

# 基于蛋白多肽类成分的动物药药理活性及质量控制研究进展

罗晓晓, 王玉荣\*

中国药科大学基础医学与临床药学学院, 江苏 南京

收稿日期: 2023年4月17日; 录用日期: 2023年5月18日; 发布日期: 2023年5月25日

## 摘要

动物药在我国具有悠久的药用历史, 具有抗凝、抗肿瘤、镇痛等多种药理作用。随着药用市场需求扩大、野生资源匮乏, 中药市场中的动物药出现了大量伪劣产品, 严重影响了动物药使用的安全性与有效性, 阻碍了动物药的发展。蛋白多肽作为动物药的主要药效和组成成分, 在动物药的活性研究与质量控制方面发挥着不可替代的作用。本文从动物药基于蛋白多肽类成分的活性研究与质量控制两个方面进行概述, 以为后续动物药活性研究、质量控制、标准制定提供参考。

## 关键词

动物药, 蛋白多肽, 药理活性, 质量控制

# Research Progress on Pharmacological Activity and Quality Control of Animal Medicine Based on Protein-Peptide Components

Xiaoxiao Luo, Yurong Wang\*

School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: Apr. 17<sup>th</sup>, 2023; accepted: May 18<sup>th</sup>, 2023; published: May 25<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Animal medicine has a long history of medicinal use in China, with a variety of pharmacological

\*通讯作者。

文章引用: 罗晓晓, 王玉荣. 基于蛋白多肽类成分的动物药药理活性及质量控制研究进展[J]. 药物资讯, 2023, 12(3): 167-174. DOI: 10.12677/pi.2023.123020

effects such as anticoagulation, antitumor, and analgesia. With the expansion of medicinal market demand and the scarcity of wild resources, there are a large number of fake and inferior products in the animal medicine market, which seriously affects the safety and efficacy of animal medicine and hinders the development of animal medicine. Protein and peptides, as the main efficacy and components of animal medicine, play an irreplaceable role in the activity research and quality control of animal medicine. This paper provides an overview of the activity and quality control of animal medicine based on protein and peptide components, with a view to providing a reference for subsequent animal medicine activity research, quality control, and standard development.

## Keywords

Animal Medicine, Protein and Peptides, Activity, Quality Control

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

中医认为动物药有“血肉有情之品”和“行走通窜之功”之说,在活血逐瘀、攻坚破积、祛风止痒、搜风通络、壮阳益肾和消癥散结等方面,有着植物药、矿物药难以企及的活性和疗效[1] [2] [3]。动物药作为中药的重要组成部分,因其疗效高、活性强、应用广等特点[4],在我国有着悠久的药用历史。我国药用动物种类繁多,历代本草典籍所载动物药持续增加,从《神农本草经》记载的 67 种至《新修本草》的 128 种,从《本草纲目》461 种到近代《中华本草》的 1000 余种。2020 年版《中国药典》收录动物药材、饮片、提取物共 51 种[5],除此之外,各级地方标准还收录有千余种动物药。检索 2015~2020 年间,有关 2020 版《中国药典》收录的 51 种动物药质量标准相关文献,发现质控指标共涉及氨基酸、多肽[6]、蛋白质[7]等 17 项化合物,其中利用氨基酸、核苷等小分子物质[8]-[19]作为质量控制指标的动物药超过 90% [5],而氨基酸、核苷等小分子物质在动物药中既不是专属性成分也非活性成分。蛋白多肽既是动物药的主要成分又是其主要药效物质,同时还具有较好的种属特异性。因此本文聚焦于动物药蛋白多肽类成分,从蛋白多肽类成分的药理活性及其在质量控制中的应用两个方面进行系统阐述,以为动物药临床应用与质量控制提供参考。

## 2. 动物药蛋白多肽类成分研究进展

### 2.1. 动物来源蛋白多肽类成分药理活性研究进展

蛋白多肽类成分是动物药的主要组成物质[2] [20],同时也是动物药发挥抗凝、纤溶、抗血栓、抗肿瘤、解热、镇痛、抗炎、抗惊厥等多种药理作用的物质基础[21] [22],因此对蛋白多肽类成分的探索,是阐明动物药活性基础的关键。

