

周田田, 张红, 袁文鹏. 海洋多肽的提取纯化及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 419–426. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090116

ZHOU Tiantian, ZHANG Hong, YUAN Wenpeng. Research Progress on Extraction, Purification and Biological Activity of Marine Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 419–426. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090116

· 专题综述 ·

海洋多肽的提取纯化及生物活性研究进展

周田田, 张 红, 袁文鹏*

(齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省科学院菏泽分院, 山东省生物工程技术创新中心, 山东菏泽 274000)

摘 要: 海洋生物是人类重要的食物来源, 其中含有大量高质量的蛋白质。海洋多肽具有抗高血压、抗氧化、抗肿瘤等生物学功能, 作为开发功能性食品和药品的来源具有巨大的潜力。本文介绍了近年来国内外利用化学水解法、酶水解法、微生物发酵法以及物理辅助提取法提取海洋多肽并采用色谱法、膜分离法将其分离纯化的相关技术, 比较了它们之间的差异性, 并对海洋多肽的血管紧张素转换酶(ACE)抑制活性、抗氧化活性和抗肿瘤活性等生物活性以及应用现状进行了综述。

关键词: 海洋多肽, 提取, 纯化, 生物活性

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)19-0419-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090116



本文网刊:

Research Progress on Extraction, Purification and Biological Activity of Marine Peptides

ZHOU Tiantian, ZHANG Hong, YUAN Wenpeng*

(Heze Branch, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Biological Engineering Technology Innovation Center of Shandong Province, Heze 274000, China)

Abstract: Marine life is an important food source for humans, which contains a lot of high-quality protein. Marine peptides have biological functions such as anti-hypertension, anti-oxidation, and anti-tumor. They have great potential as a source of functional foods and medicines. In this paper, the related technologies of chemical hydrolysis, enzymatic hydrolysis, microbial fermentation and physical-assisted extraction to extract marine polypeptides and to separate and purify them by chromatography and membrane separation are introduced, and the differences between them are compared. The biological activities and application status of marine peptides such as angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, antioxidant activity and anti-tumor activity were reviewed.

Key words: marine polypeptide; extraction; purification; bioactivity

蛋白质是生命活动的物质基础, 是构成细胞内生命物质的主要有机成分。人体摄入的蛋白质经消化道中的酶作用后, 大多数以寡肽的形式被消化吸收。生物活性肽是具有生物活性的寡肽, 自 1902 年第一种多肽类物质促胰液素被发现以来, 人类对多肽的认识逐步深入, 研究发现多肽具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等作用。与传统药物相比, 多肽类

药物具有特异性强、分子量小、副作用小等优点, 因此, 多肽类药物已成为医药研发的新亮点^[1]。

海洋生物量占地球总生物量的 87%, 生物种类达 20 多万种, 为开发生物活性肽提供了巨大的空间。自上世纪 60 年代以来, 已从海洋生物中分离出近 5000 种化合物, 这些化合物主要包括甾醇、萜类、生物碱、肽、多糖和蛋白质等。对天然活性多肽的研

收稿日期: 2021-09-09

基金项目: 山东省重点研发计划-药食同源特色产品创新研发与应用示范 (NO. 2021SFGC1205)。

作者简介: 周田田 (1992-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 水产品加工与贮藏, E-mail: 893474218@qq.com。

* 通信作者: 袁文鹏 (1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品科学, E-mail: yuanwp@sdsas.org。

究主要集中在少数海洋生物,包括海葵、海藻、海绵和芋螺,藻类、鱼类、软体动物、甲壳类动物和水产加工副产物等^[2]。从海洋生物中分离出来的许多种活性多肽中,只有一小部分会被作为食品或药品进行开发和销售,其中以鱼胶原蛋白肽、海参肽、牡蛎肽在市场中的应用最广、影响力最大。本文综述了近年来从海洋生物中提取活性多肽的方法以及各种多肽的生物活性,还对这些海洋多肽类产品的发展前景进行了展望,以期对海洋多肽在食品、药品领域的应用提供一定的参考。

1 海洋多肽的提取方法

海洋肽的生产与蛋白质来源、提取和纯化方法有关,采用合适的生产技术可以提高肽的产量和生物活性。目前已经用于生产海洋肽的技术包括化学水解、酶水解、微生物发酵和物理辅助提取。化学水解法因氨基酸受损严重、水解过程难控制而较少应用;酶水解法因具有生产条件温和,水解过程可控,肽得率高以及安全的优势,逐渐取代了传统的化学水解法,成为制备海洋生物活性肽的主要方法。

1.1 化学水解法

化学水解法采用酸或碱溶液水解肽键。酸水解一般使用 0.02~0.03 mol/L 的盐酸或硫酸在高温(121~138 ℃)、高压(220~310 MPa)下与蛋白质反应 2~8 h,然后调节 pH 至 6~7;而碱水解是在低温(27~54 ℃)下使用碱金属盐(如氢氧化钙、氢氧化钠或氢氧化钾)对蛋白质进行水解^[3]。盐酸常用于海洋肽的酸水解。Wisuthiphaet 等^[4]使用盐酸(4 mol/L)水解鱼糜(100 ℃, 90 min),结果显示水解度为 50.7%时,谷氨酸的含量最高(16.3%),其次是天冬氨酸(10.4%)和赖氨酸(8.5%)。酸水解的影响因素的主次顺序为:水解温度>盐酸浓度>水解时间。一些其他类型的酸也已用于蛋白质水解,包括乙酸、硝酸、磷酸、马来酸和草酸,其产量受水解时间和温度控制^[5]。

碱水解会破坏丝氨酸和苏氨酸从而导致产品功能性差,且反应过程中生成的氯丙醇有强致癌性;与碱水解相比,酸水解更为常用,然而酸水解的中和步骤会导致产品钠含量偏高和色氨酸的破坏。因此,虽然化学水解法操作简便、成本低,但在工业化生产蛋白肽中应用很少^[6]。

