

海洋来源多肽生物活性及提纯方法 研究进展

唐晓宁¹, 吕应年¹, 吴斌华¹, 林芊杏², 黄庆³, 戚怡^{1*}

(1. 广东医科大学 海洋医药研究院, 广东 湛江 524023; 2. 广东湛江海洋医药研究院, 广东 湛江 524023;
3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江), 广东 湛江 524013)

摘要: 海洋生物来源的多肽, 种类丰富, 结构新颖, 副作用小, 是近年来研究的热点。本文主要对海洋生物来源的具有血管紧张素转化酶(ACE)抑制、抗氧化、抗菌、抗肿瘤的多功能活性肽进行综述, 并对多肽的提取分离方法进行介绍, 为进一步研究海洋生物活性肽提供参考。

关键词: 海洋活性肽; 活性机制; 提取; 分离

中图分类号: R931.77

文献标志码: A

文章编号: 1002-3461(2021)01-049-10

Advances in research on biological activity and purification methods of marine peptides

TANG Xiao-ning¹, LV Ying-nian¹, WU Bin-hua¹, LIN Qian-xing², HUANG Qing³, QI Yi^{1*}

(1. Institute of Marine Medicine, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China;
2. Guangdong Institute of Marine Medicine, Zhanjiang 524023, China; 3. Southern Marine Science and
Engineering Guangdong Laboratory (Zhanjiang), Zhanjiang 524013, China)

Abstract: Peptides derived from marine organisms are rich in types, novel in structure, and have little side effects. This article mainly reviews the peptides with angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition, anti-oxidation, antibacterial, antitumor and multifunctional activity, and the brief introduction about the extraction and separation methods from marine organisms, in order to provide references for further research on marine bioactive peptides.

Key words: marine active peptide; mechanism; extraction; separation

海洋作为地球最庞大的生态系统, 蕴藏着极其丰富的生物资源, 开发前景广阔^[1]。海洋环境极端复杂, 而海洋生物为了适应纷繁复杂的海洋环境, 产生了大量异于陆地生物的功能性物质。随着海洋有关的科学技术的发展以及人们对海洋资源的进一步挖掘, 海洋生物活性物质已成为研

究热点, 其中海洋活性多肽是重点之一。目前, 许多海洋活性肽已从种类繁多的海洋生物中被提取、分离出来, 表现出多种药理活性^[2-3]。本文主要对海洋生物来源的具有 ACE 抑制、抗氧化、抗菌、抗肿瘤的多功能活性肽及其提取、分离方法进行综述。

基金项目: 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江)(湛江湾实验室)项目(ZJW-2019-07)资助

作者简介: 唐晓宁(1995-), 女, 硕士研究生。

* **通讯作者:** 戚怡, 女, 助理研究员, 博士。E-mail:173317453@qq.com

收稿日期: 2020-04-28

1 海洋来源多肽的活性

1.1 ACE 抑制活性

心血管疾病是威胁人们生命健康的头号杀手，而高血压是心血管疾病的危险因素之一。

到 2025 年，全球成人高血压人数预计可达到 15.6 亿，将对个人和社会造成沉重的负担^[4]。目前人们通过多种方法来治疗高血压，其中血管紧张素转化酶抑制剂（ACEI）便是一类具有很好临床效果的抗高血压药物^[5]。但是，此类药物存在诸如持续性干咳、味觉障碍、皮疹等许多不良反应。据报道，其不良反应可能与 ACE 上的 2 个同源催化域 C 域和 N 域有关。C 结构域主要参与血压控制，而 N 结构域则参与其他生理活动，对这 2 个同源催化域的非选择性抑制可能导致不良反应^[6]。因此，人们希望寻找疗效好且副作用小的天然 ACE 抑制剂代替合成药物。

目前，已从海洋生物中分离并鉴定出超过 125 种 ACE 抑制肽，如海洋植物来源的抑制肽的体外抑制浓度可低于 1 $\mu\text{mol/L}$ ^[7]。人们进一步将在体外表现出良好抑制效果的多肽作用于自发性高血压大鼠，同样也能表现出良好的降压效果。来源于红藻的 2 种抑制肽 FQIN [M(O)] CILR 和 TGAPCR 均可降低自发性高血压大鼠的收缩压和舒张压^[8]；来自 *Okamejei kenojei* 皮肤明胶的具有体外 ACE 抑制活性的水解物作用于体内后，可观察到 PPAR- γ 表达增加，肺中 eNOS 激活以及肺组织内皮素 -1 降低等血管有关活性物质的变化，猜测其可能是通过这些机制来抑制血管收缩，发挥降低自发性高血压大鼠收缩压的作用^[9]。

人们对 ACE 抑制肽的构效关系做了许多研究，目前普遍认为抑制肽的活性与多肽的相对分子质量大小、氨基酸组成及数量有关。ACE 抑制肽的结构及其 IC_{50} 见表 1。海洋来源的 ACE 抑制肽通常是短肽，大多数由 2~20 个氨基酸残基组成，相对分子质量小于 3 000，不仅易于吸收，而且还可能有利于抑制肽嵌入 ACE 的活性位点而发挥作用^[10]。另外，当 ACE 抑制肽的 C 端含有疏水性或芳香族氨基酸，如 Trp、Tyr、Pro、Phe、Arg^[7,11]，N 末端含有疏水氨基酸残基，如 Pro、

Phe、Trp、Met^[12-13]，这些氨基酸对 ACE 抑制活性具有积极影响，可能是由于其疏水性及其携带着的电荷有利于抑制肽穿过细胞膜而进入体内并与 ACE 产生相互吸引作用^[11,14]。通过分子对接的方法，发现抑制肽和 ACE 形成了多种相互作用力：氢键，锌离子配位键，亲水和疏水相互作用^[12,15-17]。抑制肽可以依靠这些相互作用力与 ACE 的活性或非活性位点结合，从而发挥 ACE 抑制作用。另外，有研究者通过 Lineweaver-Burk 方程发现抑制肽与 ACE 的结合存在竞争和非竞争性抑制模式。海洋来源的 ACE 抑制肽结构多样，这是其表现出不同抑制强度的原因，但是其具体的构效关系以及体内作用机制尚未清楚，有待进一步研究。

