

## 源于动物类中药活性肽的提取、分离纯化技术和应用的研究进展

周瑞书, 张媛璐, 李育涵, 张天柱\*, 邱智东\*

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

**摘要:** 动物类中药肽类 (animal-derived traditional Chinese medicine, TCM) 物质活性优势显著, 但由于动物源性中药研究程序缓慢且昂贵、材料基础不规范、活性成分不明确等原因, 尚未得到深入研究。回顾了用于动物类中药生物活性肽的研究现状, 不同提取、纯化和鉴定技术的最新进展, 并介绍其潜在健康益处。利用酶水解、溶剂萃取和微生物发酵等方式提取, 然后通过膜过滤系统、色谱法等方法结合适当的方法进行鉴定, 可以高效率的产生肽并且得到更高的生物活性。此外, 还介绍了动物类中药发挥的抗炎、抗氧化、抗菌、抗高血压和抗肿瘤活性等多功能健康益处及其构效关系。动物源性中药多肽的低开发和资源浪费, 以及大多数动物源性中药肽的药理活性报告不足, 使其具有良好的研究前景。虽然在保健品领域已经取得了突破, 但如果落实上述困惑和当前需求, 将获得更多的临床产品发展潜力。

**关键词:** 动物类中药; 生物活性肽; 提取; 分离; 纯化

**中图分类号:** R284      **文献标志码:** A      **文章编号:** 0253-2670(2025)23-8834-16

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.032

## Research progress on extraction, isolation, purification technologies and applications of bioactive peptides derived from animal-based traditional Chinese medicine

ZHOU Ruishu, ZHANG Yuanlu, LI Yuhuan, ZHANG Tianzhu, QIU Zhidong

School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

**Abstract:** The peptide substances in animal-derived traditional Chinese medicine (TCM) have significant advantages in biological activity. However, due to the slow and expensive research process of animal-derived TCM, non-standard material basis, unclear active ingredients and other reasons, in-depth research has not yet been conducted. In this article, we review the current research status of bioactive peptides from animal-derived TCM, the latest progress in different extraction, purification and identification technologies, and introduce their potential health benefits. Extraction using methods such as enzymatic hydrolysis, solvent extraction and microbial fermentation, followed by identification through membrane filtration systems, chromatography, electrophoresis combined with appropriate methods, can efficiently produce peptides with higher biological activity. In addition, the multifunctional health benefits of animal-derived TCM, such as anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, antihypertensive and anti-tumor activities, as well as their structure-activity relationships, are also introduced. The low development and resource waste of peptides from animal-derived TCM, along with the insufficient reports on the pharmacological activities of most animal-derived TCM peptides, give them promising research prospects. Although breakthroughs have been made in health products, more potential for the development of clinical products will be achieved if the above-mentioned challenges and current needs are addressed.

**Key words:** animal-derived traditional Chinese medicine; bioactive peptides; extraction; separation; purification

动物源性药物, 即从动物或其副产品中提取的具有治疗或预防疾病特性的物质。中医认为动物类

中药为“血肉有情之品”, 有“行走通窜之物”之说, 与植物源性中药相比, 动物源性中药被认为具有更

收稿日期: 2025-09-02

基金项目: 药用陆生脊椎动物资源调查项目 (DWZY21001)

作者简介: 周瑞书, 硕士研究生, 研究方向为中药基础研究与新药研发。E-mail: 15843160308@163.com

\*通信作者: 张天柱, 男, 教授, 从事中药资源与开发研究。E-mail: 183277264@qq.com

邱智东, 男, 教授, 从事中药基础研究与新药研发。E-mail: qzdczy@163.com

强的养体作用<sup>[1]</sup>，其富含大量蛋白质成分，但这些蛋白质成分并非全部以氨基酸形式进行吸收转化，大部分是以肽的形式被机体摄取。活性肽是通过酶解、发酵等方式从前体蛋白质水解产生的生物功能超越其营养价值的氨基酸序列片段，其具有多种细胞功能的生物活性<sup>[2]</sup>，也是蛋白质前体或蛋白质和氨基酸之间的一类可降解产物<sup>[3]</sup>，长度通常为 2~20 个氨基酸残基，相对分子质量一般小于 6 000<sup>[4]</sup>。研究表明<sup>[5]</sup>，一些活性肽尤其是相对分子质量相对较小的肽可直接被人体吸收，对胃肠道、心血管、免疫和神经系统以及与人类健康管理相关的领域有益<sup>[6]</sup>。近年来，研究者不断深入研究动物药肽类成分的药理活性及作用机制，为开发新型肽类药物和治疗方法提供参考，其中从动物药中高效提取和分离活性肽是开发其药用和保健价值的关键<sup>[7]</sup>。但由于动物源性中药研究程序缓慢且昂贵、材料基础不规范、活性成分不明确等原因，尚未得到深入研究。因此本文综述了生物活性肽在动物源性中药提取分离纯化方法进展及利用生物活性肽制备功能性食品的应用和市场前景，以期动物类中药中的活性肽能被更好的开发利用。

## 1 动物药活性肽的提取、分离和纯化方法

提取分离技术的选择可以提高肽的产量和生物活性。动物药活性肽的提取涉及确定合适的蛋白质来源并选择合适的提取方法<sup>[8]</sup>。由于水解产物含有许多成分，可采用多种纯化方法对目标肽进行分离和纯化（图 1）。

## 1.1 提取

**1.1.1 酶解法** 酶解法是目前动物源性中药活性肽的主要制备方法，具有生产成本低、产品安全性高、生产条件温和、水解进程易于控制等优点，还可定位生产特定的肽<sup>[9-10]</sup>。酶解动物源性中药蛋白中常用的酶包括胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶、中性蛋白酶等。不同蛋白酶的水解位点不同，2 种或 2 种以上蛋白酶同时作用于底物时，往往具有协同增效作用<sup>[11]</sup>。Jiang 等<sup>[12]</sup>从 5 种蛋白酶中筛选出 2 种酶解效果较好的酶，采用复合酶解技术制备活性多肽，提高了约 10% 的游离基清除率，有效提高海马蛋白的利用率。林麒等<sup>[13]</sup>将鹿心与木瓜蛋白酶混合，在 pH 7、55 °C 下酶解 7 h，经灭活、离心等操作后透析提取小分子鹿心肽，证明鹿心肽对酒精性小鼠肝肾损伤具有一定的预防及保护作用。郑帆等<sup>[14]</sup>利用胃蛋白酶和胰蛋白酶对梅花鹿茸进行酶解，得到具有不同活性的多肽混合物，为进一步分离提取鹿茸酶解产物中的抗氧化性多肽血管紧张素转化酶（angiotensin converting enzyme, ACE）抑制活性肽以及促成骨细胞活性肽提供强有力的依据。

通过选择不同的蛋白酶或调整酶解条件，可以获得不同活性的肽段，以满足不同需求<sup>[10]</sup>。在进行酶解操作前可利用特定的酶预处理样品，不同的前处理方式对蛋白质结构和性质造成的影响不同，对其促进效果也有差异<sup>[15]</sup>。如脂肪含量对酶解效率会产生显著影响，且各种成分间可能存在干扰，传统去



图 1 用于分离、纯化和鉴定动物药肽的分析技术

Fig. 1 Analytical techniques for isolation, purification and identification of peptides from animal-derived medicines

除脂肪通常运用挤压或化学方法容易导致产品污染和营养物质的损失, Yao 等<sup>[9]</sup>通过将脂肪酶预处理来降低脂质含量, 改变 C、N 和 O 的表面结构和表面元素含量, 促进碱性蛋白酶附着在样品上, 结果表明骨酶解前预处理可显著提高酶解效率。He 等<sup>[16]</sup>通过高压辅助酶水解增强了牛皮明胶中双功能肽的释放。高压作用下牛皮明胶结构和分子间相互作用变化, 使明胶水解度和水解物疏水氨基酸含量提高, 有效提高了肽生产的技术。

**1.1.2 溶剂萃取法** 溶剂萃取基于极性相似溶解度原理<sup>[17]</sup>, 根据所用溶剂的不同, 可分为水萃法和有机溶剂萃取法, 其中水萃法是我国传统天然产物中活性肽的常用提取方法<sup>[18]</sup>。水萃取法反应条件温和, 如刘睿等从水牛角中提取活性肽时采用水萃取, 通过色谱方法分离纯化, 得到角类样品酶解肽<sup>[19]</sup>; 王慧慧等<sup>[20]</sup>采用水提法制得生药量鲜蛤蚧水提粗蛋白, 研究不同生长时期鲜蛤蚧水提粗蛋白的抗肿瘤活性差异。有机溶剂萃取法常用于提取含有特定氨基酸的蛋白质或肽<sup>[21]</sup>。李芳等<sup>[22]</sup>用无水乙醇提取干燥的壁虎粉, 得到壁虎粗多肽, 可有效抑制肝癌 HepG2 细胞增殖。对于一些结构复杂、与其他杂质结合紧密的活性肽, 需要结合其他提取方法进一步提高提取率, 如超声辅助<sup>[23]</sup>和高压辅助提取<sup>[24]</sup>等。目前, 亚临界水萃取也被用于提取某些蛋白。亚临界水的行为可能与甲醇或乙醇相似, 这使得亚临界水成为用于各种有机溶剂萃取的绿色萃取液<sup>[25]</sup>。

除上述方法外, 还可利用酸碱萃取法来提取生物活性肽。在一定温度下, 通过加酸或加碱打破蛋白质分子的肽链, 形成小分子多肽物质<sup>[26]</sup>。酸水解过程较为剧烈, 可能导致部分氨基酸被破坏, 水解过程还中可能产生一些副产物<sup>[27]</sup>。碱水解法是利用强碱溶液中的氢氧根离子与肽键发生反应, 实现蛋白质的水解。碱水解也会破坏部分氨基酸, 影响多肽的生物活性和营养价值, 需要进一步处理改善<sup>[28-29]</sup>。

**1.1.3 微生物发酵** 微生物发酵制备多肽是利用微生物发酵过程产生的蛋白酶作用于底物蛋白质, 将蛋白质分子水解成多肽或游离氨基酸的过程<sup>[30]</sup>。在发酵过程中, 还会产生蛋白酶以外的酶来降解复合碳水化合物和脂质<sup>[31]</sup>。常用的微生物有枯草芽孢杆菌<sup>[32]</sup>、乳酸杆菌<sup>[33]</sup>、酿酒酵母<sup>[34]</sup>等。Zhang 等<sup>[35]</sup>将鹿骨与无菌水混合, 用嗜酸乳杆菌发酵, 提取发酵鹿骨胶原肽, 并分析比对非发酵的鹿骨胶原蛋白肽的序列和差异蛋白。结果表明, 发酵的鹿骨胶原