1.2 酶水解法

酶水解是在优化的温度和 pH 下,利用蛋白酶对蛋白质进行水解。由于不同的蛋白质可以被相应的酶水解,因此酶促水解容易控制且具有特异性,酶水解被广泛应用于蛋白肽的生产过程中^[7]。蛋白酶种类的选择是生产小分子生物活性肽的关键,合适的蛋白酶包括动物蛋白酶(例如胃蛋白酶和胰蛋白酶)和植物蛋白酶(例如木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶)以及微生物蛋白酶(例如枯草芽孢杆菌蛋白酶和链霉菌蛋白酶)。由于动植物资源有限,工业生产中蛋白质原

料而言,枯草杆菌蛋白酶是生产小分子量生物活性肽的最佳选择^[8]。

由于各种酶的水解特性不同,多酶水解比单酶水解速率高且效果好,为改善海洋多肽的产品品质,现在一般采用复合蛋白酶水解法。邱娟等^[9]用复合蛋白酶和碱性蛋白酶分步水解牡蛎肉,所得牡蛎肽中分子量在 3000 Da 以下的占 99.72%。在酶促水解过程中,水解度的增加会降低产物肽的活性,这是因为随着酶解程度的增加,活性肽被分解为氨基酸或其中的活性基团遭到破坏。因此,在酶水解制备多肽时,应严格控制酶解度,在蛋白质被适度水解的条件下保证产物肽的高活性^[10]。

1.3 微生物发酵法

微生物代谢过程中产生的蛋白水解酶引起蛋白质水解,进而产生生物活性肽。细菌种类、蛋白质类型和发酵时间是决定水解率的重要因素^[11]。例如,由于其高细胞外蛋白酶活性,干酪乳杆菌具有在牡蛎匀浆液中产生更多肽的能力^[12]。闫泽文^[13]分别使用酵母菌和乳酸菌发酵海参内脏酶解液,结果表明乳酸菌发酵可以大幅降低样品中的苦味肽含量,乳酸菌比酵母菌更适合用于海参内脏酶解液的发酵。江敏等^[14]以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除率为指标,用枯草芽孢杆菌发酵马氏珠母贝,发现发酵时间对 DPPH 自由基清除率影响最大。此外,各种细菌或酵母菌的组合可以加速蛋白质的水解。

发酵法生产活性肽具有成本低和产品适口性好的特点,但是发酵条件和水解程度不易控制,产物复杂,后续分离纯化困难,限制了其在工业生产中的应用。

1.4 物理辅助提取法

超声波已被用于辅助肽提取,通常与酶水解相结合。在超声波的机械作用下,细胞发生微震荡,细胞内物质移动从而产生摩擦,细胞变软。适当时间的超声处理会使植物细胞壁破裂,细胞液释放到溶剂中,这些变化是物理变化,不会改变化学成分。李文欣等^[15]以海参性腺为原料,利用超声波技术辅助中性蛋白酶水解制备血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽,水解度和 ACE 抑制率分别可达到 7.81% 和 73.81%。周燕芳等^[16]利用超声波辅助酶解鲭鱼肉制备抗氧化肽,得到的多肽具有极强的抗氧化性,对 DPPH 自由基的清除率高达近 90%。蓝尉冰等^[17]使用超声波协同处理碱性蛋白酶酶解近江牡蛎,酶解液中氨基态氮的含量可达到 26.13 mg/g。

超声提取可以显著缩短提取时间,提高提取效率,不需要高温改变肽的性质,因此生产出来的肽类具有很高的活性,在生产中得到了广泛应用。

2 海洋多肽的纯化方法

海洋多肽的活性与其分子量以及结构特征有关,小分子量组分(1~5000 Da)通常活性更高。蛋白水解液和发酵液是由不同种类、不同分子量的活性肽和非活性肽组成的复杂混合物,活性肽的浓度很

低,因此,需要采用多种纯化方法来制备高浓度活性肽。常见的多肽分离纯化方法有色谱法和膜分离法。

2.1 色谱法

色谱法的基本原理是在外力作用下使含有蛋白质的溶液流过含有各种填料的柱,由于不同蛋白质与色谱柱填料的相互作用不同,蛋白质在色谱柱中的保留时间也不同,因此可以根据不同蛋白质的保留时间对其进行分离纯化。通常,蛋白质的检测方法是将色谱柱的吸光度保持在 280 nm。常用的色谱法可分为凝胶色谱法(SEC)、离子交换色谱法(IEC)、反相高效液相色谱法(RP-HPLC)等^[18]。

根据柱内流动相的不同,SEC 可分为凝胶过滤色谱(GFC)和凝胶渗透色谱(GPC)。以水为流动相的,称作 GFC;以有机溶剂为流动相的,称作 GPC。SEC 的工作原理是根据蛋白质形状和大小不同,所以洗脱时间不同,大蛋白会通过凝胶珠之间的缝隙先被洗脱出来^[19]。IEC 是由 Thompson 等^[20]首先发展起来的。IEC 的基质由带电树脂或纤维素组成,根据离子交换剂的电荷,可分为阴离子交换色谱法(AEC)和阳离子交换色谱法(CEC),离子交换剂中的带电基团用于吸附溶液中带相反电荷的物质,然后进行洗脱分离^[21]。离子交换色谱具有分辨率高、耐酸碱、操作简单等优点,已成为分离多肽的重要方法。