1.2 抗氧化活性

人体在正常的生理代谢过程中会产生少量的活性氧（ROS），其对细胞生物信号的传导具有重要的作用^[19-20]。但是，体内若集聚了过多的活性氧可严重危害细胞结构，引发多种疾病。抗氧化剂可以降低 ROS 对机体的损害，保护身体脏器，有预防或延缓疾病发生的作用，因此其在药妆和食品加工行业被广泛使用^[21-22]。市场上已有许多合成抗氧化剂，如丁基化羟基茴香醚等，但是有研究观察到合成抗氧化剂可产生不良作用^[23]。合成抗氧化剂的安全性已备受关注，为寻找安全性更好的抗氧化剂，人们将目光转移到了天然活性产物上，希望从中开发出安全廉价的抗氧化剂。

目前已从海洋生物中分离出多种具有良好抗氧化活性的多肽。研究中常用对 DPPH 和 HO 自由基的清除率评估抗氧化肽活性。抗氧化肽可以作为电子或氢自由基的贡献者发挥清除 DPPH 和 HO 自由基的作用。Zhao 等^[24-25]发现马鲛鱼（*Scomberomorus niphonius*）肌肉与皮肤来源的抗氧化肽可提供电子和氢自由基，抑制 DPPH· 链式反应，对超螺旋 pBR322DNA 具有很强的抗 HO· 依赖性断裂能力。Hirota 等^[26]发现来自深海真菌青霉菌 FKJ-0123 的次级代谢产物 N-肉桂酰基三肽 cipralphelin（1）表现出对 HO· 的有效清除活性。海洋双壳软体动物（*Tergillarca granosa*）来源的抗氧化肽 TGP3 和 TGP4 具有较强的供氢能力或自由基清除的作用，可防止 DPPH· 链式

反应的发生^[27]。氧化链的反应需要自由基的介导,而过渡金属则是活化自由基的关键,如铁离子可介导过氧化氢分解产生 HO 自由基,从而破坏 DNA 链。酸性和碱性氨基酸含有羧基、氨基或亚胺残基,如 Glu、Asp、Lys、His、Arg,可以作为金属螯合剂,与过渡金属发生络合反应,从而发挥抑制链式反应的作用。源于红色黄貂鱼 (*Dasyatis akajei*) 的抗氧化肽 RSHP-B、RSHP-C 和 RSHP-D 中的 Glu 残基和 RSHP-A 中的 Arg 残基以及太平洋鲱鱼 (*Clupea pallasii*) 的 2 种抗氧化肽中的 Glu 残基,它们的金属螯合作用可能是其具有良好抗氧化活性的原因^[28-29]。芳香族和疏水氨基酸残基有助于抗氧化肽接近自由基,向自

由基提供质子或电子以保持活性氧的稳定,对清除自由基和抑制脂质过氧化有积极作用^[30]。如黄鳍金枪鱼皮来源的抗氧化肽富含甘氨酸和脯氨酸,海洋双壳软体动物 (*Tergillarca granosa*) 分离的抗氧化肽 TGP3 含有的 Met、Leu、Phe, TGP4 含有的 Trp 和 Pro 残基^[27,31]。另外,这些抗氧化肽还具有分子质量小,氨基酸数量少的特点,有助于其吸收进入作用部位^[31-33]。抗氧化肽的结构见表 2。

因此,抗氧化肽以其优点,既可用于化妆品配方,又可作为抗氧化剂的先导分子应用于某些疾病的治疗,或是作为保健品和功能性食品成分,开发前景广阔。

表 1 来自海洋动植物多肽的氨基酸序列及 ACE 抑制活性

Table 1 Amino acid sequences and ACE inhibitory activities of peptides from marine animals and plants

氨基酸序列	相对分子质量	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	来源
Trp-Val	267.15	307.61	<i>Chlorella sorokiniana</i> ^[7]
Val-Trp	267.15	0.58	
Ile-Trp	281.16	0.50	
Leu-Trp	281.16	1.11	
Trp-Phe	351.47	0.90	南极磷虾 (<i>Euphausia superba</i>) ^[11]
Tyr-Arg-Lys-Glu-Arg	750.86	4.36	
Tyr-Arg-Lys	465.55	2.70	
Val-Asp	232.24	24.15	
Phe-Gln-Lys	421.50	4.17	
Phe-Ala-Ser	323.35	0.47	
Phe-Arg-Lys-Glu	578.67	12.05	
Trp-Pro-Met-Gly-Phe	636.75	789.00	<i>Cyclina sinensis</i> ^[12]
Trp-Ala-Ala	292.15	118.50	海洋鱼类
Ala-Trp-Trp	407.20	9.40	Cobia (<i>Rachycentron canadum</i>) 皮肤 ^[14]
Ile-Trp-Trp	485.24	0.51	
Trp-Leu	281.16	26.80	
Phe-Gly-Met-Pro-Leu-Asp-Arg	834.41	219.35	海洋藻类 (<i>Ulva intestinalis</i>) ^[16]
Met-Glu-Leu-Val-Leu-Arg	759.43	236.85	
Leu-Ser-Gly-Tyr-Gly-Pro	592.26	2.58	尼罗罗非鱼 (<i>Oreochromis niloticus</i>) 皮肤 ^[17]
FQIN[M(O)]CILR	1153.43	9.64	Gracilariopsis lemaneiformis (<i>Rhodophyta</i>) ^[8]
TGAPCR	603.69	23.94	
LGPLGHQ	720.00	4.22	Skate (<i>Okamejei kenojei</i>) 皮肤 ^[9]
MVGSAPGVL	829.00	3.09	
Ile-Asn-Asp	306.16	34.72	方格星虫 ^[18]
Val-Glu-Pro-Gly	328.19	20.55	Sandworm (<i>Sipunculus nudus</i>)
Leu-Ala-Asp-Glu-Phe	503.26	22.77	