蛋白肽改善衰老引起的皮肤问题的效果优于非发酵的鹿骨胶原蛋白肽。目前, 肽的活性和结构之间的关系仍处于解释阶段。这些肽在母体蛋白的序列中是无活性的, 可以通过酶催化的蛋白质水解释放。在膳食蛋白质的正常代谢过程中, 这个过程可以在胃肠道内自然发生。发酵将旨在增加前体物质的含量, 例如难以消化的纤维、多酚、一些氨基酸和抗性淀粉, 这些物质抵抗消化酶的作用和在上消化道器官中的吸附, 然后被肠道菌群发酵, 提供“原位”生产促进健康的化合物<sup>[36]</sup>。然而, 发酵法目前还存在一些局限性, 例如多肽分离和纯化较为困难、形成对人体健康有害的物质(如霉菌毒素和生物胺), 并且需要多种微生物菌株来产生具有特定特性的肽等<sup>[37]</sup>。

**1.1.4 其他提取法** 用于提取制备多肽的方法还有化学合成、重组 DNA 法和直接提取法, 但这 3 种方法在提取动物药肽中应用不太普遍。化学合成是利用液相或固相合成来靶向氨基酸或小肽来合成目标肽, 多肽的结构和功能由其组成氨基酸的类型和顺序决定。因此, 多肽合成必须首先知道目标多肽的氨基酸序列<sup>[38]</sup>。化学合成分为固相合成法(solid-phase peptide synthesis, SPPS)与液相合成法(liquid-phase peptide synthesis, LPPS)。化学合成法操作较为繁琐, 每一步反应后都需要进行复杂的分离纯化操作来去除副产物和未反应的试剂, 成本较高且对环境不友好; 合成周期相对较长, 难以实现大规模自动化生产。

重组 DNA 法是通过 DNA 序列来控制多肽序列的生产, 其步骤包括构建重组表达载体、细胞转化和蛋白质纯化<sup>[39]</sup>。从传统中药中分离出编码蛋白质的 DNA 片段并插入表达载体中。将载体转染到宿主中进行基因扩增、mRNA 合成和肽合成, 最终获得纯化的重组多肽。如 Lu 等<sup>[40]</sup>构建了水蛭素变体的重组形式, 通过 Ni-NTA 亲和色谱纯化融合蛋白, 纯化后的蛋白与天然水蛭素的比活性相当。直接提取法操作简单, 但提取成本较高, 且天然活性肽产量低, 在动物药活性肽制备中应用相对较少。

## 1.2 分离与纯化

**1.2.1 超滤法** 超滤法是一种基于膜分离技术的分离纯化方法, 其主要依靠不同孔径的特殊膜来分离肽。由于膜的孔径固定, 单个分子大于孔径的肽无法穿透, 而小肽可以穿过膜到达另一侧, 从而实现不同大小的肽分子的分离<sup>[41]</sup>。在多肽药物的制备

过程中,超滤法常作为初步纯化步骤,用于去除提取液中的小分子杂质,为后续的精纯化提供合适的样品。Xu 等<sup>[42]</sup>在研究亚洲蛤蜊肽的自由基清除活性时,用胰蛋白酶水解亚洲蛤蜊的柔软部分,并使用截留相对分子质量为 10 000 和 5 000 的超滤膜将水解物分离成 3 个馏份。李超柱等<sup>[43]</sup>探讨了牡蛎活性肽超滤过程中操作压力、温度及料液质量浓度对超滤膜通量的影响,确定了最佳超滤条件,并测定了在此条件下获得的活性肽抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖能力。

超滤法能够在相对较短的时间内实现对多肽和杂质的有效分离,提高纯化效率。但相对分子质量相近的多肽和杂质,分离效果可能不理想,在超滤过程中,多肽溶液中的大分子物质、胶体、微粒等容易吸附或沉积在超滤膜表面,导致分离效率降低,需要定期清洗或更换超滤膜<sup>[44]</sup>。

**1.2.2 凝胶过滤色谱** 凝胶过滤色谱,又称为尺寸排阻色谱,广泛用于蛋白质、多糖、多肽和小分子盐的分离和纯化,其利用分子筛效应分离不同相对分子质量的分子。在动物药多肽分离纯化中,根据目标多肽与杂质分子大小的不同,选择合适孔径的凝胶,使多肽与其他大分子杂质(蛋白质等)以及小分子杂质(盐、小分子有机物等)分离开来,交联葡聚糖是肽混合物分离最常用的填料<sup>[45]</sup>。如 Li 等<sup>[46]</sup>使用凝胶柱色谱和 HLB 脱盐柱纯化了蟾蜍皮的水提取物中的肽,以探究其中的肽组组成。Zhang 等<sup>[47]</sup>依次通过纤维素 DE-52、葡聚糖凝胶和反相液相色谱从水蛭中分离纯化出一种热稳定抗凝蛋白 WP-77,并通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)和液相色谱-质谱联用(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)分析结构信息,得到 WP-77 是非吸血药用水蛭抗凝活性的必需物质。

凝胶过滤色谱法需要在实验前对样品进行适当的浓度调整,以达到最佳的分离效果。其主要优点是温和的流动相条件,允许对蛋白质进行表征,对构象结构和局部环境的影响最小<sup>[48]</sup>。整个分离过程在常温、常压和近中性 pH 条件下进行,对多肽的结构和生物活性影响较小,能有效保持多肽的天然特性<sup>[49]</sup>。

**1.2.3 离子交换色谱** 离子交换色谱(ion exchange chromatography, IEC)基于分析物离子或高极性分子与带相反电荷的固定相之间形成离子或静电相

互作用<sup>[50]</sup>。优化流动相组成,例如缓冲液 pH 值、有机改性剂比例、盐浓度等,可以成功地实现不同物质的分离<sup>[51]</sup>。且通过离子交换色谱分离后,可以对不同的多肽组分进行活性检测,快速确定具有活性的肽段,为后续的活性研究和药物开发提供有力支持。如 He 等<sup>[52]</sup>使用离子交换柱和凝胶色谱柱研究分离鉴定了胃肠道消化后蚯蚓蛋白衍生的抗氧化肽,并分析了它们的构效关系,分离后鉴定出 6 030 个肽序列。

**1.2.4 反相色谱法** 反相高效液相色谱与质谱兼容,是一种基于蛋白质分子疏水性的分离方法<sup>[53]</sup>。例如张希春等<sup>[54]</sup>经硫酸铵沉淀、超滤、阳离子交换分离和反相快速蛋白质液相色谱分析得到了 2 种新的蚯蚓抗菌肽 F-1 与 F-2。由于肽在不同的有机/水环境中可能表现出不同的二级结构,以及肽在不同 pH 值下表现出的净电荷和电荷分布,因此复杂肽混合物的分离条件的优化并非易事,它可能导致保留机制的优势随流动相组成而变化<sup>[55]</sup>。通过筛选多种不同 pH 值、离子对试剂和离子强度的流动相,可以最大限度地提高在复杂混合物中分离所有目标肽的可能性<sup>[56-57]</sup>。此方法特别适用于相对分子质量在 5 000 以下,特别是 10 000 以下的极性小分子肽的分离和纯化。具有 5~16 个氨基酸残基、相对分子质量为 500~1 800 的肽和脂肪族疏水性氨基酸残基或具有强烈的抗氧化特性,也适合使用反相色谱法进行分离<sup>[58]</sup>。色谱柱可反复使用,分离效果较好,比较稳定,回收方便。但由于肽在溶液中的扩散系数较小,粘度相对较大,因此介质的 pH 值、外部温度和有机溶剂的性质都会引起其结构发生变化并引起变性,需要根据情况来选择适宜的条件<sup>[59]</sup>。

**1.2.5 电泳** 电泳技术可用于纯化蛋白质和肽以及测量其物理化学性质,如相对分子质量、等电点和电泳迁移率<sup>[60]</sup>。根据分离原理,主要用于肽和蛋白质分离有 2 种电泳模式:区带电泳和等电聚焦<sup>[61]</sup>。区带电泳根据大小分离蛋白质,而等电聚焦电泳首先根据等电点分离蛋白质,再根据大小分离蛋白质。当与灵敏的检测方法结合使用时,等电聚焦电泳能够分离 1 000~2 000 个单独的蛋白质<sup>[62]</sup>。根据支持介质,分为凝胶电泳、毛细管电泳、自由流动电泳。其中 SDS-PAGE 为常见,大多数蛋白质的分析电泳是通过在聚丙烯酰胺凝胶中分离实现的,在凝胶中加入阴离子去污剂 SDS 与还原剂以解离蛋白质<sup>[63]</sup>。电泳技术因其高效率、高分辨率和选择性

而在生物活性肽的分离和分析中越来越重要,但是同时应克服与电泳相关的缺点。例如在蛋白质组学中,非蛋白质材料会干扰肽的完全分离程序<sup>[64]</sup>,通常利用过滤辅助制备样品并与肽分离技术相结合,可使分离或鉴定的蛋白质数量显著增加<sup>[65]</sup>。

## 2 动物源性中药肽的生物活性

动物源性中药肽可以从各种天然来源获得,具有明显的安全性和潜在的健康益处。因此,许多研究探讨了动物源性中药肽的各种生物活性,包括抗

炎、抗氧化、抗菌、抗高血压和抗肿瘤活性等。此外,中医学使用血肉有情之品以骨补骨、以血补血、以髓补髓取源于“天人相应”理念及“取象比类”思维模式。唐代孙思邈在《千金翼方》中提出“有情”“无情”的概念,并认为血肉有情之品的补益作用突出,创立了“以脏补脏”的理论<sup>[66]</sup>。这一传统理论框架,为现代研究从活性肽角度阐释动物药的药效物质基础和作用机制提供了宝贵的方向性指引和深厚文化内涵(图2)。



图2 动物药活性肽的生物效应与传统功效关系

Fig. 2 Relationship between bioeffects and traditional efficacies of bioactive peptides from animal-derived medicines