SEC 操作简便,所需设备简单,分离介质可重复使用,分离效果较好,但分离操作较慢,而且对于分子量相差不多的物质难以达到很好的分离。IEC 根据蛋白质表面电荷的差异对其进行分离,尽管分离量大,但分离出的样品纯度较低,通常用于初步分离。RP-HPLC 分辨率高,广泛用于化学分析,具有快速、回收率高的特点,但是成本较高且操作复杂,样品处理量少,一般用于精细纯化,以量化小分子和离子以及分离和纯化大分子。蛋白质纯化通常需要多种色谱方法联用,一般先采用 SEC 或 IEC 将多肽粗分离后再利用 RP-HPLC 进一步纯化^[22]。Kim 等^[23]采用 GFC 和 RP-HPLC 从海鞘蛋白水解物中分离并鉴定出了三种抗氧化肽组分(亮氨酸-谷氨酸-色氨酸(LEW), $M_w=446.2$ Da; 甲硫氨酸-苏氨酸-苏氨酸-色氨酸(MTTL), $M_w=464.2$ Da; 酪氨酸-酪氨酸-脯氨酸-酪氨酸-谷氨酰胺-亮氨酸(YYPYQL), $M_w=845.4$ Da),其中,LEW 因含有带负电的谷氨酸以及芳香族氨基酸色氨酸,对 DPPH 自由基的清除率活性最高(75%)。Bougatef 等^[24]使用 AEC 和 RP-HPLC 从沙丁鱼的粗酶提取物中分离抗氧化肽,结果表明,水解度为 6% 时水解产物的 DPPH 自由基清除活性最强($87\% \pm 2.1\%$, 2 mg/mL)。

2.2 膜分离法

膜分离技术以浓度差或压力差作为驱动力,是应用于分离生物活性肽最广泛的方法^[25]。膜分离工艺根据膜孔径大小分为四类:微滤、超滤、纳滤和反渗透。

微滤的分离原理一般认为属于机械筛分,膜的物理结构起决定性作用。微滤膜可分为有机膜和无机膜。有机膜包括醋酸纤维素、聚酰胺、聚碳酸酯和聚丙烯,无机膜包括陶瓷和金属。微滤膜的孔径为 0.1~1 μm ,因此,微滤膜可用于分离液体中的细菌和颗粒,以浓缩所需要的物质^[26]。Nedzarek 等^[27]利用微滤技术处理腌制过鲱鱼的卤水,以分离卤水中的蛋白质和肽,处理过的卤水可以重复使用,减少了蛋白质的损失。

与微滤分离过程相似,超滤也是通过膜孔的筛分作用将料液中大于膜孔的大分子溶质进行截留,使溶质与溶剂及小分子组分分离。超滤是介于微滤和纳滤之间的膜过滤过程,所用膜的孔径为 1 nm~0.5 μm 。超滤可用于净化、分离和浓缩溶液中的成分,超滤分离的典型分子量范围为 10000~300000 Da。

纳滤是在 20 世纪 80 年代后期开发的一种新型膜分离技术。纳滤膜截留分子量介于反渗透和超滤技术截留分子量之间的化合物,截留率>95% 的纳滤膜截留的最小分子直径约为 1 nm。纳滤膜的迁移机理尚未确定,目前大多数学者认为纳滤膜的分离主要是筛分效应和 Donnan 效应两种特征。纳滤膜可用于分离活性肽,肽分子含有游离羧基和氨基,在等电点上呈电中性的,一些纳滤膜具有静电官能团,调节溶液的 pH 可以使这种纳滤膜捕获离子而不捕获电中性分子,具有相似分子量但不同等电点的肽可使用此类膜分离^[28]。

反渗透是 20 世纪 60 年代初研制的利用压差的分离技术,当膜两侧的静压差大于溶液的渗透压时,溶剂分子将从溶质浓度高的溶液侧透过膜流向溶质浓度低的一侧。在海洋肽生产工艺中,反渗透技术主要被用于对肽溶液进行脱盐^[29]。

采用膜技术分离生物活性肽具有快速、经济和环保的优点。然而,膜过滤技术也存在一些问题,如半透膜和疏水肽之间的相互作用、膜的污染和堵塞、难以获得纯肽以及样品需求量大等。为了解决这些问题,可以将膜过滤技术与色谱技术相结合,用于生产高纯度功能肽^[30]。

3 海洋多肽的生物活性

3.1 血管紧张素转换酶(ACE)抑制活性

高血压是最常见的心血管疾病之一^[31]。血管紧张素转换酶(ACE)是肾素-血管紧张素系统(RAS)中的关键酶,在调节血压方面起着至关重要的作用^[32]。ACE 可以使缓激肽(激肽释放酶——激肽系统中的一种降压肽)降解,引起血压升高;另外,还能将无活性的血管紧张素 I,转化为有效的血管收缩剂血管紧张素 II,血管紧张素 II 还能刺激肾上腺皮质合成和释放醛固酮,导致血压升高。

高血压治疗的有效方法之一是抑制 ACE 的活性^[33],ACE 抑制剂阻断血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II,导致血管松弛和血压下降^[34]。目前已有药企

合成了各种 ACE 抑制剂用于治疗高血压,但这些药物具有不良副作用,需要开发天然食物来源的 ACE 抑制剂来控制高血压^[35]。肽对 ACE 活性的抑制能力主要取决于 C 端氨基酸,C 端含有芳香族氨基酸(Trp、Phe 和 Tyr)或疏水氨基酸残基,N 端为脂肪族氨基酸(Val、Ile 和 Leu)的多肽具有较强的 ACE 抑制活性。与合成药物相比,从食品蛋白质中获得的肽更安全且易被吸收,目前已从许多海洋生物的蛋白质水解物中分离出具有 ACE 抑制活性的肽,主要为贝类(牡蛎^[36-37]、贻贝^[38]、杂色蛤^[39])、沙丁鱼^[40]、紫菜^[41]等降血压肽。具有 ACE 抑制活性的海洋多肽来源及其作用效果如表 1 所示。

