

# 鹿源生物活性肽的研究进展

何贵祥, 赵全民\*, 赵岩, 宗颖

(吉林农业大学中药材学院, 长春 130118)

**摘要:** 生物活性肽在食品和医药领域的广泛应用为鹿产品的深加工提供了新思路、新挑战, 如何从鹿茸及鹿副产品中提取分离纯化出具有生物活性的鹿源活性肽并转化为具有高附加值的产品已成为当前亟须解决的问题。该文综述了鹿源生物活性肽的制备分离、纯化及鉴定等研究方法, 阐述了鹿源生物活性肽的抗氧化、增强免疫调节、抗炎、抗菌、抗癌、降低高血压、治疗骨质疏松等多种功能活性的研究进展, 最后对目前鹿源生物活性肽研究中发现的问题进行总结并提出展望, 旨在为鹿源生物活性肽的功能活性研究和产品开发提供参考。

**关键词:** 鹿; 生物活性肽; 分离提取; 酶解; 功能活性

## Research progress of deer-derived bioactive peptides

HE Gui-Xiang, ZHAO Quan-Min\*, ZHAO Yan, ZONG Ying

(College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**ABSTRACT:** The wide application of bioactive peptides in the fields of food and medicine provides new ideas and new challenges for the deep processing of deer products. How to extract, separate and purify bioactive deer-derived active peptides from deer antler and deer by-products and convert them into high value-added peptides products have become an urgent problem to be solved. This paper reviewed the research methods of preparation, separation, purification and identification of deer-derived bioactive peptides. The research progress of various functional activities of deer-derived bioactive peptides, such as antioxidant, enhanced immune regulation, anti-inflammatory, antibacterial, anti-cancer, reduced hypertension, and treatment of osteoporosis, was expounded. Finally, the problems found in the current research on deer-derived bioactive peptides are summarized and prospects are put forward, in order to provide reference for the functional activity research and product development of deer-derived bioactive peptides.

**KEY WORDS:** deer; bioactive peptide; separation and extraction; enzymatic hydrolysis; functional activity

## 0 引言

中国是世界上养鹿最早的国家, 可追溯到公元前 13 世纪殷商时期, 梅花鹿已用于观赏、食用和祭祀。我国同时也是养鹿大国, 目前驯养鹿的种类有梅花鹿、马鹿、麋鹿、水鹿和坡鹿等, 数量已达 100 余万头, 鹿茸年产量可

达 350 t<sup>[1]</sup>。鹿类药用历史悠久, 早在《神农本草经》中就有相关的药性归经记载, 是享誉国内外的食药两用的特种经济动物<sup>[2]</sup>。现代药理研究证明鹿茸具有提高机体免疫能力、抗癌、抗疲劳、改善造血功能、促进生长发育等各种医疗保健功能, 除鹿茸外, 鹿的其他副产品, 如鹿角盘、鹿鞭、鹿骨、鹿尾、鹿胎、鹿血等均为重要的营养保健品。

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2018YFC1706603-02)

**Fund:** Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1706603-02)

\***通信作者:** 赵全民, 博士, 副教授, 主要研究方向为特种经济动物养殖及产品研发。E-mail: 13863227712@163.com

\***Corresponding author:** ZHAO Quan-Min, Ph.D, Associate Professor, College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural University, 2888 Xincheng Street, Changchun 130118, China. E-mail: 13863227712@163.com

然而,我国仅将鹿茸作为主要产品开发,鹿副产品从原料到产品开发,品质均参差不齐,质量堪忧。鹿相关的药品、食品及保健品企业众多,但由于缺乏技术支撑,导致鹿产品深加工研究滞后,没有高技术含量和高附加值的名牌产品,所以我国鹿茸大部分以原料形式出口,大大降低了鹿产业的价值。2020年5月29日,梅花鹿首次被列入《国家畜禽遗传资源目录》<sup>[3]</sup>,国家政策的完善为梅花鹿产业的发展提供了新的机遇,也促进了鹿产业的进一步发展。

生物活性肽可分为内源生物活性肽和外源生物活性肽,是一类参与生命活动调节且具有调节机体新陈代谢的肽类物质<sup>[4]</sup>。目前主要研究的是外源生物活性肽,即从食品来源获得的生物活性肽,这些生物活性肽具有选择性生理作用、易消化吸收、无毒副作用等突出优势,被广泛应用于食品和医药中。生物活性肽的研究领域发展很快,越来越多的生物活性肽作为药品、保健品被开发出来,实现工业化生产,并取得了巨大的经济效益。生物活性肽的提取、分离、纯化、合成及功能评价,已成为人们研究的热点,目前具有生物活性肽发现来源主要为植物及乳制品,从鹿茸及鹿副产品的多种生物活性来看,鹿可作为生物活性肽的良好来源应用于医药和食品领域。以鹿茸及鹿副产品为原料制备生物活性肽,不仅能开发食品、保健品和药品等高附加值产品,而且能充分利用鹿类资源,提高鹿产业价值,促进我国鹿产业发展。