表 2 来自海洋生物多肽的结构及抗氧化活性

Table 2 Structures and antioxidant activities of peptides from marine organisms

氨基酸序列 / 结构	相对分子质量	来源
Pro-Glu-Leu-Asp-Trp	658.72	鱼类 Spanish Mackerel (<i>Scomberomorus niphonius</i>)
Trp-Pro-Asp-His-Trp	739.81	肌肉 ^[24]
Phe-Gly-Tyr-Asp-Trp-Trp	872.93	
Tyr-Leu-His-Phe-Trp	764.90	
Gly-Pro-Tyr	335.31	鱼类 Spanish Mackerel (<i>Scomberomorus niphonius</i>)
Gly-Pro-Thr-Gly-Glu	459.47	皮肤 ^[25]
Pro-Phe-Gly-Pro-Asp	531.52	
Gly-Pro-Thr-Gly-Ala-Lys	586.65	
Pro-Tyr-Gly-Ala-Lys-Gly	591.69	
Gly-Ala-Thr-Gly-Pro-Gln-Gly	586.61	
Gly-Pro-Phe-Gly-Pro-Met	604.73	
Tyr-Gly-Pro-Met	466.50	
cipralphelin (1): N-cinnamoyl tripeptide		
	478.23	深海真菌 (<i>Penicillium brevicompactum</i>) FKJ-0123 ^[26]
EPLSD	559.55	海洋双壳软体动物 (<i>Tergillarca granosa</i>) ^[27]
WLDPDG	701.69	
MDLFTE	754.81	
WPPD	513.50	
EPVV	442.48	
CYIE	526.57	
Val-Pro-Arg	370.46	海洋鱼类 Red Stingray (<i>Dasyatis akajei</i>) 软骨 ^[28]
Ile-Glu-Pro-His	494.55	
Leu-Glu-Glu-Glu-Glu	647.64	
Ile-Glu-Glu-Glu-Gln	646.66	
Leu-His-Asp-Glu-Leu-Thr	726.35	太平洋鲱鱼 Pacific Herring (<i>Clupea pallasii</i>) ^[29]
Lys-Glu-Glu-Lys-Phe-Glu	808.40	
Trp-Met-Phe-Asp-Trp	783.90	海洋鱼类 Skipjack Tuna (<i>Katsuwonus pelamis</i>) 头部 ^[30]
Trp-Met-Gly-Pro-Tyr	652.79	
Glu-Met-Gly-Pro-Ala	503.58	
Ile-Leu-Thr-Lys-Ala-Ala-Ile-Glu-Gly-Lys	1042.00	<i>Dunaliella salina</i> ^[32]
Ile-Ile-Tyr-Phe-Gln-Gly-Lys	867.00	
Asn-Asp-Pro-Ser-Thr-Val-Lys	759.00	
Thr-Val-Arg-Pro-Pro-Gln-Arg	852.00	
Ser-Ser-Gln	266.12	海洋细菌 (<i>Kocuria marina</i>) CDMP 10 ^[33]
Phe-Glu	258.11	
Asp-Ile	210.11	
Leu-Glu	224.13	

1.3 抗菌活性

自从弗莱明发现了青霉素, 其他抗生素也逐渐被人们发现和使用。抗生素的发现和发

展, 给人类的抗感染事业作出了巨大贡献。但是, 随着抗生素的大量使用, 多重耐药病原体相继出现, 现有抗生素效果逐渐降低, 人们迫切需要寻找新

的抗菌剂,因此将目光投向了广阔的大海。

海洋环境特殊,物种数量众多,为了能在环境险恶、竞争激烈的海洋中生存,海洋生物往往会进化出一套完善的免疫防御体系,如在受到感染时,海洋生物会启动免疫机制,分泌一些抗菌肽(AMPs),使自己虽身处无数菌类包围的环境但仍可保护自身^[34-35]。研究发现,抗菌肽常通过破坏病原菌体的完整性来对抗病原菌。如来源于紫菜(*Porphyra yezoensis*)以及被细菌感染的小龙虾(*Procambarus clarkii*)的新型抗菌肽,均是通过破坏细菌的细胞壁和细胞膜使细菌内容物外流而杀死细菌^[36-37]。根据章鱼(*Octopus minor*)防御蛋白而合成的抗菌肽 Octominin 在损伤细胞壁和细胞膜的同时还可通过激活胞内氧化应激反应而发挥抗真菌作用^[38]。另外,某些菌类具有独特的自我保护机制,如通过增强细胞间通讯和产生生物膜等方式来阻遏抗菌物质对它们的破坏,细菌耐药性也由此产生。然而海洋抗菌肽却可以破坏这些机制。来自海洋软体动物(*Olivancillaria hiatula*)的肽混合物、虾类(*Peaneaus semisulcatus*)中的抗菌肽 Crustin 以及海洋细菌(*Virgibacillus* sp.) AK90 菌株来源的抗菌肽 Virgicin 均表现出直接抗菌和抑制生物膜形成的作用^[39-41]。这些抗菌肽消除了菌体的保护层,有助于抗菌物质对菌体的直接破坏,增强了抗菌效果。

除了对细菌的直接作用,抗菌肽作为先天免疫反应的组成部分,是机体抵抗病原体的第一道防线^[34],它在杀伤细菌的同时,又能对自身进行免疫调节,还能够促进机体感染后的修复^[42]。来源于斑纹石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的抗菌肽 Epinecidin-1 既可杀灭致病菌又可调控炎症反应,发挥了抗菌和免疫调节作用,减少机体因免疫过度造成的损伤,而且无严重毒副作用^[43-44]。

抗菌肽具有的显著抗菌效果的性质可能与其氨基酸组成、结构和序列相关。海洋来源的抗菌肽结构多样,如来源于海洋菌株(*Streptomyces* sp.) PNM-161a 培养液中的 2 种抗菌肽是环状结构^[45]。抗菌肽通常较短,在氨基酸组成中,疏水残基占比较大,如 Leu、Ile、Val^[36]。人们认为肽的疏水性可以在一定程度上增加抗微生物活性^[46]。另外,肽链结构中富含半胱氨酸似乎也是抗菌肽的特征之一,如海鞘(*Syoicum turgens*)的 2 种新