肽的结构对其 ACE 抑制活性有重要作用,链长、氨基酸组成和序列是 ACE 抑制肽的主要特征。ACE 抑制肽通常是含有 2~12 个氨基酸的短链肽,结晶学研究表明大肽不能与 ACE 的活性位点结合。然而,长链肽在某些情况下可能具有 ACE 抑制活性,因为氨基酸组成可能比肽的长度更重要。这可能与氨基酸类型有关,因为含有酸性氨基酸(Asp 和 Glu)的肽具有螯合锌原子的净负电荷,而锌原子是维持 ACE 活性的必需成分^[42]。ACE 抑制肽的 C 端和/或 N 端由特定氨基酸残基组成,C 端含有芳香族氨基酸(Tyr、Phe、Trp、Pro),N 端包含脂肪族氨基酸(Val、Ile、Lys、Arg 和 Leu)^[43]。对长链肽而言,

ACE 抑制作用与 C 端氨基酸有关^[44]。

3.2 抗氧化活性

自由基介导的脂质氧化、氧化应激和抗氧化剂是当前许多研究领域广泛关注的问题。许多疾病与自由基攻击膜脂、蛋白质和 DNA 有关,如糖尿病、癌症、神经退行性疾病和炎症^[45-46]。此外,食品中脂质的氧化和过氧化会导致食品变质。许多合成抗氧化剂,如丁基羟基苯甲醚(BHA)和丁基羟基甲苯(BHT)被用作食品添加剂,以防止变质。这些合成抗氧化剂比天然抗氧化剂(如 α -生育酚和抗坏血酸)具有更强的抗氧化活性,但由于其具有细胞毒性和 DNA 损伤作用,这些化合物的使用已开始受到限制^[47,24]。因此,能够用于食品和医药材料的天然来源的抗氧化剂化合物引起了人们的广泛关注。研究表明,食物来源的蛋白质水解物除了具有营养特性外,还具有抗氧化功能,这些功能与生物活性肽有关,目前海洋类抗氧化肽的来源主要为藻类(紫菜^[48]、盐藻^[49]、掌形藻^[50]、小球藻^[51])、贝类(鲍鱼^[52]、文蛤^[53])以及罗非鱼^[54]。具有抗氧化活性的海洋多肽来源及其作用效果如表 2 所示。

到目前为止,抗氧化肽的构效关系仍不明确。一般认为分子量大小,特别是在 500~3000 Da 范围内,是影响蛋白质水解物抗氧化活性的关键因素,较小的分子量以及序列中的疏水和/或芳香氨基酸可能

表 1 海洋多肽的 ACE 抑制活性及作用效果

Table 1 ACE inhibitory activity and effect of marine peptides

海洋肽来源	水解用酶种	ACE抑制活性评价方式	作用效果	参考文献
牡蛎粉	胰蛋白酶	测试小肽体外对ACE的抑制作用,并采用大鼠模型进行体内降压作用分析	IC ₅₀ 和对大鼠血压调节幅度分别为1.97 mg/mL、-27.97%	[36]
珍珠牡蛎壳	酸性蛋白酶Orientase 22 BF	得到一条序列为Gly-Val-Gly-Ser-Pro-Tyr的六肽,测试其对ACE的抑制作用	IC ₅₀ 为5.82 μ g/mL	[37]
贻贝	碱性蛋白酶	测试短肽体外对ACE的抑制作用	IC ₅₀ 为1.97 mg/mL	[38]
杂色蛤	木瓜蛋白酶	测定酶解产物对 ACE 酶的抑制率	肽浓度为2 mg/mL时,对ACE的抑制率可达51.3%	[39]
沙丁鱼	动物蛋白水解酶、风味蛋白酶	纯化水解物得到两条序列分别为Lys-Val-Glu-Pro-Leu-Pro和Pro-Ala-Leu的肽链,测试其体外ACE 抑制率	ACE抑制率分别为34.1%和41.6%	[40]
紫菜	胰蛋白酶	测定酶解液上清液对ACE 抑制率	ACE抑制率93.41%	[41]

表 2 海洋多肽的抗氧化活性及作用效果

Table 2 Antioxidant activity and effect of marine peptides

海洋肽来源	水解用酶种/肽获取方式	抗氧化活性评价方式	作用效果	参考文献
紫菜	酸性蛋白酶	小肽对DPPH·和·OH的清除率,对H ₂ O ₂ 诱导HepG2细胞氧化损伤的影响	对DPPH·和·OH的清除率最高分别可达73.32%、30.15%, HepG2细胞SOD的活性↑,MDA的含量↓	[48]
盐藻	胃蛋白酶	对DPPH·的清除率	清除率可达86.5%	[49]
掌形藻	盐酸水解法	纯化出一条抗氧化肽Ser-Asp-Ile-Thr-Arg-Pro-Gly-Gly-Asn-Met,测定其ORAC和FRAP	ORAC和FRAP分别为152.43±2.73和21.23±0.90 nmol TE/ μ mol	[50]
小球藻	胰蛋白酶	对DPPH·的清除率	清除率最高可达70.57%	[51]
鲍鱼	风味蛋白酶	对DPPH·、·OH、ABTS ⁺ 的清除率	清除DPPH·、·OH、ABTS ⁺ 的IC ₅₀ 分别为4.61、16.24和17.41 mg/mL	[52]
文蛤	风味蛋白酶、中性蛋白酶	肽DPPH·、·OH、·O ₂ 的清除率	最大清除率分别为53.5%、49%、47.7%	[53]
罗非鱼	木瓜蛋白酶	肽对DPPH·、·OH、的清除率	最大清除率分别为84.61%、50.01%	[54]

注: 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH·); 羟基自由基(·OH); 2, 2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐阳离子自由基(ABTS⁺); 超氧阴离子自由基(·O₂); 超氧化物歧化酶(SOD); 丙二醛(MDA); 氧自由基吸收能力(ORAC); 铁还原抗氧化能力(FRAP)。

有助于增强多肽的抗氧化活性^[55-56]。肽的结构(氨基酸序列)与其活性之间也有重要联系,多肽 N 端位置含有的疏水性氨基酸可以提高其抗氧化能力^[57];含有组氨酸的多肽具有很强的抗氧化活性,这可能与咪唑环的螯合和捕获自由基的能力有关。

