

东亚钳蝎多肽资源的药理活性研究进展

李钟杰, 吴文澜, 王 勇

河南科技大学医学院, 河南 洛阳 471003

摘 要: 东亚钳蝎是我国传统名贵中药材, 由于其具有抗微生物、抗肿瘤、镇痛等多种药理作用而被广泛深入地研究。现代研究表明, 东亚钳蝎毒液中的活性多肽是其发挥药理作用的主要功能分子。通过对国内外有关东亚钳蝎多肽药理活性的研究进展进行概述, 以期东亚钳蝎潜在药用活性多肽的开发利用提供参考文献。

关键词: 东亚钳蝎; 多肽; 抗微生物; 抗肿瘤; 镇痛

中图分类号: R285; R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)21-5179-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.033

Research progress on pharmacological activity of peptides from *Buthus martensii*

LI Zhong-jie, WU Wen-lan, WANG Yong

Medical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

Abstract: *Buthus martensii* is a precious Chinese materia medica, which has been extensively studied due to its various pharmacological effects such as anti-microbial activity, anti-tumor activity, analgesic activity, etc. This paper reviews domestic and foreign researches about the pharmacological activities of peptides from *B. martensii*, which will provide references for the utilization of these active medicinal peptides in *B. martensii*.

Key words: *Buthus martensii* Karsch; peptides; antimicrobial activity; antitumor activity; analgesic activity

东亚钳蝎 *Buthus martensii* Karsch (BmK) 又名马氏正钳蝎 *Mesobuthus martensii* Karsch, 作为我国名贵中药材, 具有息风镇痉、通络止痛、攻毒散结等功效, 可用于治疗痉挛抽搐、小儿惊风、卒中、破伤风、疮疡、瘰癧、风湿顽痹、偏正头痛等症^[1]。现代研究表明, 蝎毒液中的多肽类分子是其主要的药用功效分子。目前已经从东亚钳蝎中获得具有抗微生物、抗肿瘤、镇痛等药理活性的多肽, 这些活性多肽为药物的开发提供了良好的分子模板。本文对关于东亚钳蝎中多肽药理活性的研究进展进行综述, 以期东亚钳蝎多肽资源的开发利用提供依据。

1 抗微生物多肽

细菌耐药性已经成为一个世界性的卫生健康难题, 极大地影响着人类健康^[2]。研究发现, 抗微生物多肽既对革兰阳性菌、革兰阴性菌表现出良好的抑制活性, 又不易诱导细菌对其产生耐药性, 同时还对真菌及病毒具有抑制作用^[3]。目前已经从东亚钳蝎中获得多种抗微生物多肽, 根据是否含有二硫

键可以将其分为含二硫键抗微生物多肽和不含二硫键抗微生物多肽。

1.1 含二硫键抗微生物多肽

BmTXKS2 是第一个被鉴定的东亚钳蝎含二硫键抗微生物多肽, 为昆虫类防御素多肽^[4]。BmTXKS2 由 39 个氨基酸残基组成, 且含有 6 个保守的 Cys, 构成 3 对二硫键 (Cys1-Cys4、Cys2-Cys5、Cys3-Cys6) 和 1 个保守的 Gly。3D 结构模拟显示, BmTXKS2 含有 1 个 N 端 loop (Cys4-Leu9), 1 个 α 螺旋 (Asp10-Thr18) 和 2 个反向平行的 β 折叠 (Ile22-His26、Lys33-Met37)。但是, BmTXKS2 的抗微生物活性没有被进一步研究。

Cao 课题组通过对东亚钳蝎的基因组进行研究, 从中获得 6 个新的防御素 (BmKDfsin1~6), 且 BmKDfsin2、BmKDfsin3、BmKDfsin4、BmKDfsin6 4 个防御素被证实真实存在, 并对 BmKDfsin4 进行了深入的研究^[5-6]。BmKDfsin4 的前体多肽由 61 个氨基酸残基 (24 个氨基酸残基的信号肽和 37 个氨

收稿日期: 2018-04-17

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81703475); 河南科技大学博士科研启动基金项目 (4020-13480034)

作者简介: 李钟杰, 主要从事多肽资源的药用基础研究。E-mail: sui_feng5217@126.com

基酸残基的成熟肽)组成。抗菌活性研究显示, BmKDfsin4 对革兰阳性菌 *Staphylococcus aureus*、*Bacillus subtilis*、*Micrococcus luteus* 以及耐药菌株 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 和 penicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (PRSE) 均具有良好的抗菌活性, 最小抑菌浓度 (MIC) 为 0.08~20 $\mu\text{mol/L}$ ^[7]。进一步的抗菌机制研究显示, BmKDfsin4 通过快速杀菌的方式杀灭 *S. aureus*, 虽然 BmKDfsin4 不破坏 *S. aureus* 细胞膜的完整性, 但是会导致细菌形态结构的改变, 并且会引起质壁分离和菌体的不规则破裂^[7]。同时, BmKDfsin4 对乙型肝炎病毒 (HBV) 也具有很好的抑制作用, 一方面可以抑制胞外 HBV 抗原 HBeAg 和 HBsAg 以及子代 DNA 的产生, 且具有剂量依赖性, 其对胞外 HBV 抗原 HBeAg 和 HBsAg 以及子代 DNA 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 3.95、2.28 和 1.26 $\mu\text{mol/L}$; 另一方面, BmKDfsin4 同样可以抑制胞内 HBV 抗原 HBsAg、HBx 蛋白、HBV core 蛋白和 HBV RT 蛋白的产生, 且具有浓度依赖性, 当 BmKDfsin4 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 未能检测到胞内的 HBsAg 和 HBx 蛋白^[8]。

此外, BmKAS 是第 1 个被证明具有抗微生物活性 β 长链神经毒素, 其对 *Staphylococcus aureus*、*Salmonella typhimurium*、*Escherichia coli*、*Pseudomonas aeruginosa* 具有良好的抗菌活性, MIC 为 4.5~10 $\mu\text{mol/L}$ ^[9]; 而东亚钳蝎氯毒素 BmKCT 在大肠杆菌中的异源表达对宿主菌的生长具有显著的抑制作用^[10]。

1.2 不含二硫键抗微生物多肽

BmKbpp 是最先从东亚钳蝎中鉴定出的不含二硫键抗微生物多肽, 且是一条阳离子 α -螺旋多肽, 由 47 个氨基酸残基组成, 其碳端的 21 个氨基酸残基序列与多肽 K-12 有 57% 的同源性^[11]。BmKbpp 对革兰阴性菌、革兰阳性菌和真菌都有良好的抗菌活性, 对革兰阴性菌 *Escherichia coli*、*Haemophilus influenzae*、*Klebsiella pneumoniae*、*Salmonella enterica*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Serratia marcescens* 的 MIC 为 2.3~68.2 $\mu\text{mol/L}$; 对革兰阳性菌 *Bacillus subtilis*、*Listeria monocytogenes*、*Micrococcus luteus*、*Enterococcus faecalis* 的 MIC 为 5.7~57.1 $\mu\text{mol/L}$; 对真菌 *Neurospora crassa*、*Botrytis cinerea*、*Fusarium culmorum* 的 IC_{50} 为 0.2~3.1 $\mu\text{mol/L}$ ^[12]。