型的抗菌肽以及海洋贻贝(*Mytilus coruscus*)产生的许多抗菌肽都富含半胱氨酸^[35,47-48]。这些抗菌肽除了具有丰富的半胱氨酸区域还具有特殊的结构域,如 mytimycin 的 EF 结构域(钙离子结合基序)、mytichitin-CBD 的几丁质结合域以及 Crustin 的乳清酸性结构域(WAP)^[39,49]。这些结构域可能可以与菌体特定的位点结合或者激活机体的免疫调控,从而影响菌体的结构及功能,起到杀灭病原菌和防御病原微生物入侵的作用。另外,有研究发现,myticusin-1 和 myusticin-beta 的 N 端含有 ATCUN 基序,该基序可能与抗菌活性范围有关,人们认为含有此基序的肽具有抗微生物活性^[48,50]。尽管研究人员对抗菌肽的构效关系做了许多研究,但是其中的具体作用机制仍未清楚,还需进一步研究。抗菌肽的具体结构及抗菌活性见表 3。

从海洋生物中分离出来的抗菌肽,作为 1 种天然产物,结构新颖独特,副作用小,除了抗菌活性还有免疫调节作用,应用广泛。因此,海洋来源抗菌肽具有发展成为新型抗生素以及抗感染免疫调节药物的潜力。

1.4 抗肿瘤活性

目前,对肿瘤的治疗是亟需解决的问题,寻找具有抗肿瘤活性的物质依旧是研究重点。人们从众多海洋生物中发现了许多具有良好抗肿瘤效果的肽类物质,它们可以通过多种机制来抑制或杀灭肿瘤细胞,具有很好的抗肿瘤应用前景。从海洋链霉菌(*Streptomyces* sp.)中发现的新型环状肽 Ohmyungsamycin A (1) 可通过调节细胞周期和诱导细胞凋亡来抑制 HCT116 人结肠直肠癌细胞的增殖和肿瘤生长^[51]。来自罗非鱼的抗菌肽 TP4 可穿透细胞并靶向微管网络从而导致癌细胞死亡^[52]。来自海洋古代后生动物(*Hydra*)的抗菌肽 Arminin 1a-C 可在 1 种多药耐药性白血病细胞的细胞膜上形成孔洞而干扰该细胞系的增殖,有效抑制白血病细胞系的生存能力^[53]。来自海绵 *Daedalopelta* sp. 的新型环二肽 daedophamide (1) 对 4 种人类肿瘤细胞系显示出强大的细胞毒活性,而海绵(*Clathria basilana*)的新型环状肽被发现对淋巴瘤、白血病细胞系以及人卵巢癌细胞系的体外细胞毒性的作用机制与诱导肿瘤细胞凋亡、阻断自噬而削弱癌细胞的生存信号有关^[54-55]。

表 3 来自海洋生物抗菌活性肽的结构和作用机制
Table 3 Structures and mechanisms of antibacterial peptides from marine organisms