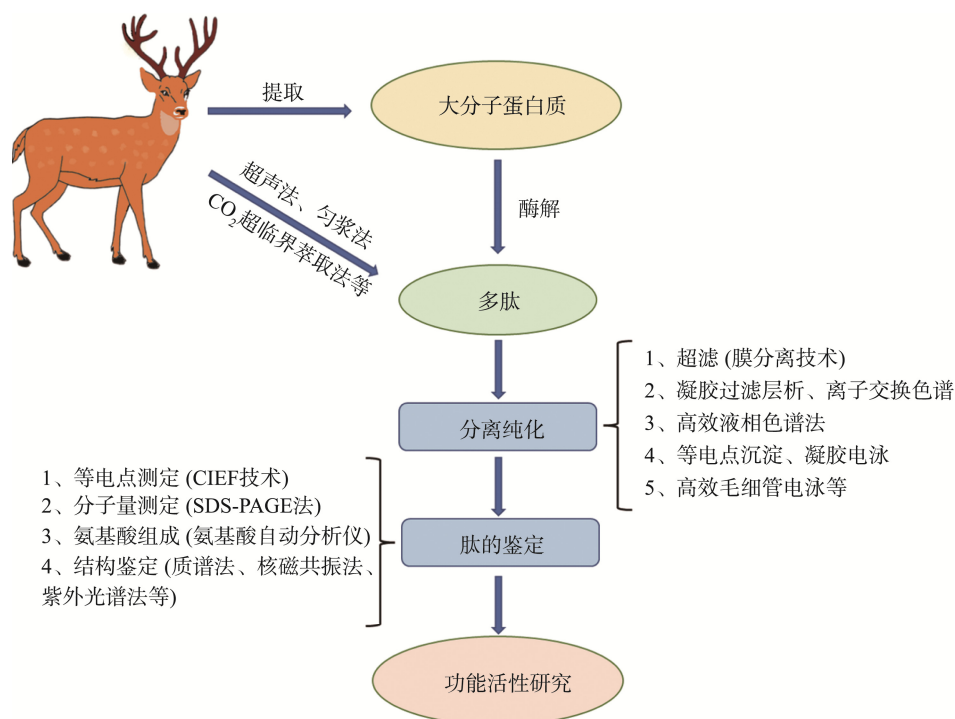
本文从鹿源生物活性肽的分离纯化与鉴定、活性类型及结构特征等方面进行综述,详细地综述了鹿源生物活性肽的药理活性,为鹿源活性肽的继续开发和鹿产品高值化利用提供参考。

## 1 鹿源生物活性肽的制备和分离

鹿源生物活性肽主要通过天然鹿源蛋白的降解产物经过分离纯化后获得,其制备常用的方法主要包括简单溶剂萃取法和酶解法,为了进一步明确提取物的活性成分及部位,在提取后会进一步通过超滤法、层析法、高效液相色谱法、电泳法等技术进行分离和纯化,在实际应用中,还要考虑具体操作条件如温度、时间、pH等,故常常采用上述几种方法的组合对不同分子量的多肽进行分离纯化。制备鹿源活性肽的基本流程如图1所示。

### 1.1 简单溶剂萃取法

简单溶剂萃取法是使用最广泛且较受欢迎的方法,包括超纯水提取法、弱酸溶液提取法、弱碱溶液提取法、盐溶液提取法和醇溶液提取法。在传统中药的加工炮制中,鹿产品多以煎煮或酒浸剂型服用,很多研究表明,用超纯水煎煮和70%乙醇提取的鹿产品具有多种生物活性成分<sup>[5-8]</sup>。然而,对于蛋白多肽类产品,人们对此一直存在争议,高温煎煮和酒精萃取容易使其变性,影响其生物活性。通过不断尝试,人们逐渐开发出提取鹿源生物活性物质的新方法,



注:等电点测定(capillary isoelectric focusing, CIEF)、分子量测定(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)。

图1 制备鹿源活性肽的常规流程

Fig.1 Conventional process for preparing deer-derived active peptides

例如通过超声提取法、匀浆法、CO<sub>2</sub> 超临界萃取法对鹿茸生物活性肽进行提取,并验证生物活性<sup>[9-12]</sup>。除了物理方法,弱酸弱碱溶液提取也能保留多肽的生物活性,蔡明军<sup>[13]</sup>采用预冷的 HAc-NaAc pH 4.0 缓冲溶液匀浆法提取鹿茸多肽,然后经葡聚糖凝胶层析和高效液相色谱柱分离纯化,得到对 OS-732 细胞有增殖促进作用的小肽。唐智佳<sup>[14]</sup>使用弱酸性缓冲盐溶液与超声波辅助技术相结合进行提取,经过分子筛层析后得到鹿角盘多肽,该多肽具有显著的抑制乳腺癌细胞增殖活性。

## 1.2 酶解

二十世纪以来,酶解技术被广泛应用于制备活性多肽,鹿源生物活性肽的制备也不例外,大多数关于鹿源生物活性肽的研究均通过酶解技术提取多肽。常用的酶制剂有胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶和中性蛋白酶等,在实际应用中,单个酶的蛋白水解率很低,往往将两种或多种酶复合使用可明显提高多肽得率。王华等<sup>[15]</sup>利用一种工业用碱性蛋白酶对新鲜梅花鹿鹿茸进行水解,制备生物活性肽,确定最佳水解条件为:酶与底物质量比 1:150、底物与溶剂质量比 1:13、水解时间 60 min。后经凝胶层析柱和制备型高效液相色谱柱进行分离纯化得到了具有抗氧化活性的小肽。包美丽等<sup>[16]</sup>从多种酶制剂中筛选出碱性蛋白酶和风味蛋白酶两种酶,通过双酶分步水解得到降血糖肽。王雨施<sup>[17]</sup>也研究利用双酶水解法制备鹿角盘多肽,证实采用木瓜蛋白酶:胰蛋白酶酶活比为 2:1 同时水解,其多肽得率可以达到 65.10%。鹿鞭、鹿胎和鹿血等鹿副产品也证实可以用酶解方法制备,研究结果表明酶解得到的多肽具有更高的生物活性,且复合酶解的多肽得率要显著高于单一酶解的。

## 2 鹿源生物活性肽的鉴定检测、序列组成和结构分析

从鹿产品中经过提取分离纯化后的多肽,还需要进一步对其生化特性、氨基酸组成、结构等方面进行分析研究。目前常通过 CIEF、SDS-PAGE、柱前衍生化后经高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定氨基酸组成等进行理化性质分析。多肽要经过结构鉴定其氨基酸序列,常用的鉴定方法有质谱法、核磁共振法、紫外光谱法等。其中质谱法还包括三重四级杆质谱法(triple-stage quadrupole mass spectrometer, TSQ-MS)、基层辅助激光解析电离-飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)、电喷雾电离质谱法(electrospray ionization ion trap mass spectrometry, ESI-MS)和毛细管电泳-飞行时间质谱法(capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry, CE-TOF-MS)等。经过结构鉴定确定氨基酸序列组成后,可

