

# 鮰鱼皮明胶 ACE 抑制肽降血压活性的研究

宋华曾<sup>1</sup>, 毕琳<sup>2</sup>, 吕顺<sup>1</sup>, 陆剑锋<sup>1</sup>, 叶应旺<sup>1</sup>, 姜绍通<sup>1</sup>, 林琳<sup>1</sup>

(1. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽合肥 230009)(2. 山东药品食品职业学院食品系, 山东威海 264210)

**摘要:** 鮰鱼皮为斑点叉尾鮰鱼片加工的主要副产物, 利用鮰鱼皮明胶制备降血压肽 (ACE 抑制肽) 可为鮰鱼皮的高值化利用提供参考。本文通过对原发性高血压大鼠 (SHR) 进行一次性及长期给药 (28 d) 实验, 研究鮰鱼皮明胶 ACE 抑制肽 (Mr<3000 Da) 的降血压作用, 并测定大鼠血清和肺组织中的 ACE 活性和 Ang II 含量。实验结果表明: 一次性给药和长期灌胃给药鮰鱼皮明胶 ACE 抑制肽均对 SHR 大鼠有显著降血压作用, 降血压效果呈剂量依赖性; 高剂量组 SHR 大鼠灌胃给药 2 h 后, 其收缩压由 206 mmHg 降至 159 mmHg; 高剂量组 SHR 大鼠经长期灌胃给药 10 d 后, 血压一直保持在 155 mmHg 左右; 同时, 鮰鱼皮明胶 ACE 抑制肽对正常血压大鼠的降血压作用不显著。鮰鱼皮明胶 ACE 抑制肽对 SHR 大鼠血清和肺组织中的 ACE 活性有显著的抑制作用, 从而使大鼠血清和肺组织中 Ang II 含量显著降低, 而对正常血压的 SD 大鼠的血清和肺组织中 ACE 活性和 Ang II 含量影响不显著。

**关键词:** 鮰鱼皮明胶; 水解; ACE 抑制剂; 多肽; 高血压

文章编号: 1673-9078(2014)2-78-83

## Antihypertensive Effects of Angiotensin-converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides from Channel Catfish Skin Gelatin

SONG Hua-zeng<sup>1</sup>, BI Lin<sup>2</sup>, LV Shun<sup>1</sup>, LU Jian-feng<sup>1</sup>, YE Ying-wang<sup>1</sup>, JIANG Shao-tong<sup>1</sup>, LIN Lin<sup>1</sup>

(1.School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

(2.Food department, Shandong Drug and Food Vocational College, Weihai 264210, China)

**Abstract:** Fish skin is the main byproduct in channel catfish file processing industrial. Preparation antihypertensive peptides using channel catfish skin gelatin can promote its utility value. Spontaneously hypertensive rats (SHR) and normal SD rats were used to assess the antihypertensive effects of the ACE inhibitory peptides under optimized condition *in vivo*. The ACE activity and Ang II contents in the serum and lung tissue of SHR were measured. The blood pressure of SHR was decreased significantly after one-time dosing experiment and long-term dosing study (28 days), and the antihypertensive effects were dose-dependent. The blood pressure of SHR in high dose group decreased from 206 mmHg to 159 mmHg after 2 h oral administration and remained around 155 mmHg after long-term oral administration for 10 days. Moreover, the ACE inhibitory peptides had no significant effect on normal SD rats. The ACE inhibitory peptide from channel catfish skin gelatin inhibited the ACE activity, and decreased the Ang II contents in serum and lung tissue of SHR. While there was no significant effect on ACE activity and Ang II content in serum and lung tissue for normal SD rats.

**Key words:** channel catfish skin gelatin; hydrolysis; Angiotensin-Converting Enzyme inhibitor; polypeptides; hypertension

高血压在世界范围内对健康有显著影响, 是心血管疾病的一个主要诱因<sup>[1]</sup>。中国作为世界上人口最多的国家, 目前心血管病患者人数约 2.3 亿, 其中高血压患病人数约 2 亿人, 每年有近 350 万人死于心血管疾病, 占总死亡人数的 41% 以上<sup>[2]</sup>。近几年来, 我国

收稿日期: 2013-10-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31000832); 国家农业科技成果转化资金项目 (2012GBZC300202)

