

张廷新, 李富强, 张楠, 等. 降糖肽的制备、生物学效应及其构效关系研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 433-442. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040219

ZHANG Tingxin, LI Fuqiang, ZHANG Nan, et al. Advances in Preparation, Biological Effect and Structure-activity Relationship of Hypoglycemic Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 433-442. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040219

· 专题综述 ·

降糖肽的制备、生物学效应及其构效关系研究进展

张廷新, 李富强, 张楠, 朱丽萍, 颜世敢*

(齐鲁工业大学(山东省科学院)生物工程学院, 山东省微生物工程重点实验室, 山东济南 250353)

摘要: 糖尿病是一个严重的全球性健康问题, 其发病率近年来呈上升态势。目前证实已有多种药物可有效治疗糖尿病, 但多数药物存在毒副作用。因此, 研发出安全有效的降糖药物已经成为全世界关注的焦点。降糖肽具有降血糖作用且毒副作用较小, 在功能食品和药品领域具有开发价值, 应用前景广阔。本文综述了近年来对降糖肽的制备、生物学效应以及构效关系等方面的研究进展, 并对降糖肽的研究进行了展望, 以期对降糖肽的开发利用及相关产品的深加工提供参考。

关键词: 糖尿病, 降糖肽, 制备, 生物学效应, 构效关系

中图分类号: O629.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)08-0433-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040219



本文网刊:

Advances in Preparation, Biological Effect and Structure-activity Relationship of Hypoglycemic Peptides

ZHANG Tingxin, LI Fuqiang, ZHANG Nan, ZHU Liping, YAN Shigan*

(Key Laboratory of Microbial Engineering of Shandong Province, School of Bioengineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China)

Abstract: Diabetes is a serious global health problem, and its incidence rate has been increasing in recent years. Many drugs have been proven effective in the treatment of diabetes mellitus, but most of them have toxic side effects. Therefore, the development of safe and effective hypoglycemic drugs have drawn increasingly more attention around the world. Hypoglycemic peptides has the hypoglycemic effect and has little side effects, and has the research value in the field of functional food and drugs, and has a broad application prospect. In this paper, the preparation, biological effect and structure-activity relationship of hypoglycemic peptides in recent years are reviewed, and the research prospect of hypoglycemic peptides is looked forward, in order to provide reference for the development and utilization of hypoglycemic peptides and the further processing of related products.

Key words: diabetes; hypoglycemic peptides; preparation; biological effects; structure-activity relationship

糖尿病是因胰岛素分泌不足引起的以高血糖为特征的慢性代谢病^[1]。持续性高血糖会引发多种并发症, 如糖尿病性肾病、糖尿病性眼病、糖尿病性心血管病、糖尿病性脑血管病、糖尿病性神经系统病变和糖尿病足等, 严重者危及生命。随着肥胖人群增

加, 糖尿病的发病率逐年上升。2019 年全球糖尿病患者达 4.63 亿。预计到 2030 年全球糖尿病患者将达 5.78 亿。糖尿病已造成严重的社会经济负担^[2]。

糖尿病患者需长期服用降糖药物。目前市场上的降糖药包括胰岛素类注射制剂和口服降糖药物。

收稿日期: 2021-04-26

基金项目: 山东省重点研发计划医用食品专项 (2019YYSP024); 山东省自然科学基金项目 (ZR2017LD013)。

作者简介: 张廷新 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 生物活性肽, E-mail: ztx7419@126.com。

* 通信作者: 颜世敢 (1970-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 微生物学与免疫学, E-mail: yanshigan@126.com。

口服降糖药物以化学药为主, 该类药物主要通过增加胰岛素敏感性、延缓碳水化合物在小肠的代谢来修复改善胰岛 β 细胞功能及促进其分泌胰岛素, 但多数具有一定的副作用(表1)^[3]。因此, 研发安全、有效的降糖药物成为热点。

降糖肽具有活性好、结构简单、稳定性高、吸收好、免疫原性低、副作用少等优点。降糖肽分为内源性降糖肽和外源性降糖肽两类。内源性降糖肽存在于细胞内, 主要通过促进糖原、脂肪、蛋白质合成, 促进胰岛素分泌和抑制胰高血糖素分泌等途径来降低血糖, 如胰岛素、GLP-1、GIP等; 外源性降糖肽主要来自于豆类、海藻、坚果等外部食物蛋白质。外源性降糖肽一般含有2~15个氨基酸残基, 常以无活性的前体形式存在于蛋白中, 需要通过酶解、模拟胃肠消化、微生物发酵等方法将多肽从前体蛋白中释放出来。制备降糖肽的常用方法包括酶水解、微生物发酵和化学合成等。目前多数研究, 是从天然蛋白中分离、鉴定多肽, 然后对多肽进行化学合成, 得到纯度更高的肽组分, 以便进行后续的特征。用于酶水解的常见酶包括酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶和胰蛋白酶等。微生物发酵作为降糖肽的一种制备方法, 枯草芽孢杆菌、米曲霉和植物乳杆菌是常用的微生物。水解处理后进行肽的分离、结构鉴定和表征。常用的分离技术包括超滤、凝胶过滤、反相高效液相色谱(RP-HPLC)等。对于降糖肽的活性表征, 通常使用 IC_{50} 或抑制率来衡量其降糖活性。

降糖肽的活性主要取决于其氨基酸序列。降糖肽通常含有疏水性氨基酸(如亮氨酸、脯氨酸)及碱

性氨基酸(如精氨酸)等。本文结合降血糖活性评价方法综述了近年来降糖肽的制备纯化、结构鉴定及降血糖活性的体外和体内证据, 探讨了降糖肽结构与其降血糖活性之间的关系, 以期对抗糖尿病相关功能性食品、保健品及药物的开发应用提供参考。

1 降糖肽的制备

酶解是将降糖肽从前体蛋白中释放出来的常用方法。目前已通过酶解动植物蛋白制备多种降糖肽, 其中从豆类中鉴定的降糖肽最多。

酶解法制备降糖肽时, 需首先提取蛋白质。蛋白质的种类繁多, 性质差别大, 提取方法不同。食品工业中广泛采用pH-Shift法分离蛋白质^[4]。Chen等^[5]使用pH-Shift法从田纳西大豆中提取大豆蛋白。Hatanaka等^[6]在使用Umamizyme G和Biopraser SP酶解脱脂米糠前, 采用pH-Shift法提取米糠蛋白。

紧密的细胞结构会阻碍酶与蛋白的结合, 导致酶的敏感性降低。蛋白能与细胞中的某些成分(如脂类)结合, 从而阻碍蛋白质的提取。另外, 降糖肽的高度疏水性, 使其不易溶于水, 不利于后续的分离纯化。采用微波^[7]、超声^[8]等辅助技术能克服这些问题。Wen等^[8]发现, 超声处理能增强慈菇蛋白对胃蛋白酶、胰蛋白酶和碱性蛋白酶的敏感度。超声处理还能改变蛋白质的二级结构, 影响其生物活性。Rivero-Pino等^[9]在酶解黄粉虫制备降糖肽时发现, 超声处理降低了蛋白中 α 螺旋和 β 折叠的含量, 增强了蛋白对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。原因可能是超声处理促进蛋白质暴露其疏水性氨基酸残基。

