

红毛藻多糖对血管紧张素转换酶活性的抑制作用

宋田源¹, 陈艳红^{1,2,3}, 倪 辉^{1,2,3}, 朱艳冰^{1,2,3}, 杜希萍^{1,2,3},
蔡 薇^{1,4}, 蔡慧农^{1,2,3}, 姜泽东^{1,2,3}

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建 厦门 361021; 3. 厦门南方海洋研究中心海藻资源化利用与深加工重点实验室, 福建 厦门 361021; 4. 厦门市疾病预防控制中心, 福建 厦门 361021)

[摘要] 采用热水抽提和乙醇沉淀的方法对红毛藻(*Bangia fusco-purpurea*)粗多糖组分进行提取分离, 利用 Sephadex G75 凝胶柱层析和 DEAE Cellulose 52 阴离子交换柱层析纯化后, 分析其对血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)活性的抑制作用, 并利用高效液相色谱和离子色谱等方法, 分析活性片段的组成特征, 利用酶动力学研究红毛藻多糖活性片段对 ACE 活力的抑制类型。结果表明, 经提取和分离纯化后, 得到3个多糖片段 P1、P2 和 P3。酶活性分析结果表明, 多糖组分 P1 对 ACE 活性有显著的抑制作用, 并且抑制作用呈现多糖浓度依赖性, 其 IC_{50} 为 0.34 g/L。利用高效液相色谱法和离子色谱法对 P1 的单糖组分和硫酸基团含量进行分析, 结果表明, P1 主要由阿拉伯糖(88.07%)、葡萄糖(4.55%)和糖醛酸(6.67%)组成, 硫酸根质量分数为 0.02%。酶促动力学和 Lineweaver-Burk 作图分析结果表明, P1 对 ACE 的抑制类型为可逆非竞争性抑制。

[关键词] 红毛藻多糖; 血管紧张素转换酶; 抑制作用; 降血压; 酶动力学

[中图分类号] TS 201.2

Inhibitory Effect of a Polysaccharide Fraction Prepared from Red Seaweed *Bangia fusco-purpurea* on Angiotensin Converting Enzyme

SONG Tianyuan¹, CHEN Yanhong^{1,2,3}, NI Hui^{1,2,3}, ZHU Yanbing^{1,2,3}, DU Xiping^{1,2,3}, CAI Wei^{1,4},
CAI Huinong^{1,2,3}, JIANG Zedong^{1,2,3}

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering Technology, Xiamen 361021, China;

3. Key Laboratory of Systemic Utilization and In-depth Processing of Economic Seaweed, Xiamen Southern Ocean Technology Center of China, Xiamen 361021, China; 4. Xiamen Center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361021, China)

Abstract: The crude polysaccharides were extracted from *Bangia fusco-purpurea* by soaking in hot water and alcohol precipitation. Sephadex G75 gel filtration chromatography and DEAE ion exchange chromatography were used for the purification. The inhibitory activity and type on angiotensin converting enzyme(ACE) were analyzed by enzyme kinetic assay. The composition of polysaccharide fraction was investigated by HPLC and ion chromatography. The main results were as follows: the enzyme activity analysis demonstrated that P1 signifi-

[收稿日期] 2017-05-18

[修回日期] 2017-05-29

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31501441); 福建省自然科学基金项目(2015J01140); 集美大学科研基金项目(ZC2014008)

[作者简介] 宋田源(1992—), 男, 硕士生, 主要从事海藻多糖分离纯化及生物活性研究。通信作者: 姜泽东(1982—), 男, 副教授, 博士, 主要从事海藻加工研究, E-mail: zdjiang@jmu.edu.cn。

cantly inhibited the activities of ACE in a concentration-dependent manner, and the IC₅₀ values of P1 against ACE were estimated to be 0.34 g/L. The sugar composition analysis revealed that P1 fraction mainly consisted of arabinose(88.07%) together with a small amount of uronic acid(6.67%), glucose(4.55%) and sulfate groups(0.02%). Furthermore, the results of the kinetic analysis demonstrated that P1 inhibited ACE through the reversible inhibition and its inhibition type followed non-competitive inhibition.