作者简介: 宋华曾 (1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产生物活性物质

通讯作者: 林琳 (1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为水产品加工副产物高值化利用

高血压患病率持续增加, 部分省市调查提示成人高血压患病率已经达 25% 左右。2006 年估算, 我国高血压患者达 2 亿, 每 10 个成人中有 2 人是高血压患者。预估每年新增加高血压患者 1000 万, 至 2012 年患有高血压的人数已达到 2.6 亿人<sup>[3]</sup>。目前治疗高血压疾病主要采用 ACE 抑制剂 (ACEI) 类药物, 如卡托普利 (Captopril)、依那普利 (Enalapril)、赖诺普利 (Lisinopril) 等, 虽可以有效地抑制 ACE 的活性, 降低血压, 但是有明显的副作用, 长期服用会导致降压过度、泌尿系统病变、咳嗽、味觉失真及血管神经性水肿等副作用<sup>[4-5]</sup>。随着时代的进步, 人们越来越重视此类药物的安全性, 因此食源性 ACE 抑制剂的研究

应运而生,食源性 ACE 抑制肽来源广、纯天然,无毒性,吸收好,尤其是只对高血压患者起到降压效果,对血压正常者无降压作用,这就为治疗高血压提供了另一条出路。自 1965 年 Ferreirall 首次从南美洲蝮蛇蛇毒中分离得到一种的 ACEI 肽类物质后,人们又相继从酪蛋白<sup>[6]</sup>、荞麦蛋白<sup>[7]</sup>、鲑鱼皮明胶<sup>[8]</sup>、烹调虾汁<sup>[9]</sup>等多种食品原料和加工副产物中获得了 ACE 抑制肽。

斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 是安徽乃至全国的主要淡水养殖、加工品种,其要用于生产出口鲷鱼片,加工过程中会产生许多副产物,鲷鱼皮就是其中之一<sup>[10]</sup>。以鲷鱼皮明胶为原料,制备 ACE 抑制肽,可充分利用鱼皮资源,大大提高水产品加工业的附加值和经济效益。

本文利用胰蛋白酶和胃蛋白酶水解斑点叉尾鲷鱼皮明胶,经超滤后得到分子量小于 3000 Da 的 ACE 抑制肽,采用原发性高血压大鼠 (SHR) 为模型,进行一次性及长期灌胃给药实验,研究鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽对高血压大鼠的降血压作用,以及长期给药 ACE 抑制肽对 SHR 大鼠血清和肺组织中 ACE 活性和 Ang II 含量的影响,为鲷鱼加工副产物的综合利用探索一条新途径,并可为食源性 ACE 抑制肽进一步应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验原料与试剂

斑点叉尾鲷鱼皮,安徽省明光永言水产食品有限公司提供;胃蛋白酶 (5000 U/g),上海源聚生物科技有限公司;胰蛋白酶 (50000 U/g) 国药集团化学试剂有限公司;血管紧张素转化酶 (ACE)、马尿酸组氨酰亮氨酸 (N-hippuryl-his-leu hydrate, HHL), Sigma 公司;大鼠血管紧张素转化酶 (ACE) ELISA 检测试剂盒、大鼠血管紧张素 II (ANG-II) ELISA 检测试剂盒,北京鑫方程生物技术有限公司;其它化学试剂,分析纯。

#### 1.1.2 实验动物

SPF 级原发性高血压大鼠 (SHR), 28 只, 雄性; 8~9 周龄, 收缩压 > 180 mmHg, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

SD 大鼠 10 只, 雄性, 8~9 周龄, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

### 1.2 主要仪器设备

智能无创鼠尾血压计, 北京软隆生物技术有限公司; PHS-3C 精密 PH 计, 上海仪电科学仪器有限公司; CT15RT 台式高速冷冻离心机, 上海天美科学仪器有限公司; RE 52-97A 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; FD-1B-50 冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; SP-852 型紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; 漩涡振荡混合器, BioCote 公司; 352 型酶标仪, 芬兰 Labsystems Multiskan MS; AC8 型洗板机, 芬兰 Thermo Labsystems; GNP-9080 型隔水式恒温培养箱, 上海精宏实验设备有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 鲷鱼皮胶 ACE 抑制肽 ACE 抑制率测定<sup>[11]</sup>