Zeng 等^[13-14]从东亚钳蝎中鉴定出 3 个不含二硫键的多肽 BmKn1、BmKn2 和 BmKb1, 分别由 13、13 和 18 个氨基酸残基组成, 二级结构显示, BmKb1 和 BmKn2 都分别含有 1 个 α -螺旋 (2-16、2-11) 和 2 个无规卷曲 (1、17-18、1、12-13) 区域。BmKn1 对革兰阳性菌 *Staphylococcus aureus*、*Bacillus cereus* 以及革兰阴性菌 *Salmonella typhimurium*、*Enterobacter aerogenes*、*Escherichia coli* 显示较好的抑制活性; BmKn2 同样具有良好的抗菌活性, 且其对革兰阳性菌 *Staphylococcus aureus*、*Micrococcus luteus*、*Bacillus subtilis* 及革兰阴性菌 *Escherichia coli*、*Pseudomonas aeruginosa* 的 MIC 为 0.6~21.3 $\mu\text{g/mL}$, 但 BmKb1 的抗菌活性相对较弱, MIC 为 16~90.8 $\mu\text{g/mL}$ ^[13,15]。Cao 等^[16]进一步研究发现, BmKn2 对耐药菌株也同样有很好的抗菌活性, 对 MRSA P1374、MRSA P1369、MRSA P1381、MRSA P1386 的 MIC 为 12.5 $\mu\text{g/mL}$, 而进一步的机制研究发现, BmKn2 可以与磷壁酸 (LTA) 紧密结合, 进而破坏细菌细胞膜的完整性并导致细菌细胞的裂解, 使其通过快速杀菌的方式作用于 *Staphylococcus aureus*。Arpornsuwan 等^[17]发现, BmKn2 对临床分离的多重耐药菌株 *Neisseria gonorrhoeae* 也具有很好的抗菌活性, 半数抑菌浓度 (MIC_{50}) 为 6.9~27.6 $\mu\text{mol/L}$, 研究还发现, BmKn2 的碳端的氨基酸对其抗多重耐药菌株 *Neisseria gonorrhoeae* 活性至关重要, 当碳端的氨基酸去除时, 其抗多重耐药菌株 *Neisseria gonorrhoeae* 的活性急剧下降。

虽然 BmKn2 对正常菌株和耐药菌株均具有良好的抗菌活性, 但其溶血活性较高, 对人红细胞的半数溶血浓度为 17.13 $\mu\text{g/mL}$, 而 Cao 等^[16]通过对 BmKn2 的结构进行优化改造, 获得一个抗菌活性更好且溶血活性更低的优化多肽 Kn2-7。与 BmKn2 相比, Kn2-7 对革兰阳性菌和革兰阴性菌的抗菌活性提高了 2 倍以上, 而溶血活性下降了 5 倍以上。进一步的机制研究表明, Kn2-7 以快速杀菌的方式杀灭 *Staphylococcus aureus* 和 *Escherichia coli*; Kn2-7 通过与 LTA 紧密结合, 快速导致 *Staphylococcus aureus* 细胞膜的破裂和菌体的裂解; 而 Kn2-7 与脂多糖 (LPS) 的结合作用较弱, 通过地毯模型的方式作用于 *Escherichia coli* 的细胞膜, 并最终导致菌体的裂解死亡。在小鼠皮肤感染模型中, Kn2-7 可以有效清除伤口中的 *Staphylococcus aureus*, 并能够促进伤口皮肤组织的修复。Chen 等^[18]进一步研究发现, Kn2-7

还具有抗 HIV 活性, 通过与 HIV 包膜间的直接相互作用来抑制 HIV, 其对 HIV 的半数有效浓度 (EC₅₀) 为 2.76 μg/mL, 且具有较低的细胞毒性, 安全系数为 13.93。东亚钳蝎抗微生物多肽见表 1。

表 1 东亚钳蝎抗微生物多肽
Table 1 Anti-microbial peptides in *B. martensii*

药理活性	多肽	作用微生物	作用浓度	参考文献
抗细菌	BmKDfsin4	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、MRSA、PRSE	MIC: 0.08~20 μmol·L ⁻¹	7
	BmKAS	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Salmonella typhimurium</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC: 4.5~10 μmol·L ⁻¹	9
	BmKbpp	<i>Escherichia coli</i> 、 <i>Haemophilus influenza</i> 、 <i>Klebsiella pneumoniae</i> 、 <i>Salmonella enterica</i> 、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、 <i>Serratia marcescens</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Listeria monocytogenes</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Enterococcus faecalis</i>	MIC: 2.3~68.2 μmol·L ⁻¹	12
	BmKn1	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Bacillus cereus</i> 、 <i>Salmonella typhimurium</i> 、 <i>Enterobacter aerogenes</i> 、 <i>Escherichia coli</i>	MIC: > 50 μg·mL ⁻¹	15
	BmKn2	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Bacillus thuringiensis</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、PRSA、PRSE、MRSA、MRCNS、PSSE、MDR- <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	MIC: 0.6~50 μg·mL ⁻¹	13,15-17
	Kn2-7	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Bacillus thuringiensis</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、PRSA、PRSE、MRSA、MRCNS、PSSE	MIC: 3.13~100 μg·mL ⁻¹	16
	BmKb1	<i>Staphylococcus aureus</i> 、 <i>Micrococcus luteus</i> 、 <i>Bacillus subtilis</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 、 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC: 16~90.8 μg·mL ⁻¹	13
抗真菌	BmKbpp	<i>Neurospora crassa</i> 、 <i>Botrytis cinerea</i> 、 <i>Fusarium culmorum</i>	IC ₅₀ : 0.2~3.1 μmol·L ⁻¹	12
抗病毒	BmKDfsin4	HBV	IC ₅₀ : 1.26~3.95 μmol·L ⁻¹	8
	Kn2-7	HIV	EC ₅₀ : 2.76 μg·mL ⁻¹	18

2 抗癌多肽

癌症是世界上导致死亡的第 2 大因素, 根据世界卫生组织的统计资料显示, 2015 年全球有 880 万人死于癌症。在我国, 每年的新发癌症病例约 310 万, 死亡约 200 万, 且癌症的发病率呈逐年上升的趋势。虽然对癌症的治疗取得了极大的成果, 有效提高了癌症患者的生存期, 但是, 对有效的抗癌药物的探索依然是一项重要的工作, 而东亚钳蝎中的抗癌多肽为抗癌药物的筛选提供了很好的资源。

从东亚钳蝎中分离获得的抗癌多肽 APBMV 对小鼠肝癌 H₂₂ 细胞、小鼠黑色素瘤 B16 细胞、人胃癌 MCG-803 细胞、人低分化鼻咽癌上皮细胞

CNE-2Z、人食管上皮癌 Eca-109 细胞、人早幼粒白血病 HL-60 细胞等多种肿瘤细胞具有明显的抑制作用, 通过阻断细胞周期和诱导细胞凋亡来实现抗癌作用^[19-23]。进一步的研究表明, APBMV 可以增强自然杀伤 (NK) 细胞的活性、促进外周血白细胞和淋巴细胞的增殖, 进而通过增强机体的免疫力来抑制肿瘤的生长^[24-25]。韩雪飞等^[26]通过 HPLC 及分子筛色谱-离子交换技术, 从 APBMV 中分离获得单一多肽组分 AP-III, 其在高浓度时对 H₂₂ 的抑瘤率可达到 46.69%, 同时对小鼠的胸腺具有保护作用。

东亚钳蝎蝎毒多肽 PESV 可以抑制胰腺癌细胞

的增殖,并通过上调 E-钙粘蛋白的表达及下调纤黏蛋白(FN)及基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达来降低胰腺癌细胞的黏附力、侵袭力和运动能力^[27]。徐林等^[28]研究发现,PESV 可以通过下调骨桥蛋白(OPN)和 MMP-29 的表达,进而抑制小鼠 Lewis 肺癌细胞的生长与转移,其抑瘤率为 46.02%,肺转移抑制率为 76.19%。杨文华等^[29]研究发现,PESV 可以通过降低白血病小鼠血清及骨髓中 Bcl-2、基质细胞衍生因子 1 α (SDF-1 α)的表达并提高转化生长因子- β 1(TGF- β 1)的表达,从而较好地抑制白血病细胞增殖和浸润。赵嵌嵌等^[30]通过研究发现,PESV 可以通过有效抑制缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和血管内皮生长因子-A(VEGF-A)的表达,进而抑制肿瘤内新生血管的生成,从而在化疗期间发挥抗 H₂₂ 肿瘤的作用。侯毅等^[31]研究发现,PESV 可通过上调 Bax 和下调 Bcl-2 的表达来诱导人膀胱癌 T24 细胞凋亡,进而抑制 T24 癌细胞的增殖,且其抑制作用具有时间和剂量依赖性。