另外, 在酶解过程中蛋白酶的选择也极为重

表1 常用降糖药物的类型及其作用机制和副作用

Table 1 Types of commonly used hypoglycemic drugs and their mechanisms of action and side effects

种类	作用靶点	作用机制	代表药物	副作用
双胍类	肝脏、肌肉、脂肪	促进外周组织摄取葡萄糖、抑制葡萄糖异生、降低肝糖原输出、延迟葡萄糖在肠道吸收	二甲双胍	维生素B ₁₂ 缺乏、可能导致贫血和神经性病变(老年人风险)
磺脲类胰岛素促泌剂	胰岛 β 细胞	刺激 β 细胞分泌胰岛素, 作用 β 细胞膜上的ATP敏感的钾离子通道(KATP), 促进钙离子内流及细胞内钙离子浓度增高, 刺激含有胰岛素的颗粒外移和胰岛素释放, 使血糖下降	格列本脲、格列吡嗪、格列齐特	低血糖、头痛、头晕、恶心、体重增加
非磺脲类胰岛素促泌剂	胰岛 β 细胞	胰岛 β 细胞膜上的ATP敏感的钾离子通道(KATP), 但结合位点与磺脲类不同, 是一类快速作用的胰岛素促分泌剂, 主要通过刺激胰岛素的早期分泌而降低餐后血糖	瑞格列奈、那格列奈	胃肠道功能紊乱、体重增加
噻唑烷二酮类	肌肉、脂肪	激活氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ), 增加靶组织对胰岛素作用的敏感性而降低血糖	吡格列酮、罗格列酮	膀胱癌、骨折、肝损伤
α -糖苷酶抑制剂	肠道	竞争性抑制麦芽糖酶、葡萄糖淀粉酶及蔗糖酶, 阻断1, 4-糖苷键水解, 延缓淀粉、蔗糖及麦芽糖在小肠分解为葡萄糖, 降低餐后血糖	阿卡波糖、伏格列波糖	腹胀、腹痛
二肽基肽酶-4 (DPP-4)抑制剂	胰岛 β 细胞、胰岛 α 细胞	抑制胰高血糖素样肽-1(GLP-1)和葡萄糖依赖性促胰岛素分泌多肽(GIP)的灭活, 提高内源性GLP-1和GIP的水平, 促进胰岛 β 细胞释放胰岛素, 同时抑制胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素, 提高胰岛素水平, 降低血糖	西格列汀、沙格列汀、维格列汀	胰腺炎、上呼吸道感染
钠-葡萄糖协同转运蛋白2(SGLT-2)抑制剂	肾脏	抑制肾脏对葡萄糖的重吸收, 使过量的葡萄糖从尿液中排出, 降低血糖。	达格列净、恩格列净、卡格列净	酮症酸中毒、尿路感染
胰高血糖素样肽-1(GLP-1)	胰岛 β 细胞、胰岛 α 细胞	促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素, 并减少胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素。	艾塞那肽、贝那鲁肽、利拉鲁肽	胰腺炎、恶心、腹泻、体重下降
胰岛素类	肝脏、脂肪、肌肉	促进血循环中葡萄糖进入肝细胞、肌细胞、脂肪细胞及其他组织细胞合成糖原使血糖降低, 促进脂肪及蛋白质的合成。	赖脯胰岛素、优泌林R、甘精胰岛素	胰岛素抵抗(IR)

要。不同蛋白酶具有不同的限制性切割位点,通过切割不同部位的肽键可以产生不同氨基酸组成的活性肽。常用的酶包括碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶、菠萝蛋白酶、风味蛋白酶等。有时采用多种蛋白酶联合使用的方法,例如按照胃蛋白酶-胰蛋白酶的顺序来模拟胃肠道消化制备降糖肽。选用不同蛋白酶制备的降糖肽其降糖活性存在较大差异。Hatanaka 等^[6]使用 Umamizyme G 和 Biopraser SP 分别酶解米糠蛋白制备的二肽基肽酶 IV(DPP-IV)抑制肽对 DPP-IV 的 IC_{50} 分别为 2.3、26.4 mg/mL,二者功效相差 11 倍以上。Admassu 等^[10]使用胃蛋白酶、胰蛋白酶、碱性蛋白酶、中性蛋白酶水解紫菜蛋白,其中胃蛋白酶水解物对 α -淀粉酶的抑制率最高,抑制率为 50%,中性蛋白酶水解物的抑制率最低,仅为 18.27%。

酶解法制备的降糖肽的生物活性不仅取决于酶的类型,还取决于水解度(DH)^[11]。Ren 等^[12]使用碱性蛋白酶酶解大麻种子蛋白制备的降糖肽,对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性在一定范围内随着水解度的增加而增加,在水解度为 $27.24\% \pm 0.88\%$ 时,抑制率最大,为 $58.26\% \pm 3.26\%$;然而当水解度达 $33.25\% \pm 2.05\%$ 时,其抑制活性降低。表明过度水解不利于降糖肽的制备。这可能是由于过度水解导致水解产物中具有降糖活性多肽含量的下降。DH 为 20%~40%,对 DPP-IV 有较大的抑制活性^[13]。Li-Chan 等^[14]在酶解大西洋鲑鱼皮明胶制备 DPP-IV 抑制剂时发现,酶底比(E/S)对水解物的抑制活性也有密切关系,同时水解度与酶底比也存在一定的相关性。使用风味蛋白酶酶解鲑鱼皮明胶,在 E/S 为 6% 时对 DPP-IV 抑制率最大(45.2%)。而且三种酶(碱性蛋白酶、菠萝蛋白酶、风味蛋白酶)的水解度与 E/S 成正相关。

酶的种类、水解度以及酶底比,都直接或间接地通过改变降糖肽的氨基酸序列和结构来影响其生物活性^[12,14]。

2 降糖肽的分离纯化与结构鉴定

降糖肽的传统分离方法主要采用盐析和萃取,但这两种方法制备的降糖肽的纯度较低,而且复杂的成分会与多肽相互作用,从而影响多肽的生物活性。因此目前多采用膜过滤法和色谱法进行降糖肽的分离纯化。尽管近些年在色谱技术上取得了进展,但低选择性可能仍然是分离大小或性质相似生物分子的技术难题。因此,在一些研究中采用色谱技术和非色谱方法相结合的方法。例如, Yuan 等^[15]从苦瓜水解物中分离纯化降糖肽,先使用截留分子量 10 kDa 的滤膜超滤,然后采用 Sephadex G-25 过滤和高效液相色谱法分离纯化。还有研究利用等电点和分子量的差异,采用电渗析和超滤相结合的方式分离降糖肽^[16]。