Keywords: *Bangia fusco-purpurea* polysaccharide; angiotensin converting enzyme; inhibition effect; hypotensive; enzyme kinetic

0 引言

高血压是一种以血压超过正常标准为主要特征的常见心血管疾病,长期的高血压会引起身体组织器官发生病变,导致急性、慢性并发症的发生,如抵抗力下降、肾功能受损、心脑血管疾病、糖尿病等^[1]。近年来,研究表明,血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)与体内血压有密切关系^[2-3]。ACE广泛存在于哺乳动物的各组织中,在生物体的肾素-血管紧张素系统(RAS系统)和激肽释放酶-激肽系统(KKS系统)中同时存在^[4]。ACE可以将无活性的血管紧张素I(angiotensin I, Ang-I)转化成具有收缩血管作用的血管紧张素II(angiotensin II, Ang-II),同时使具有血管舒张作用的舒缓激肽失活,导致血压升高^[5]。因此,ACE抑制剂可通过抑制ACE的活性有效抑制Ang-II的合成来控制高血压。目前,用来预防和治疗高血压的ACE抑制剂类药物多为化学药物,如依那普利和赖诺普利等,这些药物效果虽好,但毒副作用较大,不适于长期服用^[6]。因此,筛选和开发新型安全的抑制ACE的天然活性物质仍是目前降血压功能性食品和医药品领域的研究热点之一。

多糖是海藻的主要成分之一,也是重要的海洋生物活性物质来源。近年来,海藻多糖的多种有益生物活性及活性机制被广泛地研究和报道,如抗氧化、降血脂、降血糖等^[7-8],但在海藻多糖的降血压活性方面的研究相对较少。朱海波等^[9-10]研究发现,对肾血管性高血压大鼠模型投喂褐藻多糖硫酸酯可有效地增加大鼠血液中血管内皮舒张因子一氧化氮的浓度,并降低血液中内皮素(具有血管紧张素转换酶活性)和Ang-II的浓度来调节血压。Hemlatha等^[11]从马尾藻(*Sargassum siliculosum*)中分离得到一种多糖,可以抑制ACE活性,具有潜在的降血压功效。另外,多糖的组成以及部分结构特征对于多糖生物活性起着重要作用,如任丹丹等^[12]报道,海带浸提液对ACE的活性有着较强的抑制作用,其中硫酸根含量较高,推测其可能对ACE的活性有着一定影响。红毛藻(*Bangia fusco-purpurea*)是我国特有的重要经济红藻资源,在东南沿海特别是福建省海域大量栽培。近年,研究表明,红毛藻具有降血压、降血脂、防止动脉粥样硬化等作用^[13-15],但对于其降血压的活性机理尚不明确。本文对红毛藻多糖进行提取、分离和纯化,分析其多糖组分对ACE活性的影响,通过分析其对ACE的抑制动力学特性,解析其抑制类型,为进一步阐明红毛藻降血压的食药作用机制奠定理论基础和提供科学依据,从而可以更高效地开发利用红毛藻资源。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜红毛藻采集于福建省莆田市南日岛海域。

ACE(EC 3.4.15.1)、马尿酸组氨酰亮氨酸(*N*-hippuryl-his-leu hydrate, HHL)、葡聚糖(Dextran)标准品(5, 15, 25, 50 ku)、单糖标准品(*L*-岩藻糖, *D*-葡萄糖, *D*-半乳糖, *D*-阿拉伯糖, *D*-木糖, 等)均购于美国Sigma-Aldrich公司;甲醇、乙醇、氯化钠、苯酚、浓硫酸等均为分析纯,购于上海国药集团化学试剂有限公司。

1.2 红毛藻粗多糖的提取

红毛藻粗多糖的提取采用水提-醇沉法^[16]。新鲜红毛藻洗净后,置于烘箱中50℃烘干至恒重,

之后用粉碎机粉碎。烘干的藻粉加入适量甲醇反复浸泡清洗 3 次, 并浸泡过夜, 去除部分色素物质和醇溶性杂质。浸泡后经 5200 r/min 离心 15 min, 沉淀取出, 加入 1 L 蒸馏水加热至 90 ℃ 进行热水抽提 2 h, 经 5200 r/min 离心 20 min 后, 取上层清液, 残渣重复加入 1 L 蒸馏水进行热水抽提 2 h, 经离心后, 合并上清液, 真空蒸发浓缩至 500 mL, 4 ℃ 下逐滴加入体积分数 99.99% 的乙醇使体系终体积分数达到 75%, 4 ℃ 下静置过夜。经 13 000 r/min 离心 10 min 后, 收集沉淀完全溶解于适量蒸馏水中, 经 3000 u 截留的透析膜透析后, 冷冻干燥, 得红毛藻粗多糖。