取 ACE 抑制肽溶液, 对其 ACE 抑制活性进行测定, 依次于试管中加入 6.5 mmol/L HHL 溶液 100  $\mu$ L, ACE 抑制肽溶液 200  $\mu$ L, 100 mmol/L pH 8.3 磷酸盐缓冲液 200  $\mu$ L, 在 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴预热 3~5 min, 然后加入 ACE 酶液 500  $\mu$ L 启动反应, 37  $^{\circ}$ C 水浴 30 min 后, 加入 1 mol/L HCl 100  $\mu$ L 终止反应。然后加入 1.5 mL 乙酸乙酯, 混合均匀后进行离心 (4000 r/min, 10 min); 吸取上层乙酸乙酯 1 mL 移于另一试管中, 放入 120 $^{\circ}$ C 的烘箱中挥发溶剂 30 min, 拿出冷却后加入蒸馏水 6 mL, 漩涡混合后在 228 nm 下测定其吸光值, 计算公式如下:

$$ACE\text{抑制率}/\% = \frac{A_b - A_a}{A_b - A_c} \times 100\%$$

注:  $A_a$ : 样 a 的吸光度值, 样 a 在反应中加抑制剂, 是 ACE 与 HHL 加入抑制剂反应的样品;  $A_b$ : 样 b 的吸光度值, 样 b 在反应中不加抑制剂, 反应结束后添加抑制剂以维持整个反应体系平衡, 是 ACE 与 HHL 完全反应的对照;  $A_c$ : 样 c 的吸光度值, 样 c 在反应前先失活 ACE (提前加入 HCl), 再加抑制剂, 是 ACE 与 HHL 反应的空白样品。

#### 1.3.2 鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽的制备

##### 1.3.2.1 鲷鱼皮明胶的提取<sup>[12]</sup>

称取一定量的鱼皮, 剪成小块, 按料液比 1:6 用体积分数 10% 的正丁醇浸泡 1 d (脱脂), 然后加 0.05 mol/L NaOH 溶液 (料液比为 1:6) 浸泡 30 min, 水洗至中性, 再加质量分数 0.2% 硫酸溶液 (料液比为 1:6) 浸泡 30 min, 水洗至中性, 最后用热水浸提过夜, 4000 r/min 离心 20 min, 弃去沉淀不溶物, 得到粗胶制品, 于冷冻干燥机中冻干。

### 1.3.2.2 水解鲷鱼皮明胶制备 ACE 抑制肽<sup>[13]</sup>

称取一定量的明胶溶于 100 mL 蒸馏水中, 以此为底物。先加入 2.2% 的碱性蛋白酶, 在 pH 8.0, 温度 50℃ 的条件下酶解时间 3 h, 然后将水解液置于沸水浴中 10 min, 灭酶, 终止反应, 再加入 2.2% 的胃蛋白酶, 在 pH 2.0, 温度 37℃ 的条件下酶解时间 3 h。水解完成后, 将水解液置于沸水浴中 10 min, 灭酶, 终止反应, 然后迅速将水解液冷却至室温, 4000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液, 测定水解液的 ACE 抑制率。

### 1.3.2.3 鲷鱼皮明胶水解物超滤初步分离

取上清液用截留分子量为 3000 Da 的超滤膜超滤处理, 初步得到分子量大于 3000 Da 组分和分子量小于 3000 Da 组分, 以上 2 种产物分别测定其体外 ACE 抑制率。

## 1.3.3 ACE 抑制肽的体内降血压作用实验

### 1.3.3.1 SHR 大鼠的分组

采用 SPF 级雄性 SHR 大鼠, 自由采食和饮水, 定期消毒, 预饲养一周, 保持环境温度 25±1℃, 相对湿度(55±5)%。在 SHR 大鼠适应环境后, 选取体重和血压相近的大鼠进行实验。将大鼠随机分为 4 组, 每组 7 只, 将 4 组 SHR 大鼠分别对应阳性对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 分别给药: 卡托普利、低、中、高剂量 ACE 抑制肽。选取普通 SPF 级雄性 SD 大鼠, 自由采食和饮水, 定期消毒, 预饲养一周, 保持环境温度 25±1℃, 相对湿度(55±5)%。在 SD 大鼠适应环境后, 选取体重相近的大鼠, 随机分为 2 组, 每组 5 只, 将这两组定为正常血压给药组(简称正常给药组)和正常血压空白对照组(简称空白对照组), 分别给药: 中剂量 ACE 抑制肽和蒸馏水。