名称	结构或相对分子质量	作用菌株及机理	来源
TPDSEAL	Thr-Pro-Asp-Ser-Glu-Ala-Leu	破坏金黄色葡萄球菌细胞壁和细胞膜, 并增强细胞的通透性; 减少细菌之间的黏附	紫菜 (<i>Porphyra yezoensis</i>) ^[36]
PcnAMP 长肽和短肽	短肽 N-terminal: RPQFFVGDVENVGEGVGDFFE GVGDFFSNVFSGSSR	在体内特定胰蛋白酶加工为短肽; 短肽具有 2 个 α 螺旋的整体螺旋结构, 两亲性强, 可嵌入膜孔, 导致细菌细胞壁塌陷和细菌细胞膜通透化	小龙虾 (<i>Procambarus clarkii</i>) ^[37]
Octominin	GWLIRGAIHAGKAIHGLIHRRRH 2 625.2	具有正电荷、高疏水残基比率以及 α 螺旋二级结构; 可诱导真菌白色念珠菌细胞壁损伤, 引起细胞膜完整性丧失和增加氧化应激	章鱼 (<i>Octopus minor</i>) ^[38]
Peptide Mix	—	干扰铜绿假单胞菌毒性因子的产生, 抑制细胞间通讯和群体感应以及生物膜形成	<i>Olivancillaria hiatula</i> ^[41]
Crustin	14 000	具有 α 螺旋二级结构以及 WAP 结构域; 对生物膜有抑制和根除的作用; 对苏云金芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌有作用	虾类 green tiger shrimp (<i>Penaeus semisulcatus</i>) 的血淋巴 ^[39]
Myusticin-beta	由信号肽的 24 个氨基酸和成熟肽的 104 个氨基酸组成。N 基末端残基序列 SDHQMAQSACMGLQDAAYASAI 11 182	具有可能与抗微生物活性有关的 ATCUN 基序, 对应的氨基酸序列为丝氨酸 - 天冬氨酸 - 组氨酸 (SDH); 具有广谱抗菌性: 对革兰氏阳性菌, 芽孢杆菌, 枯草芽孢杆菌, 产气荚膜梭菌, 金黄色葡萄球菌, 链球菌, 变形链球菌; 革兰氏阴性菌大肠杆菌, 铜绿假单胞菌, 溶藻弧菌, 肺炎克雷伯菌均有作用	硬壳贻贝 (<i>Mytilus coruscus</i>) 的外壳 ^[50]
Virgicin	2 417	N 端含有 8 个疏水氨基酸残基, 可插入膜孔, 通透性增强, 细胞膜崩解; 选择性抑制粪肠球菌的生物膜形成	海洋细菌 (<i>Virgibacillus</i> sp.) strain AK90 ^[40]
Epinecidin-1	H-GFIFHIIKGLFHAGKMIHGLV-OH	杀菌和减弱耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的毒性; 与血清白蛋白结合; 降低血清 C 反应蛋白 (CRP), 促炎细胞因子 IL6, IL1 β 和 TNF α 的水平; 通过抑制 Toll 样受体 (TLR) 2 内在化和下游信号传导 (活性氧, Akt, p38 和核因子 κ B) 来减轻革兰氏阳性细菌脂磷壁酸诱导巨噬细胞中促炎因子的产生	斑纹石斑鱼 Orange-spotted grouper (<i>Epinephelus coioides</i>) ^[43-44]
Proviptides A Proviptides B	环 - (L-Pro-L-Leu-D-Pro-L-Phe) 1; 环 - (-Pro-Ile-Pro-Phe) 2	抗植物病原体: 伯克霍尔德氏菌, 剑兰伯克霍尔德氏菌; 抑制山药病原体 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> 分生孢子的萌发	海洋菌株 (<i>Streptomyces</i> sp.) PNM-161a ^[45]
Turgencin A Turgencin B	Turgencin A 部分 N 端: GPKTKAACKMACKLATCG KKPGGWKCKLCELGCD; Turgencin B 的 N 端: GIKEMLCNMACAQTVCKK SGGPLCDTCQAACKALG	两种肽均影响枯草芽孢杆菌的细菌膜完整性; 富含半胱氨酸, 有异二硫键以及正电荷, 亲脂性强, 可能与细菌包膜的亲脂性部分结合发挥抗菌作用	海鞘类 (<i>Synoicum turgens</i>) ^[47]
Mytichitin-CBD	总长 55 个氨基酸残基, 6 202; N 基末端序列: TVKCGMNGKMPCKHGAFYTD	具有几丁质结合域, 可裂解几丁质以破坏入侵的几丁质病原体的结构完整性; 可以在天然免疫防御系统中起协同作用; 广谱抗菌性: 革兰氏阴性菌株: 大肠杆菌, 铜绿假单胞菌和哈氏弧菌; 革兰氏阳性菌株: 枯草芽孢杆菌和变形链球菌; 真菌: 白色念珠菌	海洋贻贝 (<i>Mytilus coruscus</i>) 的足部组织 ^[49]
Myticusin-1	104 个氨基酸, 包括 10 个半胱氨酸残基, 形成 1 个不寻常的半胱氨酸模式	参与了宿主对细菌感染的免疫反应, 可能有助于清除入侵细菌; 引起黄褐葡萄球菌和大肠杆菌质壁分离和细胞壁效应; 低浓度下, 强烈抑制革兰氏阳性菌株, 对革兰氏阴性菌株作用较弱, 高浓度下对白色念珠菌有效	海洋贻贝 (<i>Mytilus coruscus</i>) 血淋巴 ^[48]
Fi-His 1-21	SRSSRAGLQFPVGRHRLLRK 2 428	具有阳离子 α -螺旋结构、两亲性, 易结合于细胞表面, 增加微生物膜通透性; 广谱抗菌性	印度白虾 White shrimp (<i>Fenneropenaeus indicus</i>) ^[46]

注: 表中“—”表示参考文献中未明确提及, 下表同。

1.5 多功能肽

研究发现, 同种海洋来源的活性肽可同时表现出多种活性, 且作用效果明显, 见表 4。

这些同时具有抗氧化、ACE 抑制、抗菌和抗肿瘤作用的海洋多功能活性肽, 毒副作用小, 对多种疾病可能都有预防的作用, 开发应用前景广阔。

表 4 海洋多功能肽的结构及活性

Table 4 The structure and activity of marine multifunctional peptides

多功能肽	氨基酸序列	活性	来源
LWHTH	Leu-Trp-His-Thr-His	抗氧化、ACE 抑制	海洋动物 (<i>Styela clava</i>) ^[56]
	VKP	ACE 抑制、提高大鼠脑微血管内皮细胞 (RCMEC) 中抗氧化酶的活性	海蜇属 (<i>Rhopilema esculentum</i>) ^[57]
	VKCFR	ACE 抑制、减少人内皮细胞中一氧化氮和活性氧的产生	海洋螺旋藻属 (<i>Spirulina</i> sp.) ^[58]
YSQLENEFDR	Thr-Met-Glu-Pro-Gly-Lys-Pro Tyr-Ser-Gln-Leu-Glu-Asn -Glu-Phe-Asp-Arg	抗氧化、ACE 抑制和抗糖尿病活性	海洋蜗牛 (<i>Neptunea arthritica cumingii</i>) ^[59]
YIAEDAER	Tyr-Ile-Ala-Glu-Asp-Ala-Glu-Arg		
Epinecidin-1	H-GFIFHIIKGLFHAGKMIHGLV-OH	抗菌, 抗病毒, 抗原生动物, 抗癌, 免疫调节和促进伤口愈合	斑纹石斑鱼 (<i>Epinephelus coioides</i>) ^[60-61]
turgencin A turgencin B	—	抗菌、抑制黑素瘤癌细胞系 A2058 和人成纤维细胞系 MRC-5 生长	海鞘 (<i>Syoicum turgens</i>) ^[47]
Fi-His 1-21	SRSSRAGLQFPVGRHRLLRK	抗菌、抑制肺癌 NCI-H460 和咽癌 HEp-2 细胞系生长	印度白虾 White shrimp (<i>Fenneropenaeus indicus</i>) ^[46]

2 多肽的提取方法

2.1 物理辅助提取

物理方法如增加体系压强、超声等技术, 可加快生物组织多肽的释放并使其快速进入溶剂。此类技术操作方便, 在适当条件下, 既不破坏多肽结构, 又能够显著缩短提取时间、提高提取效率, 具有辅助提取生物活性肽的潜力, 可应用于食品和医药领域^[62-63]。