Liu 等^[32]通过 Sephadex G-50 和 Superdex 30 高分辨率色谱、苯基琼脂糖 6 Fast Flow 色谱以及 SP- Sepharose Fast Flow 色谱,从东亚钳蝎毒液中分离获得一个相对分子质量为 6 280 的多肽组分 ANTP,该多肽富含甘氨酸但不含组氨酸和苏氨酸,在小鼠纤维肉瘤 S₁₈₀ 模型和 Ehrlich 腹水肿瘤模型中均具有抗肿瘤作用。

BmKCT 是一种类氯毒素,由 35 个氨基酸残基组成,含有 4 对二硫键,与氯毒素(CTX)有 68% 的同源性,能够特异性地作用于氯离子通道^[33-34]。由于氯离子通道在神经胶质瘤特异性高表达,BmKCT 特异性地与胶质瘤细胞结合,通过在 G₀/G₁ 期阻断细胞周期抑制神经胶质瘤 C6 的细胞增殖并引起细胞凋亡,并通过下调 MMP-2 的表达和通过形成 BmKCT-MMP-2 催化结构域复合体来抑制 MMP-2 的活性,进而抑制神经胶质瘤细胞的侵袭和转移,其中 BmKCT 的氨基酸残基 R14、R17、K15 与 MMP-2 间的静电作用对维持 BmKCT-MMP-2 催化结构域复合体至关重要^[35-37]。BmKCT 也可以通过活化 p38 α 激活促分裂原活化蛋白激酶 2(MK2)来引起胶质瘤 U251 细胞周期阻滞于 S 期和 G₂/M 期,从而抑制细胞增殖^[38]。Fu 等^[39]探究了 BmKCT 与 LiCl 在高级别神经胶质瘤中的联合作用,发现 BmKCT 与 LiCl 在抑制神经胶质瘤细胞 C6 的迁移、侵袭和增殖上具有协同效应,其联合用药可以达到

降低 LiCl 的用药剂量,进而降低高浓度 LiCl 单一用药对机体的毒性。鉴于 BmKCT 的神经胶质瘤的特异性结合及抗肿瘤作用,BmKCT 被用于与荧光标记分子 Cy5.5、荧光纳米金刚石纳米颗粒 FND、放射性元素标记分子 ¹³¹I/¹²⁵I 等交联,进而用于神经胶质瘤的影像诊断和治疗,同样也被用于基因疗法的探索^[40]。BmKCT-13 是从东亚钳蝎中获得的第 2 个类氯毒素,为 BmKCT 的同源突变体,含有 36 个氨基酸残基,具有很好的稳定性,而其抑制神经胶质瘤 U251 细胞迁移的活性比 BmKCT 和 CTX 更好,且药动学研究显示,BmKCT-13 经静脉给药后,大鼠的恢复率在 65% 以上,且不会引起明显的基质效应^[41]。

BmKAGAP 是一条典型的长链蝎毒素,由 66 个氨基酸残基组成,含有 4 对二硫键(Cys12-Cys63、Cys16-Cys36、Cys22-Cys46、Cys26-Cys48),在小鼠埃利希腹水瘤模型中,1.0 mg/kg 的给药剂量可以延长小鼠 29% 的存活时间,而在小鼠 S₁₈₀ 实体瘤模型中,1.0 mg/kg 的给药剂量的抑瘤率为 23%^[42]。BmKAGAP 对人胆管癌 HuCC-T1 细胞同样具有抑制作用,通过 Bcl-2/Bax 信号通路抑制 HuCC-T1 细胞的生长与迁移,并诱导细胞凋亡^[43]。在人恶性胶质瘤 SHG-44 细胞中,BmKAGAP 可以阻滞细胞周期并干扰磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、核转录因子- κ B(NF- κ B)、Bcl-2 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,进而抑制 SHG-44 细胞的增殖和迁移^[44]。同时,BmKAGAP 可以增强化疗药物 5-氟嘧啶(5-FU)及顺铂(DDP)对肝癌组织及胆管癌的抑制作用^[45-46]。此外,重组 CD13 单抗抗体和 BmKAGAP 的融合蛋白可以杀伤 CD13 阳性白血病 NB4 细胞,而 BmKAGAP 的真核表达载体可以作为基因治疗工具用于靶向性和高效性地治疗肝癌^[47-48]。蝎毒素多肽 BmKAGAP-SYPU2,含有 65 个氨基酸残基,与 BmKAGAP 有 94% 的序列同源性,在小鼠埃利希腹水瘤模型中,4.0 mg/kg 给药剂量可以延长小鼠 36.05% 的存活时间,而在小鼠 S₁₈₀ 实体瘤模型中,4.0 mg/kg 给药剂量的抑瘤率为 46.3%^[49]。

BmKn2 作为一个抗微生物多肽也具有抗肿瘤活性,对人口腔鳞状细胞癌 HSC-4 细胞和人口腔表皮样癌 KB 细胞的 IC₅₀ 分别为 26 μ g/mL 和 34 μ g/mL,并使得 HSC-4 和 KB 的细胞皱缩、变圆以及失去黏附能力,还能激活抑癌基因 p53,引起凋亡相关基因 caspase-3、caspase-7、caspase-9、BAX

转录和表达的上调和抗凋亡基因 Bcl-2 转录和表达的下调, 进而通过诱导细胞凋亡来抑制 HSC-4 和人口腔表皮样癌 KB 细胞生长^[50-51]。东亚钳蝎抗癌多肽见表 2。

表 2 东亚钳蝎抗癌多肽
Table 2 Anticancer peptides in *B. martensii*

多肽	肿瘤细胞	作用方式	参考文献
APBMV	小鼠肝癌 H ₂₂ 细胞、小鼠黑色素瘤 B16 细胞、人胃癌 MCG-803 细胞、人低分化鼻咽癌上皮细胞 CNE-2Z、人食管上皮癌 Eca-109 细胞、人早幼粒白血病 HL-60 细胞	阻断细胞周期, 诱导细胞凋亡, 增强 NK 细胞的活性, 促进外周血白细胞和淋巴细胞的增殖, 提高机体免疫力	19-25
AP-III	小鼠肝癌 H ₂₂ 细胞	抑制肿瘤细胞生长	26
PESV	人胰腺癌 MIA-PaCa2-3 细胞、肺癌 Lewis 细胞、白血病 BMMNC 细胞、小鼠肝癌 H ₂₂ 细胞、人膀胱癌 T24 细胞	抑制肿瘤细胞增殖和侵袭, 诱导凋亡, 抑制新生血管形成	27-31
ANTP	纤维肉瘤 S ₁₈₀ 细胞、腹水肿瘤 Ehrlich 细胞	抑制肿瘤细胞生长	32
BmKCT	神经胶质瘤 C6 细胞、神经胶质瘤 U251 细胞	抑制肿瘤细胞增殖和侵袭, 诱导凋亡	35-37
BmKCT-13	神经胶质瘤 U251 细胞	抑制迁移	41
BmKAGAP	纤维肉瘤 S ₁₈₀ 细胞、腹水肿瘤 Ehrlich 细胞、人胆管癌 HuCC-T1 细胞、人恶性胶质瘤 SHG-44 细胞、CD13 阳性白血病 NB4 细胞、肝癌 HepG2 细胞	抑制肿瘤细胞增殖、迁移, 诱导凋亡	42-44,47-48
BmKAGAP-SYPU2	纤维肉瘤 S ₁₈₀ 细胞、腹水肿瘤 Ehrlich 细胞	抑制肿瘤细胞生长	49
BmKn2	人口腔鳞状细胞癌 HSC-4 细胞、人口腔表皮样癌 KB 细胞	抑制肿瘤细胞增殖, 诱导凋亡	50-51