以人工进行合成多肽,并研究其生物活性,严铭铭等<sup>[18]</sup>利用凝胶过滤、离子交换层析及 C<sub>18</sub> 反相柱层析等方法,从梅花鹿茸中分离得到了一个多肽,SDS-PAGE 和 HPLC 图谱显示其为一条带和单峰,后经激光解析电离飞行时间质谱测定其分子量为 1479.9028。电喷雾-串联质谱法测序结果为 E-P-T-V-L- D-E-V-C-L-A-H-G-P, 后对该多肽进行了人工合成,并与天然多肽进行比较。

## 3 鹿源生物活性肽的功能活性

### 3.1 抗氧化

机体内超氧化物歧化酶和羟基等自由基的代谢紊乱,会导致动脉粥样硬化、关节炎、糖尿病和癌症等慢性病的发病率增加。这些不稳定的自由基极易与其他物质反应,导致细胞和组织周到严重损害,甚至导致身体不可逆转的衰老<sup>[19]</sup>。很多研究表明,从鹿源组织中提取的肽,具有清除自由基、抑制脂质过氧化和金属离子螯合等抗氧化活性。郭鑫等<sup>[20]</sup>通过胰蛋白酶酶解的鹿角盘多肽对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS]、羟基自由基清除能力以及铁离子还原能力(ferric reducing ability of plasma, FRAP)在一定范围内均随多肽浓度的增大而活性增强,表现出较好的抗氧化能力。刘芳<sup>[21]</sup>测定不同浓度鹿胎多肽的 DPPH 清除能力、超氧阴离子自由基清除能力、羟基自由基清除能力和还原力,结果表明鹿胎多肽具有一定的抗氧化活性。韩欢胜等<sup>[22]</sup>使用不同酶在最适条件下水解鹿血,以鹿血水解物的水解度、抗氧化活性能力,筛选出最合适的蛋白酶,为提取鹿血中有效成分提供了理论依据。以上研究均通过体外化学实验进行抗氧化能力测定,结果证实鹿角盘多肽、鹿肽多肽和鹿血多肽均有抗氧化活性。除了以上研究方法,以线虫为模型动物研究抗氧化活性也比较常见,例如 WANG 等<sup>[23]</sup>研究鹿茸的蛋白质组分对线虫体内氧化应激的影响。研究表明,鹿茸甲醇提取物通过促进转录因子 SKN-1 核转位,进而上调其靶基因 GST-4、GST-7 和 GST-10 在线虫中的表达,从而降低内源活性氧(reactive oxygen species, ROS)。迟东泽等<sup>[7]</sup>测定了花鹿鞭和马鹿鞭醇提取物对秀丽隐杆线虫寿命、吐咽能力、运动能力、生殖能力及应激抵御能力以及线虫体内的抗氧化指标,结果显示两种鹿鞭醇提取物均具有抗氧化、抗衰老作用。鹿源生物活性肽抗氧化、抗衰老的研究有利于鹿产品向化妆品领域发展,而且生物活性肽具有分子量小、易吸收、刺激性小的优点,可作为良好的化妆品原材料。

### 3.2 免疫调节活性

长期以来,改善免疫系统功能一直是鹿产品的传统药用。鹿源产品作为滋补圣品,其具有免疫调节作用的多肽经常被报道。单核细胞的增多和吞噬功能的增强被认为在健康

益处中起着关键作用。有研究表明,鹿茸的水提取物<sup>[24]</sup>和乙醇提取物经过分离纯化后的小肽组分均具有促脾细胞增殖的活性, KIM 等<sup>[25]</sup>通过结构分析研究揭示出其脂肪酸的链长和饱和度可能在促进脾细胞增殖活性中起重要作用。除了脾细胞外,巨噬细胞也是机体内重要的免疫细胞,张凯月等<sup>[26]</sup>从鹿胎中提取鹿胎肽,通过超滤法进行分离纯化,并进行体外实验,结果发现鹿胎肽能提高巨噬细胞的增殖活性、吞噬活性、NO 释放量以及细胞因子的分泌水平,证实鹿胎肽具有增强免疫能力的潜在作用。肿瘤的产生与机体的免疫能力密不可分,于雷等<sup>[27]</sup>研究证实鹿角盘多肽可通过抑制 Notch2 基因和蛋白的表达,升高小鼠血清中 IgG、IgM 和血红蛋白水平及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性来提高小鼠免疫功能从而降低辐射致癌的发生率。张昕等<sup>[28]</sup>探讨鹿血晶对荷 S180 肉瘤小鼠放疗后免疫功能的影响及其可能机制,证实鹿血多肽对放疗荷瘤小鼠的免疫功能具有一定的保护作用,上述研究中鹿源生物活性肽的调节免疫能力有利于将其开发成为各种保健品,通过增加机体免疫力来预防疾病的发生。