#### 2.1.1. 抗凝、纤溶、抗血栓

Zhang 等[23]从蚂蝗中纯化并表征了一种热稳定的抗凝血蛋白“WP-77”。Xiao 等[24]从水蛭和菲牛蛭的干燥体中分别分离出 3 条与 6 条抗凝血肽。Cheng 等[25]从 *Hirudinaria manillensis* 中纯化了一种具有抗凝血特性的新型蛋白酶抑制剂(bdellin-HM-2)。Antistasin [26]、Tridegin [27]、Therostasin [28]等均是从小水蛭中分离得到的凝血因子抑制肽。Wu 等[29]从威廉环毛蚓中发现两种抗血栓形成蛋白:DPF3IDNO.1、

DPF3IDNO.2。已有研究报道从少棘巨蜈蚣中分离到序列为 TNGYT 的 FXa 抑制剂[30]、分子量为 346 Da 的新型抗血栓肽[31]及具有纤溶活性的 25 kDa 丝氨酸蛋白酶[32]。Tran 等[33]从蝎毒中鉴定到两个显著延长小鼠尾部出血时间和体外全血凝块形成时间的二肽。黄镇林等[34]发现土鳖虫抗凝组分 F2-2 有良好的体内抗凝药效。

### 2.1.2. 抗炎、镇痛

Li 等[35]从赤子爱胜蚓的腔液中纯化并表征了两种新型镇痛和抗炎肽 VQ-5 和 AQ-5。赖仞课题组[36]从水蛭唾液腺中鉴定出一个小肽家族(HSTXs), 其中 HSTX-I 可特异性抑制电压门控钠(NaV)通道(不适用 NaV1.8 和 NaV1.9), 直接发挥镇痛作用。BmK AS [37] [38]、ANEP [39]、BmNaL-3SS2、BmKBTx [40]、BmK AGAP [41]、BmK-YA [42]等多肽物质均是从全蝎毒液腺中分离得到的钠通道抑制剂, 可发挥镇痛作用。从全蝎的 cDNA 文库中提取得到的 DKK-SP1 通过抑制 Nav1.8 通道的表达发挥了显著的抗炎作用, DKK-SP2 通过抑制 Nav1.7 通道的表达表现出显著的镇痛活性[43]。一种来自蜈蚣毒液的肽 Ssm6a 是 NaV1.7 亚型的选择性抑制剂(IC<sub>50</sub> ≈ 25 nM), 对其它亚型(NaV1.3、NaV1.4、NaV1.5 和 NaV1.8)没有明显影响; Ssm6a 在福尔马林诱导小鼠的疼痛模型中发挥优于吗啡的镇痛能力[44]。弋静等[45]从天然麝香中提取的麝香多肽 SXP4 具有较强的抗炎活性。

### 2.1.3. 抗肿瘤

Egyptian scorpion *Scorpio maurus palmatus* 腺体中鉴定出的抗菌肽 Smp24, 对各种肿瘤和非肿瘤细胞系显示出不同的细胞毒性[46]。蜈蚣寡肽 CO-10 (Trp-Gly-His-Glu)在体外对软骨肉瘤细胞表现出优异的抗增殖效力[47]。全蝎中具有抗炎镇痛作用的 BmK AGAP 能阻止结肠癌、乳腺癌、淋巴瘤和神经胶质瘤等癌症中的细胞增殖[48]; 全蝎中的 BmK CT 可抑制胶质瘤细胞的侵袭和转移[49]。Lu 等[50]从金钱白花蛇中分离得到一种可以选择性地杀死肿瘤细胞, 对正常细胞的细胞毒性较小的糖蛋白, BM-Apotxin。牡蛎活性肽 BPOG50-II 对人舌鳞癌细胞株 Tca8113 的体外增殖具有抑制作用, 可引起细胞形态学改变并能诱导其发生凋亡[51]。

