

贻贝活性肽类研究与展望

蒋鑫怡¹, 杨大鹏¹, 韦源青¹, 王欣之¹, 林彬燕¹, 刘睿^{1,2}, 吴皓^{1,2}

(1. 南京中医药大学/江苏省海洋药用生物资源研究与开发重点实验室, 江苏 南京 210023; 2. 南京中医药大学/江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023)



吴 皓

二级教授, 博士生导师, 获江苏省、南京市有突出贡献的中青年专家、江苏省海洋科技标兵、江苏省优秀科技工作者、江苏省海洋中青年科技标兵、江苏省教育科技系统五一巾帼标兵等荣誉称号。现任国家中医药管理局“中药炮制重点学科”带头人, 江苏省海洋药用生物资源综合利用重点实验室主任、江苏省海洋药物研究开发中心主任; 江苏省中药炮制重点实验室副主任、国家级中药炮制技术传承基地副主任。为江苏省“青蓝工程跨世纪学术带头人”, 国家教育部优秀骨干教师、全国中医药博士生优秀论文指导教师。主持国家自然科学基金重点项目及国家自然科学基金面上项目6项, 主持国家攻关、支撑计划, 国家863计划、国家公益性行业专项等国家级重点项目9项。获中国海洋学会科学技术特等奖、国家海洋科技进步二等奖、江苏省科技进步奖二等奖、中华中医药学会科技进步二等奖及江苏省中医药科学技术奖一等奖, 江苏省教育教学成果二等奖等多项教学、科研奖励。

摘要: 贻贝是我国重要经济贝类, 也是一味海洋中药, 具补肝益肾, 滋阴息风, 养血调经, 益精填髓, 软坚散结, 止血止泻之功效。以贻贝富含的蛋白质、肽类成分的分离纯化、效应机制、新技术新方法应用等研究为切入点, 梳理了近年来发现的贻贝活性肽类成分, 基于现代药理研究与传统功效关联来发现贻贝活性肽类物质。从贻贝资源调查与品质评价, 基于传统中医药理论指导及资源循环利用理念开发贻贝资源、突破贻贝资源综合利用的关键技术、产学研用合作促进贻贝资源综合利用产业化等方面对贻贝资源开发应用提出展望, 为贻贝资源综合利用与产品开发提供思路与参考, 促进贻贝资源的高质量发展。

关键词: 海洋中药; 贻贝; 活性肽; 传统功效; 功效物质; 资源综合利用

中图分类号: R282.74

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2022)10-0870-10

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2022.0870

引文格式: 蒋鑫怡, 杨大鹏, 韦源青, 等. 贻贝活性肽类研究与展望[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(10): 870-879.

Research and Prospect of Mussel Active Peptides

JIANG Xin-yi¹, YANG Da-peng¹, WEI Yuan-qing¹, WANG Xin-zhi¹, LIN Bin-yan¹, LIU Rui^{1,2}, WU Hao^{1,2}

(1. Jiangsu Key Laboratory of Research and Development in Marine Bio-Resource Pharmaceuticals, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: Marine traditional Chinese medicine refers to the drugs derived from the ocean for the prevention, treatment and diagnosis of diseases under the guidance of traditional Chinese medicine theory, and is an essential part of traditional Chinese medicine. Mussels are an important economic shellfish in our country, and they are also a kind of marine traditional Chinese medicine, with the effect of nourishing the liver and kidney, nourishing Yin and wind, nourishing blood and regulating menstruation, benefiting essence and filling marrow, softening hardness and dispersing knots, stopping bleeding and diarrhea. In this paper, based on the research on the separation and purification of protein and peptide components rich in mussels, the effect mechanism, the application of new technologies

收稿日期: 2022-08-15

基金项目: 江苏省自然科学基金青年项目(BK20210695); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人; 江苏省农业科技自主创新项目[CX(22)3173]; 江苏省高等学校自然科学研究重大项目(21KJA360007); 南京中医药大学中药学一流学科开放课题(2020YLXK009)

第一作者: 蒋鑫怡, 女, 硕士研究生, E-mail: 20210624@njucm.edu.cn

通信作者: 吴皓, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事海洋药物研究与开发, E-mail: whao5795@njucm.edu.cn;

刘睿, 男, 教授, 主要从事动物药资源化学及海洋药用生物资源开发利用研究, E-mail: liurui@njucm.edu.cn

and methods, etc., the active peptide components of mussels discovered in recent years are sorted out, and it is proposed to combine modern pharmacological research with traditional efficacy correlation to discover mussel active peptides. The research will provide an outlook on the development and application of mussel resources in terms of mussel resource investigation and quality evaluation, development of mussel resources based on traditional Chinese medicine theory and resource recycling concept, breakthrough in key technologies for comprehensive utilization of mussel resources, and cooperation between industry, academia, research and application to promote the industrialization of comprehensive utilization of mussel resources, providing ideas and references for comprehensive utilization of mussel resources and product development, and promoting high-quality, green and sustainable development of mussel resources.

KEYWORDS: marine traditional Chinese medicine; mussels; active peptides; traditional efficacy; functional substances; comprehensive utilization of resources

2021年3月11日,十三届全国人大四次会议审议通过了《国民经济和社会发展第十四个五年规划和2035年远景目标纲要》,其中用“积极拓展海洋经济发展空间”专章部署了海洋经济工作,明确了“十四五”时期海洋经济工作的方向和重点任务。“十四五”期间,海洋生物医药产业发展需重点围绕建设现代海洋产业体系、突破关键核心技术、培育壮大海洋生物医药产业、提升海洋渔业发展方式、深化海洋经济示范等方向^[1]。

“海洋中药”指在中医药理论指导下,用于预防、治疗、诊断疾病的来源于海洋的药物^[2]。海洋中药的开发利用符合海洋生物医药产业发展要求,作者所在课题组最早提出在中医药理论指导下开发海洋中药的研究思路,近20年围绕江苏特色海洋生物资源的开发利用,创制形成了标志性成果,研发形成复方海藻消癭颗粒、丹鹿胶囊、伸筋接骨胶囊、鲨鱼软骨胶囊、康贝胶囊等海洋中药新药及健康产品^[3]。我国的贝类资源种类多、储量大,功效特点突出,营养价值高,在沿海各海域均有分布。2020年版《中国药典》收录海洋中药11种,其中源于贝类的海洋中药占6种(牡蛎、石决明、瓦楞子、蛤壳、珍珠母、珍珠)。