### 1.3.3.2 一次性灌胃给药

将鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽以低剂量(75 mg/kg·bw)、中剂量(150 mg/kg·bw)和高剂量(300 mg/kg·bw) 3 个剂量组分别灌胃 SHR 大鼠, 阳性对照组灌胃给予 5 mg/kg·bw 卡托普利; 另外 2 组正常血压 SD 大鼠分别灌胃给予中剂量 ACE 抑制肽(150 mg/kg·bw)和相应剂量的蒸馏水。测定灌胃后 0、2、4、6、8 h 时大鼠的血压。

### 1.3.3.3 长期连续灌胃给药

在一次性灌胃研究的基础上, 进行长期灌胃试验。连续 28 d 定时灌胃给予 6 组大鼠蒸馏水、卡托普利以及低(75 mg/kg·bw)、中(150 mg/kg·bw)、高剂量(300 mg/kg·bw) 的 ACE 抑制肽, 每天测定灌胃前及灌胃 2 h 后大鼠的血压。

### 1.3.3.4 大鼠血压的测量方法

采用无创鼠尾血压仪测定清醒大鼠的血压。

### 1.3.3.5 大鼠体内 ACE 活性与 Ang II 含量测量

长期连续灌胃给药大鼠 28 d 后。对各组动物断食、断水 1 d 后, 处死。取血清和肺组织, 采用 ELISA 试剂盒对血清及肺组织中 ACE 活性和 Ang II 含量进行测量。

## 1.4 数据统计处理方法

对数据进行方差分析, 数据采用  $\bar{x} \pm s$  来表示, 组间比较采用 t 检验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 鲷鱼皮明胶水解液超滤处理前后 ACE 抑制活性的变化

酶解液经超滤后, 得到 2 个组分的溶液, 分别为分子量 <3000 Da 和 >3000 Da 组分。超滤前, 酶解液呈现黄色; 超滤后, 分子量大于 3000 Da 的组分的黄色加重, 分子量小于 3000 Da 组分的颜色变浅, 基本上澄清。收集 2 组分冷冻干燥, 将各组分分别配制成 10 mg/mL 的溶液, 测定其 ACE 抑制率, 结果见表 1。从表 1 可以看出, 鲷鱼皮明胶水解液经超滤处理后, 得到的分子量小于 3000 Da 的组分 ACE 抑制率较未超滤处理的酶解液有所提高, 而分子量大于 3000 Da 的组分的 ACE 抑制率较未超滤处理的酶解液低, 这与 Byun<sup>[14]</sup>及 Fujita<sup>[15]</sup>等人的研究结果一致。将超滤得到的分子量小于 3000 Da 组分收集, 进行大鼠体内降血压作用实验。

表 1 超滤后各组分的 ACE 抑制率

Table 1 ACE inhibitory activity of each fraction obtained from ultra-filtration

酶解液组分	Da<3000	Da>3000	未超滤酶解液
ACE 抑制率/%	82.36±3.78	71.97±1.66	75.33±3.61

### 2.2 ACE 抑制肽的体内降血压作用

#### 2.2.1 鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽一次性灌胃给药对大鼠血压的影响

图 1 为 SHR 大鼠及正常血压 SD 大鼠经 ACE 抑制肽一次性灌胃后的血压变化情况。从图 1 可以看出 SHR 大鼠在灌胃给药后 2 h, 血压降低明显, 灌胃 6 h 后其血压到达最低值, 然后血压开始上升。SHR 大鼠的初始血压为 196 mmHg 左右, 灌胃给药 2 h 后, 阳性对照组(灌胃卡托普利) SHR 大鼠的血压降低最明显 ( $p < 0.05$ ), 其血压降至 154 mmHg, 高、中、低剂



量组 SHR 降血压效果依次递减, 血压分别降至 157 mmHg、158 mmHg 和 175 mmHg。正常给药组和空白对照组血压变化不大 ( $p>0.05$ )。一次性灌胃后可发现鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽具有降血压效果, 灌胃剂量越大降血压效果越明显, 而且对正常大鼠血压无显著影响。

