides generated during enzymatic hydrolysis of various proteins. The active peptides from protein have significant antihypertensive effect, which is realized by inhibiting ACE activation. The research progresses of the ACE inhibitory peptides were reviewed, and their wide developmental prospects were also forecasted.

Key words Antihypertensive peptides ACE Inhibitors of ACE

欢迎订阅《遗传学报》、《遗传》杂志

《遗传学报》、《遗传》杂志是中国遗传学会和中国科学院遗传与发育生物研究所主办、科学出版社出版的一级学术期刊, 中文生物学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被美国化学文摘、生物学数据库、生物学文摘、医学索引以及俄罗斯文摘杂志等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。内容涉及遗传学、发育生物学、基因组与生物信息学以及分子进化等领域, 读者对象为基础医学、农林牧渔、生命科学各领域的科研、教学、开发人员, 大学生、研究生、中学生物教师等。

2002 年, 《遗传学报》、《遗传》的影响因子分别为 1. 0447 和 0. 8456。2003 年, 实现全文上网; 《遗传学报》获得“国家期刊奖百种重点期刊奖”和“百种中国杰出学术期刊”奖。2004 年, 实行网上投稿、网上审稿; 发行全文检索数据光盘。由高等教育电子音像出版社出版的《遗传学报》(1974~ 2003 年) 全文检索数据光盘定价 1800 元, 《遗传》(1979~ 2003 年) 全文检索数据光盘定价 1500 元, 两份光盘同时购买 8 折优惠, 欢迎邮购。

《遗传学报》(月刊) 邮发代号 2-819, 2005 年定价 30 元, 全年 360 元, 《遗传》(双月刊) 邮发代号 2-810, 2005 年定价 25 元, 全年 150 元。地址: 北京市安定门外大屯路 中国科学院遗传与发育生物研究所, 邮政编码: 100101, 主编: 薛勇彪, 编辑室主任: 李绍武, 电话/传真: 010-64889348, E-mail: swli@genetics. ac. cn, www. Chinagene. cn