贻贝(Mussel)又名淡菜、海红、青口、壳菜等,属软体动物门(Mollusca),双壳纲(Bivalvia),贻贝目(Mytiloida),贻贝科(Mytilidae),是用足丝附着生活的双壳软体动物,广泛分布在山东、浙江、福建、广东、江苏、辽宁、广西等省份,是一类重要的经济贝类,也是一味中药。贻贝有“东海夫人”的美称^[4],《本草拾遗》记载:“东海夫人生南海,似珠母,一头尖,中衔少毛。”^[5]《本草纲目》记载:“淡以味,壳似形,夫人以似名也。”^[6]《嘉祐本草》记载贻贝“治虚劳伤惫,精血少者,及吐血,妇人带下、漏下,丈夫久痢,并煮食之。”^[7]

贻贝是我国沿海经济贝类重要的养殖品种,主要包括紫贻贝(*Mytilus edulis* Linnaeus)、厚壳贻贝(*Mytilus coruscus* Gould)、翡翠贻贝(*Perna viridis*

Linnaeus)等^[8],其中以紫贻贝产量最大。紫贻贝盛产于黄海、渤海,人工养殖南移后东海和南海海域也可作为紫贻贝的适宜养殖区域;翡翠贻贝主要分布在我国的南海、东海南部、台湾海峡及东南亚等地;厚壳贻贝主要分布于黄海、渤海和东海沿岸,其产业中心位于浙江舟山嵊泗地区^[9],嵊泗亦被称为“贻贝之乡”。近10年我国贻贝养殖量如图1所示。

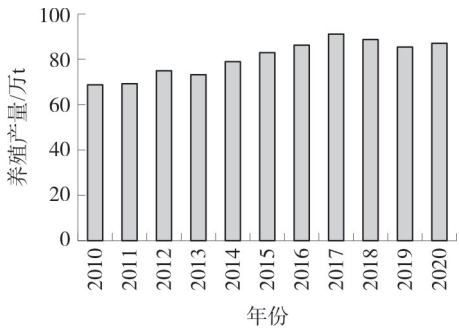


图1 2010—2020年中国贻贝养殖产量的变化情况
Fig. 1 Changes in mussel production in China from 2010 to 2020

1 贻贝本草记载及传统功效

贻贝性温,味甘、咸,归肝、肾经,具补肝益肾,滋阴息风,养血调经,益精填髓,软坚散结,止血止泻之功效^[10]。《本草拾遗》《嘉祐本草》《日华子本草》《本草纲目》等本草书籍均有记载,如表1所示^[11-18]。

贻贝除单用外,亦可入方制成汤剂、丸剂、散剂等,用于治疗肾阳虚弱、肝肾不足、眩晕盗汗、精气不固等病证均有一定疗效。如,淡菜30g,狗肾1具,煎煮至熟烂,饮食食肉,连服1周,用于治疗腰肌劳损、肾虚腰痛及阳痿等疾病;用淡菜50g,熟地10g,黄芪50g,当归10g,水煎服,每日1剂,日服2次,可治贫血和气血双虚;淡菜(干)150g,陈皮100g,分别研细末和匀,加蜂蜜和为丸,每日3次,每次服6g,治老人头晕和睡中盗汗;淡菜30g,昆布15g,煎煮熟烂,连药带汁1次服,日服2次,连服2周,治疗地方性甲状腺肿。

表 1 贻贝的传统功效
Table 1 The traditional efficacy of mussels

本草著作	作者及年代	功能主治
《本草拾遗》 ^[5]	唐代陈藏器， 撰于公元 739 年	主虚羸劳损，因产瘦瘠，血气结积，腹冷，肠鸣，下痢腰疼，带下。
《日华子本草》 ^[11]	五代韩保昇， 撰于公元 908—923 年	煮熟食之，能补五脏，益阳事，理腰脚气，消宿食，除腹中冷气，痲癖等。
《嘉祐本草》 ^[7]	北宋掌禹锡、林亿、苏颂等编修， 撰于公元 1057—1060 年	治虚劳伤惫，精血少者，及吐血，妇人带下、漏下，丈夫久痢，并煮食之。
《本草图经》 ^[12]	宋代苏颂，成书于 1061 年	补五脏，益阳事，消宿食。
《证类本草》 ^[13]	宋代唐慎微， 撰于公元 1097—1108 年	温。补五脏，理腰脚气，益阳事，能消食，除腹中冷气，消痲癖气。亦可烧令汁沸出食之。多食令头闷目暗，可微利即止。北人多不识，虽形状不典，而甚益人。又云：温，无毒。补虚劳损，产后血结，腹内冷痛，治痲瘦，腰痛，润毛发，崩中带下。烧一顿令饱，大效。又名壳菜，常时频烧食即苦，不宜人。
《本草纲目》 ^[6]	明代李时珍，成书于 公元 1578 年	虚劳伤惫，精血衰少，吐血久痢，肠鸣腰痛。
《本草汇言》 ^[14]	明代倪朱谟撰，初刊于 公元 1624 年	淡菜，补虚养肾之药也。蔡心吾曰，此物本属介类，原其气味甘美而淡，性本清凉，故藏器云，善治肾虚有热，及热郁吐血，痢血便血，及血郁成痲，留结筋脉诸疾。
《本经逢原》 ^[15]	清代张璐，成书于 公元 1695 年	甘温无毒。淡菜生咸水而味不沾咸，为消瘦之善药，兼补阴虚劳伤，精血衰少，及妇人带下，理腰脚气。不宜多食、久食，令人阳痿不起及脱人发。一切海中苔菜皆然，不独淡菜也。
《本草从新》 ^[16]	清代吴仪洛， 成书于公元 1757 年	补阴，甘咸温，补五脏，益阳事，理腰脚气，治虚劳伤惫，精血衰少，及吐血久痢，肠鸣腰痛，妇人带下，产后瘦瘠，又能消痲气。
《得配本草》 ^[17]	清代严西亭，成书于 公元 1761 年	淡菜，甘，温。补五脏，益阳事，除腹冷，治带下。产后瘠瘦，食之而肥。煮汁煎药亦可。
《本草便读》 ^[18]	清代张秉成，成书于 公元 1887 年	味咸，温，补阴益阳，治虚劳，填精养血。……故能入肾益阴，治精血衰少。

除经典的治疗方外，贻贝食疗方效果亦佳。如，淡菜 50 g，冬瓜 250 g，同煎汤服用，治疗湿热型肾结石；淡菜 30~60 g，猪肉 15~30 g，共同煎煮，酌加作料，治疗血热性月经过多；淡菜用黄酒洗过，并同韭菜煮食，可治疗肾虚腰痛、头晕耳鸣等；每天用淡菜 60 g，何首乌片 6 g，水煮后趁热饮汁，连服 1~2 月，可治须发早白；贻贝 250 g，水鸭 1 只，加入冰糖适量，共炖，食肉饮汤，每日 1 次，连用 1~2 周后对肺结核有良好疗效；将淡菜用黄酒洗过，并同韭菜煮食，可治疗肾虚腰痛、头晕耳鸣等。