从外源性蛋白水解物中分离纯化降糖肽通常是以活性测定为导向,辅以色谱和非色谱分离技术,最后通过质谱或 Edman 降解法对纯化的肽进行鉴

定。鉴定出的肽序列,可采用化学合成多肽,验证其降血糖活性。除了确定肽的分子量外,还可使用高效液相色谱串联质谱法来鉴定降糖肽的氨基酸序列^[17]。也可利用生物信息学来预测多肽,如利用 BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)来比对新肽序列是否存在于前体蛋白的氨基酸序列中,使用 BIOPEP(<http://www.uwm.edu.pl/~biochemia/>)来预测肽序列是否为新肽以及多肽的生物活性,利用 PepDraw(<https://www.tulane.edu/~biochem/WW/PepDraw/>)来预测多肽的理化性质^[17]。

另外,在某些肽序列上发现的各种翻译后修饰的氨基酸残基可能会给肽鉴定带来额外挑战。目前,文献中鉴定和报道的降糖肽大都是含有未修饰的氨基酸残基。鉴定由修饰残基组成的降糖肽可能是未来的研究热点。

3 降糖肽的活性评价

3.1 降糖肽的体外活性评价

降糖肽的体外效应通常是通过测定其对二肽基肽酶(DPP-IV 酶)、 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶等参与血糖调节的酶的抑制效应来评估的。

DPP-IV 是一种丝氨酸蛋白酶,通过特异性切割氨基末端 2 个氨基酸残基(Xaa-Pro 和 Xaa-Ala)来调节肠促胰岛素的生物活性,从而调节体内的葡萄糖代谢^[18]。肠促胰岛素包括 GLP-1(胰高血糖素样肽 1)和 GIP(葡萄糖依赖性促胰岛素多肽,也称胃抑肽),是摄取食物后由肠分泌的肽类激素,其主要作用是调节血糖水平,抑制胰腺分泌胰高血糖素^[19]。GIP 能够促进葡萄糖诱导的胰岛素分泌,此外还能增强脂肪组织的餐后脂质代谢^[20]。GLP-1 除了可以增强葡萄糖诱导的胰岛素分泌,还可以抑制胰腺胰高血糖素的分泌,延缓胃排空,抑制食欲和食物摄入^[21]。因此,在糖尿病的控制中,可选择抑制 DPP-IV 的生物活性,提高体内 GLP-1 和 GIP 的含量,从而达到降血糖的目的。目前,已有文献报道了多种降糖肽在体外均对 DPP-IV 有抑制作用(见表 2)。Mune 等^[22]用碱性蛋白酶和热裂解酶酶解 Bambara 豆蛋白的水解物具有相似的 DPP-IV 抑制活性($IC_{50}=1.73$ mg/mL),并且具有明显的 DPPH 自由基清除活性和亚铁螯合活性,对氧化应激具有保护作用。Nongonierma 等^[23]从骆驼乳清蛋白水解物中分离出对 DPP-IV 具有较强抑制作用的降糖肽 VPV、VPI、VPF。其中 VPV 被认为是目前发现的仅次于 IPI 的 DPP-IV 抑制肽。

α -葡萄糖苷酶是一种糖苷水解酶(EC3.2.1.20),位于肠刷边缘,具有水解低聚糖中存在的 α -1,4-糖苷键,然后将其转化为可从肠道吸收进入血液中单糖的功能。通过抑制 α -葡萄糖苷酶的作用,可以延缓食物摄取后碳水化合物的消化,从而减少血液中葡萄糖的整体吸收,防止高血糖^[24]。Zhang 等^[25]利用定量构效关系(QSAR)筛选法和家蚕多肽数据库筛选 α -葡萄糖苷酶的抑制肽,得到了 4 种对 α -葡萄糖苷酶有

表 2 降糖肽的体外生物学效应
Table 2 *In vitro* biological effects of hypoglycemic peptides

来源	提取方法	提取工具	分离纯化技术	水解物/肽序列	作用机制	参考文献
班巴拉豆 (Bambara)	酶解	碱性蛋白酶、热裂解酶、胰蛋白酶	反相高效液相色谱 (RP-HPLC)	水解物	具有DPP-IV酶和ACE酶抑制活性	[22]
骆驼乳清蛋白	酶解	胰蛋白酶	反相超高效液相色谱 (RP-UPLC)	VPV VPI VPF	具有DPP-IV酶抑制活性, 三个肽的 IC_{50} 分别为 (6.6 ± 0.5) 、 (35 ± 2.0) 、 (55.1 ± 5.8) $\mu\text{mol/L}$	[23]
大麻种子蛋白	酶解	碱性蛋白酶	大孔吸附树脂 (MAR)、凝胶过滤层析 (GFC)、RP-HPLC	LR PLMLP	具有显著的DPP-IV酶抑制活性	[12]
蛋清蛋白	酶解	碱性蛋白酶	Sephadex G25凝胶层析、LC/MS/MS	KLPGF	具有 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性, 其 IC_{50} 分别为 (59.5 ± 5.7) 、 (120.0 ± 4.0) μmol^{-1}	[28]
乳清蛋白	酶解	胃蛋白酶	凝胶电泳	1.0~26.6 kDa	DPP-IV酶和 α -葡萄糖苷酶抑制作用	[34]
β -乳球蛋白	模拟酶切	BIOPEP数据库	化学合成	IPA	DPP-IV酶抑制活性	[35]
藜麦蛋白	模拟胃肠消化 (SGID)	胃蛋白酶和胰蛋白酶	超滤和RP-HPLC	IQAEGGLT DKDYPK GEHGSDG NV	具有DPP-IV酶、 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶抑制作用, 三个肽的 IC_{50} 分别为 $((17.05 \pm 0.06) \text{ mg/mL}, -, -)$; $(-, -, (6.86 \pm 0.16) \text{ mg/mL})$; $((55.85 \pm 0.26), (22.16 \pm 0.6), (30.84 \pm 0.69) \text{ mg/mL})$	[36]
大豆	发酵	枯草芽孢杆菌和米曲霉	超高效液相色谱 (UPLC)		提高葡萄糖耐量, 增强胰岛素敏感性	[37]
黑豆	酶解	碱性蛋白酶	超滤	AKSPLF ATNPLF FEELN LSVSVL FFL QLGGH LLSL QQEG WGVFN EPHGK HVQNN NDEPASG	减少葡萄糖摄取、阻碍葡萄糖转运和DPP-IV抑制作用	[38]
菜豆	酶解和模拟胃肠消化 (SGID)	碱性蛋白酶、菠萝蛋白酶、胃蛋白酶、胰酶	超滤		增加胰岛素分泌、抑制葡萄糖摄取与DPP-IV酶活性	[32]