2.2 酶水解

酶水解提取多肽的方法具有提取率高、反应条件温和、容易操作等优点, 是实验室和生产中获取多肽的常用方法。使用 2 种酶 Protamex 和 Protease N 水解海鱼军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 皮肤后可获得 4 种具有 ACE 抑制活性的肽^[14]。在酶解过程中, 蛋白质种类、酶种类以及酶解过程中体系 pH、温度、酶解时间和酶用量等因素都会影响酶解效果以及所获得产物的活性, 如比较酶 TRGH-A26 和 TRGH-Neutrased 分别水解 *Thornback ray* 皮肤的酶解产物的抗氧化和 ACE 抑

制活性, 发现 TRGH-A26 酶解产物的 DPPH 自由基清除效果更优, 而 TRGH-Neutrased 酶解产物的 ACE 抑制活性更好^[64]。

3 多肽的分离纯化方法

3.1 膜分离技术

膜分离技术是通过不同孔径的半透膜将不同粒径的物质选择性分离的技术。根据所使用的不同孔径半透膜的分离技术可分为微滤、超滤、纳滤等膜分离技术。由于膜分离技术具有操作简单、物质无相变和化学变化以及不影响多肽的结构和活性等优点, 在分离活性多肽中有着极为广阔的应用前景^[65]。

3.2 色谱技术

色谱分离技术是用于分离复杂混合物的有效方法, 普遍用于海洋生物多肽的分离和纯化。在多肽的分离纯化过程中, 色谱条件会影响目标活性肽的分离, 因此, 寻找合适的色谱条件尤为重要^[11]。常用于多肽分离纯化的色谱技术有薄层色

谱、凝胶色谱、离子交换色谱、亲和层析等。在多肽的分离纯化过程中,往往是多种色谱技术配合使用,从而达到高效获取纯化肽的效果^[66]。

3.3 固相萃取技术

固相萃取技术(SPE)是具有萃取、分离、浓缩作用的方法,常用于样品前处理,主要用于各种食品、生物以及环境样品中目标化合物的收集。目前使用的无筛板SPE柱是一体型的新型SPE柱,具有填料稳定、无筛板特异性吸附以及分离效能和载样量高等优点,可应用于多肽的分离和浓缩。Wang等^[67]通过固相萃取法提取出黄鲫(*Setipinna taty*)水解物中对大肠杆菌(*E.coli*)有强抗菌活性的组分F2。

4 结语

海洋来源的活性肽种类繁多,功能多样,极大地丰富了活性肽资源库。这些活性肽多来源于食物,毒副作用小,在胃肠道中具有一定的稳定性,易吸收,且具有较高的营养价值。另外,某些活性肽来源于海洋食物的副产品,如鱼类的骨头、内脏、皮肤等,既充分利用了天然资源又减少了环境负担。但是,目前的分离纯化技术繁琐,需要耗费大量的样品及试剂,而且分离条件难以摸索,活性肽分离不全,故而导致活性肽的损失。另外,许多活性肽的构效关系尚不清楚,因此建立一套完整的活性肽高通量筛选体系非常重要。相信随着分离纯化技术的不断发展,越来越多的具有显著功能的海洋活性肽会被人们发现,其结构也会被确定,进而可以人工制备,随着其产业化发展的推进,这些活性肽将具有广阔的食品和药品开发前景。

参考文献

[1] 崔晓菁. 中国海洋资源开发现状与海洋综合管理策略[J]. 管理观察, 2019(17): 63-64.

[2] 徐艳, 谢一兴, 邹杰, 等. 方格星虫提取物的抗氧化活性及成分分析[J]. 食品工业科技, 2017, 38(21): 7-11.

[3] PAPASSARA S, PIROONPORN S, TANATORN S, et al. Anti-inflammatory action of two novel peptides derived from peanut worms (*Sipunculus nudus*) in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages[J]. Food Funct, 2020, 11(1): 552-560.

[4] RALSTON J, REDDY K S, FUSTER V, et al. Cardiovascular

diseases on the global agenda: the united nations high level meeting, sustainable development goals, and the way forward[J]. Glob Heart, 2016, 11(4): 375-379.

[5] GHAZI L, DRAWZ P. Advances in understanding the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in blood pressure control and recent pivotal trials of RAAS blockade in heart failure and diabetic nephropathy[J]. DOI: //f1000research.com/articles/6-297/v1.

[6] HAHN J, NORDMANN-KLEINER M, BONNER C, et al. The Influence of ACE inhibition on C1-inhibitor: A biomarker for ACE inhibitor-induced angioedema[J]. Biomed Hub, 2019, 4(2): 1-9.

[7] LIN Y H, CHEN G W, YEH C H, et al. Purification and identification of angiotensin i-converting enzyme inhibitory peptides and the antihypertensive effect of chlorella sorokiniana protein hydrolysates[J]. Nutrients, 2018, 10(10): 1397.

[8] DENG Z, LIU Y, WANG J, et al. Antihypertensive effects of two novel angiotensin i-converting enzyme (ace) inhibitory peptides from gracilariopsis lemaneiformis (rhodophyta) in spontaneously hypertensive rats (SHRs)[J]. Mar Drugs, 2018, 16(9): 299.

[9] NGO D H, KANG K H, RYU B, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from antihypertensive skate (*Okamejei kenoeji*) skin gelatin hydrolysate in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chem, 2015, 174: 37-43.

[10] MANIKKAM V, VASILJEVIC T, DONKOR O N, et al. A review of potential marine-derived hypotensive and anti-obesity peptides[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016, 56(1): 92-112.

[11] ZHAO Y Q, ZHANG L, TAO J, et al. Eight antihypertensive peptides from the protein hydrolysate of Antarctic krill (*Euphausia superba*): Isolation, identification, and activity evaluation on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs)[J]. Food Res Int, 2019, 121: 197-204.

[12] YU F M, ZHANG Z W, LUO L W, et al. Identification and molecular docking study of a novel angiotensin-i converting enzyme inhibitory peptide derived from enzymatic hydrolysates of cyclina sinensis[J]. Mar Drugs, 2018, 16(11): 411.

[13] WU Q Y, DU J J, JIA J Q, et al. Production of ACE inhibitory peptides from sweet sorghum grain protein using alcalase: Hydrolysis kinetic, purification and molecular docking study[J]. Food Chem, 2016, 199: 140-149.