2 贻贝活性肽类物质研究

2.1 贻贝活性肽现代药理作用

贻贝富含蛋白质、肽类成分，对近年来发现的贻贝活性肽的序列、药理活性、效应机制进行总结梳理，发现贻贝活性肽现代药理作用主要包括抗菌、抗氧化、促成骨、抗凝、降压（ACE 抑制）、抗炎、抗肿瘤等。如 Xu 等^[19]提取分离贻贝蛋白质，对其进行体

外模拟消化，并将不同处理的水解产物孵育小鼠前成骨细胞 MC3T3-E1，发现这些水解蛋白具有高度的促成骨活性；贻贝中发现的抗菌肽是一种免疫肽，富含半胱氨酸，可以分为贻贝防御素（MGD）、贻贝素（Mytilin）、贻贝肽（Myticin）和贻贝霉素（Mytimycin）4 类，具有不同的抗菌活性^[20]；从贻贝分离获得的活性肽具有诱导前列腺、乳腺癌和肺癌细胞的细胞死亡的作用^[21]。见表 2^[22-47]。

中医认为肾主骨，肝主筋，调补肝肾可强筋健骨，补益精血可充盈骨质，贻贝补肝益肾、益精填髓之功效与其活性肽促成骨作用相关；而贻贝肽抗肿瘤、抗炎活性可与其“软坚散结”之功效存在关联。贻贝为重要的海洋中药，其中蛋白质、肽类成分的基础与应用研究近年来广受关注，将贻贝传统功效与现代药理活性的关联比较，有助于针对性的筛选贻贝活性肽类分子或肽类先导化合物，促进贻贝资源的开发利用及健康产品的创制。

2.2 贻贝肽类成分的提取与制备

活性肽分为两类,一类属于天然存在,可以从自然界的生物体中直接提取,另一类是需要通过蛋白质降解途径得到或利用合成方法进行制备。根据提取目标的活性肽类型,可选择一种或多种合适的制备工艺。常见的活性肽制备方法有化学水解法、直接提取法、酶解法、基因重组合成法、微生物发酵法

以及已知氨基酸序列的化学合成法等。贝类软体中含有的蛋白质以细胞骨架蛋白为主,如微管蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白、肌球蛋白及组蛋白等,此外还有核糖体蛋白、精氨酸激酶、ATP 合成酶、延伸因子、热休克蛋白等^[48]。蛋白质类成分在煎煮、消化液处理后,易于释放肽类成分,通常这些肽类成分才是发挥生物效应的关键物质。

表 2 贻贝中的活性肽类成分

Table 2 The active peptide constituents of mussels

来源	多肽氨基酸结构序列	药理活性	效应/机制	参考文献
蓝贻贝	YPPAK	抗氧化	DPPH 自由基清除率($EC_{50}=2.62\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、羟基自由基清除率($EC_{50}=0.228\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和超氧化物自由基($EC_{50}=0.072\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	[22]
	PIISVYWK FSVVPSPK	促成骨、预防骨质疏松	100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 孵育 14 d 后,小鼠骨髓间充质干细胞(MBMMSCs)的 ALP 活性显著增加(324 ± 6)% 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 孵育 14 d 后,MBMMSCs 的 ALP 活性显著增加(315 ± 11)%	[23]
	ELEDSLDER	抗凝	和凝血酶上的氨基酸 Gln38 和 Thr74 位点结合	[24]
	VQQELEDAEERADSAEGSLQK RMEADIAAMQSDLDDALNGQR AAFLGVNSNDLLK	抗凝	— — —	[25]
	EPTF FTVN	抗氧化	抑制 H_2O_2 诱导的 HUVEC 细胞内 ROS 的产生,激活 HO-1/Nrf2 通路,减少 Cyt C 释放、Bax 表达, Caspase-3 活化,增加 Bcl-2 表达,保护细胞免受氧化应激	[26]
	Edman 降解测定 N-端序列 EV-MAGNLYPG	ACE 抑制	ACE 抑制活性: $IC_{50}=19.34\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	[27]
	PIIVYWK TTANIEDRR FSVVPSPK	抗氧化	DPPH 自由基清除活性 $IC_{50}=(0.71\pm0.01)\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DPPH 自由基清除活性 $IC_{50}=(2.33\pm0.56)\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DPPH 自由基清除活性 $IC_{50}=(1.09\pm0.03)\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	[28]
	YPRKDETGAERT	促成骨	调节 BMP-2 信号通路促成骨细胞的分化;促进 MC3T3-E1 成骨细胞增殖	[29-30]
	IK YEGDP WF SWISS	ACE 抑制	$IC_{50}=(0.77\pm0.020)\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ $IC_{50}=(0.19\pm0.010)\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ $IC_{50}=(0.40\pm0.015)\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ $IC_{50}=(0.32\pm0.017)\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	[31]
	LGKDQVRT	促成骨、预防骨质疏松	Ca^{2+} 与 LGKDQVRT 肽的金属受体螯合,促进了成骨细胞的增殖、分化和 Caco-2 细胞对钙的转运、吸收	[32]
紫贻贝	IEELEELEAER(PIE)	促成骨	PIE 可以 1:1 的比例螯合钙并促进钙离子的吸收利用。PIE-CPC(骨用磷酸钙接合剂)材料促进 MC3T3-E1 成骨细胞的生长、增殖,并对大肠杆菌有抑制作用	[33]
	EADIDGDGQVYEEFVAMMTSK	抗凝	与凝血因子 FIX、FX 和 FII 相互作用,并抑制固有 FXase 对 FX 的蛋白水解激活和凝血酶原酶复合物形成 FIIa	[34]