### 2.1 抗炎

炎症是一种免疫反应,导致保护分子募集和激活,称为促炎介质,这些介质可以通过与不同细胞类型的各种细胞和亚细胞成分相互作用来放大炎症反应<sup>[67]</sup>。因此,抑制炎症因子和氧化应激的水平可能有助于治疗各种与炎症相关的疾病<sup>[68]</sup>。中药的“抗炎活性”在中医功效中主要体现在“清热”“解毒”“化湿”等治法上,其根本目标是清除病邪、调和气血阴阳的平衡,而不仅仅是抑制炎症反应<sup>[69-70]</sup>。如地龙用于治疗高热、疮痈、咽喉肿痛等“热毒炽盛”之证,全蝎、蜈蚣等用于治疗惊厥、抽搐,现代研究发现许多神经系统炎症性疾病与此相关。水蛭用于治疗“痹证”和“癥瘕积聚”,其病理核心包括炎症细胞浸润、炎症因子释放导致的组织损伤和疼痛<sup>[71]</sup>。牡

蛎用于治疗痈疽疮疡、肿块结节,直接对应局部的炎症肿胀和组织增生<sup>[72]</sup>。源自全蝎中的关键抗炎成分 BmKK2 通过靶向和抑制巨噬细胞 Kv1.3 的活性来抑制炎症,从而抑制核因子  $\kappa$ B 炎症小体 NLRP3 (nuclear factor kappa-B NLRP3, NF- $\kappa$ B-NLRP3) 通路的激活和随后炎症因子的释放<sup>[73]</sup>。源自牡蛎的肽通过降低血清中的免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 水平,在雄性小鼠中表现出对结肠炎的抗炎活性<sup>[74]</sup>。牡蛎水解物中的二肽(YA)经氨基酸序列识别为酪氨酸-丙氨酸(Tyr-Ala),在脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞模型中,通过减少促炎因子 NO 的过度产生来发挥抗炎活性。其作用机制与 YA 结构中的酪氨酸残基相关,但抗炎效果显著强于游离酪氨酸。此外, YA 兼具 ACE 抑制与抗氧化活性,



形成多靶点协同的抗炎-降压作用<sup>[75]</sup>。这些发现表明牡蛎肽可以成为抗炎剂和功能性食品的来源。

## 2.2 抗氧化

在病理或极端环境条件下, 人体经常会产生过量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 使细胞的天然抗氧化防御能力下降, 抗氧化蛋白水解物和肽形式的外源性抗氧化剂补充人体天然抗氧化防御系统的可能性受到研究的重视<sup>[76]</sup>。抗氧化肽可以作为食品配方中的成分, 用于预防、延迟、控制与氧化应激相关的疾病状况, 还可以作为食品中的添加剂, 以抑制食品的氧化<sup>[77]</sup>。抗氧化生物效应, 从现代中医学角度对其传统“扶正”“补虚”“滋阴”等核心思想。氧化应激是机体衰老和绝大多数慢性疾病的共同病理基础。如“滋阴养血”“补益肝肾”“延缓衰老”“清热解毒”等功效背后的微观生物学基础之一, 就是强大的抗氧化活性<sup>[78]</sup>。如海马具有温肾壮阳功效, Lee 等<sup>[79]</sup>从海马腹腔的醛化酶处理的水解物中分离出海马肽, 并评估了其对 AAPH 诱导的氧化应激损伤的抗氧化潜力。AAPH 刺激显著降低了 Vero 细胞的细胞活力并增加了细胞内活性氧的产生。在 AAPH 诱导的氧化应激下, 海马肽处理提高了细胞活力并显著降低了活性氧的产生。蛤蚧补肺益肾, Cai 等<sup>[80]</sup>从蛤蚧中鉴定并设计了一系列类似物, 2 种截短肽对 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS)] 和 2,2'-联苯基-1-苦基肼基 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine, DPPH) 自由基表现出优异的抗氧化活性。这些肽诱导 HaCaT 细胞增殖并防止受伤皮肤组织中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性降低和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 浓度增加。燕窝养阴润燥, 益气补中, Lee 等<sup>[81]</sup>研究调查了食用燕窝中的抗氧化和抗炎肽。将制备的肽依次分离、纯化, 并通过超滤、凝胶过滤和质谱技术依次鉴定, 得到 4 种潜在的抗氧化和抗炎肽, 可能作为预防氧化应激和炎症相关疾病的有前途的生物活性肽。

## 2.3 抗菌

动物源性中药所含的天然抗菌成分是传统功效“清热解毒”“攻毒杀虫”“消肿排脓”等重要的物质基础。现代研究发现, 这些成分通过直接杀伤微生物、破坏生物膜、调节免疫等多种方式发挥作用<sup>[82]</sup>。抗菌肽是由各种生物体产生的具有强大抗菌活性的小肽。由于其抗菌活性、广谱活性、稳定性和

多样性, 抗菌肽被认为是有效的抗生素替代品<sup>[83]</sup>。蜈蚣具有息风镇痉、通络止痛、攻毒散结作用, 如源自蜈蚣中的 23 聚体抗菌肽乳铁素 B 样肽通过产生活性氧和诱导大肠杆菌细胞凋亡样死亡来发挥其抗菌活性<sup>[84]</sup>。另有研究者表征蜈蚣中新型抗菌肽并测试其抗菌活性, 发现其对不同微生物表现出有效的抗菌作用, 并且在高浓度下对人类红细胞表现出较低的溶血作用<sup>[85]</sup>。蟾酥可解毒止痛, 在蟾酥中发现的抗菌肽具有强大的抗菌和抗真菌特性, 具有低毒性和耐药性<sup>[86]</sup>。但抗菌肽在生物体中的产量极少量, 其分离和纯化过程复杂且昂贵, 导致提取率低。

## 2.4 抗高血压

中医虽无“高血压”的病名, 但根据其临床症状, 将其归于“眩晕”“头痛”“肝阳上亢”“肝风内动”等范畴。其病机核心多与“肝、肾、脾”功能失调有关。相应的治法及动物药功效包括“平肝熄风”“活血化瘀”“利水消肿”等, 其产生降压效果的现代生物学基础主要在于调节血管张力、抑制过度激活的肾素-血管紧张素-系统 (renin-angiotensin system, RAS)、改善血液流变学和保护靶器官等机制<sup>[87]</sup>。降压肽可以抑制肾素和 ACE 的作用, 发挥降压机制。这些肽还抑制血管紧张素 II (angiotensin II, AT-II) 与其受体之间的相互作用, 有助于降低高血压<sup>[88-89]</sup>。到目前为止, 已经从不同的蛇毒中鉴定出许多特异性降压肽。它们在结构、机制和作用点上差异很大。每类都有许多不同的亚型, 具有相似的结构但不同的降压活性<sup>[90]</sup>。此外从牡蛎<sup>[91]</sup>、鹿茸<sup>[92]</sup>、水蛭<sup>[93]</sup>、蝎毒<sup>[94]</sup>中提取的肽均具有抗高血压活性, 其参与与抑制关键靶点 ACE 和抗氧化作用有关。蝎毒肽可以通过上调抗衰老因子来调节抗氧化酶的水平, 并且与卡托普利相比表现出更高的抗高血压活性<sup>[94]</sup>。

## 2.5 抗肿瘤

中医将肿瘤归类为“癥瘕”“积聚”“岩”(癌)、“恶疮”等, 其病机核心在于“正气亏虚”为本, “气滞、血瘀、痰凝、毒聚”为标。动物药在治疗此类疾病时, 常被赋予“破血逐瘀”“以毒攻毒”“软坚散结”“扶正固本”等功效, 其抗肿瘤的现代生物学基础, 主要在于直接抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡与分化和调节机体免疫等多途径、多靶点的协同作用<sup>[95]</sup>。癌细胞生长迅速且易转移, 因此, 探索癌症诊疗的新疗法具有重要意义<sup>[96]</sup>。动物源性中药中, 蝎毒具有息风镇痉、通络止痛、攻毒散结功效, 故蝎毒的抗肿瘤肽有很好的研究价值。如 Smp43 是

从埃及蝎毒中鉴定出的一种阳离子抗菌肽,通过膜破坏显示出对肝癌 HepG2 细胞的细胞毒性。Smp43 在 HepG2 异种移植小鼠模型中显示出有效的抗肿瘤保护作用<sup>[97]</sup>。Nguyen 等<sup>[98]</sup>研究了来源于蝎子毒液的阳离子抗菌肽 Smp24,可以抑制 HepG2 细胞的活力,表明 Smp24 的抗肿瘤作用与通过细胞膜破坏和线粒体功能障碍诱导细胞凋亡、周期停滞和自噬密切相关,提示肝细胞癌治疗的潜在替代方案。

## 2.6 抗凝血

在中医理论中用“瘀血”一词高度概括了血液循环障碍、血液凝固性增高及血栓形成等一系列病理状态。治疗“瘀血”的核心治法就是“活血化瘀”,并根据瘀阻的严重程度,进一步分为“活血化瘀”“破血逐瘀”传统功效。凝血涉及许多称为凝血因子的血浆丝氨酸蛋白酶的相互作用。Cheng 等<sup>[99]</sup>从牡蛎胃蛋白酶水解物中分离出一种新的食物来源的抗凝血七肽(P-3-CG)并对其进行表征。结果表明,P-3-CG 可能作为一种替代的食物来源的抗凝肽,可用于预防血栓形成。水蛭的破血通经,逐瘀消癥功效是阐释这一关系的典范。现代药理学表明,水蛭属的药用水蛭早在有文字记载的历史之前就被用于医疗保健,其核心成分水蛭素是最强大的天然抗凝剂之一,从水蛭素开始,药理学研究成功开发出新的抗凝剂,使其预防和治疗血栓栓塞性疾病的基石<sup>[100]</sup>。它通过与凝血酶形成不可逆复合物,高效阻止纤维蛋白原转化为纤维蛋白,从而阻止血栓形成。此外,Fareed 等<sup>[101]</sup>描述 2 种重组水蛭素制剂可用于肝素诱导的血小板减少症患者的术后下肢深静脉血栓预防和替代抗凝剂使用。