1.3 红毛藻多糖的纯化

采用葡聚糖凝胶 Sephadex G75 和 DEAE Cellulose 52 柱层析法对多糖进行纯化^[17-18]。将粗多糖溶于蒸馏水, 配制质量浓度为 5 g/L 的粗多糖溶液, 经 0.45 mm 水系针头滤膜过滤后, 上样于 Sephadex G75 凝胶层析柱 (16 mm × 100 mm), 采用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液进行洗脱, 洗脱下来的多糖片段采用自动部分收集器连续收集 40 管 (5 mL/管) 收集。利用苯酚硫酸法于 490 nm 处跟踪检测洗脱情况, 横坐标设定为收集管数, 纵坐标设定为吸光度值, 作出洗脱图。合并洗脱峰, 经透析脱盐后, 冷冻干燥, 得到初步纯化的红毛藻多糖。将经 Sephadex G75 凝胶柱层析法纯化后得到的多糖用一定量蒸馏水溶解, 使其质量浓度为 5 g/L, 经 0.45 mm 水系针头滤膜过滤后上样于 DEAE Cellulose 52 层析柱 (2.6 mm × 200 mm), 利用 0, 0.1, 0.3, 0.5 mol/L NaCl 溶液进行分段洗脱, 采用苯酚硫酸法跟踪检测每一收集管的多糖含量情况, 至无多糖洗脱出为止, 各洗脱峰分别经透析脱盐后, 冷冻干燥, 得到纯化的不同多糖组分。

1.4 红毛藻多糖对 ACE 的抑制试验

取不同质量浓度的各多糖组分溶液 (0, 125, 250, 500, 1000 g/L), 对其 ACE 抑制活性进行测定^[19], 依次于试管中加入 6.5 mmol/L 底物 HHL 溶液 100 mL, 不同浓度的各多糖组分溶液 200 mL, 100 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH = 8.3) 200 mL, 在 37 ℃ 恒温水浴预热 3 ~ 5 min, 然后加入 ACE 酶液 500 mL 启动反应, 37 ℃ 水浴 30 min 后, 加入 1 mol/L HCl 100 mL 终止反应。然后加入 1.5 mL 乙酸乙酯, 混合均匀后进行离心 (5200 r/min, 10 min); 吸取上层乙酸乙酯 1 mL 移于另一试管中, 放入 120 ℃ 的烘箱中挥发溶剂 30 min, 冷却后加入蒸馏水 6 mL, 混匀后在 228 nm 下测定其吸光度值, 计算公式如下: ACE 抑制率/% = $(A_b - A_a)/(A_b - A_c) \times 100$, 其中: A_a 表示 ACE 与底物 HHL 加入抑制剂反应的样品的吸光度值; A_b 表示反应中不加抑制剂, 只有 ACE 与底物 HHL 完全反应的对照组的吸光度值; A_c 表示反应前预先失活 ACE, 再加抑制剂, ACE 与 HHL 反应的空白组吸光度值。

1.5 抑制 ACE 活性多糖组分的特性分析

1.5.1 平均相对分子质量的测定

纯化多糖片段的平均相对分子质量采用高效液相法测定。多糖组分配制成 5 g/L 的溶液, 上样于葡聚糖凝胶 Sephadex G75 (10 mm × 400 mm), 用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液 (pH = 7.0) 在室温下按照 0.5 mL/min 等度洗脱, 洗脱液采用苯酚硫酸法跟踪检测。标准品葡聚糖 (5, 12, 25 和 50 ku) 按照同样条件洗脱, 根据标准品的标准曲线计算多糖片段的平均相对分子质量。