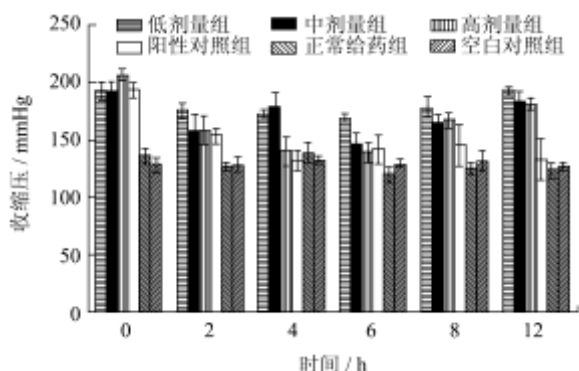


图1 一次性灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠血压的影响  
Fig.1 Effects on the blood pressure of SHRs and SD rats after one-time dosing irrigation of ACE inhibitory peptide from channel catfish skin gelatin

### 2.2.2 鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽长期连续灌胃对大鼠血压的影响

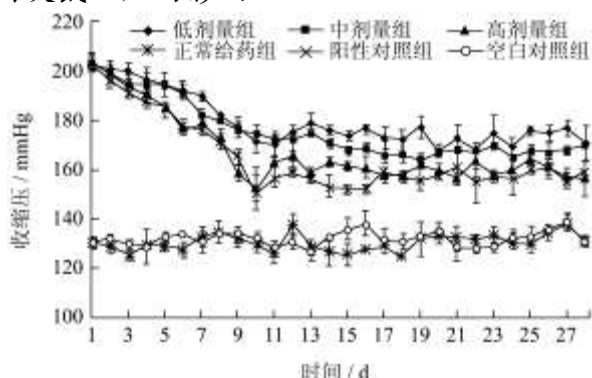


图2 连续灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠血压的影响  
Fig.2 Effects on the blood pressure of SHRs and SD rats after long-time dosing irrigation of ACE inhibitory peptide from channel catfish skin gelatin

在 28 d 的实验周期内, 每天定时在灌胃前和灌胃后 2 h 测定各组大鼠的血压, 图 2 为 28 d 连续灌胃给药期间各组大鼠灌胃前的血压变化情况。由图 2 可以看出灌胃给药鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽后, 前 10 d 期间内, 各组 SHR 大鼠 (低、中、高剂量给药组和卡托普利组) 的血压较 SHR 大鼠初始血压均有显著降低 ( $p<0.05$ ), 给药剂量越大, SHR 大鼠血压降低越明显, 其中高剂量给药组的血压降低的效果与卡托普利的降血压作用接近; 灌胃给药 10 d 后, 各组 SHR 大鼠的血压趋于平稳, 其中高剂量组和阳性对照组 SHR 大鼠的血压在给药 10 d 后均一直在 155 mmHg 左右波

动。正常给药组的正常血压 SD 大鼠在整个实验周期内, 血压基本保持稳定, 变化不显著 ( $p>0.05$ ), 与空白对照组大鼠的血压变化基本保持一致, 说明鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽对于正常血压的大鼠无显著降血压作用。

### 2.2.3 连续灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽期间灌胃前后大鼠血压的变化

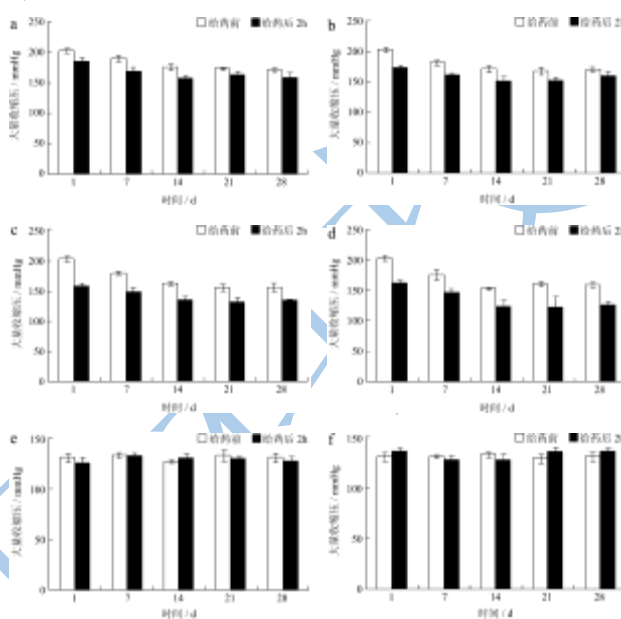


图3 连续灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽给药前后大鼠血压的变化  
Fig.3 Changes of blood pressure of SHRs and SD rats before and after long-time dosing irrigation of ACE inhibitory peptide from channel catfish skin gelatin