3.3 抗肿瘤活性

癌症是由正常细胞异常增殖引起的疾病,通常表现为细胞生长失控,最终损害正常细胞功能。海洋肽通过诱导癌细胞凋亡、下调 PI3K/Akt 信号通路、抑制癌细胞增殖和促进血管生成而具有显著的抗癌活性^[58]。与药物相比,海洋多肽分子量小、易被吸收、特异性强,近几年在癌症治疗方面备受关注。从海洋生物中提取的抗癌肽大都是富含 D-氨基酸、 α -氨基酸、 β -氨基酸、羧酸和噻吩的小环肽,有些还含有烯键和炔键,这大大提高了肽的稳定性和生物利用度^[2]。海洋类抗肿瘤肽的来源主要为藻类(螺旋藻^[59]、紫菜^[60])、贝类(杂色蛤^[61]、牡蛎^[62])和海绵^[63]。具有抗肿瘤活性的海洋多肽来源及其作用效果如表 3 所示。

与健康细胞相比,癌细胞通常含有更多的微绒毛,从而使细胞表面积增大,这种特性可以促进抗肿瘤肽与癌细胞结合。因此,抗肿瘤肽与细胞膜组分之间的静电相互作用被认为是这些肽选择性杀伤癌细胞的主要原因。除了理化性质外,肽的二级结构对于细胞表面相互作用(包括肽结构取向)也是必不可少的。肽的取向可以增强与癌细胞膜靶向相互作用的表面活性,相互作用的角度导致癌细胞膜上脂质堆积不稳定,从而导致膜渗透^[64-65]。

近年来在海洋生物中发现了近百种具有抗肿瘤作用的海洋多肽,其中 90% 的多肽是通过诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤活性的^[66]。脱氢膜海鞘素 B(Dehydrididemnin B)为脂肽类环状缩肽,通过靶向细胞凋亡机制发挥抗肿瘤作用,在低浓度时(0.01% $\mu\text{g/mL}$)对乳腺癌、卵巢癌、肾癌及肉瘤等均有明显活性,其免疫抑制活性与目前临床上常用的免疫抑制剂类固醇激素相比要高出 100~1000 倍^[67]。海洋多肽的来源是困扰多肽药物发展的主要问题,许多海洋多肽只

能从一种物种中获得。例如,Dehydrididemnin B 只能从膜海鞘(*Trididemnum solidum*)中提取到^[68]。多肽药物比小分子化药结构复杂,合成成本较高,需要开发合适的化学合成技术解决多肽药物来源困难的问题。

3.4 其他生物活性

从不同海洋生物中分离的肽结构多样,因此具有多种功能活性。Hajfathalian 等^[69]的研究强调了不同来源的海洋多肽通过不同机制具有抗遗传毒性/抗突变、抗贫血、抗肥胖、免疫调节和细胞调节的潜力。Fan 等^[70]评估了从螺旋藻中获得的肽的抗肥胖作用,结果表明四种肽(NALKCCHSCPA、LNPSV-CDCMMKAAR、NPVWKRK 和 CANPHELPNK)均对脂肪细胞增殖具有显著的抑制作用(32.3%~60.1%)。陶雅浩等^[71]发现牡蛎肽可以提高小鼠的运动耐力,增强蛋白质分解供能能力,减少运动过程中对骨骼肌的损伤。在另一项研究中,Narayanasamy 等^[72]证明了从海蟹腿部肌肉中分离的肽(LGLGL-GAAVL, M_w 713.5 Da)在脂多糖诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞中对 COX-2 的抗炎活性。

4 结语

海洋活性肽具有药理稳定性、强效性、特异性和高度安全性的特点,对防治癌症、艾滋病、心脑血管病、老年病等疑难病症具有独特效果,已成为开发新药、特药的主要方向之一。人体必需的氨基酸都可以从海洋生物中提取,而海洋生物中的氨基酸资源极其丰富。海洋活性肽结构独特,许多化合物具有在陆地上从未发现过的新型骨架结构。然而,到目前为止,关于从海洋生物中分离具有高产量和生物活性的新肽的研究还很有限。开发基于纳米技术的新技术,将海洋肽封装在各种纳米结构中,如纳米乳液、纳米脂质体和聚合物纳米颗粒,以增强其体内稳定性和生物利用度尤为重要。海洋肽的研究方向应侧重于寻求具有更高选择性和分辨率的分离、纯化技术,以获取高收率、低成本的新型肽。此外,应加强海洋多肽在人类临床试验方面的应用,以开发多肽类药物和功能性食品。

表 3 海洋多肽的抗肿瘤活性及作用效果
Table 3 Antitumor activity and effect of marine peptides

海洋肽来源	水解用酶种/肽获取方式	抗肿瘤活性评价方式	作用效果	参考文献
螺旋藻	胰蛋白酶:胃蛋白酶:胰凝乳蛋白酶=6:3:5	多肽对肝癌细胞株HepG-2和乳腺癌细胞株MCF-7的生长抑制作用	多肽浓度1 mg/mL,对MCF-7、HepG-2的抑制率分别为94.43%和91.13%	[59]
紫菜	木瓜蛋白酶	多肽对肝癌细胞株HepG-2和乳腺癌细胞株MCF-7的生长抑制作用	多肽浓度1 mg/mL,对MCF-7和HepG-2的抑制率分别为90.6%、90.05%	[60]
杂色蛤	胰蛋白酶	测定多肽对前列腺癌细胞PC-3、DU145增殖抑制率;测定诱导PC-3、DU145细胞凋亡;检测体外PC-3、DU145的凋亡率。	多肽浓度30 mg/mL时,对PC-3、DU145的抑制率分别为94.30%、94.40%;细胞晚期凋亡,细胞核破碎;晚期凋亡率分别为25.56%、22.97%	[61]
牡蛎	动物蛋白水解复合酶	多肽对鼻咽癌细胞CNE-1的增殖抑制率	多肽浓度0.5 mg/mL,对CNE-1的抑制率为88.34%	[62]
海绵	液相肽技术	多肽对子宫颈癌细胞Hela的增殖抑制率	多肽浓度30 $\mu\text{g/mL}$,癌细胞存活率降低33.7%	[63]