1.5.2 单糖组成分析

采用高效液相色谱 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 方法对红毛藻多糖中的各种单糖组分进行定性和定量分析^[20]。0.5 mg 的多糖片段与 10 mL 三氟乙酸 (4 mol/L) 混合后在 100 ℃ 下水解 4 h, 用 ABEE 试剂将水解产物衍生, 衍生后的水解产物上样于高效液相系统, 使用 GlyScopeHonenpak C18 (4.6 mm × 75 mm) 液相柱分析, 包含有质量分数 7% 乙腈的磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH = 8.9) 按照 1.0 mL/min 的流速于 30 ℃ 下洗脱 50 min。已知浓度的标准单糖 (*D*-半乳糖、*D*-阿拉伯糖、*D*-葡萄糖、*D*-甘露糖、*D*-木糖、*L*-岩藻糖) 按照同样方法衍生后上样于液相系统, 制作标准曲线计算多糖片段中的单糖成分。红毛藻多糖中的糖醛酸质量分数采用间羟联苯法定量检测^[21]。

1.5.3 硫酸基团含量分析

采用离子色谱法检测红毛藻多糖中硫酸基团的质量分数。将样品在马弗炉中 550 ℃ 下灰化 5 h 后,上样于离子色谱,使用 DionexIonPac AS19 (4.0 mm × 250 mm) 色谱分析柱,采用 K₂SO₄作为标准品绘制标准曲线,分析红毛藻多糖中硫酸基团的含量。

1.6 红毛藻多糖对 ACE 的抑制机理

1.6.1 抑制类型的动力学分析

在红毛藻多糖固定质量浓度 (0.25, 0.50 g/L) 的条件下,用不同活力浓度的 ACE (0, 1, 2, 4 U/L) 进行反应初速率的检测,每种浓度设置 3 次平行实验,添加多糖为一组,无多糖添加为另一组,同时进行反应初速率的检测。以 ACE 活力浓度对反应初速率作图,根据动力学曲线的特征分析,推断红毛藻多糖对 ACE 的抑制类型。

1.6.2 可逆抑制类型的动力学分析

在红毛藻多糖质量浓度分别为 0, 0.25, 0.5 g/L 时,测定底物 HHL 浓度为 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mmol/L 时 ACE 的酶促反应初速率。底物浓度和反应初速率的倒数绘制 Lineweaver – Burk 图,建立红毛藻多糖对 ACE 抑制动力学方程,判断红毛藻多糖对 ACE 的抑制类型^[22]。

2 结果与分析

2.1 红毛藻多糖的纯化

红毛藻粗多糖经过 Sephadex G75 凝胶柱层析纯化,用浓度为 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液进行洗脱,洗脱情况如图 1 所示。凝胶过滤层析法是根据样品中各组分相对分子质量大小来进行分离的。

红毛藻粗多糖的洗脱曲线得到单一对称峰,洗脱得到一个单一多糖组分 P。将经过凝胶过滤层析初步纯化得到的红毛藻多糖 (P) 上样于 DEAE Cellulose 52 柱层析后,用不同浓度的 NaCl 洗脱液进行阶段洗脱,结果如图 2 所示。由图 2 可见,当用蒸馏水洗脱时,未见有洗脱峰出现,而在 NaCl 溶液浓度为 0.1, 0.3, 0.5 mol/L 下,各有一个洗脱峰出现,分别命名为 P1、P2 和 P3。DEAE Cellulose 52 是根据待分离物中各部分所带电荷量的不同来进行分离的,所以分离得到的 P1、P2 和 P3 3 种多糖片段带有不同电荷, P1 < P2 < P3。

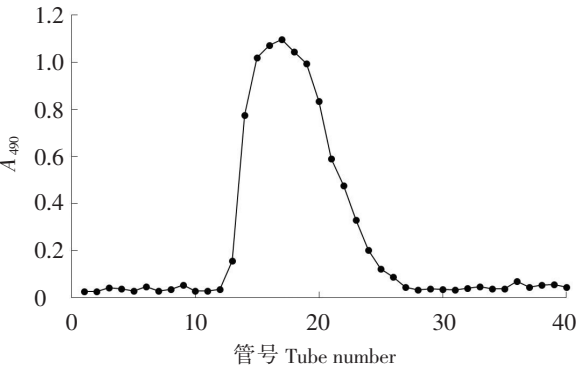


图 1 红毛藻粗多糖 Sephadex G75 凝胶过滤层析
Fig.1 The Sephadex G75 chromatography of polysaccharide isolated from *Bangia fusco-purpurea*