## 2.7 对神经系统的影响

中医理论将神经系统的相应的治法及动物药功效归为“熄风止痉”“开窍醒神”“通络止痛”“安神定惊”等,其现代生物学基础主要在于调节神经递质、影响离子通道、促进神经修复以及改善脑循环等多方面的作用<sup>[102]</sup>。蝎毒具有抑制肝脏过度活跃、激活血液除湿、缓解痉挛等作用,揭示了蝎毒肽的神经保护作用潜在机制包括保护多巴胺神经元、减少  $\alpha$ -突触核蛋白聚集、解决 M1/M2 极化的不平衡以及阻断 NOX2 介导的小胶质细胞活化<sup>[103]</sup>。此外,从水蛭<sup>[104]</sup>和蝎子毒液<sup>[105-106]</sup>中分离的肽还可以促进神经再生和减少神经元细胞凋亡。水蛭素通过靶向抑制接触激肽途径以及过表达 NLRP3 及其下游靶标表现出抗缺血作用<sup>[107]</sup>。现代药理学研究报告称,

蝎毒肽<sup>[108-109]</sup>、蜈蚣中提取的肽<sup>[110]</sup>等在体内和体外表现出显著的镇痛作用,主要机制与调节离子通道( $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ )有关<sup>[111-112]</sup>、改善炎症反应,如抑制促炎细胞因子(tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )<sup>[113]</sup>和相关靶点在丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)中的表达<sup>[114]</sup>和 Wnt<sup>[115]</sup>信号通路。此外,离子通道还可能参与 G 蛋白门控内向整流钾离子通道(G protein-gated inwardly rectifying potassium, GIRK)<sup>[116]</sup>和瞬时受体电位香草素 1(transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)<sup>[117]</sup>途径。综上所述,动物源性中药肽产生的类似镇痛效果可归因于离子通道,特别是  $\text{Na}^+$ 和  $\text{K}^+$ 通道的共同调控。

## 2.8 其他

在动物药中,激素肽也是一类非常有特色的活性肽类成分,激素类肽包括生长激素释放肽(growth hormone releasing peptides, GHRPs)、催产素(oxytocin)等。它们通过自身作为激素或调节激素反应而产生多种生理作用。GHRPs 为 90 年代发展起来的一类新合成的生物活性肽,在动物体中具有释放生长激素(growth hormone, GH)的生物活性<sup>[118]</sup>。中医认为鹿茸能壮肾阳、益精血、强筋骨。现代研究认为,其作用与其富含的生长因子能促进细胞增殖、蛋白质合成、骨骼和肌肉生长有关。鹿茸中生长因子属于激素肽,被认为对生长发育具有一定的促进作用。由于鹿茸对骨骼系统的滋补作用,一些研究着眼于其对骨折愈合的影响,实验结果显示鹿茸可能通过促进骨细胞增殖和分化,加速骨折部位的愈合过程,有望成为骨科医学领域的一种辅助治疗手段<sup>[119]</sup>。此外鹿茸肽通过 NF- $\kappa$ B、Wnt/ $\beta$ -catenin 和 EGF/EGFR 途径表现出优异的抗骨关节炎作用<sup>[120]</sup>。鹿茸通过 NF- $\kappa$ B<sup>[121]</sup>通路促进骨形成和抑制骨吸收来发挥作用。鹿茸肽通过 VEGF 和酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)途径分别刺激血管新生和软骨细胞增殖,从而有利于骨折和骨缺损的修复<sup>[122]</sup>。随后,这些肽的掺入进入骨组织工程支架以促进骨修复正在成为一种新的治疗方式。

## 3 结构-活性关系

作为蛋白质生物分子,生物活性肽表现出很强的构效关系。这些肽的独特生物学功能以及体内结合取决于肽的构象、三维结构和空间构象等性状。首先,肽的主要序列和氨基酸的特性决定了肽的构象,从而决定了它们的生物学特性<sup>[123]</sup>。如表 1 所示,

不同生物活性的肽，其结构和作用机制存在显著差

表 1 典型动物源药物中的代表性生物活性肽及其序列、前体蛋白与关键结构域  
Table 1 Representative bioactive peptides from typical animal-derived medicines, along with their sequences, precursor proteins, and key domains

| 动物药来源 | 代表活性肽名称 | 氨基酸序列                                                                    | 前体蛋白                           | 关键结构域                                               | 药理活性   | 参考文献 |
|-------|---------|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|--------|------|
| 蛤蚧    | 蛤蚧抗氧化肽  | CGWKY(H)                                                                 | 信号肽、保守 cathelin 结构域和 C 端的活性成熟肽 | 两亲性 $\alpha$ -螺旋或 $\beta$ -发夹结构，可能含二硫键，C 端重复模体关键    | 抗氧化    | 80   |
| 鹿茸    | 鹿茸新肽    | VVTPT                                                                    | 未明确说明                          | 酪氨酸和色氨酸是功能核心，脯氨酸的刚性结构和疏水性氨基酸的膜亲和力进一步增强其生物活性         | 抗氧化    | 124  |
| 阿胶    | 阿胶活性肽   | ISVPGPMGPSGPR                                                            | 驴源 I 型胶原蛋白 $\alpha$ -1 链       | 带电氨基酸、极性氨基酸以及疏水性氨基酸                                 | 降血压    | 125  |
| 金钱白花蛇 | 蛇毒降压肽   | SQGLPPGPPIP                                                              | ACEI/BPP-CNP 前体                | C 端 Pro-Pro motif 抑制 ACE，保守环结构激活利钠肽受体               | 降血压    | 90   |
| 地龙    | 蚓激酶     | MELPPGTKIVGGIEARPYEFPWQVS<br>VRRKSSDSHFCGGSII                            | 信号肽                            | 由 248 个氨基酸组成的丝氨酸蛋白酶前体；其空间结构以无规卷曲和 $\beta$ -折叠为主     | 抗血栓    | 126  |
| 水蛭    | 水蛭素     | VVYTDCTESGQNLCLCEGSNVCGQ<br>GNKILGSDGEKNQCVTGEGTPK<br>PQSHNDGDFEEIPEEYLQ | 20 个氨基酸的信号肽                    | 包含 3 对二硫键、NRY 三肽、空间结构为 N 端球状+C 端柔性尾，通过多位点与凝血酶高亲和力结合 | 抗血栓    | 127  |
| 蜈蚣    | 蜈蚣抗凝肽   | SGL                                                                      | 未明确说明                          | 两亲性结构                                               | 抗血栓    | 128  |
| 蟾酥    | 蟾酥肽     | FFPLIAGLAARFLPKIFCSITKRC                                                 | 未明确说明                          | 两亲性 $\alpha$ -螺旋，C 端包含 1 个由 7 个氨基酸残基形成的分子内二硫键环      | 抗菌、抗肿瘤 | 129  |
| 牡蛎    | 牡蛎抗菌肽   | GFGCPWNRYQCHSHCRSIGRLGGY<br>CAGSLRLTCTCYRS                               | 未明确说明                          | 3 对二硫键形成稳定的 $\alpha$ -螺旋主导结构                        | 抗菌     | 130  |
| 全蝎    | 蝎毒素     | GFGCYRSCWKAGHDEETCKKECS                                                  | 24 个氨基酸的信号肽、无 pro-肽区域          | 富含天冬氨酸，未发现二硫键                                       | 镇痛     | 131  |

异。表中列举了代表性动物药的代表性活性肽及其序列、前体蛋白和关键结构域等，基于表 1 总结的代表性肽段，进一步梳理出动物药活性肽的构效关系规律。

3.1 抗氧化

相对分子质量、疏水性氨基酸（如 His、Trp、Phe、Pro、Gly、Lys、Ile 和 Val）的存在、C 端和 N 端的空间结构以及周围氨基酸等因素都会影响肽的抗氧化活性。其中，氨基酸组成和序列对抗氧化活性的影响最大<sup>[132]</sup>。与较大的肽或蛋白质相比，低相对分子质量肽具有易暴露的活性位点和高渗透性，通常表现出优异的抗氧化活性。例如，低相对

分子质量阿胶抗氧化肽的 DPPH 和 ABTS 自由基清除能力较高，不同相对分子质量的明胶肽在氨基酸组成、官能团峰强度和二级结构含量方面存在差异，可能导致不同的抗氧化活性。氨基酸组成中富含脯氨酸、酪氨酸、亮氨酸等残基的肽段表现出更高的活性，尤其是 N 端疏水氨基酸能增强与自由基的相互作用；此外，肽段的空间构象如无规卷曲、 $\beta$ -转角等二级结构的含量变化会影响活性基团的暴露程度，进而影响其抗氧化效能，因此一个稳定的空间结构是肽段发挥抗氧化作用的关键基础<sup>[133]</sup>。蝎毒抗氧化肽高疏水性氨基酸（如 Leu、Val、Phe）和芳香族残基通过提供氢原子或电子直接中和自



由基,而 $\alpha$ -螺旋结构和构象灵活性有助于肽与生物膜或脂质环境相互作用,接近自由基生成位点;C端酰胺化可稳定螺旋结构并增强膜结合能力,净正电荷和两亲性则促进肽与带负电的细胞膜结合,但过高疏水性可能导致肽聚集而降低活性,因此优化疏水性与电荷平衡是增强抗氧化功能的关键<sup>[134]</sup>。综上所述,抗氧化肽的活性与其相对分子质量、疏水氨基酸及芳香族氨基酸的含量密切相关。表1中所汇总的蛤蚧抗氧化肽和鹿茸新肽正是这些构效关系的典型代表,前者以其C端的组氨酸作为关键的氢供体,后者则富含酪氨酸和脯氨酸,共同贡献了其清除自由基的强大能力。

### 3.2 抗血栓

抗血栓肽的构效关系核心在于其特定的结构特征能高选择性、高亲和力地靶向关键凝血因子或血小板受体,从而通过抑制凝血级联反应或血小板聚集来发挥高效抗血栓活性,其活性可通过结构修饰进一步优化。如水蛭素分子的N末端有3对二硫键,可以稳定肽的三维结构,使其不易被蛋白酶降解,并维持其活性构象。其氨基末端含活性中心,能识别底物—凝血酶碱性氨基酸富集位点,并与之结合。其C末端富含酸性氨基酸,但其与凝血酶作用的位点包含精氨酸。许多直接凝血酶抑制剂(direct thrombin inhibitor, DTI)都含有关键的Arg残基,用于模拟纤维蛋白原的识别位点,从而竞争性抑制凝血酶。肽链中部还有1个由pro-Lys-pro组成的特殊序列,不被一般蛋白酶降解,从而维持水蛭素分子的稳定性<sup>[135-136]</sup>。从地龙中分离出的6种新型纤溶蛋白酶其抗血栓活性与它们的空间结构密切相关。这些蛋白酶虽共享相同的催化三联体,但其细微差异决定了各自的底物特异性。该构效关系为开发特异性强、不良反应小的新型抗血栓药物提供了关键的结构生物学基础<sup>[137]</sup>。