### 3.3 抗炎

抗炎的机制是综合性的,包括免疫调节、抗氧化和抗菌作用等<sup>[29]</sup>。而活性物质的验证必须要从药代动力学、治疗效力和免疫调节功效的角度出发并确保它们能在体内实验中得到验证,还要具有良好的重复性。然而,与其他常见功能相比,很多生物肽的抗炎活性似乎尚未得到重视<sup>[30]</sup>。ZHAO 等<sup>[31]</sup>从鹿茸蛋白的胃蛋白酶水解物中鉴定抗炎肽,采用超滤和连续层析的方法对水解物进行纯化,通过抑制脂多糖诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞产生 NO 来评价其抗炎活性。结果表明,从鹿茸蛋白中提取的多肽可能在功能性食品或抗炎性疾病的营养食品中具有潜在的应用前景。DONG 等<sup>[32]</sup>研究鹿茸多肽对椎间盘髓核细胞原代培养的影响,结果表明,鹿茸多肽能显著抑制脂多糖诱导的髓核细胞中炎症因子的产生,其抗炎作用机制与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)蛋白通路相关。除了上述体外细胞实验,张程程<sup>[33]</sup>通过二甲苯致小鼠耳肿胀模型和角叉菜胶致小鼠足跖肿胀模型的体内实验来研究鹿角盘水提物的抗炎功效,结果发现鹿角盘的抗炎作用可能是通过抑制 NO 的过量表达来减少细胞损伤;增强溶菌酶的活力来改善小鼠体内的黏多糖代谢;增强 SOD 和谷胱甘肽氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)的活力来减少脂质过氧化,从而减轻炎症反应。目前,其他关于抗炎作用的鹿源活性肽鲜有报道,很多疾病与炎症反应相关,开展抗炎活性的研究也是一个重要方向。

### 3.4 抗菌

在过去的几十年里,越来越多的病原微生物由于选择

了耐药细菌而对常规抗生素产生了抗药性,这给治疗感染带来了严重的问题,特别是在免疫功能低下的人身上。与滥用抗生素密切相关的多药耐药菌株的出现,缩小了常用抗生素的临床选择范围,而天然来源的抗菌药物因具有低毒、高特异性的特点,因此其具有巨大的利用潜力。抗菌肽因其广谱的抑菌活性、对哺乳动物细胞的低细胞毒性和独特的作用方式而被认为是具有前景的治疗剂,这些作用方式能够阻碍病原体耐药性的出现<sup>[34]</sup>。薄士儒等<sup>[35]</sup>将梅花鹿茸胶原蛋白经木瓜蛋白酶水解后得到鹿茸胶原多肽,并通过 Sephadex G-25 柱凝胶层析技术分离纯化后得到了小分子肽,且证实这些小肽对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌具有很好的抑菌活性。唐智佳等<sup>[36]</sup>采用酸提、醇沉、超声辅助、凝胶除盐、Sephadex G-50 凝胶层析和热提、酶解等方法制备了鹿角盘小肽,并利用滤纸片扩散法对两种小肽的体外抑菌活性进行初步研究,结果发现鹿角盘小肽对革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌均有不同程度的抑制作用。WANG 等<sup>[37]</sup>利用阴阳离子交换层析三步法首次从马鹿乳中分离出乳铁蛋白和其他乳清蛋白,通过胃蛋白酶和胰蛋白酶产生的多肽对大肠杆菌 ATCC 25922 有较强的杀菌活性,结果表明,鹿乳中的生物活性肽能抑制食源性致病菌,可有益于人类健康。以上研究证实了鹿源生物活性肽对常见的金黄色葡萄球菌、革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和大肠杆菌等均有抑菌作用。王懿璞等<sup>[38]</sup>对鹿角盘多肽的抑菌机制进行了研究,证实了其可通过改变大肠杆菌细胞膜通透性、细胞壁完整性和提高菌体氧化应激水平来起到抑菌的作用。

### 3.5 抗癌

在癌症研究治疗中,如多肽类的天然生物材料,可能通过靶向作用抑制肿瘤细胞的增殖,特别是肿瘤相关抗原,具有关键的生物学作用。筛选具有抗癌活性的生物活性肽成为开发新型低毒抗癌药物的新策略<sup>[4]</sup>。研究证实鹿茸多肽通过上调 Bcl-2 表达、下调 Bax 表达来抑制神经母细胞瘤细胞的凋亡<sup>[39]</sup>,也有研究发现其能显著降低偶氮甲烷诱发的大鼠结肠癌的发病率、多发性、转移性或肿瘤体积<sup>[40]</sup>。大量的研究表明,鹿茸和鹿角盘提取物能抑制人前列腺癌转移和小鼠乳腺癌增殖,然而其对癌细胞的作用机制尚不清楚。ZHENG 等<sup>[41]</sup>通过体内实验,对小鼠乳腺肿瘤生长的影响以及对荷瘤小鼠免疫系统的影响进行研究,结果表明鹿茸水提物能通过调节小鼠免疫系统抑制小鼠 4T1 肿瘤的生长。XU 等<sup>[42]</sup>采用连续酶解法制备鹿角盘多肽提取物,通过对 MDA-MB-231 和 SK-BR3 细胞的存活率、乳腺癌形成、伤口愈合和侵袭能力的测定,并采用逆转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)和 Western blotting 方法检测乳腺癌细胞中 TGF- $\beta$ 1 促进的上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和核因子 NF- $\kappa$ B 信号传导的影响,结果表明鹿角盘多肽在体

外通过减弱 NF- $\kappa$ B 信号传导来抑制干细胞样细胞的自我更新以及自发和 TGF- $\beta$ 1 增强的乳腺癌细胞伤口愈合、侵袭和 EMT。这也是首次对鹿角盘多肽治疗乳腺癌的机制进行了研究。TANG 等<sup>[43]</sup>将鹿茸提取物通过体外实验对前列腺癌 PC-3 细胞的测定, 并使用相同细胞的异种移植小鼠模型来进行体内实验, 结果表明鹿茸提取物在体外通过诱导细胞凋亡来减弱前列腺癌细胞的生长, 与顺铂联合使用具有抗前列腺癌活性并抑制顺铂肝肾毒性。此外, 该团队进一步研究了鹿茸提取物对前列腺癌异种移植模型是否具有抑制作用, 结果表明鹿茸提取物能显著抑制前列腺癌异种移植瘤生长 65.08%, 这是首次对鹿茸抑制前列腺癌机制进行了阐释<sup>[44]</sup>。上述研究证实了可以通过鹿产品的传统中药用途及性味归经, 预测其靶向治疗肿瘤作用, 以期开发出新型低毒的抗癌多肽类药物。