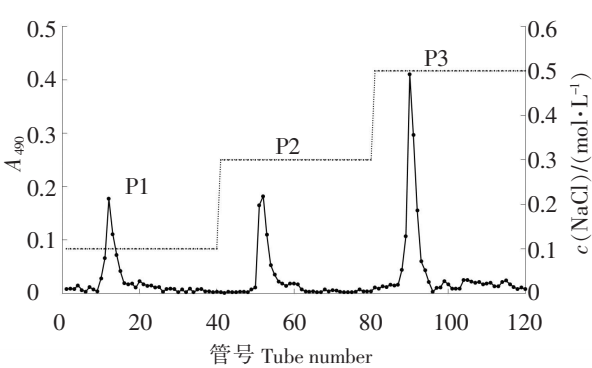


图 2 红毛藻多糖片段 P 的 DEAE Cellulose 52 阴离子交换柱层析
Fig.2 The DEAE Cellulose 52 anion exchange chromatography of polysaccharide P

2.2 红毛藻多糖对 ACE 的抑制

红毛藻多糖片段 P1、P2 和 P3 对 ACE 的抑制作用如图 3 所示。3 个多糖组分中, P1 对于 ACE 的活力有较显著的抑制作用, 并且随着多糖浓度的升高, 抑制率也升高。根据其浓度与抑制率的线性关系式 $y = 16.642x - 6.9364$ ($R^2 = 0.9990$), 计算得出红毛藻多糖 P1 对 ACE 的半抑制浓度 (IC₅₀) 为 (0.34 ± 0.06) g/L, 而多糖组分 P2 和 P3 对 ACE 活力的抑制作用不显著。

2.3 抑制 ACE 活性多糖组分的化学组成及相对分子质量

结果表明，抑制 ACE 活性多糖组分 P1 的主要组成为：阿拉伯糖（88.07%），葡萄糖（4.55%），糖醛酸（6.67%），属于酸性多糖。硫酸基团在红毛藻多糖片段 P1 中含量不显著（0.02%），说明，在红毛藻多糖抑制 ACE 活力的过程中，硫酸基团并没有起到关键作用。相对分子质量分析结果表明，P1 多糖组分相对分子质量为 2.07 ku。

2.4 抑制机理

2.4.1 抑制类型分析

根据抑制剂与酶作用的方式不同，可把抑制作用分为可逆抑制和不可逆抑制 2 种。本研究采用酶动力学的方法，根据不同酶浓度下反应速率的变化来判断红毛藻多糖组分 P1 对 ACE 的抑制类型。

如图 4 所示，固定底物浓度，改变 ACE 酶活力浓度，以反应速率对 ACE 酶活力浓度作图。将红毛藻多糖组分 P1 添加入到测定 ACE 酶活力的反应体系中，再用不同浓度（0,1,2,4 U/L）的 ACE 处理底物，用反应速率（ V_0 ）对 ACE 酶浓度作图。在酶反应体系中添加或不添加多糖时，反应速率曲线相交于原点，并且，添加多糖后的酶反应体系中，反应速率曲线的斜率要明显低于不添加多糖的，随着多糖浓度在酶反应体系中的升高，曲线斜率逐渐降低。因此，根据抑制剂的动力学曲线可知，多糖组分 P1 对 ACE 活力的抑制作用属于可逆抑制^[23]。

2.4.2 可逆抑制动力学分析

根据抑制剂与底物的关系，可逆抑制可以分为竞争性抑制、非竞争性抑制和反竞争性抑制。固定 ACE 的活力浓度（4 U/L），改变底物 HHL 浓度梯度（3,4,5,6 mmol/L），在不添加和添加红毛藻多糖（0.25, 0.50 g/L）条件下，采用酶动力学方法，绘制 Lineweaver-Burk 曲线。

如图 5 所示，在固定 ACE 活力浓度（4 U/L）的条件下，以底物浓度的倒数（ $1/[S]$ ）和反应速率的倒数（ $1/[V]$ ）制作 Lineweaver - Burk 双倒数曲线，得到两条相交于横坐标轴的直线。根据图 5 中的动力学方程得出，在无多糖添加的酶反应体系中， V_{max} 为 3.3731 AU，在添加多糖质量浓度为 0.25 g/L 的体系中， V_{max} 为 2.0721 AU，多糖质量浓度升高至 0.50 g/L 的体系中， V_{max} 为 1.096 AU，而在添加多糖后，体系的 K_m 值保持不变。由此可见，随着多糖浓度的升高，反应体系中 K_m 值不变， V_{max} 逐渐减小，所以该多糖组分对 ACE 是一种非竞争性的抑制作用^[24]。也就是说，多糖组分 P1 可以与游离的 ACE 相结合，也可以和酶与底物的结合体相结合，抑制产物的生成，从而抑制酶促反应的进行，但这种抑制不会阻断底物与酶的结合过程^[24-25]。研究表明^[26]，多糖类物质对酶活性的抑制作用是通过以下 3 种途径实现：1）通过形成多糖与底物的结合体，显著增加储能模量（ G' ）；2）通过