3 镇痛多肽

疼痛对患者在身体和精神上折磨已经成为一个严重的健康问题, 极大地影响着人们的生活。现代研究表明, 多种电压门控的钠离子通道与疼痛密切相关, 如 Nav1.3 与神经性疼痛、Nav1.7 与急性和炎症性疼痛、Nav1.8 及 Nav1.9 与伤害性疼痛, 而抑制这些通道的活性, 则可以起到镇痛作用^[52]。目前, 已经从东亚钳蝎中鉴定出多条具有镇痛功能的多肽。

抗神经兴奋肽 ANEP 是一种 β 抗兴奋性神经毒素, 具有 β 毒素所具有的经典 4 对二硫键, 其结构中的 α -螺旋和 3 个反平行 β 链是紧凑型的, 并与 Nav1.7 的受体位点 4 结合, 其中 ANEP 的 β 2- β 3 环和 NC 结构域的氨基酸残基结合到静止位点 4 上, 而 N 沟槽疏水结构域中的氨基酸残基及药效团的氨基酸残基则与活化位点结合, 使 Nav1.7 处于静息状态, 进而对外周疼痛起着镇痛作用, 且 β 2- β 3 环中的氨基酸残基 W36、T37、W38 和 T39, NC 结构域中的氨基酸残基 N8、V12、C60 和 K64, 以及药效团中的氨基酸残基 L15 和 E24 影响 ANEP 的镇痛效果^[53]。

具有抗肿瘤作用的 BmKAGAP 在福尔马林诱导的炎症性疼痛小鼠模型中具有镇痛功效, 且具有

剂量依赖性, 同时可以阻止福尔马林诱导的外周和脊髓中磷酸化蛋白激酶 p-p38、p-ERK、p-JNK 以及脊髓中 Fos 的表达, 进而可能通过 MAPK 介导的机制阻断炎症性疼痛的发生^[54]。进一步的机制研究表明, BmKAGAP 可以通过抑制 Nav1.7 和 Nav1.8 的活性来发挥镇痛作用, 而由氨基酸残基 Gly17、Arg18、Trp38、Asn44 组成的核心结构域是发挥镇痛作用的关键区域^[55]。但是, BmKAGAP 同样可以抑制 Nav1.4 和 Nav1.5, 进而对骨骼肌和心肌产生毒性, 而 BmKAGAP 的突变体 W38G 在保留对 Nav1.7 和 Nav1.8 的抑制作用的同时, 对 Nav1.4 和 Nav1.5 的抑制作用比 BmKAGAP 弱得多, 可能是临床上更安全的选择^[56]。

BmKAS 属于 β 蝎毒素, 含有 66 个氨基酸残基和 4 对二硫键, 通过抑制 Nav1.3 的活性来行使镇痛作用, 其中 Tyr38、Phe39 和 Trp40 对其结构的稳定性和镇痛活性非常重要, 该 3 个氨基酸分别用 Gly 替代后, 所获得的突变体的镇痛活性显著降低, 同时, 氨基酸 Lys8 和 Asn58 与其镇痛活性具有关联性, 其突变体 K8A、K8D 和 K8Q 的镇痛活性增强, 而 K8R 的镇痛活性著降低, N58R 则丧失镇痛活性,

N58A 和 N58D 的镇痛活性则增强^[57-58]。

此外, BmKBTx 及 BmNaL-3SS2 多肽通过抑制 Nav1.7 发挥镇痛作用^[59]; BmKAS-1 和 BmKIT2 通过调节钠通道来发挥镇痛功能^[60-61]。BmK-YA 则是从东亚钳蝎中分离得到的一种类脑啡肽, 可以与 μ 、 δ 、 κ 3 种亚型的阿片受体结合, 但对 δ 亚型的

特异性最好, 进而可以通过阿片受体来发挥镇痛作用^[62]。多肽 BmKAngM1、BmK AGP-SYPU1、BmKAGAP-SYPU2、BmKIT-AP、BmKdITAP3、BmKAngP1、BmKI1、BmKI4、BmKI6 及 BmK9, 在动物模型中同样表现出了镇痛作用^[49,63-70]。东亚钳蝎镇痛多肽见表 3。

表 3 东亚钳蝎镇痛多肽
Table 3 Analgesic peptides in *B. martensii*

多肽	动物模型	作用靶标	参考文献
ANEP	小鼠扭体法和热板法疼痛模型	Nav1.7	53
BmKAGAP	福尔马林诱导的小鼠炎症性疼痛模型	Nav1.7、Nav1.8	54-55
BmKAS	小鼠扭体法疼痛模型	Nav1.3	57-58
BmKBTx	小鼠扭体法疼痛模型	Nav1.7	59
BmNaL-3SS2	小鼠扭体法疼痛模型	Nav1.7	59
BmKAS-1	大鼠中枢和外周神经系统	电压门控钠通道	60-61
BmKIT2	福尔马林诱导的大鼠炎症性疼痛模型	电压门控钠通道	61
BmK-YA		阿片受体	62
BmKAngM1	小鼠扭体法疼痛模型		63
BmKAGP-SYPU1	小鼠扭体法疼痛模型		64
BmKAGAP-SYPU2	小鼠扭体法疼痛模型		49,65
BmKIT-AP	小鼠扭体法疼痛模型		66
BmKdITAP3	小鼠扭体法疼痛模型		67
BmKAngP1	小鼠扭体法疼痛模型		68
BmKI1	小鼠扭体法疼痛模型		69
BmKI4	小鼠扭体法疼痛模型		69
BmKI6	小鼠扭体法疼痛模型		69
BmK9	小鼠醋酸扭体疼痛模型		70

4 抗癫痫多肽

癫痫作为一种慢性神经性疾病, 所有年龄人群都可被影响, 世界约 1% 的人群会遭受癫痫的困扰。抗癫痫药物的研发及临床应用, 能有效改善患者的病情, 但依然有 20%~30% 的患者无法得到有效治疗。因此, 仍然需要开发更多有效的抗癫痫药物。东亚钳蝎中也存在具有抗癫痫功效的多肽。

AEP 是从东亚钳蝎中获得的第 1 种抗癫痫多肽, 含有 66 个氨基酸残基, 富含 Asp 和 Gly, 且具有很好的热稳定性, 在由马桑内酯或头孢菌素诱导的动物癫痫模型中, AEP 可以强效抑制癫痫的发生, 同时在 28 mg/kg 的剂量下依然未表现出毒性, 对心率、血压和心电图都没有影响^[71]。进一步的研究发现, AEP 可以与突触体相关蛋白 SNAP-25 和 *N*-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 相互作用, 而 NMDA

介导的 NMDA 受体的激活及 SNAP-25 的高表达在癫痫发生过程中起着重要作用, 因此 AEP 可能通过抑制 SNAP-25 的功能及 NMDA 受体的激活来发挥抗癫痫作用^[72]。

具有镇痛作用的抗神经兴奋多肽 ANEP 同样具有很好的抗癫痫作用, 其重组多肽被称为 ANEPIII, 与抗癫痫多肽 AEP 有 63% 的序列同源性, 在氨硫脲诱导的小鼠癫痫模型中, ANEP 可以明显延缓小鼠惊厥的发作^[73-74]。镇痛多肽 BmKAS 也具有抗癫痫作用, 在戊四氮 (PTZ) 诱导的大鼠急性癫痫模型中, BmKAS 可以抑制癫痫相关行为及减少高幅高频放电的数量并缩短持续时间, 同时且具有剂量依赖性^[75]。

此外, 蝎毒素多肽 BmKIM 在戊四氮诱导的大鼠急性癫痫模型中具有显著的抗癫痫作用, 且可能通过阻断 Na^+ 通道来减少突触前谷氨酸的释放而实

现抗癫痫作用^[76]；而 BmKE 可通过抑制 NMDA 受体的结合活性而激活氨基丁酸（GABA）受体的结合活性，进而显著延长戊四氮诱导的癫痫小鼠的发作潜伏期^[77]。东亚钳蝎抗癫痫多肽见表 4。