[14] LIN Y H, CHEN C A, Tsai J S, et al. Preparation and identification of novel antihypertensive peptides from the *in vitro* gastrointestinal digestion of marine cobia skin hydrolysates[J]. Nutrients, 2019, 11(6):1351.

[15] CHAMATA Y, WATSON K A, JAUREGI P. Whey-Derived peptides interactions with ACE by molecular docking as a potential predictive tool of natural ACE inhibitors[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 864.

[16] SUN S Q, XU X T, SUN X, et al. Preparation and identification of ACE inhibitory peptides from the marine macroalga *Ulva intestinalis*[J]. Mar Drugs, 2019, 17(3): 179.

[17] CHEN J L, RYU B M, ZHANG Y Y, et al. Comparison of an

- angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) with captopril: inhibition kinetics, *in vivo* effect, simulated gastrointestinal digestion and a molecular docking study[J]. *J Sci Food Agric*, 2020, 100(1): 315-324.
- [18] SUN X P, WANG M, LIU B M, et al. Purification and characterization of angiotensin i converting enzyme inhibition peptides from sandworm sipunculus nudus[J]. *J Ocean Univ Chin*, 2017, 16(5): 911-915.
- [19] LIU Z W, REN Z P, ZHANG J, et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 477.
- [20] LI R, JIA Z, TRUSH M A. Defining ROS in biology and medicine[J]. *React Oxyg Species (Apex)*, 2016, 1(1): 9-21.
- [21] JIAO Y, CAO Y Z, LU X Y, et al. Xanthohumol protects neuron from cerebral ischemia injury in experimental stroke[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(4): 2417-2425.
- [22] COUTO J, FIGUEIRINHA A, BATISTA M T, et al. *Fragaria vesca* L. extract: a promising cosmetic ingredient with antioxidant properties[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(2): 154.
- [23] YANG X X, SONG W T, LIU N, et al. Synthetic phenolic antioxidants cause perturbation in steroidogenesis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Environ Sci Technol*, 2018, 52(2): 850-858.
- [24] ZHAO G X, YANG X R, WANG Y M, et al. Antioxidant peptides from the protein hydrolysate of spanish mackerel (*scomberomorus niphonius*) muscle by *in vitro* gastrointestinal digestion and their *in vitro* activities[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(9): 531.
- [25] ZHANG J B, ZHAO Y Q, WANG Y M, et al. Eight collagen peptides from hydrolysate fraction of spanish mackerel skins: isolation, identification, and *in vitro* antioxidant activity evaluation[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(4): 224.
- [26] HIROTAKA M, TAKAYUKI M, MAYUKA H, et al. Cipralphelin, a new anti-oxidative N-cinnamoyl tripeptide produced by the deep sea-derived fungal strain *Penicillium brevicompactum* FKJ-0123[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2019, 72(10): 775-778.
- [27] YANG X R, QIU Y T, ZHAO Y Q, et al. Purification and characterization of antioxidant peptides derived from protein hydrolysate of the marine bivalve mollusk *tergillarca granosa*[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 251.
- [28] PAN X Y, WANG Y M, LI L, et al. Four antioxidant peptides from protein hydrolysate of red stingray (*dasyatis akajei*) cartilages: isolation, identification, and *in vitro* activity evaluation[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 263.
- [29] WANG X Q, YU H H, XING R, et al. Preparation and identification of antioxidative peptides from pacific herring (*clupea pallasii*) protein[J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1946.
- [30] ZHANG L, ZHAO G X, ZHAO Y Q, et al. Identification and active evaluation of antioxidant peptides from protein hydrolysates of skipjack tuna (*katsuwonus pelamis*) head[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(8): 318.
- [31] NURILMALA M, HIZBULLAH H H, KARNIA E, et al. Characterization and antioxidant activity of collagen, gelatin and the derived peptides from yellowfin tuna (*thunnus albacares*) skin[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(2): 98.
- [32] XIA E Q, ZHAI L, HUANG Z G, et al. Optimization and identification of antioxidant peptide from underutilized dunaliella salina protein: extraction, *in vitro* gastrointestinal digestion, and fractionation[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 1-9.
- [33] TRIPATHI V C, HORAM S, SINGH A, et al. The discovery of antioxidants in marine microorganisms and their protective effects on the hepatic cells from chemical-induced oxidative stress[J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(2/3):150-161.
- [34] KANG H K, LEE H H, SEO C H, et al. Antimicrobial and immunomodulatory properties and applications of marine-derived proteins and peptides[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(6): 350.
- [35] CONTRERAS G, SHIRDEL I, BRAUN M S, et al. Defensins: Transcriptional regulation and function beyond antimicrobial activity[J]. *Dev Comp Immunol*, 2020, 104: 103556.
- [36] JIAO K, GAO J, ZHOU T, et al. Isolation and purification of a novel antimicrobial peptide from *Porphyra yezeensis*[J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(7): e12864.
- [37] ZHAO B R, ZHENG Y, GAO J, et al. Maturation of an antimicrobial peptide inhibits aeromonas hydrophila infection in crayfish[J]. *J Immunol*, 2020, 204(3): 487-497.
- [38] NIKAPITIYA C, DANANJAYA S, CHANDRARATHNA H, et al. Octominin: a novel synthetic anticandidal peptide derived from defense protein of octopus minor[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(1): 56.
- [39] SIVAKAMAVALLI J, ARTHUR J R, PARK K, et al. Purification of WAP domain-containing antimicrobial peptides from green tiger shrimp *Peaneaus semisulcatus*[J]. *Microb Pathog*, 2020, 140: 103920.
- [40] GUPTA V, SINGH S S, SIDHU C, et al. Virgicin, a novel lanthipeptide from *Virgibacillus* sp. strain AK90 exhibits inhibitory activity against Gram-positive bacteria[J]. *World J Mic Bio*, 2019, 35(9): 133.
- [41] GASU E N, AHOR H S, BORQUAYE L S. Peptide mix from olivancillaria hiatula interferes with cell-to-cell communication in pseudomonas aeruginosa[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 5313918.
- [42] BO J, YANG Y, ZHENG R H, et al. Antimicrobial activity and mechanisms of multiple antimicrobial peptides isolated from rockfish *Sebastiscus marmoratus*[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2019, 93: 1007-1017.
- [43] HUANG H N, PAN C Y, SU B C, et al. Epinecidin-1 protects against methicillin resistant staphylococcus aureus infection and sepsis in pyemia pigs[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(12): 693.
- [44] SU B C, CHEN J Y. Epinecidin-1: An orange-spotted grouper antimicrobial peptide that modulates Staphylococcus aureus lipoteichoic acid-induced inflammation in macrophage cells[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2020, 99: 362-367.
- [45] BETANCUR L A, FORERO A M, ROMERO-OTERO A, et al. Cyclic tetrapeptides from the marine strain *Streptomyces* sp. PNM-161a with activity against rice and yam phytopathogens[J]. *J*