参考文献

- [1] 杨梦雪. 蛋白质和多肽药物稳定性研究进展[J]. *当代化工研究*, 2017, 11: 133-136. [YANG Mengxue. Research progress on drug stability of proteins and peptides[J]. *Contemporary Chemical Research*, 2017, 11: 133-136.]
- [2] JIN Q H, PENG D X, ZHENG Z J. Advances in extracting and understanding the bioactivities of marine organism peptides: A review[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 11: 118-126.
- [3] WANG X, YU H, XING R, et al. Characterization, preparation, and purification of marine bioactive peptides[J]. *BioMed Research International*, 2017, 143: 974-989.
- [4] WISUTHIPHAET N, KLINCHAN S, KONGRUANG S. Production of fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis[J]. *International Journal of Applied Science and Technology*, 2015, 4: 261-270.
- [5] GAO R C, YU Q Q, SHEN Y, et al. Production, bioactive properties, and potential applications of fish protein hydrolysates: Developments and challenges[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 110: 687-699.
- [6] PETROVA I, TOLSTOREBROV I, EIKEVIK T M. Production of fish protein hydrolysates step by step: Technological aspects, equipment used, major energy costs and methods of their minimizing[J]. *International Aquatic Research*, 2018, 10: 223-241.
- [7] WANG L H, DONG C, LI X, et al. Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources (Review)[J]. *Oncology Reports*, 2017, 38(2): 637-651.
- [8] KHIARI Z, NDAGIJIMANA M, BETTI M. Low molecular weight bioactive peptides derived from the enzymatic hydrolysis of collagen after isoelectric solubilization/precipitation process of Turkey by-products[J]. *Poultry Science*, 2014, 93(9): 2347-2362.
- [9] 邱娟, 沈建东, 翁凌, 等. 利用牡蛎制备 ACE 抑制肽的工艺优化[J]. *食品科学*, 2017, 38(16): 165-172. [QIU Juan, SHEN Jiandong, WENG Ling, et al. Optimization of preparation of angiotensin- I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[J]. *Food Science*, 2017, 38(16): 165-172.]
- [10] ZOU Y, SHAHIDI F, SHI H B, et al. Values-added utilization of protein and hydrolysates from animal processing by-product livers: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 110: 432-442.
- [11] DALIRI E M, OH D H, LEE B H. Bioactive peptides[J]. *Foods*, 2017, 6(5): 32.
- [12] 白洁. 发酵型牡蛎调味液的研制及其营养价值研究[J]. *中国调味品*, 2019, 44(11): 101-104. [BAI Jie. Study on the development and nutritional value of fermented oyster flavoring liquid[J]. *China Condiments*, 2019, 44(11): 101-104.]
- [13] 闫译文. 不同菌种发酵对海参内脏酶解液风味的影响及抗肿瘤活性研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2021. [YAN Zewen. Effects of different strains fermentation on flavor and antitumor activity of enzymatic hydrolysate of sea cucumber viscera[D]. Yantai: Yantai University, 2021.]
- [14] 江敏, 胡小军, 王标诗, 等. 发酵法制备马氏珠母贝抗氧化多肽工艺及清除自由基的研究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(4): 32-38. [JIANG Min, HU Xiaojun, WANG Biaoshi, et al. Fermentation technology and free radical scavenging of *Pinctada martensii* antioxidant polypeptides[J]. *Food and Fermentation Technology*, 2017, 53(4): 32-38.]
- [15] 李文欣, 李海静, 张立娟, 等. 超声辅助酶法制备海参性腺 ACE 抑制肽及其模拟体内消化稳定性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 82(16): 82-91. [LI Wenxin, LI Haijing, ZHANG Lijuan, et al. Preparation of ACE-inhibitory peptides from sea cucumber gonad via ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis and research on their stability in simulated internal digestion[J]. *Food Research and Development*, 2021, 82(16): 82-91.]
- [16] 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. [ZHOU Yanfang, YANG Qizhen. Ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis of mackerel to prepare antioxidant peptides[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2018, 24(3): 20-24.]
- [17] 蓝尉冰, 韩鑫, 陈冠余, 等. 超声波预处理协同酶提取近江牡蛎活性肽研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(8): 48-52. [LAN Weibing, HAN Xin, CHEN Guanyu, et al. Research on extraction of bioactive peptides from *Ostrea rivularis* Gould by ultrasonic pretreatment combined with enzyme[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(8): 48-52.]
- [18] LIU S X, LI Z H, YU B, et al. Recent advances on protein separation and purification methods[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2020, 284: 102-124.
- [19] CALTABIANO A M, FOLEY J P, STRIEGEL A M. Aqueous size-exclusion chromatography of polyelectrolytes on reversed-phase and hydrophilic interaction chromatography columns[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1532: 161-234.
- [20] THOMPSON S A, TACHIBANA K, NAKANISHI K, et al. Melittin-like peptides from the shark-repelling defense secretion of the sole *Pardachirus pavoninus*[J]. *Science*, 1986, 233: 341-343.
- [21] LOU Y, JI G, LIU Q, et al. Secretory expression and scale-up production of recombinant human thyroid peroxidase via baculovirus/insect cell system in a wave-type bioreactor[J]. *Protein Expression and Purification*, 2018, 149: 7-18.
- [22] SMITH D M. Protein separation and characterization procedures[J]. *Food Analysis*, Springer, 2017, 59: 431-453.
- [23] KIM S S, AHN C B, MOON S W, et al. Purification and antioxidant activities of peptides from sea squirt (*Halocynthia roretzi*) protein hydrolysates using pepsin hydrolysis[J]. *Food Bioscience*, 2018, 25: 128-133.
- [24] BOUGATEF A, NEDJAR-ARROUME N, MANNI L, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins[J]. *Food Chemistry*, 2010, 118: 559-565.
- [25] DLASK O, VACLAVÍKOVÁ N. Electrodialysis with ultrafiltration membranes for peptide separation[J]. *Chemical Papers*, 2018, 72: 261-271.
- [26] DRIOLI E, STANKIEWICZ A I, MACEDONIO F. Membrane engineering in process intensification-An overview[J]. *Journal of Membrane Science*, 2011, 380: 1-8.