表 4 东亚钳蝎抗癫痫多肽

Table 4 Anti-epileptic peptides in *B. martensii*

多肽	动物模型	作用机制	参考文献
AEP	马桑内酯或头孢菌素诱导的动物癫痫模型	通过抑制 SNAP-25 的功能及 NMDA 受体的激活	71-72
ANEP	氨硫脲诱导的小鼠癫痫模型	延缓小鼠惊厥的发作	73-74
BmKAS	PTZ 诱导的大鼠急性癫痫模型	抑制癫痫相关行为并减少高幅高频放电的数量和持续时间	75
BmKIM	PTZ 诱导的大鼠急性癫痫模型	阻断 Na ⁺ 通道来减少突触前谷氨酸的释放	76
BmKE	PTZ 诱导的小鼠癫痫模型	抑制 NMDA 受体的结合活性而激活 GABA 受体的结合活性，延长癫痫的发作潜伏期	77

5 抗心脑血管疾病多肽

心脑血管疾病是全球死亡的主要原因之一，抗心脑血管疾病药物可以有效降低心脑血管疾病患者的死亡率，因此，抗心脑血管药物的开发具有重要的意义。在东亚钳蝎中同样存在可用于心脑血管疾病治疗的多肽。

在某些心血管疾病中，如革兰阴性细菌感染、心功能不全、大脑缺血/再灌注等，NO 的过度生成会导致低血压、脑损伤等，进而对机体产生毒性，而抑制 NO 的合成则可以预防和治疗相应的疾病^[78]。从东亚钳蝎中获得的 martentoxin 是一个归属于 α -KTx16 亚家族的短链多肽，含有 37 个氨基酸残基，在人脐静脉内皮细胞中可以抑制诱导型 NO 合成酶的活性，进而显著降低肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）诱导的 NO 的生成量^[79]。钙调钾离子通道的激活所介导的钙离子的内流有利于内皮细胞中 NO 的合成，而 martentoxin 可以阻断钙调钾离子通道的激活，进而可以降低内皮细胞中 NO 的合成^[80-81]。因此，martentoxin 作为 NO 合成的抑制剂，可以用来治疗相应的心血管疾病。

血浆中的胆固醇的动态平衡与心脑血管健康密切相关，而高胆固醇血症是动脉粥样硬化和冠状动脉/脑血管疾病的发生及发展的危险因素。羟甲基戊

二酸单酰辅酶 A（HMG-CoA）还原酶在胆固醇的合成代谢中起着重要作用，其抑制剂可用于治疗高胆固醇血症。从东亚钳蝎中获得的 bumarsin 是一个含有 72 个氨基酸残基的酸性蛋白，在天然条件下以二聚体方式存在，且对 HMG-CoA 还原酶具有优良的抑制效果，在 0.6 mmol/L 的浓度下可以抑制 32% 的 HMG-CoA 还原酶活性，而 10 mmol/L 的辛伐他汀仅抑制 35% 的 HMG-CoA 还原酶活性；同时，bumarsin 导致载脂蛋白 Apo-A1、Apo-E、Apo-CI/II/III 及类固醇生成急性调节蛋白 StAR 表达上调^[82]。因此，bumarsin 可以用来调节胆固醇平衡。

从东亚钳蝎中获得的蝎毒纤溶活性肽 SVFAP 可通过抑制内皮细胞分泌纤溶酶原激活剂-1（PAI-1），并促进组织型纤溶酶原激活剂（t-PA）释放，进而实现其纤溶作用并达到抗栓、溶栓的效果^[83]。进一步的研究还发现，SVFAP 能减少脑缺血/再灌注损伤早期炎症细胞因子白细胞介素-6（IL-6）、TNF- α 、IL-8 的释放，进而减轻缺血再灌注后因炎症反应所致的脑损伤作用^[84]。

此外，BmKIM 可以抑制乌头碱诱导的大鼠及兔的心律失常，而 BmKbpp 具有增强缓激肽活性的作用，进而可以用来增强缓激肽保护心脏的作用^[12,85-86]。东亚钳蝎抗心脑血管疾病多肽见表 5。

表 5 东亚钳蝎抗心脑血管疾病多肽

Table 5 Peptides of *B. martensii* for treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases

多肽	疾病类型	作用机制	参考文献
martentoxin	NO 过度生成所诱发的相关疾病	抑制诱导型 NO 合成酶的活性，阻断钙调钾离子通道的激活	79-81
bumarsin	高胆固醇血症	抑制 HMG-CoA 还原酶活性	82
SVFAP	血栓、缺血/再灌注导致的脑损伤	抑制内皮细胞分泌 PAI-1，并促进 t-PA 释放，减少炎症细胞因子 IL-6、TNF- α 、IL-8 的释放	84
BmKIM	心律失常	抑制心室肌细胞中的钠电流	85-86
BmKbpp	缺血/再灌注心肌梗死	增强缓激肽活性	12

6 促细胞生长增殖多肽

从东亚钳蝎中还获得了可以促进细胞生长增殖的多肽。SVP-B5 是一种含有 66 个氨基酸残基和 4 对二硫键的多肽,与 α 家族毒素具有高序列同源性,可以通过上调 IL-3 受体的表达并激活 JAK2/STAT5 信号通路的方式,促进经辐射处理后的鼠源髓系白血病细胞 M-NFS-60 的增殖,同时可以有效并且持久的促进辐射处理后的造血干细胞的增殖^[87]。因此, SVP-B5 多肽作为一种类生长因子多肽可以被用于恢复因放疗而产生的重症骨髓抑制。

蝎子毒液耐热肽 SVHRP 则可以上调胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 的转录和表达,增加阳性星形胶质细胞 GFAP 的比例,进而在成年小鼠模型中促进海马颗粒下区 (SGZ)、室下区 (SVZ) 和嗅球区域 (OB) 中神经元前体细胞的增殖,同时也可以促进 SGZ 和 OB 中的神经生成,且可以通过上调脑源性神经营养因子 (BDNF) 的转录和表达来显著增加

神经元的轴突长度^[88]。

BmKNT2 是一种电压门控的钠离子通道 (VGSC) α 蝎毒素,以浓度依赖性的方式抑制 VGSC 的失活,同时可以调节钙离子的动力学和增加胞外调节蛋白激酶 (ERK) 1/2 及环磷酸腺苷 (cAMP) 反应元件结合蛋白 (CREB) 的磷酸化,而与 VGSC 激活相关的钙离子依赖性的信号转导通路及 ERK/CREB 信号传导途径的激活可以增加神经突生长的速率、突出形成和树突化^[89]。因此, BmKNT2 可以促进神经生长、突出形成和树突化,具有神经营养作用。

除此之外,兴奋型蝎毒素 BmKIT 在不低于 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下可以促进昆虫 Sf9 细胞的增殖,可能通过作用于 VGSC 来实现^[90]; BmKIA 在不低于 10 $\mu\text{g/L}$ 的质量浓度下,可促进人 T 淋巴细胞系 Jurkat E6-1 的增殖,且具有浓度依赖性^[91];而 Bmkpp 可促进骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 的增殖^[92]。东亚钳蝎促细胞生长增殖多肽见表 6。

表 6 东亚钳蝎促细胞生长增殖多肽

Table 6 Peptides of *B. martensii* for promoting cell growth and proliferation

多肽	功能	作用机制	参考文献
SVP-B5	恢复因放疗而产生的重症骨髓抑制	通过上调 IL-3 受体的表达并激活 JAK2/STAT5 信号通路	87
SVHRP	促进神经元前体细胞的增殖,增加神经元的轴突长度	上调胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 及脑源性神经营养因子 (BDNF) 的转录和表达	88
BmKNT2	促进神经生长、突出形成和树突化	激活 ERK/CREB 信号传导途径	89
BmKIT	促进昆虫 Sf9 细胞的增殖	作用于电压门控的钠离子通道	90
BmKIA	促进人 T 淋巴细胞系 Jurkat E6-1 的增殖		91
Bmkpp	促进 BMSCs 的增殖		92