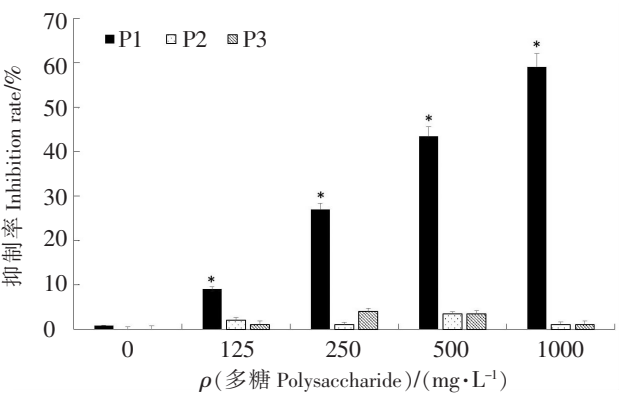
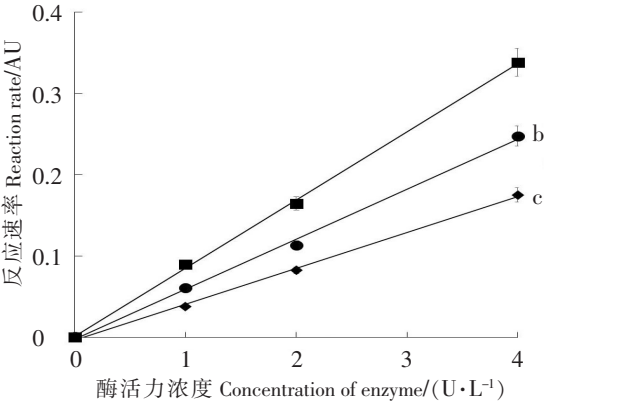


图 3 红毛藻多糖对 ACE 的抑制作用

Fig.3 Inhibitory effects of the purified polysaccharide fractions from *B.fusco-purpurea* on ACE



说明：a 表示无多糖；b 表示多糖质量浓度 0.25 g/L；c 表示多糖质量浓度 0.50 g/L。

Notes：a indicated no polysaccharide；b indicated ρ (polysaccharide)=0.25 g/L；c indicated ρ (polysaccharide)=0.5 g/L.

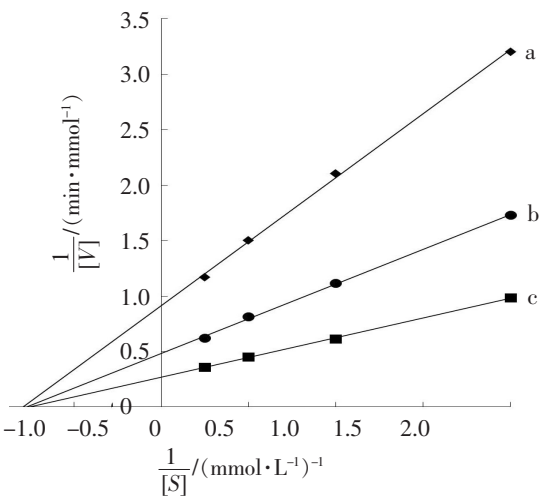
图 4 红毛藻多糖组分 P1 对 ACE 酶的抑制动力学分析

Fig.4 Kinetic analysis of polysaccharide fraction P1 against ACE

抑制底物与酶活性位点的结合, 或者增加酶促反应体系的粘性, 来抑制酶解产物的释放^[27-28]; 3) 快速与酶相互作用, 形成多糖与酶的结合体, 抑制酶与底物的结合^[29-30]。综合酶动力学结果分析, 红毛藻多糖组分 P1 对 ACE 的抑制作用, 是在酶与多糖结合后还可以与底物结合, 或者酶与底物结合后再与多糖结合, 形成不能进一步分解的三元复合物, 从而导致酶活力降低。

