



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106755231 A

(43)申请公布日 2017.05.31

(21)申请号 201611072322.2

(22)申请日 2016.11.29

(71)申请人 大连工业大学

地址 116034 辽宁省大连市甘井子区轻工  
苑1号

(72)发明人 付颖寰 孙美玲 张钦 年益营  
马倩 侯永涛 宋铖铖

(74)专利代理机构 大连格智知识产权代理有限  
公司 21238

代理人 刘琦

(51)Int.Cl.

C12P 21/06(2006.01)

C07K 1/22(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法

(57)摘要

本发明提供了一种血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,具体步骤为:取酶解液冻干粉,溶于硼酸盐缓冲溶液中;取固定化血管紧张素转化酶与酶解液溶液混合,30℃恒温水浴震荡、抽滤、冲洗干净,收集固相,得到吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶;将吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶加入到NaCl溶液中,水浴洗脱血管紧张素转化酶吸附的抑制肽,收集洗脱液,冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。本发明固定化血管紧张素转化酶活性高、稳定性好,用于分离纯化相应的血管紧张素转化酶抑制肽具有极好效果,固定化过程简单,且产品稳定性更好。

1. 一种血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,其特征在于,具体步骤为:

S1、取酶解液冻干粉,溶于pH为8.3、浓度为0.1mol/L的硼酸盐缓冲溶液中,制成浓度为20~100g/L的酶解液溶液;

所述酶解液冻干粉为具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料经蛋白酶水解制得的酶解液,经超滤分级、冻干制得;

所述硼酸盐缓冲溶液中含有浓度为0.1~0.3mol/L的NaCl;

S2、取固定化血管紧张素转化酶与步骤S1制得的酶解液溶液按质量体积比1:10~20(g/mL)的比例混合,30℃恒温水浴震荡50~120min,抽滤、采用pH为8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液冲洗干净,收集固相,得到吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶;

S3、将步骤S3制得的吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶加入到pH为7、浓度为2mol/L的NaCl溶液中,30℃水浴30~120min,洗脱血管紧张素转化酶吸附的抑制肽,收集洗脱液,冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。

2. 根据权利要求1所述血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,其特征在于,步骤S1所述具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料经蛋白酶水解制得的酶解液的具体制备过程为:

取具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料冻干制得冻干粉,将所述冻干粉与水按1:10~20(g/mL)的质量体积比混合,在45℃水浴中预热5~15min;

调节溶液pH至7.0,加入中性蛋白酶的加酶量为2500U/g后开始反应,反应过程中通过滴加标准碱溶液或标准酸溶液,维持反应液pH为7.0不变,水解2~3h后,沸水浴灭酶10~20min,冷却;在4℃、10000rpm条件下,离心20~30min,取上清液,得到酶解液。

3. 根据权利要求2所述血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,其特征在于,所述具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料为水泡蛾螺。

4. 根据权利要求1所述血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,其特征在于,步骤S2所述固定化血管紧张素转化酶为SBA-15固定化血管紧张素转化酶;具体制备方法为:

取介孔分子筛SBA-15与血管紧张素转化酶溶液按质量体积比1:5~20(g/mL)的比例混合,45~50℃,在水浴锅中水浴震荡30~40min,至反应液中的蛋白含量不变,反应结束;抽滤、清洗、除去未吸附结合的血管紧张素转化酶,得到SBA-15固定化血管紧张素转化酶;

所述血管紧张素转化酶溶液采用7.8~9.3硼酸盐缓冲溶液配置,酶活为0.17U/mL。

5. 根据权利要求4所述血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,其特征在于,所述介孔分子筛SBA-15为通过直接或间接吸附整合的方式制得的整合有Zn<sup>2+</sup>的SBA-15分子筛;

所述直接整合的具体操作为:

将介孔分子筛SBA-15与浓度为0.05mol/L的ZnSO<sub>4</sub>水溶液按质量体积比1:10g/ml的比例混合,30~40℃水浴震荡45~65min,获得直接整合Zn<sup>2+</sup>的SBA-15分子筛;

所述间接整合的具体操作为:

将介孔分子筛SBA-15加入到无水乙醇中,向所述无水乙醇中加入3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷,30℃水浴震荡10~20h,反应结束后抽滤,收集固体物质,洗净;

所述介孔分子筛SBA-15与无水乙醇、3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷的质量体积比为1:350~400:20~30(g/mL/mL);

连接亚氨基二乙酸,将所得固体物质与浓度为0.6~0.8mol/L的亚氨基二乙酸溶液按

质量体积比1:10 (g/ml) 的比例混合, 30~40℃水浴震荡反应, 反应结束后抽滤, 再次收集固体物质;

将再次收集的固体物质与浓度为0.05mol/L的ZnSO<sub>4</sub>溶液按质量体积比1:10 (g/mL) 的比例混合, 30~40℃水浴震荡60~90min, 获得间接螯合Zn<sup>2+</sup>的SBA-15分子筛。

## 一种血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法

### 技术领域

[0001] 本发明血管紧张素转化酶抑制肽的提取技术领域,特别涉及一种应用固定化血管紧张素转化酶对具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料或其酶解液中血管紧张素转化酶抑制肽的分离纯化。

### 背景技术

[0002] 高血压会改变和损坏大脑、心脏、血管、肾脏以及眼底的结构和功能,引起这些器官的并发症从而导致功能的衰竭。高血压导致的以下几种并发症:冠心病、脑血管病、高血压心脑血管疾病、慢性肾功能衰竭和动脉粥样硬化等。目前的降血压药物主要有利尿药、 $\beta$ 受体阻滞剂、钙通道阻滞剂、血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂和血管紧张素 II 受体阻滞剂。

[0003] 血管紧张素转换酶(ACE)是一种存在于肺、肾、脑、眼球、小肠、胎盘等不同组织的多功能二肽羧基肽酶。在人体中,血压的调节主要是受到肾素-血管紧张素系统(Renin-Angiotensin System, RAS)和激肽释放酶-激肽系统(Kallikrein-Kinin System, KKS)的控制,当其失衡时将会引起人体血压的异常,而ACE又是这两个系统的关键酶。

[0004] 目前,治疗高血压的药物多是人工合成的ACE抑制肽,但是由于其具有明显的副作用,因此开发无副作用的天然的健康的ACE抑制肽成为时下研究的热点。

[0005] 目前,常用超滤,凝胶层析、离子交换层析、反相高效液相色谱以及亲和层析等方法分离纯化血管紧张素转化酶抑制肽(ACEIP)。其中亲和分离法分离纯化蛋白肽是非常高效快捷的方法,而应用固定化酶技术亲和分离纯化蛋白的方法也迅速发展。应用固定化酶亲和分离方法的载体不仅可以达到快速分离纯化蛋白肽的目的,同时可以降低成本,且对环境友好。

[0006] 国内外对血管紧张素转化酶的固定化研究的报导,多采用壳聚糖、琼脂糖微球、甲壳糖为固定化载体。将ACE固定到SBA-15上,制备SBA-15未有报道。SBA-15分子筛是采用三嵌段共聚物为模板剂于酸性合成体系中制备出来的介孔材料,孔径尺寸为4.6~30nm,孔体积可达 $0.85\text{cm}^3/\text{g}$ ,是目前孔径最大的分子筛材料。SBA-15介孔分子筛具有孔径可调、孔壁厚和水热稳定性高的特点。田志茗等采用无溶剂法将 $\text{ZnO}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与煅烧的主体材料SBA-15分子筛进行人工研磨混合后焙烧,制备了 $\text{Zn-SO}_4^{2-}/\text{SBA-15}$ 改性介孔分子筛。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的在于应用固定化血管紧张素转化酶(ACE)对血管紧张素转化酶抑制肽进行纯化分离,制备高纯度、无副作用的、天然健康的血管紧张素转化酶抑制肽。

[0008] 为达到上述目的,本发明提供了一种血管紧张素转化酶抑制肽的提取方法,具体步骤为:

[0009] S1、取酶解液冻干粉,溶于pH为8.3、 $0.1\text{mol/L}$ 硼酸盐缓冲溶液,制成浓度为20~100g/L的酶解液溶液;

[0010] 所述酶解液冻干粉为具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料经蛋白酶水解制得

的酶解液,经超滤分级、冻干制得;优选水泡蛾螺酶解液冻干粉;

[0011] 所述硼酸盐缓冲溶液中含有浓度为0.1~0.3mol/L的NaCl;

[0012] S2、取固定化血管紧张素转化酶与步骤S1制得的酶解液溶液按质量体积比1:10~20(g/mL)的比例混合,30℃恒温水浴震荡50~120min,抽滤、采用pH为8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液冲洗干净,收集固相,得到吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶;

[0013] S3、将步骤S3制得的吸附有血管紧张素转化酶抑制肽的固定化血管紧张素转化酶加入到pH为7、浓度为2mol/L的NaCl溶液中,30℃水浴30~120min,洗脱血管紧张素转化酶吸附的抑制肽,收集洗脱液,冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。

[0014] 优选方式下,步骤S1所述具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料经蛋白酶水解制得的酶解液的具体制备过程为:

[0015] 取具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料冻干制得冻干粉,将所述冻干粉与水按1:10~20(g/mL)的质量体积比混合均匀,在45℃水浴中预热5~15min;

[0016] 调节溶液pH至7.0,加入中性蛋白酶,加酶量为2500U/g,开始反应,反应过程中通过滴加标准碱溶液或标准酸溶液,维持反应液pH为7.0不变,水解2~3h后,沸水浴灭酶10~20min,冷却;在4℃、10000rpm条件下,离心20~30min,取上清液,得到酶解液。

[0017] 所述具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料优选水泡蛾螺。

[0018] 进一步优化,步骤S2所述固定化血管紧张素转化酶为SBA-15固定化血管紧张素转化酶;具体制备方法为:

[0019] 取介孔分子筛SBA-15与血管紧张素转化酶溶液按质量体积比1:5~20(g/mL)的比例混合,45~50℃,在水浴锅中水浴震荡30~40min,至反应液中的蛋白含量不变,反应结束;抽滤、清洗、除去未吸附结合的血管紧张素转化酶,得到SBA-15固定化血管紧张素转化酶;

[0020] 所述血管紧张素转化酶溶液采用7.8~9.3硼酸盐缓冲溶液配置,酶活为0.17U/mL。

[0021] 最有方式下,所述介孔分子筛SBA-15为通过直接或间接吸附整合的方式制得的整合有Zn<sup>2+</sup>的SBA-15分子筛;

[0022] 所述直接整合的具体操作为:

[0023] 将介孔分子筛SBA-15与浓度为0.05mol/L的ZnSO<sub>4</sub>水溶液按质量体积比1:10g/mL的比例混合,30~40℃水浴震荡45~65min,获得直接整合Zn<sup>2+</sup>的SBA-15分子筛;

[0024] 所述间接整合的具体操作为:

[0025] 将介孔分子筛SBA-15加入到无水乙醇中,向所述无水乙醇中加入3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(GLYMO),30℃水浴震荡10~20h,反应结束后抽滤,收集固体物质,洗净;

[0026] 所述介孔分子筛SBA-15与无水乙醇、3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷的质量体积比为1:350~400:20~30(g/mL/mL);

[0027] 连接亚氨基二乙酸(IDA),将所得固体物质与浓度为0.6~0.8mol/L的亚氨基二乙酸溶液按质量体积比1:10(g/mL)的比例混合,30~40℃水浴震荡反应,反应结束后抽滤,再次收集固体物质;

[0028] 将再次收集的固体物质与浓度为0.05mol/L的ZnSO<sub>4</sub>溶液按质量体积比1:10(g/

mL)的比例混合,30~40℃水浴震荡60~90min,获得间接螯合 $Zn^{2+}$ 的SBA-15分子筛。

[0029] 本发明的上述过程中多用冻干粉作为实验材料,一是冻干粉可以方便配置成需要浓度的溶液,二是冻干粉存储方便且对在固体状态下较液态下样品的活性更稳定。

[0030] 采用上述方案后,本发明与已有技术相比具有以下优点:

[0031] 1、本发明基于亲和原理,将固定化血管紧张素转化酶应用于血管紧张素转化酶抑制肽(ACEIP)的提取分离纯化,为ACEIP的分离纯化提供了优良载体及方法。

[0032] 2、本发明固定化血管紧张素转化酶活性高、稳定性好,用于分离纯化相应的血管紧张素转化酶抑制肽具有极好效果,优选采用的Zn-SBA-15固定化血管紧张素转化酶,固定化过程简单,且产品稳定性更好;通过固定化血管紧张素转化酶对酶解液进行ACEIP的分离纯化相比于单纯的游离酶可以达到更好的分离效果。

[0033] 3、本发明适用于各种具有血管紧张素转化酶抑制活性的原料,优选水泡蛾螺,原料天然健康、制备的血管紧张素转化酶抑制肽纯度高、天然健康,适用范围广。本发明是首次从水泡蛾螺中分离纯化ACEIP,为水泡蛾螺的综合利用提供了新的途径。

[0034] 4、游离ACE在使用过程中容易变性失活,给使用、保存带来很大困难,本发明采用固定化酶不仅能实现酶的回收利用,还可以提高固定化酶的稳定性。

## 具体实施方式

[0035] 实施例1

[0036] 1)一种介孔分子筛SBA-15载体的制备,具体制备方法过程如下:

[0037] 介孔分子筛SBA-15载体的制备:取1g聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷三嵌段共聚物(P123)溶解于50mL1.6mol/L盐酸溶液中30℃水浴搅拌3h,然后逐滴加入正硅酸乙酯(TEOS)5mL,并在40℃水浴持续搅拌20h;随后将反应物转移至反应釜中,放入烘箱110℃静置条件下反应24h;最后收集固体产物,水洗抽滤干净后放入烘箱80℃放置12h,取出后放入马弗炉550℃烧8h,得介孔分子筛SBA-15;然后取0.5g SBA-15并以质量体积为SBA-15: $ZnSO_4$ (0.05mol/L的 $ZnSO_4$ 溶液)=1:10加入到 $ZnSO_4$ 溶液,35℃恒温水浴震荡锅震荡反应50min;50min后取出用大量的水通过抽滤的方式将微球表面的 $Zn^{2+}$ 洗净。

[0038] 2)血管紧张素转化酶在上步制备Zn-SBA-15载体上的固定化

[0039] 称取1)步制备的Zn-SBA-15载体0.5g加入10mL的血管紧张素转化酶(酶活为0.17U/mL,用pH 8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液配置而成),50℃,恒温水浴锅中水浴震荡30min。反应结束后抽滤洗净未吸附结合的酶,从而获得固定化血管紧张素转化酶,酶活为0.2372U/g。

[0040] 3)称取100g水泡蛾螺冻干粉以1:10(g/mL)的比例加入去离子水中,在一定温度水浴中预热10min,调节pH为中性蛋白酶的最适pH7.0,加入中性蛋白酶的加酶量为2500U/g后开始反应,反应过程中通过滴加标准碱溶液或酸溶液,维持初始pH值7.0,水解2h后,沸水浴灭酶15min,4℃,10000rpm,冷冻离心20min,取上清液,冷冻干燥,得到水泡蛾螺酶解液蛋白水解产物。获得水泡蛾螺酶解液酶解液冻干粉。取制得的水泡蛾螺酶解液冻干粉溶于含0.2mol/L NaCl的pH8.3的0.1M的硼酸盐缓冲溶液中配成50g/L浓度的水泡蛾螺酶解液。取上述制备的Zn-SBA-15固定化血管紧张素转化酶,按质量体积比1:20(g/mL)加入本步前述所配置的酶解液中,在30℃恒温震荡水浴锅中水浴震荡60min,然后将吸附血管紧张素转化

酶抑制肽的Zn-SBA-15固定化ACE从溶液中用pH8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液抽滤洗净,然后将其加入到pH 7的2mol/L的NaCl溶液中30℃水浴60min,将吸附的血管紧张素转化酶抑制肽洗脱下来,收集洗脱液冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。