7 其他功能多肽

除了以上的功能多肽外,东亚钳蝎中还含有大量其他功能的药用活性多肽 (表 7)。例如, BmKTX 及其突变体 ADWX-1、J123 及 BmK86 作为 Kv1.3 的抑制剂,可以用于治疗 T 细胞介导的自身免疫疾病^[93-95]; Bm α TX14 可以延长线虫的寿命及促进线虫的运动^[96]; SVHRP 可以保护蠕虫免受 β 淀粉样蛋白 (A β) 毒性对神经的影响^[97]。

8 展望

东亚钳蝎潜在药用活性多肽的发掘及功能研究,在分子水平上很好地阐释了传统中药东亚钳蝎的多种药理功效,为各种药物的研发提供了很好的分子模板,尤其是其中的多功能多肽,如具有抗微生物和抗癌功能的 BmKn2,具有抗癌和镇痛功能的 BmKAGAP 等。随着东亚钳蝎基因组学以及蛋白质

表 7 东亚钳蝎其他功能多肽

Table 7 Other functional peptides in *B. martensii*

多肽	功能	作用机制	文献
BmKTX	自身免疫疾病	抑制 Kv1.3	93
ADWX-1	自身免疫疾病	抑制 Kv1.3	93
J123	自身免疫疾病	抑制 Kv1.3	94
BmK86	自身免疫疾病	抑制 Kv1.3	95
Bm α TX14	延长线虫的寿命,促进线虫的运动	调控寿命和运动相关基因	96
SVHRP	保护神经系统	抑制神经元 A β 表达及毒性 A β 寡聚体的形成	97

组学研究的开展,使得可以更加全面地挖掘其潜在药用活性多肽资源,进而推动对东亚钳蝎的开发利用^[5,98]。目前,基于武汉大学研究团队有关东亚钳

蝎药用活性多肽的研究成果所开发的蝎肽抗菌凝胶 ABP-W1 (鄂卫消证字(2011)第 0009 号), 对烧伤、痤疮、动物咬伤创面、湿疹、反射性皮炎等皮肤损伤表现出了良好的疗效^[99-101]。但是, 毒性及生理条件下的稳定性等都限制着绝大多数东亚钳蝎药用活性多肽分子的开发利用。因此, 在东亚钳蝎药用活性多肽走向临床应用的过程中, 依然有大量的研究工作需要深入全面地开展, 这也将是一个长期的过程。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Alanis A J. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? [J]. *Arch Med Res*, 2005, 36(6): 697-705.
- [3] Jenssen H, Hamill P, Hancock R E. Peptide antimicrobial agents [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2006, 19(3): 491-511.
- [4] Zhu S, Li W, Jiang D, *et al*. Evidence for the existence of insect defensin-like peptide in scorpion venom [J]. *IUBMB Life*, 2000, 50(1): 57-61.
- [5] Cao Z, Yu Y, Wu Y, *et al*. The genome of *Mesobuthus martensii* reveals a unique adaptation model of arthropods [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2602.
- [6] Lang Y, Pi X, Di Z, *et al*. Molecular characterization and expression analysis of CSalphabeta defensin genes from the scorpion *Mesobuthus martensii* [J]. *Biosci Rep*, 2017, doi: 10.1042/BSR20171282.
- [7] Meng L, Xie Z, Zhang Q, *et al*. Scorpion potassium channel-blocking defensin highlights a functional link with neurotoxin [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(13): 7097-7106.
- [8] Zeng Z, Zhang Q, Hong W, *et al*. A scorpion defensin BmKDFsin4 inhibits hepatitis B virus replication *in vitro* [J]. *Toxins (Basel)*, 2016, doi: 10.3390/toxins8050124.
- [9] Shao J H, Wang Y Q, Wu X Y, *et al*. Cloning, expression, and pharmacological activity of BmKAS, an active peptide from scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Biotechnol Lett*, 2008, 30(1): 23-29.
- [10] 殷丽天, 付月君, 梁爱华, 等. 东亚钳蝎氯离子通道毒素 BmK CTa 在大肠杆菌中的异源表达及其对宿主菌增殖的影响 [J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(3): 209-212.
- [11] Zeng X C, Li W X, Peng F, *et al*. Cloning and characterization of a novel cDNA sequence encoding the precursor of a novel venom peptide (BmKbpp) related to a bradykinin-potentiating peptide from Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *IUBMB Life*, 2000, 49(3): 207-210.
- [12] Zeng X C, Wang S, Nie Y, *et al*. Characterization of BmKbpp, a multifunctional peptide from the Chinese scorpion *Mesobuthus martensii* Karsch: Gaining insight into a new mechanism for the functional diversification of scorpion venom peptides [J]. *Peptides*, 2012, 33(1): 44-51.
- [13] Zeng X C, Wang S X, Zhu Y, *et al*. Identification and functional characterization of novel scorpion venom peptides with no disulfide bridge from *Buthus martensii* Karsch [J]. *Peptides*, 2004, 25(2): 143-150.
- [14] Zeng X C, Li W X, Wang S X, *et al*. Precursor of a novel scorpion venom peptide (BmKn1) with no disulfide bridge from *Buthus martensii* Karsch [J]. *IUBMB Life*, 2001, 51(2): 117-120.
- [15] De La Salud Bea R, Ascuitto M R, De Johnson L E. Synthesis of analogs of peptides from *Buthus martensii* scorpion venom with potential antibiotic activity [J]. *Peptides*, 2015, 68: 228-232.
- [16] Cao L, Dai C, Li Z, *et al*. Antibacterial activity and mechanism of a scorpion venom peptide derivative *in vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40135.
- [17] Arpornsuwan T, Buasakul B, Jaresitthikunchai J, *et al*. Potent and rapid anticonococcal activity of the venom peptide BmKn2 and its derivatives against different Maldi biotype of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* [J]. *Peptides*, 2014, 53: 315-320.
- [18] Chen Y, Cao L, Zhong M, *et al*. Anti-HIV-1 activity of a new scorpion venom peptide derivative Kn2-7 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34947.
- [19] 董伟华, 孔天翰, 韩雪飞, 等. 蝎毒抗癌多肽对 4 种人肿瘤细胞系的作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999(1): 56-59.
- [20] 董伟华, 韩雪飞, 魏玲, 等. 蝎毒抗癌多肽对肝肿瘤的抑制作用研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2000(2): 28-32.
- [21] 韩雪飞, 董伟华, 王永奎, 等. 蝎毒抗癌多肽对人低分化鼻咽癌上皮细胞的抑制作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999(1): 62-64.
- [22] 杨建斌, 王庸晋, 董伟华, 等. 东亚钳蝎毒抗癌多肽对 Eca109 细胞和 HeLa 细胞的毒性作用 [J]. 中国病理生理杂志, 1999(12): 61-64.
- [23] 董伟华, 孔天翰, 王成裕, 等. 蝎毒抗癌多肽对移植性肿瘤的抑制作用 [J]. 河南医科大学学报, 1999(1): 65-67.
- [24] 董伟华, 孔天翰, 雷留根, 等. 蝎毒抗癌多肽对肝癌小鼠免疫功能的影响 [J]. 河南医科大学学报, 1999(1): 71-74.
- [25] 李晓雯, 宋国英, 陈辉, 等. 不同剂型的蝎毒抗癌多肽对小鼠肝癌的抑制作用及带瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000(4): 291-293.
- [26] 韩雪飞, 王永奎, 陈华艳, 等. 蝎毒抗癌多肽纯化组分 III 对小鼠肝癌的生长抑制作用及带瘤小鼠胸腺重量的影响 [J]. 河南医科大学学报, 2000(4): 288-290.
- [27] 张力冰, 张维东, 王朝霞, 等. 蝎毒多肽提取物体外抑