### 3.6 降压

随着人民生活的不断改善和中国人口老龄化的不断加剧, 中风、冠心病等由高血压引起的疾病成为常见病。血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)通过将血管紧张素-I 转化为血管紧张素-II, 在血压调节中起着重要的生理作用。因此, 可以通过抑制 ACE 的活性来预防高血压<sup>[45]</sup>。ACE 抑制肽目前大多数从富含蛋白质的植物中提取而来, 比如发酵大豆食品中提取的发酵大豆肽就具有显著的 ACE 抑制活性, 可用于治疗高血压<sup>[46]</sup>。目前的一些研究表明, 鹿源生物活性肽也具有 ACE 抑制活性。HAINES 等<sup>[47]</sup>通过鉴定发酵前后鹿茸中的生物活性肽, 并随后通过体外实验来验证其生物活性, 结果发现鹿茸中含有多种 ACE 抑制肽序列, 可通过发酵或胃肠消化释放, 并可能通过对心血管系统的积极作用而有益于健康。刘少华<sup>[48]</sup>采用胃蛋白酶酶解鹿角盘胶原蛋白, 再通过超滤、凝胶柱层析分离纯化后, 得到具有 ACE 抑制活性的多肽, 其抑制率高达 97.72%。LIU 等<sup>[49]</sup>应用鸟枪式蛋白质组学技术, 结合构效关系分析, 从水解马鹿血浆中筛选 ACE 抑制肽, 在经 Sephadex G-25 柱层析初步分离后进行质谱分析, 最终预测并合成了一个具有 ACE 抑制活性的小肽 VYNEGLPAP。团队论证了基于鸟枪式蛋白质组学技术从蛋白质水解物混合物中筛选生物活性肽的可能性, 为从蛋白源中筛选生物活性肽提供了一种潜在的便捷方法, 并提供了新思路。

### 3.7 治疗骨质疏松

骨质疏松症是以全身性骨量减少和骨微结构破坏为特征的疾病, 该病导致骨脆性升高, 增加骨折的风险, 被认为是一个严重的公共卫生问题<sup>[50]</sup>。导致骨质疏松症的因素很多, 如老年性骨质疏松、绝经后女性雌激素缺乏、炎症性骨病和糖皮质激素诱导等<sup>[51]</sup>。目前治疗骨质疏松症的药物有很多, 如降钙素、雌激素和双膦酸盐等。然而每种药物都有副作用, 雌激素会增加女性乳腺癌、子宫内膜癌等的发生率<sup>[52]</sup>。因此,

开发出副作用较少的药物来治疗骨质疏松症具有重要意义。很多研究表明, 从鹿茸、鹿角盘、鹿骨等鹿产品中得到的生物活性肽被广泛地应用于治疗各种原因导致的骨质疏松症<sup>[53]</sup>。REN 等<sup>[54]</sup>证实了鹿茸水提物多肽可通过诱导骨髓间充质干细胞(BMSCs)向成骨细胞分化和矿化, 其机制可能与激活 BMP-2/Smad1、5/Runx2 途径有关, 从而治疗绝经后骨质疏松症。LIU 等<sup>[55]</sup>发现鹿茸肽能显著抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )介导的 NF- $\kappa$ B 信号活性刺激, 以及其亚基 p65 的核转位, 从而促进鹿茸肽对成骨细胞分化的刺激作用。此外, 鹿茸肽能通过抑制 NF- $\kappa$ B 活性来抑制破骨细胞生成, 从而治疗炎症性骨病。除了上述对成骨细胞和破骨细胞的作用来治疗骨质疏松外, ZHANG 等<sup>[56]</sup>使用去卵巢骨质疏松症大鼠模型来确定鹿茸多肽对骨质流失、骨代谢平衡和骨形成的影响。结果证明了天然鹿茸多肽和人工鹿茸多肽通过抑制白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6), 促进有丝分裂来实现对骨质疏松症的治疗作用。AN 等<sup>[57]</sup>探究了梅花鹿骨多肽提取物对大鼠糖皮质激素性骨质疏松症(glucocorticoid induced osteoporosis, GIOP)的保护作用, 结果发现梅花鹿骨多肽提取物可明显改善成骨细胞微结构病理改变, 刺激一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)表达, 从而对骨骼起到保护作用。综上研究考虑, 鹿源生物活性肽可以作为很好的药物来源治疗各种原因导致的骨质疏松。

## 4 展望

目前关于鹿源生物活性肽的研究越来越多, 但研究广度与深度远远不够, 希望未来的研究可在以下几个方面有所突破:

### (1) 扩大研究范围

鹿源生物活性肽此前的研究中对原料的选择主要集中在鹿茸和鹿角盘, 对于鹿副产品包括鹿胎、鹿鞭、鹿血、鹿骨等研究得很少, 且多数研究仍停留在大分子蛋白提取物和酶解产物, 没有对多肽进一步进行分离、纯化和结构鉴定。对于已经鉴定的鹿源生物活性肽, 药理研究方向仍集中在传统的提高免疫力、抗氧化、抗菌抗炎、治疗骨质疏松等方面, 然而生物活性肽与其他化学药物相比具有极强的生物活性和多样性。故在今后的实验中可以扩大鹿源原料的范围, 只有广泛的研究和筛选才能更好地利用好中国的鹿业资源, 才能促进鹿产业的发展, 同时也要对更多的生物活性功能进行研究, 开发出更广阔的领域。

### (2) 深化药理机制研究

在当前的研究中, 对已经分离纯化的鹿源生物活性肽, 其药理活性研究多数仅进行体外实验筛选和动物体内实验验证, 但是多数研究对于鹿源活性肽的作用机制不明确。生物活性肽可以激活体内的各种酶, 增加中间代谢膜的通透性, 或通过控制 DNA 转录或翻译而影响特异的蛋