### 3.3 抗菌

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)活性主要受相对分子质量和二级结构的影响。其通常可分为3类:可以采用两亲性 $\alpha$ -螺旋构象的线性肽;形成二硫键的含Cys肽;含有Pro、Arg、Gly或His残基的多肽<sup>[138]</sup>。来自牡蛎中的抗菌肽是很好的例子。

考虑到共享结构或保守序列的特征,牡蛎抗菌肽可分为防御素(Cg-Defh1、Cg-Defh2和Cg-Defm)、大防御素(Cg-BigDef1、Cg-BigDef2和Cg-BigDef3)、富含Pro的抗菌肽和杀菌性增加蛋

白<sup>[139]</sup>。高级结构层面,牡蛎抗菌肽继承牡蛎免疫蛋白的保守功能域:牡蛎中表征的第一种防御素含6~8个半胱氨酸,形成3~4个分子内二硫键,特异性结合细菌细胞壁前体脂质II,抑制肽聚糖合成<sup>[140-142]</sup>;大防御素具有N端疏水球状域与C端 $\beta$ -折叠域的协同构象,通过破坏膜完整性实现广谱抗菌<sup>[143-144]</sup>;这些结构特征与功能密切关联。此外,空间构象对牡蛎抗菌肽的功能也有影响,如果空间构象发生改变,可能会导致其无法与靶标分子有效结合,进而丧失原有的生物活性。与其他生物活性肽相比,牡蛎抗菌肽相对分子质量更高(通常为5000~10000),它们的活性与Cys残基、芳香族氨基酸、疏水性氨基酸和两亲性氨基酸的存在密切相关。Cys和芳香族氨基酸的相对丰度分别为25.38%和13.50%,这表明Cys和芳香族氨基酸残基可能在牡蛎抗菌肽的抗菌活性中起关键作用<sup>[145]</sup>。抗菌肽的N端结构域具有高度疏水性,而C端结构域带正电,6个Cys残基参与3个二硫键的形成<sup>[146]</sup>。正电荷和亲水性是抗菌肽抗菌活性所需的2个主要因素<sup>[147]</sup>。抗菌肽通过静电键合与细菌表面结合,这被认为是促进抗菌肽与细胞膜相互作用的第一步。表现出完整的3对二硫键的AOD表现出最高水平的抗菌活性,并且在TFE溶液中表现出最丰富的 $\alpha$ -螺旋结构。突变体中半胱氨酸被丝氨酸取代导致其抗菌活性显著降低。因此,半胱氨酸取代丝氨酸对AOD的抗菌功效和结构特性都产生了深远的影响<sup>[130]</sup>。此外蟾蜍中的抗菌肽Maximin1和蜂毒中的Melittin的抗真菌活性也与其两亲性密切相关,具有阳离子电荷和 $\alpha$ -螺旋结构<sup>[148-149]</sup>。拥有较短序列氨基端长度的肽有利于穿透细菌细胞壁和膜。不同动物来源的抗菌肽,其结构和作用机制存在显著差异。如表1所示,牡蛎防御素依靠其由二硫键稳定形成的刚性 $\beta$ -片层结构,特异性靶向细菌细胞壁成分脂质II;而蜈蚣来源的抗菌肽Scolopendin 2则通常呈现为线性两亲性 $\alpha$ -螺旋,通过物理性破坏细菌细胞膜来达到杀菌效果。这种结构上的根本差异决定了它们截然不同的杀菌策略和靶点特异性<sup>[150]</sup>。

综上所述,肽的相对分子质量以及氨基酸的组成和排列,如疏水残基的存在以及C端和N端氨基酸的类型,是影响肽在生物体中多种生物活性的关键因素。构效关系表明,相对分子质量较低的活性肽往往表现出优越的生理活性和生物学功能。这主要是由于低相对分子质量肽能够轻松穿过细胞

膜, 确保更好的渗透性和生物利用度, 从而增强其生物学效应。此外, 氨基酸组成在肽活性中起着关键作用。含有疏水性氨基酸的肽, 或具有 N 端疏水性脂肪族支链氨基酸和碱性残基的肽, 与 C 端芳香族和带正电荷的氨基酸结合, 通过氢键等相互作用形成特定序列。然而, 其三维构象和空间结构仍不够了解, 需要进一步阐明。此外, 影响动物源性中药活性肽功效的复杂环境和加工因素需要更全面的分析, 并更深入地探索其体内转运机制和多靶点效应。表 1 代表性动物药的代表性活性肽及其序列、前体蛋白和关键结构域。

#### 4 生物活性肽制备功能性食品的应用和市场前景

生活方式对人类健康影响的普遍共识为, 饮食是影响人类健康状况的关键因素<sup>[151]</sup>。食物中的蛋白质大部分生理活动由在母体蛋白中加密的肽序列执行, 这些肽序列在完整切割时变得活跃<sup>[152]</sup>。生物活性肽在蛋白质的酶促蛋白水解以及食品加工过程中释放。生物活性水解物可以开发成功能性食品。水解物中的生物活性肽也可以分离和纯化成营养保健品, 用于非药物治疗<sup>[153]</sup>。动物源性蛋白质因其营养特性而被认为是消化时氨基酸的重要来源, 但消化和工业加工都可能从具有生物学功能的母体蛋白质中释放肽。从动物蛋白中体外或体内释放的几种肽被归因于不同的健康影响, 包括抗菌特性<sup>[143,154-155]</sup>、抗血栓形成<sup>[148]</sup>、抗癫痫<sup>[156]</sup>、抗肿瘤<sup>[157]</sup>等。

动物源性中药生物活性肽在功能性食品领域的应用与市场前景广阔。传统中药如阿胶、鹿茸、地龙等富含蛋白质, 通过现代生物技术酶解或发酵后可获得高活性小分子肽, 具有抗氧化、免疫调节、降血压等独特功能, 且易吸收、低致敏, 契合现代消费者对精准营养的需求。目前, 相关产品已应用于抗衰老美容饮品、运动恢复蛋白粉、心血管健康饮料等细分市场, 尤其在亚太地区增长迅速。目前, 全球功能性食品市场年增长率超 8% (2023 年约 3 000 亿美元), 肽类产品因“精准营养”概念倍受青睐。同时“健康中国 2030”鼓励药食同源开发<sup>[158]</sup>, 部分动物中药 (如阿胶) 已列入药食同源目录<sup>[159]</sup>, 并且随着酶解工艺的优化、纳米递送等技术的进步大大提高了肽稳定性, 该领域呈现 3 大趋势: 一是肽和益生菌或中药的复合配方创新, 二是微生物发酵等绿色生产技术替代传统提取, 三是临床验证驱动高端化发展。但也同时面临一些市场挑战,

如部分动物中药 (如犀角、虎骨) 受法规保护, 需替代来源 (如重组肽或植物仿生肽) 等。尽管面临原料管控和标准化的挑战, 但在健康消费升级背景下, 全球功能性肽市场预计将保持高速增长, 中国凭借传统中药优势有望成为产业引领者, 未来个性化营养和跨境电商将成为重要突破口。

#### 5 结语

近年来, 随着生物技术的快速发展, 动物类中药活性肽的提取方法已从传统的水提醇沉、酸解法逐步升级为定向酶解、超声波辅助提取及微生物发酵等高效绿色技术, 大幅提高了肽的得率和活性。在分离纯化方面, 超滤、凝胶色谱、反相高效液相色谱等技术的联用实现了不同相对分子质量肽段的精准分级, 而质谱与生物信息学的结合则加速了活性肽序列的鉴定与功能预测。

在靶点发现阶段, 可先筛选动物药中高表达功能蛋白基因, 预测潜在活性肽序列。某些活性肽可能因结构特殊难以纯化, 这时可能需要直接化学合成。复合酶协同水解、前处理辅助酶解和分级纯化策略可高效提取所需的生物活性肽。在应用领域, 源于阿胶、地龙、水蛭等中药的活性肽已成功开发为抗氧化、抗疲劳、降血压等功能性食品, 并逐步拓展至特医食品和个性化营养领域。目前, 尚未有将动物药药效成分与质量控制指标相关联的报道, 因此, 如何发展和运用多学科技术将两个重要特性结合来探究反映药效的标志蛋白类成分, 用于动物药质量控制, 是一个重要挑战<sup>[160]</sup>。与植物源性中药相比, 动物源性中药的成分更加复杂, 因为其中含有各种肽、蛋白质、胆汁酸、多糖和其他成分, 导致肽的提取、分离和鉴定困难, 进一步限制了其进一步发展。因此逐步开发中药动物源性多肽的分离、检测和鉴定技术, 开发合理的化学修饰策略以改善药代动力学。针对口服生物利用度低的瓶颈, 开发纳米脂质体包埋等递送系统; 依托“药食同源”政策, 将活性肽转化为功能性食品; 推进临床前毒理评价及 II/III 期临床试验。对珍稀动物原料, 采用合成生物学技术重组加强药用动物的驯养和饲养, 促进野生动物资源的合理保护, 为中药动物源肽的未来应用建立全面的质量评价体系至关重要。综合分析表明, 动物源性中药多肽的低开发和资源浪费, 以及大多数动物源性中药肽的药理活性报告不足, 使其具有良好的研究前景。虽然在保健品领域已经取得了突破, 但如果落实上述