注: a: 低剂量组, b: 中剂量组, c: 高剂量组, d: 阳性对照组, e: 正常给药组, f: 空白对照组。

图 3 为 28 d 连续灌胃期间内, 每组大鼠灌胃前和灌胃后 2 h 血压的变化情况。从图中可以看出, 灌胃高、中、低剂量鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽及灌胃卡托普利的 SHR 大鼠, 在灌胃给药 2 h 后, 血压都有显著降低 ( $p<0.05$ ), 同时, 在 28 d 给药期间内, SHR 大鼠的血压呈下降趋势; 正常血压的大鼠在灌胃给药鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽后, 其血压下降不显著 ( $p>0.05$ ), 在整个给药期间, 其血压下降不显著 ( $p>0.05$ ), 其血压与正常对照组大鼠的基本持平。

### 2.2.4 长期灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠体重的影响

表 2 为长期灌胃给药前后各剂量组大鼠的平均体重变化。由表 2 可以看出 SHR 大鼠在灌胃鱼皮明胶 ACE 抑制肽的整个实验周期里, 灌胃剂量越高, 平均体重增长越多, 但显著少于正常血压大鼠的体重增长 ( $p<0.05$ ), 这可能是由于 SHR 大鼠自身的身体因素造成的; 与灌胃鲷鱼皮明胶 ACE 抑制肽相比较, 阳

性对照组(灌胃卡托普利)的大鼠体重增长数值最小,但差异不显著( $p>0.05$ )。正常血压的SD大鼠在整个实验周期内,体重增长幅度较大,其中正常血压大鼠

灌胃鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽的正常给药组的体重增幅最大,鱼皮明胶 ACE 抑制肽对正常血压个体体重增加的影响,还需做进一步研究。

表 2 实验前后各剂量组大鼠体重变化\*

Table 2 Changes of body weight of different dose groups before and after long term dosing study

组名	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	正常给药组	空白对照组
试验前(平均) g	240.50±5.54	233.33±7.55	239.30±5.93	233.40±1.82	262.00±22.61	225.50±20.51
试验后(平均) g	275.17±10.15	269.75±17.35	278.67±12.85	266.33±12.90	474.10±5.57	323.00±12.73
体重差值 g	34.67±8.12 <sup>c</sup>	36.42±13.77 <sup>c</sup>	39.56±13.57 <sup>c</sup>	32.93±12.86 <sup>c</sup>	212.10±22.54 <sup>a</sup>	97.50±7.78 <sup>b</sup>

注: \*表中不同的上标字母表示差异显著 ( $p<0.05$ )。

### 2.2.5 长期灌胃给药鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠血清和肺组织中 ACE 活性的影响

ACE(血管紧张素转化酶)是生物体中肾素-血管紧张素系统(Renin-Angiotensin System, RAS)的重要组成部分,主要作用于血管紧张素 I(Ang I),使其失去 C-端二肽形成血管紧张素 II(Ang II),ACE 的活性对于血压有很大的影响<sup>[6]</sup>。

表 3 中列出了在长期灌胃鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽后,各组实验大鼠血清和肺组织中 ACE 的活性。由表 3 可以看出低剂量组的血清中和肺组织中的 ACE

活性最高,中剂量组和高剂量组依次递减,这表明服用鱼皮明胶 ACE 抑制剂可抑制相关组织和器官中 ACE 的活性。与鱼皮明胶 ACE 抑制肽相比,卡托普利(阳性对照组)对 SHR 大鼠血清和组织中的 ACE 的活性影响较显著,阳性对照组的 SHR 大鼠血清和肺组织中的 ACE 的活性基本接近正常给药组和空白对照组。中剂量给药组和高剂量给药组血清中 ACE 活性与阳性对照组和正常给药组基本接近( $p>0.05$ ),但肺组织中 ACE 活性与阳性对照组及正常给药组和空白对照组有显著差异( $p<0.05$ )。