(续表)				
来源	多肽氨基酸结构序列	药理活性	效应/机制	参考文献
紫贻贝	IEELEEELEAER IQLLEEDLER	抗氧化	提高抗氧化应激能力,降低了内源性 ROS 水平、老化色素的积累以及细胞凋亡,通过调节 daf-2 和 daf-16 的 mRNA 表达来促进寿命延长	[35]
	Edman 降解测定 N-部分序列 DC-CRKPFRKHCWDCTAGTPYYG YS-TRNIFGCTC... 分子量 7 533.4 Da	抗菌	对粗糙链球菌和枯枝链球菌的生长有抑制作用	[36]
	SCASRCKGHCRARRCGYYVSVLY- RGRCYCKCLRC(Mytilins B) SCASRCKSRCRARRCRYVS- VRYGGFCYCRC(Mytilins C) GCASRCKAKCAGRRCKGWASAS- FRRRCYCKCFRC(Mytilins D)	抗菌	对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌有显著活性	
	VVTCGSLCKAHCTFRKCGYFMSV- LYHGRCYCRLLC(Mytilins G1)	抗菌	仅对革兰氏阳性菌有活性	[37]
	SCASRCKGHCRARRCGYYVSV- LYRGRCYCKCLRC	抗菌	抑制华丽弧菌 LGP32 (MIC 125 mmol·L ⁻¹)、鳃弧菌 (MIC 2 mmol·L ⁻¹)、溶血微球菌和大肠杆菌 (MIC 1 mmol·L ⁻¹) 的体外生长	[38]
厚壳贻贝	Edman 降解测定 N-端部分序列 GVSLQQFFL	抗炎	可抑制脂多糖刺激的 RAW264.7 细胞中 NO 的产生	[39]
	SLPIGLMIAM	抗氧化	羟基、DPPH、超氧化物和过氧自由基清除活性的 IC ₅₀ 分别为 0.118、0.154、0.316 和 0.243 mg·mL ⁻¹	[40]
	AFNIHNRNLL	抗肿瘤	诱导前列腺、乳腺癌和肺癌细胞的细胞死亡	[21]
	DLY	抗肿瘤	对人前列腺癌 DU-145 和 PC-3 细胞有生长抑制作用	[41]
	Edman 降解测定 N-端部分序列 TVKCGMNGKMPCKHGAFYTDAC- DKNVFYR... 分子量 6 297.55 Da	抗菌	参与了宿主对细菌感染的免疫反应,对真菌和革兰氏阳性菌表现出主要的抗菌活性	[42]
	Edman 降解测定 N-端部分序列 SDHQMAQSACMGLAQDAAYASAI 分子量 11 182 Da	抗菌	对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抑菌活性	[43]
	LVGDEQAVPAVCVP	抗氧化	通过抗脂质过氧化作用清除自由基,对多不饱和脂肪酸表现出更高的保护活性	[44]
翡翠贻贝	TVKCGMNGKMPCKHGAFYTDTC- DKNV- FYRCVWGRPVKKACGRGLVWN- PRGFCDY	抗菌	对 2 种革兰氏阳性菌,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 和枯草芽孢杆菌 151-1 都有抗菌作用	[45]
	EGLLGDFV	抗炎	减少促炎细胞因子、NO 和 COX-2 活化的产生,并下调 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞中 iNOS 和 COX-2 蛋白的表达	[46]
	MLKLILVACLVLTLSGSEAAPQR- RATCDLFSIFGVGDSACAAHCLVL- GHRGGYCNSQSVICRD	抗菌	准确地上调血细胞中 Pv-Def mRNA 的表达	[47]

2.2.1 酶解法 通过生物酶的水解作用可将海洋贝类蛋白序列中的肽释放出来,从而得到多种具有生物功能或生理效应的活性肽,又因为酶解法作用条件温和、安全稳定,同时对一些肽键的水解有高度选择性,目前已经成为提取制备活性肽的一种主流方法。该方法中常用的水解酶包括木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、菠萝蛋白酶等^[49]。Yunok 等^[50]研究发现紫贻贝- α -糜蛋白酶水解产物(BMCH)在DPPH 自由基清除、ABTS⁺ 自由基清除方面表现出显著的抗氧化活性。优化酶的水解条件(种类、温度、pH、加酶量、底物浓度、水解时间等)十分重要^[51],优化这些条件可以提高活性肽的产率及活性。于莹等^[52]研究了5种蛋白酶对紫贻贝免疫活性肽进行制备,筛选出胰蛋白酶为最佳酶,采用响应面法(RSM)优化酶解条件后(酶解温度43.7℃,pH 8.9,时间3.2 h,加酶量3 000 U·g⁻¹),所制备的活性肽能够显著促进 RAW264.7 细胞增殖,具有良好的免疫调节活性。

2.2.2 化学合成法 对于已知目标肽段中氨基酸序列的活性肽的制备通常采用化学合成法,即通过氨基酸在液相或固相体系中在缩合剂的作用下组合形成目标生物活性肽。有机合成通常选择固相合成法,固相合成法是一个从C端向N端重复添加氨基酸的过程,利用一系列化学溶剂和合成路线可得到包含10~100个残基的多肽序列^[53]。因此,对于从贻贝中发现的活性肽,可以通过化学合成法来合成目标多肽,然后通过质谱鉴定粗品,检测是否与理论分子量相符,最后进一步验证合成多肽的生物活性。有机合成的优势在于能够实现目标肽的大批量生产,除此以外,如果通过化学合成法着眼研究非自然存在的氨基酸及其残基的定点突变与肽段活性位点转移,那么将助于加快构造出高活性贻贝活性肽。

2.3 贻贝活性肽的分离与纯化

为了更好地研究生物活性肽的生理功能,实现多肽的分离纯化对获得较纯的活性肽显得至关重要。海洋生物活性肽的分离纯化通常是由其蛋白分子量及极性决定的,主要的分离方法包括膜分离、色谱分离、毛细管分离等。课题组前期通过柱层析、超滤分离、C₁₈ 制备液相等方法从蛤蜊软体中提取、制备具有抗氧化、ACE 抑制及 DPP-4 抑制活性肽^[54-56]。

2.3.1 膜分离技术 超滤膜法可以按照膜的截留相对分子质量(MWCO)对物料进行分离,再根据要

得到的目标蛋白或多肽确定最佳的纯化工艺^[57]。采用超滤可以实现 ACE 抑制肽的分离和浓缩,有效提高肽的 ACE 抑制活性,张艳萍等^[58]采用超滤法对紫贻贝酶解物中的降压肽进行分离,结果表明,截留分子量为10 ku 的超滤膜能将紫贻贝酶解物的 ACE 抑制率提高到89.42%。

2.3.2 色谱分离技术 色谱技术是分离海洋生物活性肽最常用的技术之一,基于样品与流动相和固定相之间的相互作用,能有效分离和纯化多种所需特定海洋生物活性肽段。常用的 HPLC 多肽分离技术有凝胶过滤色谱、反相高效液相色谱(RP-HPLC)^[59]、离子交换色谱^[60]以及多种色谱技术结合。孙敬敬等^[61]以厚壳贻贝为原料制备抗菌肽,首先利用半制备型反相高效液相色谱分离,然后以分析型反相高效液相色谱进行纯化,结果表明,乙腈浓度为25%的洗脱成分具有较强的抗菌活性。

2.4 贻贝活性肽筛选的新方法

活性肽类的寻找发现通常基于活性导向的分离纯化这一经典思路,然而存在耗时费力、纯化制备量少等缺点^[62]。近年来,基于生物化学、分子生物学、生物信息学等技术手段应用于贝类活性肽研究,取得了较好效果。课题组采用串联质谱与分子对接技术,从蛤蜊软体酶解液中快速筛选具有抑制 ACE、DPP-4 活性的肽类成分^[63,55-56]。