- 制胰腺癌细胞侵袭转移及相关机制 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(6): 820-824.
- [28] 徐 林, 张维东, 王兆朋, 等. 蝎毒多肽提取物对小鼠 Lewis 肺癌生长转移的抑制作用 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2010, 48(1): 82-84, 93.
- [29] 杨文华, 杨向东, 史哲新, 等. 蝎毒多肽提取物对白血病小鼠 Bcl-2 SDF-1 α 与 TGF- β 1 表达的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(8): 429-432.
- [30] 赵嵌嵌, 张维东, 武利存, 等. 蝎毒多肽提取物联合雷帕霉素抑制 H₂₂ 肝癌肿瘤血管生成的作用机制研究 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1343-1347.
- [31] 侯 毅, 龙俊任, 张 平, 等. 蝎毒多肽提取物对人膀胱癌 T24 细胞增殖抑制作用的研究 [J]. 天津医药, 2013, 41(3): 204-207.
- [32] Liu Y F, Hu J, Zhang J H, *et al.* Isolation, purification, and N-terminal partial sequence of an antitumor peptide from the venom of the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2002, 32(4): 317-327.
- [33] Zeng X C, Li W X, Zhu S Y, *et al.* Cloning and characterization of a cDNA sequence encoding the precursor of a chlorotoxin-like peptide from the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Toxicon*, 2000, 38(8): 1009-1014.
- [34] Fu Y J, Yin L T, Liang A H, *et al.* Therapeutic potential of chlorotoxin-like neurotoxin from the Chinese scorpion for human gliomas [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 412(1): 62-67.
- [35] Zhao J, Qiao W, Zhang Y, *et al.* Preparation and *in vitro* evaluation of 131I-BmK CT as a glioma-targeted agent [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25(3): 353-359.
- [36] Sun N, Zhao L, Qiao W, *et al.* BmKCT and 125I-BmK CT suppress the invasion of glioma cells *in vitro* via matrix metalloproteinase-2 [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5): 2703-2708.
- [37] Fu Y J, An N, Chan K G, *et al.* A model of BmK CT in inhibiting glioma cell migration via matrix metalloproteinase-2 from experimental and molecular dynamics simulation study [J]. *Biotechnol Lett*, 2011, 33(7): 1309-1317.
- [38] 杜 军, 王瑞杰, 蔡雨晴, 等. 东亚钳蝎氯毒素对胶质瘤 U251 细胞增殖的抑制作用及其机制 [J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(5): 420-425.
- [39] Fu Y, Zheng S, Huang R, *et al.* A potential strategy for high-grade gliomas: combination treatment with lithium chloride and BmK CT [J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(1): 9-17.
- [40] Cheng Y, Zhao J, Qiao W, *et al.* Recent advances in diagnosis and treatment of gliomas using chlorotoxin-based bioconjugates [J]. *Am J Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 4(5): 385-405.
- [41] Zang M, Liu, X Chen L, *et al.* Determination of BmKCT-13, a chlorotoxin-like peptide, in rat plasma by LC-MS/MS: Application to a preclinical pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 947/948: 125-131.
- [42] Liu Y F, Ma R L, Wang S L, *et al.* Expression of an antitumor-analgesic peptide from the venom of Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch in *Escherichia coli* [J]. *Protein Expr Purif*, 2003, 27(2): 253-258.
- [43] 葛贤秀, 曹 鹏, 卢悟广, 等. 重组东亚钳蝎镇痛抗肿瘤肽抑制人胆管癌细胞生长作用及其机制研究 [J]. 医学研究生学报, 2013, 26(4): 343-347.
- [44] Zhao Y, Cai X, Ye T, *et al.* Analgesic-antitumor peptide inhibits proliferation and migration of SHG-44 human malignant glioma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(9): 2424-2434.
- [45] 赵向阳, 石永强, 缪 林, 等. 重组东亚钳蝎镇痛抗肿瘤肽协同 5-氟尿嘧啶对小鼠 H₂₂ 肝癌的抑制作用 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2017, 37(1): 44-47.
- [46] 葛贤秀, 曹 鹏, 缪 林, 等. 重组东亚钳蝎镇痛抗肿瘤肽对胆管癌细胞化疗的增敏作用 [J]. 江苏医药, 2013, 39(11): 1241-1244.
- [47] 倪吴花, 骆 超, 俞 康, 等. 重组 CD₁₃ 单链抗体和蝎毒素多肽 AGAP 融合蛋白真核表达及对 NB4 细胞的靶向杀伤作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(11): 1231-1236.
- [48] 金思思, 吴金明, 申苏建, 东亚钳蝎镇痛抗肿瘤肽体外靶向肝细胞癌的实验研究 [J]. 胃肠病学, 2009, 14(12): 742-745.
- [49] Shao J H, Cui Y, Zhao M Y, *et al.* Purification, characterization, and bioactivity of a new analgesic-antitumor peptide from Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Peptides*, 2014, 53: 89-96.
- [50] Tongngam P, Roytrakul S, Sritanaudomchai H. BmKn-2 scorpion venom peptide for killing oral cancer cells by apoptosis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(7): 2807-2811.
- [51] Satitmanwiwat S, Changsangfa C, Khanuengthong A, *et al.* The scorpion venom peptide BmKn2 induces apoptosis in cancerous but not in normal human oral cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1042-1050.
- [52] Wood J N, Boorman J P, Okuse K, *et al.* Voltage-gated sodium channels and pain pathways [J]. *J Neurobiol*, 2004, 61(1): 55-71.
- [53] Song Y, Liu Z, Zhang Q, *et al.* Investigation of binding modes and functional surface of scorpion toxins ANEP to sodium channels 1.7 [J]. *Toxins (Basel)*, 2017, 9(12): 387.
- [54] Mao Q, Ruan J, Cai X, *et al.* Antinociceptive effects of analgesic-antitumor peptide (AGAP), a neurotoxin from the scorpion *Buthus martensii* Karsch, on formalin-induced inflammatory pain through a mitogen-activated protein kinases-dependent mechanism in mice [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78239.
- [55] Ma R, Cui Y, Zhou Y, *et al.* Location of the analgesic