表 3 各组大鼠血清和组织中 ACE 活性比较\*

Table 3 The ACE activity in the serum and lung tissue of different dose groups

组名	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	正常给药组	空白对照组
血清中 ACE 活性/(U/L)	98.51±2.31 <sup>a</sup>	91.19±2.06 <sup>ab</sup>	89.39±8.54 <sup>b</sup>	87.59±4.13 <sup>b</sup>	84.66±2.87 <sup>b</sup>	85.34±1.91 <sup>b</sup>
肺组织中 ACE 活性/(U/L)	785.15±2.66 <sup>a</sup>	742.55±15.33 <sup>b</sup>	549.38±22.56 <sup>c</sup>	330.55±11.46 <sup>d</sup>	316.35±7.75 <sup>de</sup>	278.50±6.62 <sup>e</sup>

注: \*表中不同的上标字母表示差异显著 ( $p<0.05$ )。

### 2.2.6 长期灌胃给药鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠血清和肺组织中 Ang II 含量的影响

在生物体的肾素-血管紧张素系统中,血管紧张素 II(Ang II)是由 ACE 作用于血管紧张素 I(Ang I),使其失去 C-端二肽所形成的。Ang II 是一种血管收缩剂,增加周围血管阻力,同时刺激醛固酮的合成和释放,导致血压上升<sup>[7]</sup>。

表 4 中列出了长期灌胃试验后各剂量组实验动物

血清中和肺组织中 Ang II 含量。从表 4 中可以看出,正常 SD 大鼠(正常给药组和空白对照组)血清和肺组织中的 Ang II 含量显著低于 SHR 大鼠( $p<0.05$ )。SHR 大鼠随着灌胃给药鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽的剂量的增大,其血清和肺组织中 Ang II 的含量逐渐下降,呈剂量依赖性;灌胃卡托普利的阳性对照组大鼠血液和肺组织中的 Ang II 含量显著低于灌胃鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽的各组。

表 4 各组大鼠血清和组织中 Ang II 含量比较\*

Table 4 The Ang II content in the serum and lung tissue of different dose groups

组名	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组	正常给药组	空白对照组
血清中 Ang II 含量/(pg/mL)	767.77±7.70 <sup>a</sup>	749.57±5.21 <sup>a</sup>	703.23±5.90 <sup>b</sup>	682.60±6.38 <sup>c</sup>	647.15±5.14 <sup>d</sup>	632.29±6.30 <sup>d</sup>
肺组织中 Ang II 含量/(pg/mL)	790.53±11.79 <sup>a</sup>	767.40±22.66 <sup>a</sup>	674.47±8.47 <sup>b</sup>	622.25±15.87 <sup>c</sup>	442.60±17.56 <sup>d</sup>	459.74±8.51 <sup>d</sup>

注: \*表中不同的上标字母表示差异显著 ( $p<0.05$ )。

## 3 结论

本文采用以斑点叉尾鲑鱼皮明胶为原料制备的 ACE 抑制肽,对原发性高血压大鼠(SHR)及正常血压大鼠(SD)进行一次性及长期给药试验,考察鲑鱼

皮明胶 ACE 抑制肽对大鼠的降血压作用。试验结果表明:一次性灌胃给药实验后,SHR 大鼠的血压明显降压,灌胃后 2 h,SHR 大鼠的血压降低明显,灌胃 6 h 后大鼠血压到达最低值,然后血压开始上升;长期给药后,SHR 大鼠血压得到降低,且呈剂量依赖性,

相比于卡托普利类降压药物,用量偏大,但是因为其来源于食品,鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽安全性更高。通过对 SHR 大鼠和正常血压 SD 大鼠灌胃鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽的对比实验来看,鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽对正常血压的 SD 大鼠的血压没有显著影响。长期灌胃给药鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽后,对大鼠血清和肺组织中的 ACE 活性和 Ang II 含量进行测定,结果表明服用鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽的大鼠的 ACE 活性与 Ang II 含量呈剂量依赖性降低,鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽通过抑制相关组织和器官中的 ACE 活性,从而减少了 Ang II 的生成,而起到了降低血压的作用。鉴于其降压效果及安全性,鲑鱼皮明胶 ACE 抑制肽作为辅助高血压治疗的功能性食品具有一定的开发前景。