较强抑制作用的多肽: QPGR、SQSPA、QPT、NSPR, 其 IC_{50} 分别为 65.8、20、560、205 mol/L 。Ren 等^[12] 从大麻子蛋白中发现 2 个新的 α -葡萄糖苷酶抑制肽 LR 和 PLMLP。多肽中的疏水性氨基酸, 特别是脯氨酸和亮氨酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性具有重要贡献。Kang 等^[26] 从米曲霉发酵物中分离出 α -葡萄糖苷酶抑制肽 CL 和 PFP。

α -淀粉酶 (EC3.2.1.1) 是一种消化酶, 属于糖基水解酶家族, 其基本功能是催化糖原、淀粉 (α -1, 4-糖苷键) 等多糖水解成麦芽糖、葡萄糖、麦芽三糖等较低分子量的产物。作为体内消化碳水化合物的主要酶之一, 抑制它将促进血糖水平的整体下降^[27]。Yu 等^[28] 从白蛋白中分离出 α -淀粉酶抑制肽 KLPGF, 其 IC_{50} 为 $(120 \pm 4.0) \mu\text{mol/L}$, KLPGF 还具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。Siow 等^[29] 从孜然种子中分离到肽 FFRSKLLSDGAAAKGALLPQYW, 具有抑制 α -淀粉酶的作用, 抑制率为 24.54%。通过构效关系研究发现肽的抑制作用可能是由于肽的存在阻碍了碳水化合物底物 (如淀粉) 与 α -淀粉酶的结合, 从而抑制了酶的催化作用。

细胞系或细胞模型也常用来进行降糖活性的评估, 例如肝癌 (HepG2) 细胞^[30]、肠 (Caco-2) 细胞^[31]、INS-1E (大鼠胰岛素瘤细胞模型)^[32]、AR42J (大鼠胰

腺外分泌细胞)^[33] 等来研究葡萄糖摄取、模拟胃肠消化和胰岛素敏感性等。

体外研究通常采用消化酶的生化分析来评价多肽和水解物的降血糖活性, 例如, 还有少数采用细胞模型来探究降糖肽对不同类型细胞的影响。但这些都很难很好的反映出多肽或水解物在人体内所发挥的生物学效应。因此, 未来研究应注重在体外研究的基础上进行体内研究。

3.2 降糖肽的体内活性评价

降糖肽的体内效应研究相对较少, 大多数研究还停留在蛋白水解物的体内效应而没有鉴定具体的肽序列 (表 3)。已报道有来自奶酪的 LPQNIPPL 能降低健康大鼠的餐后血糖^[39] 和从鱼皮明胶中分离的 GPVGPAGNPGANGLN 能够增强 STZ 糖尿病小鼠的胰岛素分泌^[40]。体内研究使得对降糖肽和水解物的生物学效应研究成为可能。但有研究者认为, 动物试验结果可能不能直接预测人类对降糖肽的反应^[41]。但这些研究提高了我们对降糖肽和蛋白水解物生物学效应的认识。有些效应不容易通过体外研究来探索, 例如降糖肽对动物糖耐量^[42] 和胰腺 β 细胞的影响^[43] 等。

降糖肽的体内效应常在糖尿病小鼠模型上进行研究, 例如链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病模型、四

表 3 降糖肽或水解物在小鼠模型中的效应
Table 3 Effects of hypoglycemic peptides or hydrolysates in rats model

来源	酶	肽/水解物	动物模型	体内效应	参考文献
奶酪	/	LPQNIPPL	健康Sprague Dawley大鼠(灌胃)	降低大鼠餐后血糖和改善糖耐量	[32]
沙丁鱼肌肉蛋白	碱性蛋白酶	水解物	高脂饮食小鼠(口服)	提高HDL-C水平和HDL-C/TC比值;降低TC、TG、LDL-C/HDL-C比值	[57]
章鱼肌肉蛋白	碱性蛋白酶	水解物	AIDR(灌胃)	显著降低血浆、肠和胰腺的 α -淀粉酶活性,分别降低了34.03%、53.24%和46.7%	[50]
斑马鱼蛋白	碱性蛋白酶	水解物	AIDR(灌胃)	显著抑制糖尿病大鼠血清和肠道 α -淀粉酶活性,降低血糖和糖化血红蛋白(HbA1c)水平;还能显著降低糖尿病大鼠血清和肝脏TG、TC和LDL-C水平,升高HDL-C水平;保护胰腺 β 细胞	[51]
猪皮明胶	风味蛋白酶	<1 kDa水解物	STZ 诱导糖尿病小鼠(口服)	改善STZ诱导糖尿病小鼠的糖耐量;抑制血浆中DPP-IV 酶活性, GLP-1和胰岛素含量升高	[58]
核桃蛋白	碱性蛋白酶	3~10 kDa水解物	STZ 诱导糖尿病小鼠(灌胃)	空腹血糖水平降低64.82%,胰岛素分泌增加23.71%,肝脏葡萄糖激酶和糖原水平分别降低69.54%和76.19%;显著降低血清TC、TG和LDL-C水平	[49]
蚕丝蛋白	蛋白酶N	水解物	C57BL/KsJ-db/db糖尿病小鼠(灌胃)	促进胰岛素分泌;显著降低血浆中TC、LDL-C水平	[59]
沙棘籽蛋白	/	沙棘籽蛋白悬浮液	高脂糖饮食+STZ诱导糖尿病小鼠(灌胃)	显著降低糖尿病小鼠的血糖水平;改善胰岛素抵抗;降低糖尿病小鼠血脂水平;糖尿病小鼠肝脏组织AMPK和SIRT1活性增强,使小鼠肝脏组织G-6-P、GP、GSK-3、CPT1- α 基因表达量减少,降低胰岛素抵抗	[60]
沙棘蛋白	/		db/db 糖尿病小鼠	有效降低糖尿病小鼠的血糖和改善小鼠的精神状态	[48]
Vglycin	/	多肽	高脂糖饮食灌胃+STZ诱导小鼠糖尿病	改善受损的糖耐量和胰岛素敏感性	[42]

氧嘧啶(ALX)诱导的糖尿病模型和 db/db 小鼠(自发性基因突变小鼠)等。诱发性动物模型中高脂高糖饮食联合 STZ 诱导的动物模型是目前常用的 II 型糖尿病模型^[44]。ALX 诱导的糖尿病模型应用相对较少^[45]。关于糖尿病动物的造模方法及其优缺点,可参考裴天仙^[46]、唐艺丹^[47]等的报道。

刘洪霞等^[48]研究发现,用沙棘蛋白灌胃处理 db/db 糖尿病小鼠,沙棘蛋白可明显提高糖尿病小鼠的葡萄糖敏感性,减少葡萄糖的吸收,有效降低糖尿病小鼠的血糖。另外,沙棘蛋白还能改善小鼠的精神状态,减轻糖尿病对小鼠的损伤。有些蛋白水解物不但具有降血糖活性,还能改善血脂谱。Wang 等^[49]发现,核桃蛋白水解物(3~10 kDa)不仅能够使链脲佐菌素(STZ)诱导的 II 型糖尿病小鼠的空腹血糖降低 64.82%,胰岛素分泌增加 23.71%,肝脏葡萄糖激酶和糖原水平分别降低 69.54% 和 76.19%,而且还能显著降低血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。