困惑和当前需求, 将获得带来令人惊讶转机的临床产品的发展潜力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Tang X M, Guo J L, Chen L, *et al.* Application for proteomics analysis technology in studying animal-derived traditional Chinese medicine: A review [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 191: 113609.
- [2] Zhang Q, Li H J, Jia D S, *et al.* Protective effect of Deer heart peptide on cardiac injury in mice [J]. *Int J Inflamm*, 2024, 2024(1): 6661371.
- [3] Muttenthaler M, King G F, Adams D J, *et al.* Trends in peptide drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(4): 309-325.
- [4] Piovesana S, Capriotti A L, Cavaliere C, *et al.* Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(15): 3425-3444.
- [5] Christiansen J. The intestinal phase of gastric acid secretion in man [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1978, 13(1): 1-2.
- [6] Acquah C, Chan Y W, Pan S, *et al.* Structure-informed separation of bioactive peptides [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(1): e12765.
- [7] Wang L, Dong C, Li X, *et al.* Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources (Review) [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(2): 637-651.
- [8] Wang X Q, Yu H H, Xing R E, *et al.* Characterization, preparation, and purification of marine bioactive peptides [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9746720.
- [9] Yao Y M, Wang M Y, Liu Y, *et al.* Insights into the improvement of the enzymatic hydrolysis of bovine bone protein using lipase pretreatment [J]. *Food Chem*, 2020, 302: 125199.
- [10] Adler-Nissen J. Limited enzymic degradation of proteins: A new approach in the industrial application of hydrolases [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1982, 32(1): 138-156.
- [11] 彭易鑫, 陆旭丽, 代亚萍, 等. 响应面法优化复合酶酶解制备可口革囊星虫胶原蛋白抗氧化肽工艺研究 [J]. *食品工业科技*, 2021, 42(22): 230-239.
- [12] Jiang Z, Xu Y, Su Y. Preparation process of active enzymolysis polypeptides from seahorse bone meal [J]. *Food Sci Nutr*, 2014, 2(5): 490-499.
- [13] 林麒, 张群, 张继一, 等. 鹿心肽对小鼠急性酒精性肝损伤的干预作用 [J]. *食品工业*, 2024, 45(3): 109-114.
- [14] 郑帆, 李仁宽, 王辉林, 等. 鹿茸冻干粉酶解及其酶解产物性质的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(19): 2628-2633.
- [15] 常畅, 闫巧娟, 江正强. 酶解豆类蛋白制备活性肽研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(11): 10-17.
- [16] He L, Han L, Yu Q L, *et al.* High pressure-assisted enzymatic hydrolysis promotes the release of a bi-functional peptide from cowhide gelatin with dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory and antioxidant activities [J]. *Food Chem*, 2024, 435: 137546.
- [17] Sridhar K, Inbaraj B S, Chen B H. Recent developments on production, purification and biological activity of marine peptides [J]. *Food Res Int*, 2021, 147: 110468.
- [18] Chen R, Wang X J, Zhang Y Y, *et al.* Simultaneous extraction and separation of oil, proteins, and glucosinolates from *Moringa oleifera* seeds [J]. *Food Chem*, 2019, 300: 125162.
- [19] 刘睿, 赵明, 刘晓, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测水牛角特征肽 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(5): 1279-1285.
- [20] 王慧慧, 孙艺茹, 陈心怡, 等. 不同生长期壁虎水取物对肝癌细胞 Bel-7402 增殖抑制及诱导分化活性的影响 [J]. *特产研究*, 2021, 43(3): 1-5.
- [21] Cui Q Y, Ni X H, Zeng L, *et al.* Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues [J]. *Hortic Plant J*, 2017, 3(4): 172-176.
- [22] 李芳, 徐萍, 王云, 等. 壁虎粗多肽对肝癌 HepG2 细胞增殖及自噬相关蛋白表达的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(16): 1791-1793.
- [23] Tang W L, Zhang M, Fang Z. Optimization of ultrasound-assisted-extraction of porcine placenta water-soluble proteins and evaluation of the antioxidant activity [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(7): 4042-4053.
- [24] Hegde K R, Buvaneswaran M, Bhavana M R, *et al.* Effects of ultrasound and high-pressure assisted extraction of pearl millet protein isolate: Functional, digestibility, and structural properties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 289: 138877.
- [25] Cheng Y, Xue F M, Yu S, *et al.* Subcritical water extraction of natural products [J]. *Molecules*, 2021, 26(13): 4004.
- [26] Hou Y Q, Wu Z L, Dai Z L, *et al.* Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2017, 8: 24.
- [27] Hrynets Y, Omana D A, Xu Y, *et al.* Effect of acid- and alkaline-aided extractions on functional and rheological properties of proteins recovered from mechanically separated Turkey meat (MSTM) [J]. *J Food Sci*, 2010, 75(7): E477-E486.
- [28] Zhang C, Sanders J P M, Xiao T T, *et al.* How does alkali aid protein extraction in green tea leaf residue: A basis for integrated biorefinery of leaves [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133046.
- [29] Zhou Y H, Wu W, Zhang N, *et al.* Deep eutectic solvents

- as new media for green extraction of food proteins: Opportunity and challenges [J]. *Food Res Int*, 2022, 161: 111842.
- [30] Singh B P, Vij S, Hati S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean [J]. *Peptides*, 2014, 54: 171-179.
- [31] Smid E J, Lacroix C. Microbe-microbe interactions in mixed culture food fermentations [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2013, 24(2): 148-154.
- [32] Sanjukta S, Rai A K, Muhammed A, et al. Enhancement of antioxidant properties of two soybean varieties of Sikkim Himalayan region by proteolytic *Bacillus subtilis* fermentation [J]. *J Funct Foods*, 2015, 14: 650-658.
- [33] Liu Y X, Castagnini J M, Berrada H, et al. High-added-value compounds recovery from supercritical fluid extraction-defatted European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) viscera by lactic acid bacteria (*L. plantarum* and *L. casei*) assisted fermentation [J]. *Food Chem*, 2025, 473: 143085.
- [34] García-Tejedor A, Sánchez-Rivera L, Recio I, et al. Dairy *Debaryomyces hansenii* strains produce the antihypertensive casein-derived peptides LHLPLP and HLPLP [J]. *LWT Food Sci Technol*, 2015, 61(2): 550-556.
- [35] Zhang K, Zhao C X, Liu K Y, et al. Oral administration of Deer bone collagen peptide can enhance the skin hydration ability and antioxidant ability of aging mice induced by D-gal, and regulate the synthesis and degradation of collagen [J]. *Nutrients*, 2024, 16(11): 1548.
- [36] Colucci Cante R, Nigro F, Passannanti F, et al. Gut health benefits and associated systemic effects provided by functional components from the fermentation of natural matrices [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2024, 23(3): e13356.
- [37] Anal A K, Perpetuini G, Petchkongkaew A, et al. Food safety risks in traditional fermented food from South-East Asia [J]. *Food Contr*, 2020, 109: 106922.
- [38] Liao J, Gao M, Ding Y, et al. Characterization of the natural peptidome of four leeches by integrated proteogenomics and pseudotargeted peptidomics [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2023, 415(14): 2795-2807.
- [39] Wen Q M, Zhang L, Zhao F, et al. Production technology and functionality of bioactive peptides [J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29(9): 652-674.
- [40] Lu W, Cai X, Gu Z, et al. Production and characterization of hirudin variant-1 by SUMO fusion technology in *E. coli* [J]. *Mol Biotechnol*, 2013, 53(1): 41-48.
- [41] Doyen A, Beaulieu L, Saucier L, et al. Impact of ultrafiltration membrane material on peptide separation from a snow crab byproduct hydrolysate by electrodialysis with ultrafiltration membranes [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(5): 1784-1792.
- [42] Xu H, Lv S, Jiang S T, et al. Radical scavenging activities of peptide from Asian clam (*Corbicula fluminea*) and its protective effects on oxidative damage induced by hydrogen peroxide in HepG2 cells [J]. *J Food Biochem*, 2020, 44(3): e13146.
- [43] 李超柱, 陈艳辉, 陈艳华, 等. 牡蛎活性肽超滤分离工艺及其抗肿瘤活性研究 [J]. 钦州学院学报, 2016, 31(10): 9-12.
- [44] Georgiou H M, Rice G E, Baker M S. Proteomic analysis of human plasma: Failure of centrifugal ultrafiltration to remove albumin and other high molecular weight proteins [J]. *Proteomics*, 2001, 1(12): 1503-1506.
- [45] Irvine G B. Determination of molecular size by size-exclusion chromatography (gel filtration) [J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2001, 5 (1): 18228373.
- [46] Li J, Lv X, Li B, et al. Identification of peptides of cinobufacini by gel filter chromatography and peptidomics [J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(15): 2845-2854.
- [47] Zhang Y J, Yang R, Wang L W, et al. Purification and characterization of a novel thermostable anticoagulant protein from medicinal leech *Whitmania pigra* Whitman [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 288: 114990.
- [48] Fekete S, Beck A, Veuthey J L, et al. Theory and practice of size exclusion chromatography for the analysis of protein aggregates [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 101: 161-173.
- [49] Huang T Y, Chi L M, Chien K Y. Size-exclusion chromatography using reverse-phase columns for protein separation [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1571: 201-212.
- [50] Ngere J B, Ebrahimi K H, Williams R, et al. Ion-exchange chromatography coupled to mass spectrometry in life science, environmental, and medical research [J]. *Anal Chem*, 2023, 95(1): 152-166.
- [51] Ahmed S, Atia N N, Rageh A H. Selectivity enhanced cation exchange chromatography for simultaneous determination of peptide variants [J]. *Talanta*, 2019, 199: 347-354.
- [52] He P, Zhang Y, Zhang Y Z, et al. Isolation, identification of antioxidant peptides from earthworm proteins and analysis of the structure-activity relationship of the peptides based on quantum chemical calculations [J]. *Food Chem*, 2024, 431: 137137.
- [53] Josic D, Kovac S. Reversed-phase high performance liquid chromatography of proteins [J]. *Curr Protoc Protein Sci*, 2010, Chapter 8: 8.7.1-8.7.22.
- [54] 张希春, 孙振钧, 糕如朋, 等. 蚯蚓两种抗菌肽的分离纯化及部分性质 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2002, 29(6): 955-960.
- [55] Field J K, Euerby M R, Haselmann K F, et al. Investigation