3 结论

通过对红毛藻粗多糖的提取、分离和纯化, 得到 3 个不同的多糖组分 P1、P2 和 P3。其中, 多糖组分 P1 对 ACE 活性具有显著的抑制作用, 其 IC₅₀ 为 0.34 g/L。利用高效液相色谱和离子色谱对多糖组分 P1 的组成特征分析后发现, P1 主要由阿拉伯糖(88.07%)、葡萄糖(4.55%)和糖醛酸(6.67%)组成, 硫酸基团含量不显著, 相对分子质量为 2.07 ku。Lineweaver - Burk 双倒数曲线法对酶活力抑制的动力学性质进行解析, 结果表明, 该多糖组分 P1 对 ACE 的抑制作用属于可逆非竞争性抑制。



说明:a 表示无多糖体系线性方程 $y=1.154\ 3\ x+0.912\ 7$, $R^2=0.998\ 8$; b 表示多糖质量浓度为 0.25 g/L 体系线性方程 $y=0.625\ 5\ x+0.482\ 6$, $R^2=0.998\ 9$; c 表示多糖质量浓度为 0.50 g/L 体系线性方程 $y=0.356\ 9\ x+0.268\ 0$, $R^2=0.999\ 1$ 。
Notes:a indicated no polysaccharide,linear equation was $y=1.154\ 3\ x+0.912\ 7$, $R^2=0.998\ 8$; b indicated ρ (polysaccharide)=0.25 g/L,linear equation was $y=0.625\ 5\ x+0.482\ 6$, $R^2=0.998\ 9$; c indicated ρ (polysaccharide)=0.5 g/L,linear equation was $y=0.356\ 9\ x+0.268\ 0$, $R^2=0.999\ 1$.

图5 红毛藻多糖对 ACE 的可逆抑制类型
Fig.5 The type of irreversible inhibition of polysaccharide fraction P1 against ACE

[参考文献]

[1] JOSE A G R, MERCEDES R, ISIDRA R. Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese: stability under simulated gastrointestinal digestion [J]. International Dairy Journal, 2004, 14: 1075-1080. DOI:10.1016/j.idairyj.2004.04.007.

[2] MAMILLA R K, MISHRA V K. Effect of germination on antioxidant and ACE inhibitory activities of *Legumes* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 75: 51-58. DOI:10.1016/j.lwt.2016.08.036.

[3] TAN H F, GAN C Y. Polysaccharide with antioxidant, alpha-amylase inhibitory and ACE inhibitory activities from *Momordica charantia* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 75: 276-282. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.023.

[4] GOHLKE P, WOLFGANG L, BERNWARD A S, et al. Angiotensin converting enzyme inhibition improves cardiac function: role of bradykinin [J]. Hypertension, 1994, 23: 411-418. DOI:10.1161/01.HYP.23.4.411.

[5] 倪贺. 酵母来源血管紧张素转移酶抑制多肽的制备及其抑制机理的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.

[6] 李勇. 蚕蛹 ACE 抑制肽的制备及其 ACE 抑制活性的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2012.

[7] 王茵. 紫菜降血压肽的酶法制备及降压效果的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2009.

[8] SU J, JIANG L, WU J, et al. Anti-tumor and anti-virus activity of polysaccharides extracted from *Sipunculus nudus* (SNP) on Hepg 2.2.15 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 87: 597-602.

[9] ZHU H B, GUAN H S. Effects of D-polymannuronic sulfate on serum nitric oxide levels and plasma endothelin-1 and Angiotensin II contents in renovascular hypertensive rats (series II) [J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2001, 31(2): 179-184.

[10] 朱海波, 耿美玉, 管华诗. 海洋硫酸多糖 DPS 对肾血管性高血压大鼠的降压作用 [J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 31(2): 179-184.

2000, 30(3): 463-469.