通过降低四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠(AIDR)的血糖水平,证明章鱼蛋白和其蛋白水解物均具有降血糖作用^[50]。章鱼蛋白水解物比章鱼蛋白在降血糖作用上更有效,而且水解物比阿卡波糖降低血浆、肠和胰腺中的 α -淀粉酶的活性更高。

通过糖尿病小鼠体内血清、肠道中 α -淀粉酶的活性^[51]和胰腺细胞中胰岛素的表达水平^[43]可以证明斑马鱼蛋白水解物和 Vglycin 在体内的降血糖作用。 α -淀粉酶活性和胰岛素水平在降低血糖水平上发挥着重要作用。斑马鱼蛋白的氨基酸组成分析结果表明,亮氨酸含量最丰富,其次是精氨酸和谷氨

酸。许多研究报道不同游离氨基酸对 2 型糖尿病患者胰岛素分泌的影响。亮氨酸是一种促胰岛素分泌剂,通过氧化脱羧和变构激活谷氨酸脱氢酶来诱导和增强胰腺 β 细胞胰岛素的分泌^[52-53]。精氨酸^[53]和苯丙氨酸衍生物^[54]均具有调节胰岛素分泌的作用。但口服斑马鱼蛋白中亮氨酸和精氨酸的丰度与胰岛素水平之间的关系还有待进一步的研究。

某些蛋白水解物在体内不仅具有降血糖作用,还具有其他活性。例如, Kilari 等^[55]证实骆驼奶蛋白水解物在 STZ 糖尿病小鼠体内不仅具有显著的降血糖作用,还可明显增强超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,降低丙二醛(MDA)含量。使用斑马鱼蛋白水解物处理的 AIDR 糖尿病小鼠,体内的 SOD、GPX、CAT 等酶的活性增强,斑马鱼蛋白水解物还具有调节 ACE 酶的作用^[56]。高血压是糖尿病的主要并发症,而 ACE 酶是体内参与血压水平调节的重要酶。因此,蛋白水解物的多活性作用对糖尿病管理具有重要意义。但这些蛋白水解物是否真的具有多种生物活性,还是这些活性是由不同的肽发挥的,需要深入研究来证实。

4 降糖肽的构效关系

定量构效关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)可以评估某种蛋白是否为降糖肽的潜在来源,还可以预测新肽的潜在降糖活性。分子量、氨基酸组成和疏水性被认为是影响降糖肽活性的关键结构特征。

降糖肽的降糖作用取决于其结构。降糖肽通常由 2~15 个氨基酸残基组成,分子量为 228~1656 Da (表 4)。降糖肽的降血糖活性受链长影响。降糖肽

的氨基酸残基数<7(分子量<700~800 Da)时活性最强,氨基酸残基数为 7~25(分子量 800~3000 Da)时次之,链长更长的活性最低^[61]。Valencia 等^[62]发现在易煮菜豆、难煮菜豆水解物中,分子量小于 3 kDa 的超滤组分对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制率最高,其次是分子量为 3~10 kDa 的组分,分子量大于 10 kDa 的组分抑制率最低。

通常小肽更容易被人体吸收,具有更强的降糖活性^[63]。Lacroix 等^[64]利用 Caco-2 细胞来研究乳蛋白肽的生物利用度,在 WR、IPI、IPIQY、LPYPY、LKPTPEGDL 等五个肽中,WR 显示出最高的转运率。而 Ding 等^[65]研究发现 YFCLT 和 GLLLP 均能进入 Caco-2 单层细胞。因此,大于 3 个氨基酸残基的多肽是否会被小肠吸收并不容易预测。

除分子量外,一些特殊氨基酸在降血糖中也发挥着重要作用。报道的许多食品衍生肽的 DPP-IV 抑制剂 N 端多数含有 Xaa-Pro(Xaa 表示氨基酸残基)。Pro 残基对 DPP-IV 的抑制作用具有重要贡献^[66]。如来自蜡样芽孢杆菌培养物的 DPP-IV 抑制肽 Diprotin A (Ile-Pro-Ile) and B (Val-Pro-Leu)均具有该结构^[67]。Hikida 等^[68]发现 Trp-Pro 的抑制作用最强。然而, Uenishi 等^[39]发现多肽 FPGIPN、VPPFIQPE、YPPFGIPN 虽然具有 Xaa-Pro 结构,

但却无明显的 DPP-IV 抑制作用。尽管 Pro 残基在降血糖方面上具有潜在作用,但显然还存在其他作用机制,使不含 Pro 残基的降糖肽在体内外也具有降糖作用。从核桃中分离的多肽 LVRL 和 LRYL 可显著提高 IR HepG2 细胞的葡萄糖消耗能力及 GSH-Px 和 CAT 的活性,且能有效清除细胞内 ROS 含量^[30]。肽 FEELN、LSVL、LSVSVL 能抑制 Caco-2 细胞对葡萄糖的摄取,具有降血糖作用^[31]。值得注意的是, LVRL、LRYL、FEELN、LSVL 和 LSVSVL 都至少含有一个亮氨酸,亮氨酸和其他疏水氨基酸残基的存在可能有助于多肽与膜脂双层的相互作用,促进其进入细胞,从而提高其降血糖活性。表 4 中列出了已经得到验证的降糖肽的疏水性氨基酸残基在其序列中所占的比例。显然,疏水性氨基酸残基的存在并不是多肽降血糖活性的必要条件。

近年来,基于计算机的 QSAR 方法已广泛应用于诸多领域,例如,药物设计、材料科学、化学等,但在食品科学中应用较少。在降糖肽的筛选中,利用传统方法需进行大量的实验。与传统方法相比, QSAR 方法利用数学建模、分子对接和模拟、化学计量学等在生物活性肽的筛选中显示出显著优势^[69]。Wang 等^[70]基于空间电场、静电场、疏水场等构建了三维定量构效关系(3D-QSAR)模型,从 60 种多肽中