- [27] NEDZAREK A, DROST A, TÓRZ A, et al. The use of a micro- and ultrafiltration cascade system for the recovery of protein, fat, and purified marinating brine from brine used for herring marination[J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2017, 106: 82–90.
- [28] SAIDI S, SAOUDI M, BEN A R, et al. Valorisation of tuna processing waste biomass: Isolation, purification and characterisation of four novel antioxidant peptides from tuna by-product hydrolysate[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25: 17383–17392.
- [29] 包玉刚. 鲢鱼蒸煮液电渗析脱盐及反渗透浓缩技术研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2016. [BAO Yugang. Study on electro-dialysis desalination and reverse osmosis concentration of anchovy cooking liquid[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2016.]
- [30] 王金秋, 陈加传, 李柯萌, 等. 生物活性蛋白质分离纯化技术研究进展[J]. *食品工业*, 2018, 39(5): 259–263. [WANG Jinqu, CHEN Jiachuan, LI Kemeng, et al. Research progress in separation and purification of biologically active proteins[J]. *Food Industry*, 2018, 39(5): 259–263.]
- [31] COLLINS K G, FITZGERALD G F, STANTON C, et al. Looking beyond the terrestrial: The potential of seaweed derived bioactives to treat non-communicable diseases[J]. *Marine Drugs*, 2016, 14: 60–68.
- [32] SHI Y H, LI G H, LE G W, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects[J]. *Nutrition Research*, 2004, 24: 469–486.
- [33] 李勇, 范维琥. ACE 抑制剂和血管紧张素 II 受体阻断剂在当前高血压治疗中的地位[J]. *世界临床药物*, 2003, 5: 272–277. [LI Yong, FAN Weihu. The status of ACE inhibitors and angiotensin II receptor blockers in the current treatment of hypertension[J]. *World Clinical Drugs*, 2003, 5: 272–277.]
- [34] CHEUNG R, NG T, WONG J. Marine peptides: Bioactivities and applications[J]. *Marine Drugs*, 2015, 13: 4006–4018.
- [35] TORRUCO-UCO J, CHEL-GUERRERO L, MARTÍNEZ-AYALA A, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42: 1597–1604.
- [36] 周自福. 牡蛎抗高血压生物活性肽制备与活性分析[D]. 上海: 上海交通大学, 2015. [ZHOU Zifu. Preparation and activity analysis of oyster antihypertensive bioactive peptides[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2015.]
- [37] SASAKI C, TAMURAB S, TOHSEA R, et al. Isolation and identification of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from pearl oyster (*Pinctada fucata*) shell protein hydrolysate[J]. *Process Biochemistry*, 2019, 77: 137–142.
- [38] 张艳萍, 戴志远, 张虹. 贻贝中 ACE 抑制活性肽的酶解制备及表征[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(1): 51–59. [ZHANG Yanping, DAI Zhiyuan, ZHANG Hong. Preparation and characterization of ACE inhibitory active peptides from mussels by enzymatic hydrolysis[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2011, 11(1): 51–59.]
- [39] 付金霞. 杂色蛤 ACE 抑制活性肽的制备及分离纯化[D]. 大连: 大连海洋大学, 2015. [FU Jinxia. Preparation, separation and purification of ACE inhibitory peptides from clam variegata[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2015.]
- [40] 王晶晶. 远东拟沙丁鱼 ACE 抑制肽的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2016. [WANG Jingjing. Study on ACE-inhibiting peptides from Far East Sardines[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2016.]
- [41] 雷桂洁. 紫菜 ACE 抑制肽提取纯化与结构鉴定及饮料应用研究[D]. 厦门: 集美大学, 2016. [LEI Guijie. Extraction, purification, structure identification and beverage application research of laver ACE inhibitory peptide[D]. Xiamen: Jimei University, 2016.]
- [42] CEREN D D, AYSUN Y, FUNDA K G, et al. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from plants[J]. *Nutrients*, 2017, 9(4): 316–326.
- [43] GUANG C, PHILLIPS R D. Plant food-derived angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2009, 57: 5113–5120.
- [44] IWANIAK A, MINKIEWICZ P, DAREWICZ M. Food-originating ACE inhibitors, including antihypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(2): 114–134.
- [45] BUTTERFIELD D A, CASTENGA A, POCERNICH C B, et al. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, 13: 444–461.
- [46] PRYOR W A, ANN N Y. Free radical biology: Xenobiotics, cancer, and aging[J]. *Academic Science*, 1982, 393: 1–22.
- [47] ITO N, HIROSE M, FUKUSHIMA S, et al. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenic[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1986, 24: 1099–1102.
- [48] 胡晓, 于娇, 陈胜军, 等. 末水坛紫菜蛋白源抗氧化肽的制备、分离纯化与体外抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2020, 41(16): 37–44. [HU Xiao, YU Jiao, CHEN Shengjun, et al. Preparation and purification of antioxidant peptide from *Porphyra haitanensis* protein and its antioxidant activities *in vitro*[J]. *Food Science*, 2020, 41(16): 37–44.]
- [49] XIA E, ZHAI L, HUANG Z, et al. Optimization and identification of antioxidant peptide from underutilized *Dunaliella salina* protein: Extraction, *in vitro* gastrointestinal digestion, and fractionation[J]. *BioMed Research International*, 2019, 32: 642–651.
- [50] HARNEDY P A, O'KEEFFE M B, FITZGERALD R J. Fractionation and identification of antioxidant peptides from an enzymatically hydrolysed *Palmaria palmata* protein isolate[J]. *Food Research International*, 2017, 100: 416–422.
- [51] 郑淳坚, 郑虹君, 陈容, 等. 酶解制备小球藻多肽及其抗氧化与稳定性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 6: 103–108. [ZHENG Chunjian, ZHENG Hongjun, CHEN Rong, et al. Preparation of chlorella peptide by enzymatic hydrolysis and study of its antioxidant activity and stability[J]. *China Food Additives*, 2021, 6: 103–108.]