[0041] 上述水泡蛾螺冻干粉中,每1g原料制得的酶解液可获得0.021g的血管紧张素转化酶抑制肽,即其收率为2.1%。

[0042] ACE抑制活性的测定

[0043] 主要试剂配制方法:

[0044] ACE溶液:将1U ACE溶于冷的1M pH 8.3的硼酸盐缓冲液(含0.3M NaCl)10mL配制成0.1U/mL ACE溶液,分装,储存于-20℃,备用。

[0045] HHL(马尿酸组氨酰亮氨酸)溶液:取HHL适量,以0.1M pH 8.3的硼酸盐缓冲液(含0.3M NaCl)配制成浓度为5mmol/L HHL溶液,备用。

[0046] 马尿酸标准溶液:准确称取马尿酸标准样品,加超纯水溶解配制成浓度为50μg/mL马尿酸标准溶液,备用。

[0047] 反应体系环境为pH 8.3,0.1M硼酸盐缓冲液(含有0.3M NaCl)。于1.5mL离心管中,取50μL,5mmol/L HHL,加入20μL样品溶液,混合均匀,37℃±0.5℃恒温水浴中预热5min,然后加入20μL,0.1U/mL ACE,充分混匀。37℃恒温水浴保温60min后,加入10μL,0.2M HCl中止反应。同时用20μL水代替样品作为空白对照组。反应液离心后用HPLC(Waters)检测Hip生成量。

[0048] 色谱条件:Gha11 12S05-2546C18柱(250mm×4.6mm);乙腈:水(含0.05%TFA)=25:75,等梯度洗脱;流速0.5mL/min;检测波长228nm;进样量10μL。ACE抑制率按下式进行计算。

$$[0049] \quad \text{ACE抑制活性}/\% = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照}}} \times 100$$

[0050] 式中:A样品——加入抑制剂组中马尿酸的峰面积;

[0051] A对照——空白对照组中马尿酸的峰面积。

[0052] 采用高效液相法测得其对ACE的半抑制浓度(IC50)为0.85g/L。这一半抑制浓度较水泡蛾螺酶解液的ACE的半抑制浓度(IC50)为15.27g/L低且达17倍,说明经过亲和分离后得到的组分的ACE抑制率较原酶解液明显提高。同时说明经过本发明的方法对酶解液中的ACEIP达到了较好的分离效果。

[0053] 实施例2

[0054] 1)介孔分子筛SBA-15载体的制备:取1g聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷三嵌段共聚物(P123)溶解于50mL 1.6mol/L盐酸溶液中30℃水浴搅拌3h,然后逐滴加入正硅酸乙酯(TEOS)5mL,并在40℃水浴持续搅拌20h;随后将反应物转移至反应釜中,放入烘箱110℃静置条件下反应24h;最后收集固体产物,水洗抽滤干净后放入烘箱80℃放置12h,取出后放入马弗炉550℃烧8h,得介孔分子筛SBA-15;0.5g SBA-15加入175mL无水乙醇再加入2mLGLYMO,30℃水浴震荡15h,反应结束后抽滤,洗净后连接IDA,按1:10(g/mL)加入0.7mol/L IDA溶液(IDA溶液用1.5mol/L碳酸钠溶液配制),35℃水浴震荡反应70min,反应结束抽滤后,以的质量体积比为1:10(g/mL)加入0.05mol/L的ZnSO<sub>4</sub>溶液,30℃水浴震荡75min,从而获得相应的载体。

[0055] 2) 血管紧张素转化酶在上步制备Zn-SBA-15载体上的固定化

[0056] 称取1)步制备的Zn-SBA-15载体0.5g加入10mL的血管紧张素转化酶(酶活为0.17U/mL,用pH 8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液配置而成),50℃,恒温水浴锅中水浴震荡30min。反应结束后抽滤洗净未吸附结合的酶,从而获得固定化血管紧张素转化酶,酶活为0.3074U/g。