表 4 降糖肽的构效关系

Table 4 Structure-activity relationship of hypoglycemic peptides

肽序列	分子量(Da)	疏水性氨基酸比例(%)	生物学活性	IC ₅₀	参考文献
LP	228.15	100	DPP-IV 抑制活性(IC ₅₀ , mmol/L)	2.37±0.17	
IP	228.15	100		0.41±0.07	
WR	360.19	50	DPP-IV抑制活性(IC ₅₀ , mmol/L)	0.020±0.003	[71]
WI	317.17	100		0.037±0.001	[71]
WP	301.14	100		0.044±0.004	[71]
WA	275.13	100		0.048±0.013	[71]
VPV	313.20	100	DPP-IV抑制活性(IC ₅₀ , μ mol/L)	6.6±0.5	[23]
VPI	327.22	100		35.0±2.0	[23]
VPF	361.20	100		55.1±5.8	[23]
LLSL	444.29	75	促进胰岛素分泌、抑制葡萄糖摄取	—	
LVLL	456.33	100		—	
QQEG	460.19	0		—	
GPAE	372.16	50	DPP-IV 抑制活性(IC ₅₀ , μ mol/L)	49.6	[14]
GPGAA	371.18	60		41.9	[14]
PFP	359.18	100	α -葡萄糖苷酶抑制活性(IC ₅₀ , mg/mL)	3.1	[26]
LR	287.20	50	α -葡萄糖苷酶抑制活性(IC ₅₀ , mg/mL)	0.027±0.002	[12]
PLMLP	569.32	100		0.032±0.003	[12]
RVPSLM	710.39	66.67	α -葡萄糖苷酶抑制活性(IC ₅₀ , μ mol/L)	23.07	[72]
TPSPR	556.30	40		40.02	[72]
LRYL	563.34	50	α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶抑制活性(抑制率)	—	[30]
LVRL	499.35	75		—	[30]
LPLLR	610.42	75		—	[30]
LSVSVL	616.38	66.67		—	[31]
ATNPLF	661.34	66.67	阻断葡萄糖转运蛋白GLUT2和SGLT1、增加葡萄糖耐量	—	[31]
AKSPLF	661.38	66.67		—	[31]
FEELN	650.29	40		—	[31]
PPHMLP	690.35	83.33		8.96±0.33	[73]
PLPWGAGF	843.43	75	α -淀粉酶抑制活性(IC ₅₀ , mg/mL)	14.63±0.44	[73]
PLPLHMLP	916.52	87.50		18.45±0.25	[73]
LSSLEMGSGLGALFVCM	1656.79	56.25		1.97±1.72	[73]

筛选出 6 种 DPP-IV 抑制肽,分别为 VSM、ISW、VSW、ICY、ISD 和 ISE。通过体外研究发现均具有明显 DPP-IV 酶抑制活性,其中肽 ICY 抑制活性最高,IC₅₀ 为 0.73 mmol/L。

在 QSAR 建模中还存在一些问题有待解决。例如, QSAR 方法没有考虑到数据的异质性。此外,化学结构的构象柔性仍然是一个有待进一步研究的问题。但是, QSAR 方法对生物活性肽领域的研究人员仍然有很大的帮助。近年来,虽然 QSAR 已应用于生物活性肽的食品科学研究中,但如何将 QSAR 应用于降糖肽中仍需深入研究。

5 结论与展望

根据体内外研究,降糖肽被认为是一种非常具有前景的抗糖尿病类药物,本文通过对国内外降糖肽的制备、分离纯化、结构表征、生物学评价以及构效关系的综述,揭示了降糖肽的研究空白领域。虽然一些降糖肽的生物学效应已经确定,但还未证明这些肽在食品、保健品、药品生产中的应用。此外,降糖肽的大规模开发与应用应考虑食品和药品的加工条件对降糖肽的降血糖活性和生物利用度的影响,以及这类多肽产品的高生产成本、质量、生物活性、有效性和安全性需要进一步的研究。

另外,胃肠道消化对降糖肽的有效性、稳定性和生物利用度的影响还需通过体内实验进一步确定。未来的研究还应注重降糖肽的肠道吸收机制,以及它们的潜在多功能性。更多的体内研究可以通过口服含有纯肽的复杂食药系统来研究多肽的降血糖活性,而不是口服纯多肽。

虽然降糖肽已经显示出作为药品的潜力,但到目前为止,只有少数商业化的降糖肽产品。除了体内研究和临床试验外,迫切需要研究在食品、药品加工过程中添加到目标基质中的降糖肽的活性和结构稳定性。此外,多肽结构对降糖肽降血糖机制的影响还缺乏深入的研究,如脉冲电场和圆二色谱,可以帮助推断肽的二级结构与其降血糖活性之间的潜在联系。因此,进一步研究降糖肽的构效关系对于降糖肽作用机制具有重要意义,也将拓宽其潜在的应用前景。

综上所述,在过去的十年里,越来越多的研究表明,降糖肽可以在体外、细胞和动物模型中发挥降血糖作用,在食品、保健品和药品等方面具有潜在的应用前景,但要为这些应用奠定基础,未来还需要进行更多深入的研究。

参考文献

[1] MONNIER L, COLETTE C, SCHLIENGER J L, et al. Gluco-centric risk factors for macrovascular complications in diabetes: Glucose 'legacy' and 'variability'-what we see, know and try to comprehend[J]. *Diabetes and Metabolism*, 2019, 45(5): 401-408.

[2] CHO N H, SHAW J E, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2018,

138: 271-281.

[3] 金斐,朱丽云,高永生,等.植物源活性成分降血糖作用及其机理研究进展[J]. *食品科学*, 2021: 1-14. [JIN Fei, ZHU Liyun, GAO Yongsheng, et al. Research progress on the hypoglycemic effect and mechanism of plant-derived[J]. *Food Science*, 2021: 1-14.]

[4] TIAN Y, WANG W, YUAN C, et al. Nutritional and digestive properties of protein isolates extracted from the muscle of the common carp using pH-Shift processing[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2017, 41(1): e12847.

[5] CHEN J, LIU G, PANTALONE V, et al. Physicochemical properties of proteins extracted from four new Tennessee soybean lines[J]. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2020, 2: 100022.

[6] HATANAKA T, INOUE Y, ARIMA J, et al. Production of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from defatted rice bran[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 797-802.

[7] LI M, XIA S, ZHANG Y, 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.

[8] WEN C, ZHANG J, ZHANG H, et al. Effects of divergent ultrasound pretreatment on the structure of watermelon seed protein and the antioxidant activity of its hydrolysates[J]. *Food Chemistry*, 2019, 299: 125165.

[9] RIVERO-PINO F, ESPEJO-CARPIO F J, PÉREZ-GÁLVEZ R, et al. Effect of ultrasound pretreatment and sequential hydrolysis on the production of *Tenebrio molitor* antidiabetic peptides[J]. *Food and Bioprocesses*, 2020, 123: 217-224.

[10] ADMASSU H, GASMAILA M A A, YANG R, et al. Evaluation of the *in vitro* α -amylase enzyme inhibition potential of commercial dried laver (*Porphyra* Species) seaweed protein hydrolysate[J]. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2018, 18(4): 547-556.

[11] REN Y, WU H, LAI F, et al. Isolation and identification of a novel anticoagulant peptide from enzymatic hydrolysates of scorpion (*Buthus martensii* Karsch) protein[J]. *Food Research International*, 2014, 64: 931-938.

[12] REN Y, LIANG K, JIN Y, et al. Identification and characterization of two novel α -glucosidase inhibitory oligopeptides from hemp (*Cannabis sativa* L.) seed protein[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 26: 439-450.