- Antibiot (Tokyo), 2019, 72(10): 744-751.
- [46] SRUTHY K S, NAIR A, ANTONY S P, et al. A histone H2A derived antimicrobial peptide, Fi-Histin from the Indian white shrimp, *fenneropenaeus indicus*: molecular and functional characterization[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2019, 92: 667-679.
- [47] HANSEN I, ISAKSSON J, POTH A G, et al. Isolation and characterization of antimicrobial peptides with unusual disulfide connectivity from the colonial ascidian *synoicum turgens*[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(1): 51.
- [48] LIAO Z, WANG X C, LIU H H, et al. Molecular characterization of a novel antimicrobial peptide from *Mytilus coruscus*[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2013, 34(2): 610-616.
- [49] OH R, LEE M J, KIM Y O, et al. Purification and characterization of an antimicrobial peptide mytichitin-chitin binding domain from the hard-shelled mussel, *Mytilus coruscus*[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2018, 83: 425-435.
- [50] OH R, LEE M J, KIM Y O, et al. Myticusin-beta, antimicrobial peptide from the marine bivalve, *Mytilus coruscus*[J]. *Fish Shellfish Imm*, 2020, 99: 342-352.
- [51] BYUN W S, KIM S, SHIN Y H, et al. Antitumor activity of ohmyungsamycin a through the regulation of the Skp2-p27 axis and MCM4 in human colorectal cancer cells[J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(1): 118-126.
- [52] TING C H, LIU Y C, LYU P C, et al. Nile tilapia derived antimicrobial peptide TP4 exerts antineoplastic activity through microtubule disruption[J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(12): 462.
- [53] LIANG X L, WANG R R, DOU W S, et al. Arminin 1a-C, a novel antimicrobial peptide from ancient metazoan Hydra, shows potent antileukemia activity against drug-sensitive and drug-resistant leukemia cells[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3691-3703.
- [54] URDA C, FERNANDEZ R, RODRIGUEZ J, et al. Daedophamide, a cytotoxic cyclodepsipeptide from a *Daedalopelta* sp. sponge collected in indonesia[J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(11): 3054-3059.
- [55] MOKHLESI A, STUHLREIER F, WEX K W, et al. Cyclic cystine-bridged peptides from the marine sponge clathria basilana induce apoptosis in tumor cells and depolarize the bacterial cytoplasmic membrane[J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(11): 2941-2952.
- [56] KANG N, KO S C, KIM H S, et al. Structural evidence for antihypertensive effect of an antioxidant peptide purified from the edible marine animal *styela clava*[J]. *J Med Food*, 2020, 23(2): 132-138.
- [57] LI J, LI Q, LI J Y, et al. Peptides derived from *Rhopilema esculentum* hydrolysate exhibit angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory and antioxidant abilities[J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 13587-13602.
- [58] HEO S Y, KO S C, KIM C S, et al. A heptameric peptide purified from *Spirulina* sp. gastrointestinal hydrolysate inhibits angiotensin I-converting enzyme- and angiotensin II-induced vascular dysfunction in human endothelial cells[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(5): 1072-1082.
- [59] ZHANG S S, HAN L W, SHI Y P, et al. Two novel multi-functional peptides from meat and visceral mass of marine snail *neptunea arthritica cumingii* and their activities *in vitro* and *in vivo*[J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(12): 473.
- [60] NESHANI A, ZARE H, AKBARI E M, et al. Epinecidin-1, a highly potent marine antimicrobial peptide with anticancer and immunomodulatory activities[J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2019, 20(1): 33.
- [61] SU B C, WU T H, HSU C H, et al. Distribution of positively charged amino acid residues in antimicrobial peptide epinecidin-1 is crucial for *in vitro* glioblastoma cytotoxicity and its underlying mechanisms[J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 315: 108904.
- [62] 周燕芳, 杨启真. 超声波辅助酶解鲭鱼制备抗氧化肽的研究[J]. *天津农业科学*, 2018, 24(3): 20-24.
- [63] GARCIA-MORA P, PENAS E, FRIAS J, et al. High-pressure improves enzymatic proteolysis and the release of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities from lentil proteins[J]. *Food Chem*, 2015, 171: 224-232.
- [64] LASSOUED I, MORA L, BARKIA A, et al. Bioactive peptides identified in thornback ray skin's gelatin hydrolysates by proteases from *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. *J Proteomics*, 2015, 128: 8-17.
- [65] CASTRO-MUNOZ R, CONIDI C, CASSANO A. Membrane-based technologies for meeting the recovery of biologically active compounds from foods and their by-products[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59(18): 2927-2948.
- [66] WANG X Q, YU H H, XING R, et al. Optimization of antioxidative peptides from mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) viscera[J]. *Peer J*, 2018, 6: e4373.
- [67] WANG J x, WEI R b, SONG R. Novel antibacterial peptides isolated from the maillard reaction products of half-fin anchovy (*setipinna taty*) hydrolysates/glucose and their mode of action in *escherichia coli*[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(1): 47.