白合成,从而发挥其不同的生物活性。因此,可以将已经分离纯化且有具体结构的小肽进行重点研究,更加深入地研究其在体内发挥生物活性的作用机制,从而为开发食品保健品及药品奠定基础。

### (3)加速产品开发

一方面我国保健品发展拥有最好的消费市场、庞大的消费人群以及积极的消费意愿,故鹿类食品、保健品具有强大的发展潜力,另一方面国家的扶持政策也为我国鹿业发展提供了巨大的舞台。然而鹿源生物活性肽仅仅停留在科学研究,没有将其转化为具有高附加值的产品。鹿茸及其他鹿副产品仍然以原料的形式出口或出售,同样作为传统动物药的毒蛇,其蛇源生物活性肽被开发成蛇肽分子胶囊、蛇肽抗血小板聚集药、科博肽-神经镇痛药等药品,所以迫切需要将鹿源活性肽转化为对人体健康管理有益的功能食品和保健品。

生物活性肽产业以科技为支撑,以人类大健康为目标,是一个迅猛发展的新产业,其可以应用于功能食品、药品、化妆品等多个领域。加大鹿源生物活性肽的研究广度和深度,加速成果转化和产品开发,将科学技术转变为经济效益,使我国鹿产业跻身于世界前列。

### 参考文献

- [1] 张然然,孙印石,王桂武,等. 吉林省梅花鹿产业发展的思考[J]. 特产研究, 2021, 1: 1-8.  
ZHANG RR, SUN YS, WANG GW, *et al.* Reflections on the development of sika deer industry in Jilin Province [J]. *Spec Res*, 2021, 1: 1-8.
- [2] WU F, LI H, JIN L, *et al.* Deer antler base as a traditional Chinese medicine: A review of its traditional uses, chemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(2): 403-415.
- [3] 农业农村部. 国家畜禽遗传资源目录[J]. 浙江畜牧兽医, 2020, 45(5): 32.  
The Ministry of Agriculture and Rural Affairs. National Catalogue of Livestock and Poultry Genetic Resources [J]. *Zhejiang Anim Husb Vet Med*, 2020, 45(5): 32.
- [4] LIU M, WANG Y, LIU Y, *et al.* Bioactive peptides derived from traditional Chinese medicine and traditional Chinese food: A review [J]. *Food Res Int*, 2016, 89: 63-73.
- [5] 阮豪南,罗佳承,王圳伊,等. 鹿茸中多种水溶性成分的综合提取工艺的研究[J]. 中国兽医杂志, 2021, 57(3): 93-97.  
RUAN HN, LUO JC, WANG ZY, *et al.* Study on the comprehensive extraction process of various water-soluble components in deer antler [J]. *China Vet J*, 2021, 57(3): 93-97.
- [6] 王雪. 鹿茸醇提物对秀丽隐杆线虫抗衰老机制的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.  
WANG X. Anti-aging mechanism of velvet antler alcohol extract on *Caenorhabditis elegans* [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020.
- [7] 迟东泽,何源,刘芳芳,等. 鹿鞭醇提物对秀丽隐杆线虫衰老的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 327-335.  
CHI DZ, HE Y, LIU FF, *et al.* Effects of alcoholic extracts of stagginosa on aging of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2021, 42(10): 327-335.
- [8] 王海璐,徐凌志,王全凯,等. 两种鹿鞭水提物对顺铂诱导小鼠急性肾损伤的保护作用[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(9): 85-89.  
WANG HL, XU LZ, WANG QK, *et al.* Protective effect of two kinds of Lubian water extracts on cisplatin-induced acute kidney injury in mice [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2016, 50(9): 85-89.
- [9] 张维,于珊珊,尹宏兵. 超声法提取梅花鹿茸总多肽及其抗炎活性[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(3): 622-625.  
ZHANG W, YU SS, YIN HB. Ultrasonic extraction of total polypeptides from sika antler and its anti-inflammatory activity [J]. *Chin J Gerontol*, 2021, 41(3): 622-625.
- [10] 吕东辉,韩笑,苑广信,等. 梅花鹿茸多肽对小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 生物学活性的影响[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2019, 20(4): 455-458.  
LV DH, HAN X, YUAN GX, *et al.* Effects of sika deer antler polypeptide on the biological activity of mouse osteoblast MC3T3-E1 [J]. *J Beihua Univ (Nat Sci Ed)*, 2019, 20(4): 455-458.
- [11] 高冷,王昊天,牛晓晖,等. 鹿茸多肽蛋白的提取及功能研究[J]. 吉林中医药, 2018, 38(7): 825-828.  
GAO L, WANG HT, NIU XH, *et al.* Extraction and functional study of velvet antler polypeptide protein [J]. *Jilin Chin Med*, 2018, 38(7): 825-828.
- [12] 王琦. 鹿茸多肽提取工艺的优化及抗氧化、促愈合功效的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.  
WANG Q. Optimization of the extraction process of deer antler polypeptides and research on antioxidative and healing effects [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019.
- [13] 蔡明军. 鹿茸多肽的提取分离及其促进成骨细胞增殖作用的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2008.  
CAI MJ. Extraction and isolation of velvet antler polypeptide and its effect on promoting the proliferation of osteoblasts [D]. Changchun: Jilin University, 2008.
- [14] 唐智佳. 梅花鹿角盘多肽和胶原肽的制备及抑制乳腺癌细胞增殖的初步研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.  
TANG ZJ. Preparation of sika antler disc polypeptide and collagen peptide and preliminary study on inhibiting the proliferation of breast cancer cells [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.
- [15] 王华,黄宜兵,高科翔,等. 酶解鹿茸肽的制备、纯化及抗氧化活性[J]. 高等学校化学学报, 2010, 31(12): 2390-2395.  
WANG H, HUANG YB, GAO KX, *et al.* Preparation, purification and antioxidant activity of enzymatic hydrolyzed velvet antler peptides [J]. *J Chem Univ*, 2010, 31(12): 2390-2395.
- [16] 包美丽,杨添植,张立钢,等. 双酶法制备马鹿茸降血糖肽工艺优化及其对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 88-95.  
BAO ML, YANG TZ, ZHANG LG, *et al.* Process optimization of preparation of red velvet antler hypoglycemic peptide by double-enzyme method and its inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase [J]. *Food Sci*, 2017, 38(6): 88-95.
- [17] 王雨施. 梅花鹿角盘多肽的制备及其生物活性的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.  
WANG YS. Preparation and biological activity of sika antler peptides [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.