2.4.1 计算机辅助筛选贻贝活性肽 生物信息学技术的快速发展,使得计算机辅助筛选药物和设计结构日趋成熟,越来越多的研究者也将此项技术应用于反向筛选活性肽的领域。对于作用未知活性肽的筛选,通常运用相关模拟软件构建该肽段的三维结构,然后运用分子对接技术将肽段的三维结构与目标靶蛋白的三维结构进行对接,选取对接分值较高的几个肽段进行后续的验证^[64]。Qiao 等^[25]对从贻贝中提取的抗凝肽与凝血酶进行分子对接,使用 Discovery Studio 软件分析来自内收肌的3种肽 VQQELEDAAEERADSAEGSLQK、RMEADIAAMQSDLD-DALNGQR 和 AAFLGVSNDLLK 的活性机制,并根据得分和结合能值获得肽在凝血酶活性位点的最佳对接状态。

2.4.2 基于转录组学技术筛选贻贝活性肽 随着转录组测序水平的不断提高,使用转录组测序技术进行药物筛选可以同时灵敏地检测出上调和下调的基因,全面地检测出多靶点、多成分药物的药效作用,客观地评价多成分药物的增效或减效作用,并且

预测药物的未知活性或潜在毒副作用,可以应用于活性成分的筛选。Rey-Campos 等^[65]研究了 Myticin C 处理后血细胞的转录组反应,以了解这种细胞因子样分子诱导的分子变化。转录组分析揭示了与细胞运动相关的基因的调节,例如与组织再生相关的基因和参与保护细胞外基质完整性的细胞外基质蛋白 HSPG₂ 的上调,这与功能测定的结果一致,证明了 Myticin C 在体外激活血细胞和迁移中的意义,显示出良好的伤口愈合活性。转录组测序技术在活性成分筛选中的成功应用,使细胞系-转录组测序结合筛选方法有望应用在全面评估复杂结构活性肽的药效信息,以及作用机制方面的研究中,从而提高筛选效率和成功率^[64]。

2.4.3 基于生物信息学研究贻贝活性肽 近年来,随着信息技术研究的兴起,涌现出 BIOPEP、PeptideRanker 活性肽数据库、ExPASy、UniProtKB 等蛋白数据库^[66]。基于数据库中的大量信息,一方面可以应用人工智能预测蛋白/肽的结构,同时使用计算机辅助预测靶向活性肽;另一方面,使用化学方法从药用动物中提取活性蛋白/肽,基于组学技术的高通量筛选出目标活性肽,与前面计算机辅助预测对比验证后,接着进行目标肽段药理活性及作用机制的研究,最终在大数据信息的支撑辅助下,进一步实现肽类新药的研发^[64]。陈艳楠等^[67]对紫贻贝蛋白进行模拟消化获得寡肽(二肽至五肽),通过 PeptideRanker 活性评分以及理化性质分析,从这些寡肽中筛选出 9 条具有潜在研究价值的多肽。通过 ADMET 分析和 BIOPEP-UWM 生物活性预测,发现其中 7 条寡肽具有 ACE 抑制活性,7 条寡肽具有 DPP-IV 抑制活性。通过 SwissDock 和 iDPPIV-SCM 进一步筛选,确定 QYGGR 和 HMR 分别具有最优的 ACE 和 DPP-IV 抑制活性。人工智能预测、高通量筛选和多组学数据库信息的结合,使得活性蛋白及多肽的筛选正在向多评价指标、高通量的方向上快速发展,有助于建立不同中药肽和不同作用靶点之间的联系。

3 贻贝资源化利用研究与产业化展望

3.1 贻贝资源调查与品质评价研究

通过实地调研和数据采集,摸清我国贻贝资源品种种类、数量与区域分布特点、蕴藏量和产量;采用品种鉴别、外观性状、元素测定、主要功效物质测定等技术和方法,系统评价我国不同海域贻贝资源品质;比较不同采收季节贻贝资源,全面测定其功效

物质含量、有害元素限度等指标,比较评价不同采收期贻贝资源质量,构建贻贝质量评价方法体系,形成贻贝原料质量标准,从而为贻贝资源产地、采收期的合理选择提供依据,亦为后续贻贝资源开发提供符合质量要求的原料。

3.2 基于传统中医药理论指导开发贻贝资源

来源于海洋动植物的传统中药有多种,如海洋药用植物有昆布、海带、羊栖菜、海蒿子、紫菜等,海洋药用动物有蛤类、蛭类、海蜇、海螵蛸、瓦楞子、牡蛎、河鲀等,这些海洋药用生物资源在传统中医药本草文献中均有记载。如《本草纲目》即记载贻贝可用于“虚劳伤惫,精血衰少,吐血久痢,肠鸣腰痛。”基于中医药典籍记载及数据挖掘等技术,从数据库中有目的寻找与贻贝相关文献,在中医药理论的指导下,辅以现代医药技术,包括功效物质基础研究、高效提取分离技术、安全性与生物效应评价研究、质量控制等,从中提取分离功效成分,按照健康产品开发要求,形成贻贝健康产品,促进贻贝资源有针对性的、高效率的开发利用。

3.3 基于资源循环利用理念开发贻贝资源

资源循环利用是通过改变资源利用方式,提升资源利用效率,开发药用生物资源的多宜性与新用途,提升资源附加值的同时减少资源投入与消耗,逐步实现有限资源的多元化、精细化利用,促进资源节约型与环境友好型循环经济发展目标的实现。以课题组前期开展江苏沿海低值贝类的综合开发利用研究为例,将四角蛤蜊、杂色蛤、文蛤等蛤类进行全值化综合开发利用,通过现代提取分离、精制纯化等工业技术对蛤蜊软体、外壳及加工过程废弃物综合利用,开发形成包括饲料添加剂、食品、保健食品、生物功能材料等系列产品,形成了较成熟的贝类资源综合开发利用范式^[3,68]。因此,贻贝资源的综合利用可基于资源循环利用理念开展,在中医药理论指导下,将贝类软件开发成大健康中间体或产品,贝类外壳富含的钙质可用于食品原料或生物材料等,加工过程中的废弃资源或边角料可开发成具有诱食性的饲料添加剂。如此形成贻贝资源全值化综合开发模式,形成环境友好型的贻贝资源可持续利用和海洋经济绿色发展。

3.4 突破贻贝资源综合利用的关键技术

海洋贝类资源的生产加工过程中面临一些共性问题,如产地加工壳肉分离、提取浓缩后盐分的脱除、重金属有害元素的脱除等。课题组前期针对蛤

蛎资源综合利用形成了关键技术,研发了贝类自动分级及自动壳肉分离技术机械化设备,极大提升了蛤蛎产地加工的效率与工业化、规模化应用与发展的进程,贝类自动分级装置按照蛤蛎大小进行自动分级处理,日处理量可达30吨;基于电渗析技术实现脱盐、脱重金属及有害元素,在保留80%以上功效物质的同时,脱除90%以上的盐分、重金属及有害元素;合成水氯铁镁石可用于脱除贝类中间体的有机砷As(Ⅲ)、As(V)^[69]。目前贻贝产地加工已实现机械化壳肉分离^[70],而盐分与重金属脱除是贻贝资源开发利用过程中必须解决的问题,针对贻贝功效物质类型,开发适宜的脱盐方法,形成符合产业化规模要求脱盐关键技术,确保贻贝原料、中间体或产品符合行业标准。