### 参考文献

- [1] Fang H, Luo M, Sheng Y, et al. The antihypertensive effect of peptides: A novel alternative to drugs? [J]. *Peptides*, 2008, 29 (6): 1062-1071
- [2] 卫生部心血管病防治研究中心.中国心血管病报告 2011 [M].北京:中国大百科全书出版社,2012  
Research center for cardiovascular disease prevention of ministry of health. *Chinese Cardiovascular Disease Report 2011* [M]. Beijing: Encyclopedia of China Publishing House, 2012
- [3] 王文.我国高血压防治的现状与对策[J].*医学研究杂志*, 2012,41(5):3-5  
Wang W. Status and counter measure about prevention and control of hypertension in China [J]. *Journal of Medical Research*, 2012, 41 (5): 3-5
- [4] Vercruyse L, Van Camp J, Smaghe G. ACE inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysates of animal muscle protein: a review [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53 (21): 8106-8115
- [5] Vyssoulis G P, Kapanou E A, Papavassiliou M V, et al. Side effects of antihypertensive treatment with ACE inhibitors [J]. *American Journal of Hypertension*, 2001, 14 (4, sl): A114-A115
- [6] Yamada A, Sakurai T, Ochi D, et al. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from bovine casein [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 3781-3789
- [7] 任清,张晓平,刘丫丫,等.荞麦蛋白的提取及其酶解产物 ACE 抑制活性的研究[J].*食品科技*,2009,34(4):175-178  
Ren Q, Zhang X P, Liu Y Y, et al. Study on extraction of buckwheat protein and the angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activities of the hydrolysates [J]. *Food Science and Technology*, 2009, 34 (4): 175-178
- [8] Ngo D H, Ryu B M, Kim S K. Active peptides from skate (*Okamejeie kenoejei*) skin gelatin diminish angiotensin-I converting enzyme activity and intracellular free radical-mediated oxidation [J]. *Food Chemistry*, 2014, 143: 246-255
- [9] Pérez-Santín E, Calvo M M, López-Caballero M E, et al. Compositional properties and bioactive potential of waste material from shrimp cooking juice [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 54 (1): 87-94
- [10] 龚钢明,顾慧,蔡宝国.鱼类加工下脚料的资源化与利用途径[J].*中国资源综合利用*,2003,7:23-24  
Gong G M, Gu H, Cai B G. The Approach of resource utilization on fish processing waste [J]. *China Resources Comprehensive Utilization*, 2003, 7: 23-24
- [11] 林琳,李八方,吕顺.鱿鱼皮明胶水解物降血压活性研究[J].*中国海洋大学学报*,2010,40(4):43-46  
Lin L, Li B F, Lv S. Studies on the antihypertensive activity of squid (*Dosidicus eschrichtii* Steenstrup) skin gelatin hydrolysates [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2010, 40 (4): 43-46
- [12] 王运改,林琳,李明辉,等.鲑鱼皮明胶抗氧化肽的制备工艺研究[J].*食品科学*, 2010, 31(19): 254-258  
Wang Y G, Lin L, Li M H, et al. Enzymatic preparation of antioxidant peptides from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin [J]. *Food Science*, 2010, 31(19): 254-258
- [13] 张效荣,吕顺,陆剑锋,等.酶解鲑鱼皮明胶制备 ACE 抑制肽的工艺条件优化[J].*食品工业科技*,2012,33(18):302-305  
Zhang X R, Lv S, Lu J F, et al. Optimization of hydrolysis conditions for production of angiotensin- I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from channel catfish skin gelatin [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(18): 302-305
- [14] Byun H G. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska Pollack skin [J]. *Process Biochemistry*, 2001, 36 (12): 1155-1162
- [15] Fujita H, Yamagami T, Oshiman K. Effects of an ACE-inhibitory agent, katsuobushi oligopeptide, in the spontaneously hypertensive rat and in borderline and mildly hypertensive subject [J]. *Nutrition Research*, 2001, 21 (8): 1149-1158
- [16] Brown N J, Vaughan D E. Angiotensin-converting enzyme inhibitors [J]. *Circulation*, 97 (14): 1411-1420

[17] 段秀,张玉锋,庄永亮.食源性血管紧张素转化酶抑制肽研究进展[J].食品工业科技,2012,33(20):388-393  
Duan X, Zhang Y F, Zhuang Y L. Research Progress in

food-derived angiotensin converting enzyme inhibitory peptides [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33 (20): 388-393