[13] BOOTS J. Protein hydrolysate enriched in peptides inhibiting DPP-IV and their use: US, 20130096074[P]. 2013-04-18.

[14] LI-CHAN E C Y, HUNAG S L, JAO C L, et al. Peptides derived from Atlantic salmon skin gelatin as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(4): 973-978.

[15] YUAN X Q, GU X, TANG J. Purification and characterization of a hypoglycemic peptide from *Momordica charantia* L. Var. *Abbreviata* Ser[J]. *Food Chemistry*, 2008, 111: 415-420.

[16] HE R, GIRGIH A T, ROZOY E, et al. Selective separation and concentration of antihypertensive peptides from rapeseed pro-

- tein hydrolysate by electrodialysis with ultrafiltration membranes [J]. *Food Chemistry*, 2016, 197: 1008–1014.
- [17] DE SOUZA ROCHA T, HERNANDEZ L M R, CHANG Y K, et al. Impact of germination and enzymatic hydrolysis of cowpea bean (*Vigna unguiculata*) on the generation of peptides capable of inhibiting dipeptidyl peptidase IV [J]. *Food Research International*, 2014, 64: 799–809.
- [18] PIA Z, JENNIFER C, ANITA K, et al. Metabolic role of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in primary human (pre)adipocytes [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23074.
- [19] AMAYA-FARFAN J, MOURA C S, MORATO P N, et al. Chapter 17- Dietary whey protein and type 2 diabetes: Molecular aspects [M]. London: Molecular Nutrition and Diabetes, 2016: 211–221.
- [20] NAUCK M A, MEIER J J. Incretin hormones: Their role in health and disease [J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2018, 20: 5–21.
- [21] ANDERSEN E S, CF DEACON, HOLST J J, et al. Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors? [J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2018, 20(1): 34–41.
- [22] MUNE M M A, MINKA S R, HENLE T. Investigation on antioxidant, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory activity of Bambara bean protein hydrolysates [J]. *Food Chemistry*, 2018, 250: 162–169.
- [23] NONGONIERMA A B, CADAMURO C, LE GOUIC A, et al. Dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory properties of a camel whey protein enriched hydrolysate preparation [J]. *Food Chemistry*, 2019, 279: 70–79.
- [24] DEACON, CAROLYN F. A review of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. Hot topics from randomized controlled trials [J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2018, 20: 34–46.
- [25] ZHANG Y, WANG N, WANG W, et al. Molecular mechanisms of novel peptides from silkworm pupae that inhibit α -glucosidase [J]. *Peptides*, 2016, 76: 45–50.
- [26] KANG M G, YI S H, LEE J S. Production and characterization of a new α -glucosidase inhibitory peptide from *Aspergillus oryzae* N159-1 [J]. *Mycobiology*, 2013, 41(3): 149–154.
- [27] SOMTIMUANG C, OLATUNJI O J, OVATLARNPORN C. Evaluation of *in vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory potentials of 14 medicinal plants constituted in Thai folk antidiabetic formulations [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, 15(4): e1800025.
- [28] YU Z, YIN Y, ZHAO W, et al. Anti-diabetic activity peptides from albumin against α -glucosidase and α -amylase [J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 2078–2085.
- [29] SIOW H, GAN C. Extraction, identification, and structure - activity relationship of antioxidative and α -amylase inhibitory peptides from cumin seeds (*Cuminum cyminum*) [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 22: 1–12.
- [30] 吴彤. 核桃降血糖活性肽的分离纯化、结构鉴定及降血糖作用机理研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2020. [WU Tong. Purification, identification and hypoglycemic mechanism of hypoglycemic peptides from walnut protein hydrolysate [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020.]
- [31] MOJICA L, GONZALEZ De Mejia E, GRANADOS-SILVESTRE M Á, et al. Evaluation of the hypoglycemic potential of a black bean hydrolyzed protein isolate and its pure peptides using *in silico*, *in vitro* and *in vivo* approaches [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 31: 274–286.
- [32] OSEGUERA TOLEDO M E, GONZALEZ DE MEJIA E, SIVAGURU M, et al. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein-derived peptides increased insulin secretion, inhibited lipid accumulation, increased glucose uptake and reduced the phosphatase and tensin homologue activation *in vitro* [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 27: 160–177.
- [33] NGOH Y Y, TYE G J, GAN C Y. The investigation of α -amylase inhibitory activity of selected pinto bean peptides via pre-clinical study using AR42J cell [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 35: 641–647.
- [34] IME L, ECY Li-Chan. Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and α -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(31): 7500–7506.
- [35] TULIPANO G, SIBILIA V, CAROLI A M, et al. Whey proteins as source of dipeptidyl dipeptidase IV (dipeptidyl peptidase-4) inhibitors [J]. *Peptides*, 2011, 32(4): 835–838.
- [36] VILCACUNDO R, MARTÍNEZ-VILLALUENGA C, HERNÁNDEZ-LEDESMA B. Release of dipeptidyl peptidase IV, α -amylase and α -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 35: 531–539.
- [37] YANG H J, KWON D Y, KIM M J, et al. Meju, unsalted soybeans fermented with *Bacillus subtilis* and *Aspergillus oryzae*, potentiates insulinotropic actions and improves hepatic insulin sensitivity in diabetic rats [J]. *Nutrition and Metabolism*, 2012, 9: 1–12.
- [38] MOJICA L, LUNA-VITAL D A, GONZALEZ DE MEJIA E. Black bean peptides inhibit glucose uptake in Caco-2 adenocarcinoma cells by blocking the expression and translocation pathway of glucose transporters [J]. *Toxicology Reports*, 2018, 5: 552–560.
- [39] UENISHI H, KABUKI T, SETO Y, et al. Isolation and identification of casein-derived dipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4)-inhibitory peptide LPQNIPPL from gouda-type cheese and its effect on plasma glucose in rats [J]. *International Dairy Journal*, 2012, 22(1): 24–30.
- [40] WANG T Y, HSIEH C H, HUNG C C, et al. Fish skin gelatin hydrolysates as dipeptidyl peptidase IV inhibitors and glucagon-like peptide-1 stimulators improve glycaemic control in diabetic rats: A comparison between warm- and cold-water fish [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 330–340.
- [41] PERLMAN R L. Mouse models of human disease: An evolutionary perspective [J]. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2016(1): 170–176.
- [42] JIANG H, FENG J, DU Z, et al. Oral administration of soybean peptide Vglycin normalizes fasting glucose and restores impaired pancreatic function in Type 2 diabetic Wistar rats [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2014, 25(9): 954–963.
- [43] HERNÁNDEZ-SAAVEDRA D, MENDOZA-SÁNCHEZ M,