3.5 产学研用合作促进贻贝资源综合利用产业化

高校、科研院所对贻贝资源综合利用开展基础研究,企业发展方向与市场需求的导向下,有针对性地开发贻贝产品,产学研用紧密结合,研发形成符合市场定位与消费者需求的贻贝产品,促进贻贝综合利用基础研究向产业化发展,提升经济效益。在研发形成的贻贝产品的导向下,进一步促进贻贝养殖业的发展,并建立贻贝产地加工基地及中下游产品生产基地,贯通贻贝“养殖-产地加工-产品研发-产品产业化”的生产链,推进贻贝资源综合利用的技术升级与产业化发展。

4 结语

我国贝类资源丰富,历代本草均有关于贝类资源传统功效与药用价值的记载。课题组多年来基于中医药理论指导开展贝类资源综合利用,形成了较为成熟的贝类资源综合利用范式。我国贻贝资源储量大、营养价值高、功效确切,有逾千年的应用历史,其中所含的丰富的蛋白质、肽类成分为重要功效物质。本文以贻贝多肽类功效物质为切入点,从贻贝本草记载、肽类成分的分离纯化、效应机制、新技术新方法应用等方面进行系统的回顾与梳理,并从资源品质评价、开发思路、关键技术突破、产学研合作等方面为贻贝资源的开发利用提出了思考与展望。通过本文的梳理总结,以期为贻贝资源综合利用与产品开发提供思路与参考,促进贻贝资源的高质量、绿色、可持续发展。

参考文献:

[1] 赵鹏.“十四五”时期我国海洋经济发展趋势和政策取向[J/OL]. 海洋经济,2022;1-8. <https://doi.org/10.19426/j.cnki.cn12-1424/p.20220630.001>.

ZHAO P. The development trend and policy orientation of marine economy in China during the 14th Five-Year Plan Period [J/OL]. Marine Economy, 2022; 1-8. <https://doi.org/10.19426/j.cnki.cn12-1424/p.20220630.001>.

[2] 付先军,王振国,王长云,等.海洋中药的内涵与外延探讨[J].世界科学技术-中医药现代化,2016,18(12):2034-2042.

FU XJ, WANG ZG, WANG CY, et al. Connotation and extension discussion of marine traditional Chinese medicine [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2016, 18(12): 2034-2042.

[3] 刘睿,吴皓.江苏海洋生物医药研究现状与发展机遇的思考[J].南京中医药大学学报,2018,34(3):217-221.

LIU R, WU H. Thinking on development opportunities and research status of Jiangsu marine biological medicine [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2018, 34(3): 217-221.

[4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草-9[M].上海:上海科学技术出版社,1999.

Editorial Board of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica-9 [M]. Shanghai: Shanghai scientific & technical publishers, 1999.

[5] 陈藏器.本草拾遗[M].尚志钧,校注.合肥:安徽科学技术出版社,2004.

CHEN CQ. Supplement to The Grand Compendium of Materia Medica [M]. SHANG ZJ, annotated. Hefei: Anhui science & technology press, 2004.

[6] 李时珍.本草纲目[M].昆明:云南人民出版社,2011.

LI SZ. The Grand Compendium of Materia Medica [M]. Kunming: Yunnan people's publishing house, 2011.

[7] 掌禹锡.嘉祐本草[M].尚志钧,辑复.北京:中医古籍出版社,2009.

ZHANG YX. Materia Medica during Jiayou Period [M]. SHANG ZJ, annotated. Beijing: Traditional chinese medicine ancient books press, 2009.

[8] 刘明坤,阙华勇,张国范,等.紫贻贝养殖产业的现状、问题与对策[J].海洋科学,2022,46(3):135-144.

LIU MK, QUE HY, ZHANG GF, et al. The Current standing of the Mediterranean mussel industry, the obstacles posed and its potential restoration [J]. Mar Sci, 2022, 46(3): 135-144.

[9] 包炎琳,段元亮,杨娜,等.嵊泗列岛贻贝养殖区与无人岛潮间带大型海藻群落结构比较[J].海洋渔业,2020,42(5):595-607.

BAO YL, DUAN YL, YANG N, et al. Comparison of community structure of large seaweed in mussel culture area of Shengsi Islands and intertidal zone of Xianshengshan Island [J]. Mar Fish, 2020, 42(5): 595-607.

[10] 管华诗,王曙光.中华海洋本草:第5卷[M].上海:上海科学技术出版社,2009.

GUAN HS, WANG SG. Chinese Ocean Materia Medica: Volume 5 [M]. Shanghai: Shanghai scientific & technical publishers, 2009.

[11] 韩保昇.日华子本草[M].尚志钧,辑校.合肥:安徽科学技术出版社,2005.

HAN BS. Ri Hua-zi's Materia Medica [M]. SHANG ZJ, annotated. Hefei: Anhui science & technology press, 2005.

[12] 苏颂.本草图经[M].尚志钧,辑校.合肥:安徽科学技术出版社,1994.

SU S. Map and Record of Materia Medica [M]. SHANG ZJ, annotated. Hefei: Anhui science & technology press, 1994.

[13] 唐慎微.证类本草[M].郭君双,校.北京:中国医药科技出版社,2011.

TANG SW. Materia Medica Arranged According to Pattern [M]. GUO JS, annotated. Beijing: China medical science and technology press, 2011.

[14] 倪朱谟.本草汇言[M].戴慎,点校.上海:上海科技出版社,2005.

NI ZM. Treasury of Words on the Materia Medica [M]. DAI S, annotated. Shanghai: science & technology press, 2005.