[0057] 3) 100g水泡蛾螺冻干粉以1:10(g/mL)的比例加入去离子水中,在一定温度水浴中预热10min,调节pH为中性蛋白酶的最适pH7.0,加入加酶量为2500U/g的中性蛋白酶后开始反应,反应过程中通过滴加标准碱溶液或酸溶液,维持初始pH值7.0,水解2h后,沸水浴灭酶15min,4℃,10000rpm,冷冻离心20min,取上清液,冷冻干燥,得到水泡蛾螺蛋白水解产物。取制得的水泡蛾螺酶解液冻干粉溶于含0.1mol/LNaCl的pH8.3的0.1M的硼酸盐缓冲溶液中配成50g/L浓度的水泡蛾螺酶解液。取上述制备的Zn-SBA-15固定化血管紧张素转化酶,按质量体积比1:15(g/mL)加入本步前述所配置的酶解液中,在30℃恒温震荡水浴锅中水浴震荡60min,然后将吸附血管紧张素转化酶抑制肽的Zn-SBA-15固定化ACE从溶液中用pH8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液抽滤洗净,然后将其加入到pH 7的2mol/L的NaCl溶液中30℃水浴60min,将吸附的血管紧张素转化酶抑制肽洗脱下来,收集洗脱液冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。

[0058] 上述水泡蛾螺冻干粉中,每1g原料制得的酶解液可获得0.0199g的血管紧张素转化酶抑制肽,即其收率为1.99%。

[0059] 采用高效液相法测得其对ACE的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为1.0g/L。这一半抑制浓度较水泡蛾螺酶解液的ACE的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为15.27g/L低且达15倍,说明经过亲和分离后得到的组分的ACE抑制率较原酶解液明显提高。对酶解液中的ACEIP达到了较好的分离效果。同时说明经过本发明的方法对酶解液中的ACEIP达到了较好的分离效果。

[0060] 实验例3

[0061] 本实验的步骤1)和2)与实施例1的1)和2)相同。

[0062] 3) 100g水泡蛾螺冻干粉以1:10(g/mL)的比例加入去离子水中,在45℃水浴中预热10min,调节pH为中性蛋白酶的最适pH 7.0,加入2500U/g中性蛋白酶开始反应,反应过程中通过滴加标准碱溶液或酸溶液,维持初始pH值7.0,水解2h后,沸水浴灭酶15min,4℃,10000rpm,冷冻离心20min,取上清液,冷冻干燥,得到水泡蛾螺酶解液蛋白水解产物。取水泡蛾螺酶解液冻干粉溶于含0.3mol/L NaCl的pH 8.3的0.1M的硼酸盐缓冲溶液中配成50g/L浓度的水泡蛾螺酶解液。取上述制备的Zn-SBA-15固定化血管紧张素转化酶,按质量体积比1:20(g/mL)加入本步前述所配置的酶解液中,在30℃恒温震荡水浴锅中水浴震荡60min,然后将吸附血管紧张素转化酶抑制肽的Zn-SBA-15固定化ACE从溶液中用pH8.3的0.1mol/L硼酸盐缓冲溶液抽滤洗净,然后将其加入到pH7的2mol/L的NaCl溶液中30℃水浴60min,将吸附的血管紧张素转化酶抑制肽洗脱下来,收集洗脱液冻干,获得血管紧张素转化酶抑制肽。

[0063] 上述水泡蛾螺冻干粉中,每1g原料制得的酶解液可获得0.02g的血管紧张素转化酶抑制肽,即其收率为2%。

[0064] 采用高效液相法测得其对ACE的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为1.2g/L。这一半抑制浓度较水泡蛾螺酶解液的ACE的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为15.27g/L低且达15倍左右,ACE的半抑制浓度



越低说明肽的ACE抑制活性越好。说明经过亲和分离后得到的组分的ACE抑制率较原酶解液明显提高。同时说明经过本发明的方法对酶解液中的ACEIP达到了较好的分离效果。

[0065] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明披露的技术范围内,根据本发明的技术方案及其发明构思加以等同替换或改变,都应涵盖在本发明的保护范围之内。