- into reversed-phase chromatography peptide separation systems Part IV: Characterisation of mobile phase selectivity differences [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1641: 461986.
- [56] Gilar M, Xie H, Jaworski A. Utility of retention prediction model for investigation of peptide separation selectivity in reversed-phase liquid chromatography: Impact of concentration of trifluoroacetic acid, column temperature, gradient slope and type of stationary phase [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(1): 265-275.
- [57] Shibue M, Mant C T, Hodges R S. Effect of anionic ion-pairing reagent hydrophobicity on selectivity of peptide separations by reversed-phase liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1080(1): 68-75.
- [58] Ranathunga S, Rajapakse N, Kim S K. Purification and characterization of antioxidative peptide derived from muscle of Conger eel (*Conger myriaster*) [J]. *Eur Food Res Technol*, 2006, 222(3): 310-315.
- [59] Wang W Q, Liu Z C, Liu Y J, *et al.* Plant polypeptides: A review on extraction, isolation, bioactivities and prospects [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 207: 169-178.
- [60] Adamson N J, Reynolds E C. Rules relating electrophoretic mobility, charge and molecular size of peptides and proteins [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1997, 699(1/2): 133-147.
- [61] Rabilloud T, Vaezzadeh A R, Potier N, *et al.* Power and limitations of electrophoretic separations in proteomics strategies [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2009, 28(5): 816-843.
- [62] Harper S, Mozdzanowski J, Speicher D. Two-dimensional gel electrophoresis [J]. *Curr Protoc Protein Sci*, 2001, Chapter 10: Unit10.4.
- [63] Ramos Y, González A, Sosa-Acosta P, *et al.* Sodium dodecyl sulfate free gel electrophoresis/electroelution sorting for peptide fractionation [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(24): 3712-3717.
- [64] Ramos Y, Almeida A, Carpio J, *et al.* Gel electrophoresis/electroelution sorting fractionator combined with filter-aided sample preparation for deep proteomic analysis [J]. *J Sep Sci*, 2022, 45(10): 1784-1796.
- [65] Kulak N A, Geyer P E, Mann M. Loss-less nano-fractionator for high sensitivity, high coverage proteomics [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2017, 16(4): 694-705.
- [66] 王宏国, 樊伶俐. 浅析“肝”的“以脏补脏” [J]. *光明中医*, 2018, 33(20): 2968-2970.
- [67] Guha S, Majumder K. Structural-features of food-derived bioactive peptides with anti-inflammatory activity: A brief review [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(1): e12531.
- [68] Park Y R, Park C I, Soh Y. Antioxidant and anti-inflammatory effects of NCW peptide from clam worm (*Marphysa sanguinea*) [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(9): 1387-1394.
- [69] 段汉昌, 任广明, 邹翔, 等. 东北道地清热解毒类中药材的药理作用研究进展 [J/OL]. *特产研究*, (2025-06-11) [2025-11-12]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2025.119>
- [70] 苗雨露, 张雯霞, 王玉娥, 等. 清热解毒类中药抗炎机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(9): 228-234.
- [71] 胡欣燕, 李璐瑒. 水蛭: 从传统中药到现代新药的蜕变 [J]. *药物与人*, 2025(6): 83-84.
- [72] 任雨雨, 雷根平, 王冰严, 等. 牡蛎的药理作用研究进展 [J/OL]. *辽宁中医药大学学报*, (2025-07-22) [2025-11-23]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1543.r.20250722.1351.008>.
- [73] Wang Z H, Sang M, Zhang Y X, *et al.* BmKK2, a thermostable Kv1.3 blocker from *Buthus martensii* Karsch (BmK) scorpion, inhibits the activation of macrophages via Kv1.3-NF- $\kappa$ B- NLRP3 axis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116624.
- [74] Zhang H, Kovacs-Nolan J, Kodera T, *et al.*  $\gamma$ -Glutamyl cysteine and  $\gamma$ -glutamyl valine inhibit TNF- $\alpha$  signaling in intestinal epithelial cells and reduce inflammation in a mouse model of colitis via allosteric activation of the calcium-sensing receptor [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(5): 792-804.
- [75] Xie C L, Kang S S, Lu C Y, *et al.* Quantification of multifunctional dipeptide YA from oyster hydrolysate for quality control and efficacy evaluation [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 8437379.
- [76] Pan M F, Liu K X, Yang J Y, *et al.* Advances on food-derived peptidic antioxidants-a review [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(9): 799.
- [77] Nwachukwu I D, Aluko R E. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(1): e12761.
- [78] 王祺, 单思, 吴欣宇, 等. 滋阴药延缓衰老机制的研究进展 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2020, 22(10): 3726-3732.
- [79] Lee H G, Nagahawatta D P, Yang F Q, *et al.* Antioxidant potential of hydrolysate-derived seahorse (*Hippocampus abdominalis*) peptide: Protective effects against AAPH-induced oxidative damage *in vitro* and *in vivo* [J]. *Food Chem*, 2023, 407: 135130.
- [80] Cai S S, Lu C G, Liu Z L, *et al.* Derivatives of gecko cathelicidin-related antioxidant peptide facilitate skin wound healing [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 890: 173649.
- [81] Lee C H, Hamdan N, Nyakuma B B, *et al.* Purification, identification and molecular docking studies of antioxidant and anti-inflammatory peptides from Edible Bird's Nest [J]. *Food Chem*, 2024, 454: 139797.

- [82] 蒋庆佳, 杨放, 杨安迪, 等. 中药抑菌活性成分及其作用机制研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(8): 855-861.
- [83] Zhang R, Xu L, Dong C. Antimicrobial peptides: An overview of their structure, function and mechanism of action [J]. *Protein Pept Lett*, 2022, 29(8): 641-650.
- [84] Lee B, Hwang J S, Lee D G. Antibacterial action of lactoferricin B like peptide against *Escherichia coli*: Reactive oxygen species-induced apoptosis-like death [J]. *J Appl Microbiol*, 2020, 129(2): 287-295.
- [85] Chaparro-Aguirre E, Segura-Ramírez P J, Alves F L, et al. Antimicrobial activity and mechanism of action of a novel peptide present in the ecdysis process of centipede *Scolopendra subspinipes subspinipes* [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13631.
- [86] Shi Y, Li C, Wang M, et al. Cathelicidin-DM is an antimicrobial peptide from *Duttaphrynus melanostictus* and has wound-healing therapeutic potential [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(16): 9301-9310.
- [87] 邓紫薇, 杨璧英, 彭亚军, 等. 平肝类中药汤剂联合西药治疗高血压肾病疗效的 Meta 分析 [J]. 湖南中医杂志, 2025, 41(7): 110-116.
- [88] Lee S Y, Hur S J. Antihypertensive peptides from animal products, marine organisms, and plants [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 506-517.
- [89] Shukla P, Chopada K, Sakure A, et al. Current trends and applications of food-derived antihypertensive peptides for the management of cardiovascular disease [J]. *Protein Pept Lett*, 2022, 29(5): 408-428.
- [90] Xu X, Li B, Zhu S, et al. Hypotensive peptides from snake venoms: Structure, function and mechanism [J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15(7): 658-669.
- [91] Wang J, Hu J, Cui J, et al. Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats [J]. *Food Chem*, 2008, 111(2): 302-308.
- [92] Haines S R, McCann M J, Grosvenor A J, et al. ACE inhibitory peptides in standard and fermented Deer velvet: An in silico and in vitro investigation [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 350.
- [93] Ding Z, Chen K L, Chen Y Z. Research on ACEI of low-molecular-weight peptides from *Hirudo nipponia* Whitman [J]. *Molecules*, 2022, 27(17): 5421.
- [94] Setayesh-Mehr Z, Ghasemi L V, Asoodeh A. Evaluation of the in vivo antihypertensive effect and antioxidant activity of HL-7 and HL-10 peptide in mice [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(7): 5571-5578.
- [95] 胡越, 王林枫, 李玥, 等. 软坚散结中药抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(1): 276-286.
- [96] Li K, Liu C J, Zhang X Z. Multifunctional peptides for tumor therapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 160: 36-51.
- [97] Chai J, Yang W, Gao Y, et al. Antitumor effects of scorpion peptide Smp43 through mitochondrial dysfunction and membrane disruption on hepatocellular carcinoma [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(12): 3147-3160.
- [98] Nguyen T, Guo R Y, Chai J W, et al. Smp24, a scorpion-venom peptide, exhibits potent antitumor effects against hepatoma HepG2 cells via multi-mechanisms in vivo and in vitro [J]. *Toxins*, 2022, 14(10): 717.
- [99] Cheng S Z, Tu M L, Liu H X, et al. A novel heptapeptide derived from *Crassostrea gigas* shows anticoagulant activity by targeting for thrombin active domain [J]. *Food Chem*, 2021, 334: 127507.
- [100] Montinari M R, Minelli S. From ancient leech to direct thrombin inhibitors and beyond: New from old [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112878.
- [101] Fareed J, Lewis B E, Callas D D, et al. Antithrombin agents: The new class of anticoagulant and antithrombotic drugs [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 1999, 5(Suppl 1): S45-S55.
- [102] 张志远, 董婉茹. 安神中药功效及实验研究方法 [J]. 实用中医内科杂志, 2013, 27(7): 133-135.
- [103] Guo S Y, Guan R X, Chi X D, et al. Scorpion venom heat-resistant synthetic peptide protects dopamine neurons against 6-hydroxydopamine neurotoxicity in *C. elegans* [J]. *Brain Res Bull*, 2022, 190: 195-203.
- [104] Zhang Z Y, Ma N, Tao L J, et al. Linear peptides containing *d*-leucine with neuroprotective activities from the leech *Whitmania pigra* Whitman [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(8): 2349-2353.
- [105] Wu X F, Li C, Yang G, et al. Scorpion venom heat-resistant peptide attenuates microglia activation and neuroinflammation [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 704715.
- [106] Zhao F, Fang L, Wang Q, et al. Exploring the pivotal components influencing the side effects induced by an analgesic-antitumor peptide from scorpion venom on human voltage-gated sodium channels 1.4 and 1.5 through computational simulation [J]. *Toxins: Basel*, 2022, 15(1): 33.
- [107] Zhang Z Y, Shen C B, Fang M Q, et al. Novel contact-kinin inhibitor sylvestin targets thromboinflammation and ameliorates ischemic stroke [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(5): 240.
- [108] Lu L, Zhang H, Zhou Y, et al. Polymer Chimera of stapled oncolytic peptide coupled with anti-PD-L1 peptide boosts immunotherapy of colorectal cancer [J]. *Theranostics*, 2022, 12(7): 3456-3473.