- HERNÁNDEZ-MONTIEL H L, et al. Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris*) protect against β -cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2013, 68(2): 207–212.
- [44] AZUSHIMA K, GURLEY S B, COFFMAN T M. Modelling diabetic nephropathy in mice[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2017, 14(1): 48–56.
- [45] GHASEMI A, KHALIFI S, JEDI S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes[J]. *Acta Physiologica Hungarica*, 2014, 101(4): 408–420.
- [46] 裴天仙, 郭景玥, 王春雨, 等. 6 种 2 型糖尿病动物模型中生化病理改变的比较[J]. *药物评价研究*, 2020, 43(9): 1740–1746.
- [PEI Tianxian, GUO Jingyue, WANG Chunyu, et al. Comparison of biochemical and pathological changes in six type 2 diabetic animal models[J]. 2020, 43(9): 1740–1746.]
- [47] 唐艺丹, 王鲜忠, 张姣姣. II 型糖尿病动物模型构建的研究进展[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(6): 870–876. [TANG Y D, WANG X Z, ZHANG J J. Research progress in the construction of type II diabetes animal models[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(6): 870–876.]
- [48] 刘洪霞, 舒丹阳, 刘鹏展, 等. 沙棘蛋白的特性及其对 db/db 糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(7): 309–313. [LIU Hongxia, SHU Danyang, LIU Zhan Pengzhan, et al. Characteristics of seabuckthorn seed protein and its hypoglycemic effect on db/db diabetic mice[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(7): 309–313.]
- [49] WANG J, DU K, FANG L, et al. Evaluation of the antidiabetic activity of hydrolyzed peptides derived from juglans mandshurica maxim. fruits in insulin-resistant HepG2 cells and type 2 diabetic mice[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2018, 42(3): 1–9.
- [50] BEN Slama-ben Salem R, KTARI N, BKHAIRIA I, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-diabetic and anti-hyperlipidemic effects of protein hydrolysates from *Octopus vulgaris* in alloxanic rats[J]. *Food Research International*, 2018, 106: 952–963.
- [51] KTARI N, MNAFGUI K, NASRI R, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats[J]. *Food and Function*, 2013, 4(11): 1691–1699.
- [52] SENER A, MALAISSE W J. L-leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase[J]. *Nature*, 1980, 288(5787): 187–189.
- [53] LOUIS S. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1990, 39(3): 537–547.
- [54] SCHWANSTECHE C, MEYER M, SCHWANSTECHE M, et al. Interaction of N-benzoyl-D-phenylalanine and related compounds with the sulphonylurea receptor of β -cells[J]. *British Journal of Pharmacology*, 1998, 123(6): 1023–1030.
- [55] KILARI B P, MUDGIL P, AZIMULLAH S, et al. Effect of camel milk protein hydrolysates against hyperglycemia, hyperlipidemia, and associated oxidative stress in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats[J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(2): 1304–1317.
- [56] KTARI N, NASRI R, MNAFGUI K, et al. Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in alloxan-induced diabetic rats[J]. *Process Biochemistry*, 2014, 49(5): 890–897.
- [57] BEN KHALED H, GHLISSI Z, CHTOUROU Y, et al. Effect of protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinella aurita*) on the oxidative status and blood lipid profile of cholesterol-fed rats[J]. *Food Research International*, 2012, 45(1): 60–68.
- [58] HUANG S L, HUNG C C, JAO C L, et al. Porcine skin gelatin hydrolysate as a dipeptidyl peptidase IV inhibitor improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 11: 235–242.
- [59] JUNG E Y, LEE H S, LEE H J, et al. Feeding silk protein hydrolysates to C57BL/KsJ-db/db mice improves blood glucose and lipid profiles[J]. *Nutrition Research*, 2010, 30(11): 783–790.
- [60] 朱西平. 沙棘籽蛋白对 2 型糖尿病模型小鼠体内降血糖与炎症因子的干预作用[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016. [ZHU Xiping. Effects of seabuckthorn protein on the hypoglycemic and inflammatory factors in type 2 diabetic mice[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016.]
- [61] CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, FOGLIA P, et al. Development of an analytical strategy for the identification of potential bioactive peptides generated by *in vitro* tryptic digestion of fish muscle proteins[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(3): 845–854.
- [62] VALENCIA-MEJÍA E, BATISTA K A, JOSE J, et al. Anti-hyperglycemic and hypoglycemic activity of naturally occurring peptides and protein hydrolysates from easy-to-cook and hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. *Food Research International*, 2019, 121: 238–246.
- [63] KIELA P R, GHISHAN F K. Physiology of intestinal absorption and secretion[J]. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 2016, 30(2): 145–159.
- [64] LACROIX I M E, CHEN X M, KITTS D D, et al. Investigation into the bioavailability of milk protein-derived peptides with dipeptidyl-peptidase IV inhibitory activity using Caco-2 cell monolayers[J]. *Food and Function*, 2017, 8(2): 701–709.
- [65] DING L, WANG L, ZHANG T, et al. Hydrolysis and transepithelial transport of two corn gluten derived bioactive peptides in human Caco-2 cell monolayers[J]. *Food Research International*, 2018, 106: 475–480.
- [66] YAN T R, HO S C, HOU C L. Catalytic properties of X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase from *Lactococcus lactis* subsp. cremoris nTR[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1992, 56(5): 704–707.
- [67] RAHFELD J, SCHIERBORN M, HARTRODT B, et al. Are diprotin A (Ile-Pro-Ile) and diprotin B (Val-Pro-Leu) inhibitors or substrates of dipeptidyl peptidase IV?[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular*, 1991, 1076(2): 314–316.
- [68] HIKIDA A, ITO K, MOTOYAMA T, et al. Systematic analysis of a dipeptide library for inhibitor development using human

dipeptidyl peptidase IV produced by a *Saccharomyces cerevisiae* expression system[J]. [Biochemical and Biophysical Research Communications](#), 2013, 430(4): 1217–1222.

[69] WEICHEN BO, LANG CHEN A, DONGYA Q, et al. Application of quantitative structure-activity relationship to food-derived peptides: Methods, situations, challenges and prospects[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 114: 176–188.

[70] WANG K, YANG X X, LOU W Y, et al. Discovery of dipeptidyl peptidase 4 inhibitory peptides from Largemouth bass (*Micropterus salmoides*) by a comprehensive approach[J]. [Bioorganic Chemistry](#), 2020, 105: 104432.

[71] LAN V T T, ITO K, OHNO M, et al. Analyzing a dipeptide library to identify human dipeptidyl peptidase IV inhibitor[J]. [Food Chemistry](#), 2015, 175: 66–73.

[72] YU Z, YIN Y, ZHAO W, et al. Novel peptides derived from egg white protein inhibiting alpha-glucosidase[J]. [Food Chemistry](#), 2011, 129(4): 1376–1382.

[73] NGOH Y, SOON T, GAN C. Enzyme and microbial technology screening and identification of five peptides from pinto bean with inhibitory activities against α -amylase using phage display technique[J]. [Enzyme and Microbial Technology](#), 2016, 89: 76–84.