- domain in scorpion toxin BmK AGAP by mutagenesis of disulfide bridges [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(2): 330-334.
- [56] Xu Y, Meng X, Hou X, *et al.* A mutant of the *Buthus martensii* Karsch antitumor-analgesic peptide exhibits reduced inhibition to hNav1.4 and hNav1.5 channels while retaining analgesic activity [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(44): 18270-18280.
- [57] Cui Y, Song Y B, Ma L, *et al.* Site-directed mutagenesis of the toxin from the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch (BmKAS): Insight into sites related to analgesic activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(10): 1633-1639.
- [58] Liu Z R, Tao J, Dong B Q, *et al.* Pharmacological kinetics of BmK AS, a sodium channel site 4-specific modulator on Nav1.3 [J]. *Neurosci Bull*, 2012, 28(3): 209-221.
- [59] Lin S, Wang X, Hu X, *et al.* Recombinant expression, functional characterization of two scorpion venom toxins with three disulfide bridges from the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Protein Pept Lett*, 2017, 24(3): 235-240.
- [60] Ji Y H, Liu T. The study of sodium channels involved in pain responses using specific modulators [J]. *Acta Physiologica Sin*, 2008, 60(5): 628-634.
- [61] Li Y J, Liu Y, Ji Y H. BmK AS: New scorpion neurotoxin binds to distinct receptor sites of mammal and insect voltage-gated sodium channels [J]. *J Neurosci Res*, 2000, 61(5): 541-548.
- [62] Zhang Y, Xu J, Wang Z, *et al.* BmK-YA, an enkephalin-like peptide in scorpion venom [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40417.
- [63] Cao Z Y, Mi Z M, Cheng G F, *et al.* Purification and characterization of a new peptide with analgesic effect from the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *J Pept Res*, 2004, 64(1): 33-41.
- [64] Wang Y, Wang L, Cui Y, *et al.* Purification, characterization and functional expression of a new peptide with an analgesic effect from Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch (BmK AGP-SYPU1) [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(7): 801-807.
- [65] Zhao Y S, Zhang R, Xu Y, *et al.* The role of glycine residues at the C-terminal peptide segment in antinociceptive activity: A molecular dynamics simulation [J]. *J Mol Model*, 2013, 19(3): 1295-1299.
- [66] Xiong Y M, Lan Z D, Wang M, *et al.* Molecular characterization of a new excitatory insect neurotoxin with an analgesic effect on mice from the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Toxicon*, 1999, 37(8): 1165-1180.
- [67] Guan R, Wang C G, Wang M, *et al.* A depressant insect toxin with a novel analgesic effect from scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1549(1): 9-18.
- [68] Guan R J, Wang M, Wang D, *et al.* A new insect neurotoxin AngP1 with analgesic effect from the scorpion *Buthus martensii* Karsch: Purification and characterization [J]. *J Pept Res*, 2001, 58(1): 27-35.
- [69] Guan R J, Liu X Q, Liu B, *et al.* Crystallization and preliminary X-ray analyses of insect neurotoxins with analgesic effect from the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2000, 56(Pt 8): 1012-1014.
- [70] Wang Y, Z Hao, J Shao, *et al.* The role of Ser54 in the antinociceptive activity of BmK9, a neurotoxin from the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Toxicon*, 2011, 58(6/7): 527-532.
- [71] Zhou X H, Yang D, Zhang J H, *et al.* Purification and N-terminal partial sequence of anti-epilepsy peptide from venom of the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Biochem J*, 1989, 257(2): 509-517.
- [72] Wang Z, Wang W, Shao Z, *et al.* Eukaryotic expression and purification of anti-epilepsy peptide of *Buthus martensii* Karsch and its protein interactions [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 330(1/2): 97-104.
- [73] Zhang J H, Hua Z C, Xu Z, *et al.* Expression of anti-neuroexcitation peptide (ANEP) of scorpion *Buthus martensii* Karsch in *Escherichia coli* [J]. *Prep Biochem Biotechnol*, 2001, 31(1): 49-57.
- [74] Li C L, Zhang J H, Yang B F, *et al.* ANEPIII, a new recombinant neurotoxic polypeptide derived from scorpion peptide, inhibits delayed rectifier, but not A-type potassium currents in rat primary cultured hippocampal and cortical neurons [J]. *Regul Pept*, 2006, 133(1/3): 74-81.
- [75] Zhao R, Weng C C, Feng Q, *et al.* Anticonvulsant activity of BmK AS, a sodium channel site 4-specific modulator [J]. *Epilepsy Behav*, 2011, 20(2): 267-276.
- [76] He X, Peng F, Zhang J, *et al.* Inhibitory effects of recombinant neurotoxin BmK IM on seizures induced by pentylenetetrazol in rats [J]. *Chin Med J*, 2003, 116(12): 1898-1903.
- [77] 黄迎春, 左萍萍. 东亚钳蝎提取物对癫痫小鼠大脑皮层 NMDA 受体和 GABA_A 受体的调节作用 [J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(1): 71-73.
- [78] 陈爱华. 一氧化氮与心脑血管疾病 [J]. *中国医药导刊*, 2000, 2(6): 6-8.
- [79] Wang J, Qian W, Zhu Q, *et al.* Martentoxin, a large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel inhibitor, attenuated TNF-alpha-induced nitric oxide release by human umbilical vein endothelial cells [J]. *J Biomed Res*, 2013, 27(5): 386-393.
- [80] Busse R, Luckhoff A, Mulsch A. Cellular mechanisms controlling EDRF/NO formation in endothelial cells [J]. *Basic Res Cardiol*, 1991, 86(Suppl 2): 7-16.
- [81] Shi J, He H Q, Zhao R, *et al.* Inhibition of martentoxin on neuronal BK channel subtype (alpha + beta 4):

- Implications for a novel interaction model [J]. *Biophys J*, 2008, 94(9): 3706-3713.
- [82] Chai S C, Armugam A, Strong P N, *et al.* Characterization of bumarsin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme reductase inhibitor from *Mesobuthus martensii* Karsch venom [J]. *Toxicon*, 2012, 60(3): 272-279.
- [83] 王巧云, 吕欣然. 蝎毒纤溶活性肽对血管内皮细胞分泌纤溶因子的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(11): 1434-1435.
- [84] 王巧云, 吴峰阶, 李金莲. 蝎毒纤溶活性肽对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用研究 [J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(5): 403-406.
- [85] Peng F, Zeng X C, He X H, *et al.* Molecular cloning and functional expression of a gene encoding an antiarrhythmia peptide derived from the scorpion toxin [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269(18): 4468-4475.
- [86] 王 腾, 黄从新, 江 洪, 等. 东亚钳蝎毒素多肽对家兔心室肌细胞钠电流和在体动作电位的影响以及抗心律失常作用研究 [J]. 中华心血管病杂志, 2009, 37(2): 102-107.
- [87] Wang Y, Xing B, Li T, *et al.* SVP-B5 peptide from *Buthus martensii* Karsch scorpion venom exerts hyperproliferative effects on irradiated hematopoietic cells [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5): 5081-5086.
- [88] Wang T, Wang S W, Zhang Y, *et al.* Scorpion venom heat-resistant peptide (SVHRP) enhances neurogenesis and neurite outgrowth of immature neurons in adult mice by up-regulating brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109977.
- [89] Zou X, Wu Y, Chen J, *et al.* Activation of sodium channel by a novel alpha-scorpion toxin, BmK NT2, stimulates ERK1/2 and CERB phosphorylation through a Ca^{2+} dependent pathway in neocortical neurons [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 104(Pt A): 70-77.
- [90] Fu Y J, Yang R J, Liang A H, *et al.* Recombinant scorpion insect excitatory toxin BmK IT accelerates the growth of insect *Spodoptera frugiperda* 9 cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1/2): 93-98.
- [91] 白 洁, 江 华, 李 强, 等. 蝎毒素对人 T 淋巴细胞系 Jurkat E6-1 细胞增殖的影响 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3112-3113.
- [92] 邢百倩, 董伟华, 孔天翰. 蝎毒促增殖肽在大鼠骨髓间充质干细胞上靶蛋白的初步研究 [J]. 广东医学, 2012, 33(23): 3529-3532.
- [93] Han S, Yi H, Yin S J, *et al.* Structural basis of a potent peptide inhibitor designed for Kv1.3 channel, a therapeutic target of autoimmune disease [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(27): 19058-19065.
- [94] Shijin Y, Hong Y, Yibao M, *et al.* Characterization of a new Kv1.3 channel-specific blocker, J123, from the scorpion *Buthus martensii* Karsch [J]. *Peptides*, 2008, 29(9): 1514-1520.
- [95] Mao X, Cao Z J, Yin S J, *et al.* Cloning and characterization of BmK86, a novel K^{+} -channel blocker from scorpion venom [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(4): 728-734.
- [96] Chen L, Zhang, J Xu J, *et al.* rBmalphatX14 increases the life span and promotes the locomotion of *Caenorhabditis elegans* [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161847.
- [97] Zhang X G, Wang X, Zhou T T, *et al.* Scorpion venom heat-resistant peptide protects transgenic *Caenorhabditis elegans* from beta-amyloid toxicity [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 227.
- [98] Xu X, Duan Z, Di Z, *et al.* Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Mesobuthus martensii* [J]. *J Proteomics*, 2014, 106: 162-80.
- [99] 封郭生, 吴之坤, 余墨声, 等. 蝎肽抗菌凝胶治疗深 II 度烧伤 43 例疗效观察 [J]. 中国药业, 2015, 24(19): 9-10.
- [100] 范华骏, 朱占永, 赵月强, 等. 蝎肽抗菌凝胶治疗急性放射性皮炎的临床疗效观察 [J]. 临床外科杂志, 2016, 24(3): 183-185.
- [101] 王 楷, 朱占永, 余墨声. 蝎肽抗菌凝胶治疗创伤性湿疹的疗效观察 [J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(11): 144-145.