- [109] Wang D, Herzig V, Dekan Z, *et al.* Novel scorpion toxin  $\omega$ -buthitoxin-Hf1a selectively inhibits calcium influx via Cav3.3 and Cav3.2 and alleviates allodynia in a mouse model of acute postsurgical pain [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(9): 4745.
- [110] Wang Y, Li X, Yang M, *et al.* Centipede venom peptide SsmTX-I with two intramolecular disulfide bonds shows analgesic activities in animal models [J]. *J Pept Sci*, 2017, 23(5): 384-391.
- [111] Asadi M, Ayat H, Ahadi A M, *et al.* Genomic structure of two Kv1.3 channel blockers from scorpion *Mesobuthus eupeus* and sea *Anemone Stichodactyla haddoni* and construction of their chimeric peptide as a novel blocker [J]. *Biochem Genet*, 2022, 60(2): 504-526.
- [112] Naseem M U, Gurrola-Briones G, Romero-Imbach M R, *et al.* Characterization and chemical synthesis of Cm39 ( $\alpha$ -KTx 4.8): A scorpion toxin that inhibits voltage-gated K<sup>+</sup> channel Kv1.2 and small- and intermediate-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels Kca2.2 and Kca3.1 [J]. *Toxins*, 2023, 15(1): 41.
- [113] Galante P, Campos G A A, Moser J C G, *et al.* Exploring the therapeutic potential of an antinociceptive and anti-inflammatory peptide from wasp venom [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12491.
- [114] Liu X Y, Huang J C, Zhang T, *et al.* Cyclo(L-Pro-L-Trp) from *Chilobrachys jingzhao* alleviates formalin-induced inflammatory pain by suppressing the inflammatory response and inhibiting TRAF6-mediated MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 139: 112602.
- [115] Hösch N G, Martins B B, Alcantara Q A, *et al.* Wnt signaling is involved in crotoalphine-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 959: 176058.
- [116] An D C, Pinheiro-Junior E L, Béress L, *et al.* AsKC11, a kunitz peptide from *Anemonia sulcata*, is a novel activator of G protein-coupled inward-rectifier potassium channels [J]. *Mar Drugs*, 2022, 20(2): 140.
- [117] Elnahriry K A, Wai D C C, Ashwood L M, *et al.* Structural and functional characterisation of Tst2, a novel TRPV1 inhibitory peptide from the Australian sea *Anemone Telmatactis stephensoni* [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2024, 1872(1): 140952.
- [118] 杨闯. 生物活性肽在营养保健中的应用 [J]. 食品科学, 2003(12): 153-154.
- [119] 房凌云. 鹿茸的化学成分、药理作用与临床应用研究进展 [J]. 中国实用医药, 2025, 20(5): 174-176.
- [120] Yang C H, Cai W J, Wen H, *et al.* Pilose antler peptide protects osteoblasts from inflammatory and oxidative injury through EGF/EGFR signaling [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 99: 15-20.
- [121] Liu G, Ma C, Wang P, *et al.* Pilose antler peptide potentiates osteoblast differentiation and inhibits osteoclastogenesis via manipulating the NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(2): 388-395.
- [122] Wang P, Sun T F, Li G, *et al.* The separation of antler polypeptide and its effects on the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 1294151.
- [123] Korhonen H, Pihlanto A. Bioactive peptides: Production and functionality [J]. *Int Dairy J*, 2006, 16(9): 945-960.
- [124] Meng F Y, Wang Y H, Liu Y, *et al.* Naturally occurring new peptides from velvet antler of *Cervus nippon* Temminck: Structural characterization and organic synthesis, antioxidant and anti-melanogenic effects using *in vitro* cell models and *in vivo* zebrafish models [J]. *Chem Biodivers*, 2025, 22(10): e00288.
- [125] 王莹雪, 樊雨梅, 廖峰, 等. 阿胶活性肽的结构鉴定及活性筛选 [J]. 食品科学, 2022, 43(10): 207-213.
- [126] Tabassum A, Zeeshan N, Afroz A. Cloning and enhancing lumbrokinase production from local *Eisenia fetida* by signal peptide engineering for effective thrombosis treatment [J]. *PLoS One*, 2025, 20(7): e0328393.
- [127] Cheng B X, Liu F, Guo Q S, *et al.* Identification and characterization of hirudin-HN, a new thrombin inhibitor, from the salivary glands of *Hirudo nipponia* [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7716.
- [128] Kong Y, Huang S L, Shao Y, *et al.* Purification and characterization of a novel antithrombotic peptide from *Scolopendra subspinipes mutilans* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 182-186.
- [129] Ju X M, Fan D M, Kong L M, *et al.* Antimicrobial peptide brevinin-IRL1 from frog skin secretion induces apoptosis and necrosis of tumor cells [J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 2059.
- [130] Mao R Y, Zhao Q Y, Lu H Q, *et al.* The marine antimicrobial peptide AOD with intact disulfide bonds has remarkable antibacterial and anti-biofilm activity [J]. *Mar Drugs*, 2024, 22(10): 463.
- [131] Zavarzina I I, Kuzmenkov A I, Dobrokhoto N A, *et al.* The scorpion toxin BeKm-1 blocks hERG cardiac potassium channels using an indispensable arginine residue [J]. *FEBS Lett*, 2024, 598(8): 889-901.
- [132] Zou T B, He T P, Li H B, *et al.* The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins [J]. *Molecules*, 2016, 21(1): 72.
- [133] Liang R, Xu L, Fan C, *et al.* Structural characteristics and antioxidant mechanism of donkey-hide gelatin peptides by molecular dynamics simulation [J]. *Molecules*, 2023,

- 28(24): 7975.
- [134] Daniele-Silva A, Rodrigues S C S, Dos Santos E C G, *et al.* NMR three-dimensional structure of the cationic peptide Stigmurin from *Tityus stigmurus* scorpion venom: *in vitro* antioxidant and *in vivo* antibacterial and healing activity [J]. *Peptides*, 2021, 137: 170478.
- [135] 程晓梅, 张萌, 王继红, 等. 水蛭素的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(2): 135-137.
- [136] De Filippis V, Acquasaliente L, Pontarollo G, *et al.* Noncoded amino acids in protein engineering: Structure-activity relationship studies of hirudin-thrombin interaction [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2018, 65(1): 69-80.
- [137] Yang W Q, Wang W J, Ma Y N, *et al.* Bioevaluation of *Pheretima vulgaris* antithrombotic extract, PvQ, and isolation, identification of six novel PvQ-derived fibrinolytic proteases [J]. *Molecules*, 2021, 26(16): 4946.
- [138] Brogden K A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3(3): 238-250.
- [139] Bachère E, Rosa R D, Schmitt P, *et al.* The new insights into the oyster antimicrobial defense: Cellular, molecular and genetic view [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 46(1): 50-64.
- [140] Seo J K, Myron Crawford J, Stone K L, *et al.* Purification of a novel arthropod defensin from the American oyster, *Crassostrea virginica* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(4): 1998-2004.
- [141] Zhu S, Gao B, Tytgat J. Phylogenetic distribution, functional epitopes and evolution of the CSa $\beta$  superfamily [J]. *Cell Mol Life Sci CMLS*, 2005, 62(19): 2257-2269.
- [142] Schmitt P, Wilmes M, Pugnère M, *et al.* Insight into invertebrate defensin mechanism of action: Oyster defensins inhibit peptidoglycan biosynthesis by binding to lipid II [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(38): 29208-29216.
- [143] Rosa R D, Santini A, Fievet J, *et al.* Big defensins, a diverse family of antimicrobial peptides that follows different patterns of expression in hemocytes of the oyster *Crassostrea gigas* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25594.
- [144] Kouno T, Fujitani N, Mizuguchi M, *et al.* A novel beta-defensin structure: A potential strategy of big defensin for overcoming resistance by gram-positive bacteria [J]. *Biochemistry*, 2008, 47(40): 10611-10619.
- [145] Liu Z Y, Dong S Y, Xu J, *et al.* Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelain [J]. *Food Contr*, 2008, 19(3): 231-235.
- [146] Saito T, Kawabata S, Shigenaga T, *et al.* A novel big defensin identified in horseshoe crab hemocytes: Isolation, amino acid sequence, and antibacterial activity [J]. *J Biochem*, 1995, 117(5): 1131-1137.
- [147] Powers J P, Hancock R E. The relationship between peptide structure and antibacterial activity [J]. *Peptides*, 2003, 24(11): 1681-1691.
- [148] Timmons P B, Hewage C M. Biophysical study of the structure and dynamics of the antimicrobial peptide maximin 1 [J]. *J Pept Sci*, 2022, 28(2): e3370.
- [149] Zhang H Q, Sun C B, Xu N, *et al.* The current landscape of the antimicrobial peptide melittin and its therapeutic potential [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1326033.
- [150] Peng K, Kong Y, Zhai L, *et al.* Two novel antimicrobial peptides from centipede venoms [J]. *Toxicon*, 2010, 55(2/3): 274-279.
- [151] Albenzio M, Santillo A, Caroprese M, *et al.* Bioactive peptides in animal food products [J]. *Foods*, 2017, 6(5): 35.
- [152] Rizzello C G, Tagliazucchi D, Babini E, *et al.* Bioactive peptides from vegetable food matrices: Research trends and novel biotechnologies for synthesis and recovery [J]. *J Funct Foods*, 2016, 27: 549-569.
- [153] Daliri E B, Oh D H, Lee B H. Bioactive peptides [J]. *Foods*, 2017, 6(5): E32.
- [154] Zeng X C, Zhou L L, Shi W X, *et al.* Three new antimicrobial peptides from the scorpion *Pandinus imperator* [J]. *Peptides*, 2013, 45: 28-34.
- [155] Lee H, Hwang J S, Lee J, *et al.* Scolopendin 2, a cationic antimicrobial peptide from centipede, and its membrane-active mechanism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1848(2): 634-642.
- [156] 肖倩, 张志平, 侯阳波, 等. 产自东亚钳蝎的钠通道调节剂的抗癫痫/促癫痫作用(英文) [J]. 生理学报, 2022, 74(4): 621-632.
- [157] 廖共山, 周先果, 班建东, 等. 牡蛎活性肽对人舌鳞癌 Tca8113 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 山东医药, 2009, 49(47): 13-15.
- [158] 吴瑕. “健康中国 2030”背景下《黄帝内经》的现代养生价值研究 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(2): 404-405.
- [159] Wang L, Zhu X C, Liu H L, *et al.* Medicine and food homology substances: A review of bioactive ingredients, pharmacological effects and applications [J]. *Food Chem*, 2025, 463(Pt 1): 141111.
- [160] 罗晓晓, 王玉荣. 基于蛋白多肽类成分的动物药药理学活性及质量控制研究进展 [J]. 药物资讯, 2023, 12(3): 167-174.

[责任编辑 王文倩]