- [52] 田裕心, 彭亚博, 姚昱锬, 等. 响应面优化鲍鱼内脏抗氧化肽制备工艺及其活性[J]. 食品工业, 2019, 40(4): 110–115. [TIAN Yuxin, PENG Yabo, YAO Yukun, et al. Response surface methodology to optimize the preparation process and activity of abalone visceral antioxidant peptides[J]. Food Industry, 2019, 40(4): 110–115.]
- [53] 胡大伟, 李恒, 蒋敏, 等. 文蛤酶解产物的抗氧化活性评价及其组成分析[J]. 分析与检测, 2019, 42(12): 207–214. [HU Dawei, LI Heng, JIANG Min, et al. Evaluation of antioxidant activity and composition analysis of enzymatic hydrolysates of clams[J]. Analysis and Detection, 2019, 42(12): 207–214.]
- [54] 胡晓, 周雅, 陈星星, 等. 罗非鱼肌浆蛋白源抗氧化肽的制备、分离纯化及其体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2021, 42(3): 63–70. [HU Xiao, ZHOU Ya, CHEN Xingxing, et al. Preparation, purification and *in vitro* evaluation of antioxidant peptides from tilapia (*Oreochromis niloticus*) sarcoplasmic protein[J]. Food Science, 2021, 42(3): 63–70.]
- [55] JE J Y, PARK P J, KIM S K. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate[J]. Food Research International, 2005, 38: 45–50.
- [56] KIM S, JE J, KIM S. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18: 31–38.
- [57] NALINANON S, BENJAKUL S, KISHIMURA H, et al. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna[J]. Food Chemistry, 2011, 124: 1354–1362.
- [58] KARANAM G, ARUMUGAM M K, SIRPU NATESH N. Anticancer effect of marine sponge-associated *Bacillus pumilus* AMK1 derived dipeptide cyclo (-Pro-Tyr) in human liver cancer cell line through apoptosis and G2/M phase arrest[J]. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 2020, 26: 445–457.
- [59] 王竹君, 张学武. 螺旋藻水解肽的制备及其抗肿瘤活性研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(11): 25–32. [WANG Zhujun, ZHANG Xuewu. Preparation of bioactive peptides derived from *Spirulina platensis* and their anti-tumor activities[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(11): 25–32.]
- [60] 白露, 范晓丹, 张学武. 坛紫菜木瓜蛋白酶水解肽的抗肿瘤活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 37(9): 352–362. [BAI Lu, FAN Xiaodan, ZHANG Xuewu. Study on the anti-tumor activity of papain hydrolysis peptides derived from *Porphyra haitanensis*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 37(9): 352–362.]
- [61] 杨律. 菲律宾蛤仔酶解寡肽抗癌研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2013. [YANG Lü. Research on the anti-cancer effect of enzymatic hydrolyzed oligopeptides of clam clam from the Philippines[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2013.]
- [62] 陈艳辉, 李超柱, 黎丹戎. 动物蛋白酶酶解制备广西产牡蛎肉抗肿瘤活性肽的实验研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 167–169. [CHEN Yanhui, LI Chaozhu, LI Danrong. Experimental study on preparation of anti-tumor peptides from Guangxi oyster meat by enzymatic hydrolysis of animal protease[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(8): 167–169.]
- [63] ANAND M, ALAGAR M, RANJITHA J, et al. Total synthesis and anticancer activity of a cyclic heptapeptide from marine sponge using water soluble peptide coupling agent EDC[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2019, 12: 2782–2787.
- [64] CICERO A F, FOGACCI F, COLLETTI A. Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: A narrative review[J]. British Journal of Pharmacology, 2017, 174: 1378–1394.
- [65] CHIANGJONG W, CHUTIPONGTANATE S, HONGENG S. Anticancer peptide: Physicochemical property, functional aspect and trend in clinical application[J]. International Journal of Oncology, 2020, 57: 678–696.
- [66] ZHENG L H, WANG Y J, SHENG J, et al. Antitumor peptides from marine organisms[J]. Marine Drugs, 2011, 9(10): 1840–1859.
- [67] CELLI N, GALLARDO A, ROSSI C, et al. Analysis of aplidine (dehydrodidemnin B), a new marine-derived depsipeptide, in rat biological fluids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1999, 731(2): 335–343.
- [68] RINEHART K L, GLOER J B, HUGHES R G, et al. Didemnins: Antiviral and antitumor depsipeptides from a Caribbean tunicate[J]. Science, 1981, 212(4497): 933–935.
- [69] HAJFATHALIAN M, GHELICHI S, GARCÍA-MORENO P J, et al. Peptides: Production, bioactivity, functionality, and applications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58: 3097–3129.
- [70] FAN X, CUI Y, ZHANG R, et al. Purification and identification of antiobesity peptides derived from *Spirulina platensis*[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47: 350–360.
- [71] 陶雅浩, 金其贯, 徐昊然. 牡蛎肽补充和运动训练对小鼠运动耐力的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(3): 57–63. [TAO Yahao, JIN Qiguan, XU Haoran. Effects of oyster peptide supplementation and exercise training on exercise endurance in mice[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(3): 57–63.]
- [72] NARAYANASAMY A, BALDE A, RAGHAVENDER P, et al. Isolation of marine crab (*Charybdis natator*) leg muscle peptide and its anti-inflammatory effects on macrophage cells[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2020, 25: 101577.