- [15] 张璐. 本经逢原[M]. 张从明, 校注. 北京: 中医古籍出版社, 2017.
- ZHANG L. Encountering the Sources of the *Classic of Materia Medica*[M]. ZHANG CM, annotated. Beijing: Traditional chinese medicine ancient books press, 2017.
- [16] 吴仪洛. 本草从新[M]. 阎忠涵, 校注. 北京: 中国医药科技出版社, 2016.
- WU YL. Thoroughly Revised *Materia Medica*[M]. YAN ZH, annotated. Beijing: China medical science and technology press, 2016.
- [17] 严洁. 得配本草[M]. 郑金生, 校注. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- YAN J. *Materia Medica of Combinations* [M]. ZHENG JS, annotated. Beijing: People's medical publishing house, 2007.
- [18] 张秉成. 本草便读[M]. 张效霞, 校. 北京: 学苑出版社, 2010.
- ZHANG BC. Convenient Reader on *Materia Medica*[M]. ZHANG XX, annotated. Beijing: Academy press, 2010.
- [19] XU Z, ZHAO F, CHEN H, et al. Nutritional properties and osteogenic activity of enzymatic hydrolysates of proteins from the blue mussel (*Mytilus edulis*) [J]. Food Funct, 2019, 10(12): 7745–7754.
- [20] 于道德, 宁璇璇, 任贵如, 等. 贻贝抗菌肽的研究进展[J]. 海洋科学, 2009, 33(11): 95–99.
- YU DD, NING XX, REN GR, et al. Research advance of antimicrobial peptides isolated from mussels [J]. Mar Sci, 2009, 33(11): 95–99.
- [21] KIM EK, JOUNG HJ, KIM YS, et al. Purification of a novel anticancer peptide from enzymatic hydrolysate of *Mytilus coruscus* [J]. J Microbiol Biotechnol, 2012, 22(10): 1381–1387.
- [22] WANG B, LI L, CHI CF, et al. Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysate [J]. Food Chem, 2013, 138(2/3): 1713–1719.
- [23] OH Y, AHN CB, CHO WH, et al. Anti-osteoporotic effects of antioxidant peptides PIISVYWK and FSVVSPK from *Mytilus edulis* on ovariectomized mice [J]. Antioxidants, 2020, 9(9): 866.
- [24] QIAO ML, TU ML, WANG ZY, et al. Identification and antithrombotic activity of peptides from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): 138.
- [25] QIAO ML, TU ML, CHEN H, et al. Identification and in silico prediction of anticoagulant peptides from the enzymatic hydrolysates of *Mytilus edulis* proteins [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(7): 2100.
- [26] SURYANINGTYAS IT, AHN CB, JE JY. Cytoprotective peptides from blue mussel protein hydrolysates: Identification and mechanism investigation in human umbilical vein endothelial cells injury [J]. Mar Drugs, 2021, 19(11): 609.
- [27] JE JY, PARK PJ, BYUN HG, et al. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis* [J]. Bioresour Technol, 2005, 96(14): 1624–1629.
- [28] PARK SY, KIM YS, AHN CB, et al. Partial purification and identification of three antioxidant peptides with hepatoprotective effects from blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate by peptic hydrolysis [J]. J Funct Foods, 2016, 20: 88–95.
- [29] XU Z, FAN FJ, CHEN H, et al. Absorption and transport of a *Mytilus edulis*-derived peptide with the function of preventing osteoporosis [J]. Food Funct, 2021, 12(5): 2102–2111.
- [30] XU Z, CHEN H, WANG ZY, et al. Isolation and characterization of peptides from *Mytilus edulis* with osteogenic activity in mouse MC3T3-E1 preosteoblast cells [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(5): 1572–1584.
- [31] SUO SK, ZHAO YQ, WANG YM, et al. Seventeen novel angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from the protein hydrolysate of *Mytilus edulis*: Isolation, identification, molecular docking study, and protective function on HUVECs [J]. Food Funct, 2022, 13(14): 7831–7846.
- [32] XU Z, HAN SY, CHEN H, et al. Characterization of chelation and absorption of calcium by a *Mytilus edulis* derived osteogenic peptide [J]. Front Nutr, 2022, 9: 840638.
- [33] XU Z, ZHU ZX, CHEN H, et al. Application of a *Mytilus edulis*-derived promoting calcium absorption peptide in calcium phosphate cements for bone [J]. Biomaterials, 2022, 282: 121390.
- [34] JUNG WK, KIM SK. Isolation and characterisation of an anticoagulant oligopeptide from blue mussel, *Mytilus edulis* [J]. Food Chem, 2009, 117(4): 687–692.
- [35] ZHOU Y, XU QG, ZHOU XH, et al. Stress resistance and lifespan extension of *Caenorhabditis elegans* enhanced by peptides from mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysate [J]. Food Funct, 2018, 9(6): 3313–3320.
- [36] CHARLET M, CHERNYSH S, PHILIPPE H, et al. Innate immunity. Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, *Mytilus edulis* [J]. J Biol Chem, 1996, 271(36): 21808–21813.
- [37] MITTA G, VANDENBULCKE F, HUBERT F, et al. Involvement of mytilins in mussel antimicrobial defense [J]. J Biol Chem, 2000, 275(17): 12954–12962.
- [38] ROCH P, YANG YS, TOUBIANA M, et al. NMR structure of mussel mytilin, and antiviral-antibacterial activities of derived synthetic peptides [J]. Dev Comp Immunol, 2008, 32(3): 227–238.
- [39] KIM EK, KIM YS, HWANG JW, et al. Purification of a novel nitric oxide inhibitory peptide derived from enzymatic hydrolysates of *Mytilus coruscus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(6): 1416–1420.
- [40] KIM EK, OH HJ, KIM YS, et al. Purification of a novel peptide derived from *Mytilus coruscus* and *in vitro/in vivo* evaluation of its bioactive properties [J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(5): 1078–1084.
- [41] 杨永芳, 闫海强, 丁国芳, 等. 贻贝水解物抗肿瘤活性肽的分离纯化 [J]. 中国药科大学学报, 2011(3): 272–275.
- YANG YF, YAN HQ, DING GF, et al. Isolation and purification of an anticancer activity peptide from protein hydrolysate of *Mytilus coruscus* [J]. J China Pharm Univ, 2011(3): 272–275.
- [42] LIAO Z, WANG XC, LIU HH, et al. Molecular characterization of a novel antimicrobial peptide from *Mytilus coruscus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(2): 610–616.
- [43] OH R, LEE MJ, KIM YO, et al. Myticusin- β , antimicrobial peptide from the marine bivalve, *Mytilus coruscus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2020, 99: 342–352.
- [44] JUNG WK, QIAN ZJ, LEE SH, et al. Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide isolated from *in vitro* gastrointestinal digests of *Mytilus coruscus* [J]. J Med Food, 2007, 10(1): 197–202.
- [45] MENG DM, DAI HX, GAO XF, et al. Expression, purification and initial characterization of a novel recombinant antimicrobial peptide Mytichitin-a in *Pichia pastoris* [J]. Protein Expr Purif, 2016, 127: 35–43.
- [46] JOSHI I, NAZEER RA. EGLLGDFV: A novel peptide from green mussel *Perna viridis* foot exerts stability and anti-inflammatory effects on LPS-stimulated RAW_{264.7} cells [J]. Protein Pept Lett, 2020, 27(9): 851–859.
- [47] WANG YT, ZENG ZY, ZHANG XH, et al. Identification and characterization of a novel defensin from Asian green mussel *Perna viridis* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2018, 74: 242–249.
- [48] 盛乃娟, 王倩, 吴体智, 等. 江苏省吕四港潮间带贝类的蛋白质组分析 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(3): 222–226.
- SHENG NJ, WANG Q, WU TZ, et al. Proteomic profiling in shellfish from Lüsi aquaculture in the intertidal zone area of the Jiangsu Province [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2018, 34(3): 222–226.
- [49] 杨贵兰, 秦松, 李文军, 等. 海洋生物活性肽的功能、制备技术与作用机制研究进展 [J]. 海洋科学, 2021, 45(10): 123–132.
- YANG GL, QIN S, LI WJ, et al. Function, preparation technology, and mechanism of marine biological active peptides [J]. Mar Sci, 2021, 45(10): 123–132.