- [18] 严铭铭, 曲晓波, 王旭, 等. 梅花鹿茸中活性多肽的纯化、测序及功能研究[J]. 高等学校化学学报, 2007, (10): 1893–1896.  
YAN MM, QU XB, WANG X, *et al.* Purification, sequencing and functional study of active polypeptides from sika deer antler [J]. J Chem Univ, 2007, (10): 1893–1896.
- [19] ZHANG J, ZHANG H, WANG L, *et al.* Antioxidant activities of the rice endosperm protein hydrolysate: Identification of the active peptide [J]. Eur Food Res Technol, 2009, 229(4): 709–719.
- [20] 郭鑫, 陈美华, 何旭, 等. 梅花鹿角多肽的制备工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(8): 1911–1915.  
GUO X, CHEN MH, HE X, *et al.* Preparation process optimization and antioxidant activity of sika antler polypeptides [J]. Shizhen Chin Med Chin Med, 2021, 32(8): 1911–1915.
- [21] 刘芳. 鹿胎多肽的制备、抗氧化性研究及其微胶囊产品开发[D]. 长春: 吉林大学, 2016.  
LIU F. Preparation of deer fetal polypeptide, antioxidant research and development of microencapsulated products [D]. Changchun: Jilin University, 2016.
- [22] 韩欢胜, 郭喜明, 徐馨, 等. 鹿血水解物抗氧化能力研究[J]. 特种经济动植物, 2021, 24(8): 18–19.  
HAN HS, GUO XM, XU X, *et al.* Antioxidative ability of deer blood hydrolyzate [J]. Spec Econ Anim Plant, 2021, 24(8): 18–19.
- [23] WANG X, LI H, LIU Y, *et al.* Velvet antler methanol extracts (MEs) protects against oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* by SKN-1 [J]. Biomed Pharm, 2020, 121: 109668.
- [24] 赵磊, 籍保平, 王成涛. 鹿茸水提物模拟胃肠消化物对小鼠脾细胞增殖的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 350–353.  
ZHAO L, JI BP, WANG CT. Effects of deer antler water extract on the proliferation of mouse splenocytes [J]. Food Ind Sci Technol, 2012, 33(16): 350–353.
- [25] KIM KH, LEE E, KIM K, *et al.* Modification of concanavalin A-dependent proliferation by phosphatidylcholines isolated from deer antler, *Cervus elaphus* [J]. Nutrition, 2004, 20(4): 394–401.
- [26] 张凯月, 李春楠, 兰梦, 等. 鹿胎肽对巨噬细胞 RAW264.7 的免疫调节作用[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 342–347.  
ZHANG KY, LI CN, LAN M, *et al.* Immunomodulatory effect of deer fetopeptide on macrophage RAW264.7 [J]. Food Ind Sci Technol, 2021, 42(1): 342–347.
- [27] 于雷, 王蕴龙, 陈志深, 等. 鹿角脱盘对辐射诱发小鼠胸腺淋巴瘤 Notch2 基因表达和免疫功能的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2016, 42(5): 887–891.  
YU L, WANG YL, CHEN ZS, *et al.* Effects of antler detachment on Notch2 gene expression and immune function in radiation-induced mouse thymic lymphoma [J]. J Jilin Univ (Med Ed), 2016, 42(5): 887–891.
- [28] 张昕, 刘宗文, 秦名扬, 等. 鹿血晶辅助放疗对荷 S180 肉瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2018, 53(4): 469–473.  
ZHANG X, LIU ZW, QIN MY, *et al.* Effects of deer blood crystal adjuvant radiotherapy on the immune function of mice bearing S180 sarcoma [J]. J Zhengzhou Univ (Med Ed), 2018, 53(4): 469–473.
- [29] AGYEI D, DANQUAH MK. Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities [J]. Trends Food Sci Technol, 2012, 23(2): 62–69.
- [30] SAAFI S, SAARI N, ANWAR F, *et al.* Recent advances in food biopeptides: Production, biological functionalities and therapeutic applications [J]. Biotechnol Adv, 2015, 33(1): 80–116.
- [31] ZHAO L, WANG X, ZHANG X, *et al.* Purification and identification of anti-inflammatory peptides derived from simulated gastrointestinal digests of velvet antler protein (*Cervus elaphus* Linnaeus) [J]. J Food Drug Anal, 2016, 24(2): 376–384.
- [32] DONG Y, LIU L, SHAN X, *et al.* Pilose antler peptide attenuates LPS-induced inflammatory reaction [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 108: 272–276.
- [33] 张程程. 鹿角盘提取物抗炎作用的研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2011.  
ZHANG CC. Study on the anti-inflammatory effect of antler disc extract [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2011.
- [34] HOLASKOVA E, GALUSZKA P, FREBORT I, *et al.* Antimicrobial peptide production and plant-based expression systems for medical and agricultural biotechnology [J]. Biotechnol Adv, 2015, 33(6): 1005–1023.
- [35] 薄士儒, 余江华, 王亚丽, 等. 梅花鹿茸胶梅原蛋白抗菌肽的制备及其抑菌活性测定[C]. 第八届(2017)中国鹿业发展大会, 2017.  
BO SR, YU JH, WANG YL, *et al.* Preparation of antibacterial peptides from sika deer antler collagen meigen protein and determination of their antibacterial activity [C]. The 8th (2017) China Deer Industry Development Conference, 2017.
- [36] 唐智佳, 胡薇. 梅花鹿鹿角盘小肽的提取及体外抑菌活性研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018, (7): 17–19.  
TANG ZJ, HU W. Extraction and in vitro antibacterial activity of small peptides from antlers of sika deer [J]. Heilongjiang Anim Husband Vet Med, 2018, (7): 17–19.
- [37] WANG Y, BEKHIT A, MASON S, *et al.* Lactoferrin isolation and hydrolysis from red deer (*Cervus elaphus*) milk and the antibacterial activity of deer lactoferrin and its hydrolysates [J]. Foods, 2020, 9(11): 1711.
- [38] 王懿璞, 周怡君, 胡薇. 梅花鹿鹿角盘蛋白的分离纯化及其对大肠杆菌抑菌机制的初步研究[J]. 上海中医药杂志, 2021, 55(6): 72–78.  
WANG YP, ZHOU YJ, HU W. Isolation and purification of sika deer antler disc protein and preliminary study on its antibacterial mechanism on *Escherichia coli* [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2021, 55(6): 72–78.
- [39] 王旭凯, 周群, 赵宇, 等. 鹿茸多肽对辐射诱导神经母细胞瘤细胞凋亡后 Bax 和 Bcl-2 表达的影响[J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(11): 1629–1631.  
WANG XK, ZHOU Q, ZHAO Y, *et al.* Effects of deer antler polypeptides on the expression of Bax and Bcl-2 in radiation-induced neuroblastoma cells [J]. Chin J Biol, 2013, 26(11): 1629–1631.
- [40] FRASER A, HAINES SR, STUART EC, *et al.* Deer velvet supplementation decreases the grade and metastasis of azoxymethane-induced colon cancer in the male rat [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(5): 1288–1292.
- [41] ZHENG K, FU C, JIANG C, *et al.* Water extract of pilose antler can inhibit breast cancer progression of the mouse through modulating its immune system [J]. Food Agric Immunol, 2018, 29(1): 785–796.
- [42] XU G, ZHAO H, XU J, *et al.* Hard antler extract inhibits invasion and epithelial-mesenchymal transition of triple-negative and Her-2<sup>+</sup> breast cancer cells by attenuating nuclear factor- $\kappa$ B signaling [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 269: 113705.