- [11] HEMLATHA N, POH P P, SANDRA H Y K, et al. Malaysian brown seaweeds *Sargassum siliquosum* and *Sargassum polycystum*: low density lipoprotein (LDL) oxidation, angiotensin converting enzyme (ACE), α -amylase, and α -glucosidase inhibition activities [J]. Food Research International, 2017, 99: 950-958. DOI:10.1016/j.foodres.2017.01.023Get rights and content.
- [12] 任丹丹, 汪秋宽, 吴超, 等. 海带 ACE 酶抑制剂的浸提工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(2): 103-105.
- [13] 谢明勇, 聂绍平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展 [J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 1-11.
- [14] YU P, SUN H S. Purification of a fucoidan from kelp polysaccharide and its inhibitory kinetics for tyrosinase [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99: 278-283. DOI:10.1016/j.carbpol.2013.08.033.
- [15] 何碧烟, 欧光南, 李旭敏, 等. 红毛菜多糖组成及结构的初步研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(1): 210-214.
- [16] 付晓苹, 周琼, 翁凌, 等. 红毛藻藻红蛋白的分离纯化及性质研究 [J]. 食品科学, 2006, 27(12): 482-486.
- [17] 张全斌, 李大新, 于鹏展, 等. 坛紫菜多糖对脾细胞活性的影响 [J]. 中国海洋药物, 2003(6): 14-18.
- [18] WU Q, FU X P, SUN L, et al. Effects of physicochemical factors and *in vitro* gastrointestinal digestion on antioxidant activity of R-phycoerythrin from red algae *Bangia fusco-purpurea* [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2015, 50(6): 1445-1451. DOI:10.1111/ijfs.12775.
- [19] JIANG Z D, UENO M, NISHIGUCHI T, et al. Importance of sulfate groups for the macrophage-stimulating activities of ascophyllan isolated from the brown alga *Ascophyllum nodosum* [J]. Carbohydrate Research, 2013, 380: 124-129. DOI:10.1016/j.carres.2013.05.018.
- [20] 宋华曾, 毕琳, 吕顺, 等. 鲟鱼皮明胶 ACE 抑制肽降血压活性的研究 [J]. 现代食品科技, 2014, 30(2): 78-83.
- [21] KUMAR P, KUMAR V. Estimation of uronic acids using diverse approaches and monosaccharide composition of alkali soluble polysaccharide from *Vitex negundolinn* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 165: 205-212. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.02.034.
- [22] 曹文红, 何小庆. 两种中国毛虾 ACE 抑制肽抑制类型的研究 [J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 4-7.
- [23] TOOBAEI Z, YOUSEFI R, PANAHI F, et al. Synthesis of novel poly-hydroxyl functionalized acridine derivatives as inhibitors of α -glucosidase and α -amylase [J]. Carbohydrate Research, 2015, 411: 22-32.
- [24] XU J, NIE X, HONG Y, et al. Synthesis of water soluble glycosides of pentacyclic dihydroxytriterpene carboxylic acids as inhibitors of α -glucosidase [J]. Carbohydrate Research, 2016, 424: 42-53. DOI:10.1016/j.carres.2016.02.009.
- [25] PANAHI F, YOUSEFI R, MEHRABAN M H, et al. Synthesis of new pyrimidine-fused derivatives as potent and selective antidiabetic α -glucosidase inhibitors [J]. Carbohydrate Research, 2013, 380: 81-91. DOI:10.1016/j.carres.2013.07.008.
- [26] AUTIO K, VESTERINEN E, STOLT M. Rheological properties of mixed starch- κ -carrageenan gels in relation to enzymatic digestibility [J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16: 169-174. DOI:10.1016/S0268-005X(01)00074-1.
- [27] LANDIN K, HOLM G, TENGBORN L, et al. Guar gum improves insulin sensitivity, blood lipids, blood pressure, and fibrinolysis in healthy men [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1992, 56: 1061-1065.
- [28] MAKI K C, GALANT R, SAMUEL P, et al. Effects of consuming foods containing oat beta-glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2007, 61(6): 786-795. DOI:10.1038/sj.ejcn.1602562.
- [29] OU S, KWOK K, LI Y, et al. *In vitro* study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49: 1026-1029. DOI:10.1021/jf000574n.
- [30] SLAUGHTER S L, ELLIS P R, JACKSON E C, et al. The effect of guar galactomannan and water availability during hydrothermal processing on the hydrolysis of starch catalysed by pancreatic α -amylase [J]. Biochimica Biophysica Acta-Biomembranes, 2002, 1571(1): 55-63. DOI:10.1016/S0304-4165(02)00209-X.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)