- [50] OH Y, AHN CB, NAM KH, et al. Amino acid composition, antioxidant, and cytoprotective effect of blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate through the inhibition of caspase-3 activation in oxidative stress-mediated endothelial cell injury[J]. Mar Drugs, 2019, 17(2): 135.
- [51] LIU R, CHENG JM, WU H. Discovery of food-derived dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides: A review[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(3): 463.
- [52] 于莹, 宿小杰, 周德庆, 等. 响应面法优化紫贻贝免疫活性肽的制备工艺[J]. 中国海洋药物, 2021, 40(6): 21-29.
YU Y, SU XJ, ZHOU DQ, et al. Optimization of preparation technology of immunomodulatory peptides from *Mytilus edulis* by response surface methodology[J]. Chin J Mar Drugs, 2021, 40(6): 21-29.
- [53] 阮晓慧, 韩军岐, 张润光, 等. 食源性生物活性肽制备工艺、功能特性及应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(6): 248-253.
RUAN XH, HAN JQ, ZHANG RG, et al. Progress in the preparation, functional properties and applications of food-derived bioactive peptides[J]. Food Ferment Ind, 2016, 42(6): 248-253.
- [54] LIU R, ZHENG WW, LI J, et al. Rapid identification of bioactive peptides with antioxidant activity from the enzymatic hydrolysate of *Macrura venteriformis* by UHPLC-Q-TOF mass spectrometry[J]. Food Chem, 2015, 167: 484-489.
- [55] LIU R, ZHU YH, CHEN J, et al. Characterization of ACE inhibitory peptides from *Macrura venteriformis* hydrolysate by nano-liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry (Nano-LC-ESI-MS) and molecular docking[J]. Mar Drugs, 2014, 12(7): 3917-3928.
- [56] LIU R, ZHOU L, ZHANG Y, et al. Rapid identification of dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory peptides from *Ruditapes philippinarum* hydrolysate[J]. Molecules, 2017, 22(10): 1714.
- [57] CASTEL V, ANDRICH O, NETTO FM, et al. Comparison between isoelectric precipitation and ultrafiltration processes to obtain *Amaranthus mantegazzianus* protein concentrates at pilot plant scale[J]. J Food Eng, 2012, 112(4): 288-295.
- [58] 张艳萍, 戴志远, 张虹. 紫贻贝酶解物中降压肽的超滤分离[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(9): 46-51.
ZHANG YP, DAI ZY, ZHANG H. Ultrafiltration technology of ACE inhibitory peptides derived from *Mytilus edulis* protein hydrolysate[J]. Food Ferment Ind, 2010, 36(9): 46-51.
- [59] YANG YZ, BOYSEN RI, CHOWDHURY J, et al. Analysis of peptides and protein digests by reversed phase high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry using neutral pH elution conditions[J]. Anal Chimica Acta, 2015, 872: 84-94.
- [60] BOUDESOCQUE L, FORNI L, MARTINEZ A, et al. Purification of dirucotide, a synthetic 17-aminoacid peptide, by ion exchange centrifugal partition chromatography[J]. J Chromatogr A, 2017, 1513: 78-83.
- [61] 孙敬敬, 刘慧慧, 周世权, 等. 一种新型贻贝抗菌肽的分离纯化及鉴定[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 563-570.
SUN JJ, LIU HH, ZHOU SQ, et al. A novel antimicrobial peptide identified from *mytilus coruscus*[J]. Acta Hydrobiol Sin, 2014, 38(3): 563-570.
- [62] ROBINSON SD, NORTON RS. Conotoxin gene superfamilies[J]. Mar Drugs, 2014, 12(12): 6058-6101.
- [63] 吴体智, 盛乃娟, 杨丽, 等. 杂色蛤中 ACE 抑制肽的分离鉴定与分子对接研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(19): 153-156, 161.
WU TZ, SHENG NJ, YANG L, et al. Separation and identification of ACE inhibitory peptides from *Ruditapes philippinarum* and molecular docking[J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(19): 153-156, 161.
- [64] 杨晓男, 阮丽君, 江兴, 等. 多肽类药物与中药肽研究展望[J/OL]. 中国中药杂志, 2022; 1-15. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20220726.601>.
YANG XN, LUAN LJ, JIANG X, et al. Overview of research and development of polypeptide drugs and traditional Chinese medicine-peptides: a review[J/OL]. China J Chin Mater Med, 2022; 1-15. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20220726.601>.
- [65] REY-CAMPOS M, MOREIRA R, ROMERO A, et al. Transcriptomic analysis reveals the wound healing activity of mussel myticin C[J]. Biomolecules, 2020, 10(1): 133.
- [66] 周亭屹, 高新昌, 党亚丽, 等. 基于生物信息学技术的生物活性肽研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 335-340.
ZHOU TY, GAO XC, DANG YL, et al. Research development of the bioactive peptides based on bioinformatics[J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(12): 335-340.
- [67] 陈艳楠, 邱智军, 刘学强, 等. 紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 蛋白计算机模拟消化物活性的生物信息学分析[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(15): 185-192.
CHEN YN, QIU ZJ, LIU XQ, et al. Bioinformatics analysis of the bioactivities of in silico digest from *Mytilus edulis* proteins[J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(15): 185-192.
- [68] 刘睿, 吴皓, 程建明, 等. 江苏沿海低值贝类资源综合利用现状与展望[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(1): 93-96.
LIU R, WU H, CHENG JM, et al. The status and prospect of comprehensive utilization of bivalve derived from Jiangsu coastal area[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2015, 31(1): 93-96.
- [69] JI J, HUANG WW, WANG LC, et al. Synthetic iowaite can effectively remove inorganic arsenic from marine extract[J]. Molecules, 2021, 26(10): 3052.
- [70] 朱敬萍, 张小军, 顾蓓乔, 等. 一种贻贝壳肉分离加工装置: CN105707198A[P]. 2016-06-29.
ZHU JP, ZHANG XJ, GU BQ, et al. Washing, cooking and shelling integrated processing device for mussels: CN105707198A[P]. 2016-06-29.

(编辑:董宇)