- [43] TANG Y, FAN M, CHOI Y, *et al.* Protective effect of sika deer (*Cervus nippon*) velvet antler extract against cisplatin-induced kidney and liver injury in a prostate cancer pc-3 cell xenograft model [J]. *J Chem*, 2018, 2018: 1–14.
- [44] TANG Y, FAN M, CHOI Y, *et al.* Sika deer (*Cervus nippon*) velvet antler extract attenuates prostate cancer in xenograft model [J]. *Biosci Biotechnol Bioch*, 2019, 83(2): 348–356.
- [45] SHAHIDI F, ZHONG Y. Bioactive peptides [J]. *J AOAC Int*, 2008, 91(4): 914–931.
- [46] TOMATSU M, SHIMAKAGE A, SHINBO M, *et al.* Novel angiotensin i-converting enzyme inhibitory peptides derived from soya milk [J]. *Food Chem*, 2013, 136(2): 612–616.
- [47] HAINES SR, MCCANN MJ, GROSVENOR AJ, *et al.* ACE inhibitory peptides in standard and fermented deer velvet: An *in silico* and *in vitro* investigation [J]. *Bmc Complem Altern M*, 2019, 19(1): 1–5.
- [48] 刘少华. 鹿角盘胶原蛋白的提取及血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
- LIU SH. Extraction of collagen from antlers and study on the activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015.
- [49] LIU X, SONG C, CHEN R, *et al.* Identification of angiotensin i-converting enzyme inhibitors in peptides mixture of hydrolyzed red deer plasma with proteomic approach [J]. *Chin J Chem*, 2010, 28(9): 1665–1672.
- [50] ZAIDI M. Skeletal remodeling in health and disease [J]. *Nat Med*, 2007, 13(7): 791–801.
- [51] CHANG J, WANG Z, TANG E, *et al.* Inhibition of osteoblastic bone formation by nuclear factor- $\kappa$ B [J]. *Nat Med*, 2009, 15(6): 682–689.
- [52] APPELMAN-DIJKSTRA NM, PAPAPOULOS SE. Modulating bone resorption and bone formation in opposite directions in the treatment of postmenopausal osteoporosis [J]. *Drugs*, 2015, 75(10): 1049–1058.
- [53] 牛放, 赵雨, 徐云凤, 等. 鹿角脱盘胶原蛋白对去卵巢所致骨质疏松大鼠的治疗作用[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(2): 93–97.
- NIU F, ZHAO Y, XU YF, *et al.* Therapeutic effect of deer antler collagen on ovariectomized rats with osteoporosis [J]. *Chin Mod Appl Pharm*, 2012, 29(2): 93–97.
- [54] REN C, GONG W, LI F, *et al.* Pilose antler aqueous extract promotes the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by stimulating the BMP-2/Smad1, 5/Runx2 signaling pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(10): 756–767.
- [55] 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 Bioph Res Commun*, 2017, 491(2): 388–395.
- [56] ZHANG L, XIN J, ZHANG X, *et al.* The anti-osteoporotic effect of velvet antler polypeptides from *Cervus elaphus Linnaeus* in ovariectomized rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(1): 181–186.
- [57] AN L, SHI L, YE Y, *et al.* Protective effect of Sika deer bone polypeptide extract on dexamethasone-induced osteoporosis in rats [J]. *Electron J Biotechn*, 2021, 52: 52–58.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

## 作者简介



何贵祥, 硕士研究生, 主要研究方向为梅花鹿养殖和鹿产品加工方向。  
E-mail: 807533877@qq.com



赵全民, 博士, 副教授, 主要研究方向为特种经济动物养殖及产品研发。  
E-mail: 13863227712@163.com