### 2.1.4. 其它

Zeng 等[52]通过 cDNA 克隆策略从蝎子 *Pandinus imperator* 中鉴定出三种新型抗菌肽, 三种肽均对革兰氏阳性菌具有较强抑制作用。scolopin 1、scolopin 2 [53]、乳铁蛋白 B 样肽(LBLP) [54]、scolopendin 1 [55]、Scolopendin 2 [56]等来源于蜈蚣的抗菌肽均显示出抗菌活性。张希春等[57]分离得到了两种新的蚯蚓抗菌肽 F1 与 F2。全蝎中分离得到的 ANEP、BmK IM(ANEP III) [58]及  $\beta$  或  $\beta$ -样神经毒素[59]均显示出良好的抗癫痫活性。

综上所述, 蛋白多肽类成分是动物药发挥药理作用的活性基础。对动物药蛋白多肽类成分的活性研究有利于挖掘与开发动物药蕴藏的巨大的潜能和价值。

## 2.2. 蛋白多肽类成分在动物药质量控制中的研究进展

大量伪劣动物药的出现严重影响其临床疗效与现代化。因此对动物源性中药的准确鉴别, 对于其应用、安全性和可持续性至关重要。现行动物药质量评价与控制方法大部分是依据氨基酸、核苷酸等小分子指标性成分定性检测与定量测定而制定的, 但这些小分子物质仅在部分动物分泌类药材中是特征的, 例如, 蟾酥中的蟾酥甾烯类成分, 麝香中的麝香酮等, 大部分动物类中药中的小分子代谢产物在生物体内普遍存在, 专属性一般较差[1]。近年来, 随着转录组学、蛋白质组学、多肽组学以及高分辨质谱的不断发展, 蛋白多肽在动物药中的研究越来越受到人们的关注, 与基于内源性小分子化合物的质量控制方法相比, 蛋白多肽标志物在动物类中药的质量控制中具有更好的潜力。

### 2.2.1. 光谱法

光谱法包括紫外、红外及原子荧光等, 具有取样量小、快速、简便、准确等特点, 已经越来越多的应用于动物类中药的质量评价研究[60]。如李冰宁等[61]利用红外光谱对中药水蛭鲜品和制品进行了研究, 结果水蛭具有明显的酰胺 I 和 II 带蛋白质特征峰, 其中鲜品的酰胺 II 带吸收峰在  $1543\text{ cm}^{-1}$ , 而生品和炮制品的向低频位移至  $1535\text{ cm}^{-1}$  [62] [63]; 利用二维相关红外谱图对中药水蛭鲜品和制品进行了研究, 结果显示水蛭鲜品中的酰胺 I 带与酰胺 II 带的自动峰的强度比炮制品的更为显著。此法用于动物药的质量控制虽具有操作简便、取样量少等优点, 但同时也具有, 需要大量代表性样品进行化学分析建模, 而不适用于小批量样品检测等不足。

### 2.2.2. 电泳鉴定法

基于电场作用力下的电泳技术能将动物药中存在的复杂多样蛋白进行快速分离检测, 已被广泛用于各种动物药的质量控制[2]。聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术已用于不同基原、不同品种、不同加工方法的地龙[64], 药典三种土鳖虫[65], 炮制前后的全蝎[66]及人工牛黄、鹿蹄筋、蝮蛇、乌梢蛇、金钱白花蛇[67]等动物药材的质量控制。双向凝胶电泳(2-DGE)是应用最广泛的蛋白质检测技术, 其原理是利用等电点和蛋白质分子量的差异, 通过第一向等电聚焦电泳和第二向 SDS-PAGE 进行分离, 实现对成分复杂的动物药中差异蛋白的分离[68]。如王清蓉等构建适于三斑海马干药材蛋白质组研究的双向电泳技术, 为后期进行深入的海马蛋白质组学研究, 筛选特征性蛋白质奠定基础[69]。毛细管电泳法(CE)是依据样品中各组分之间淌度和(或)分配行为的差异而实现组分分离的分析方法, 具有电泳和色谱技术的双重优势, 可对多种成分同时进行分离测定, 目前该法已成为中药分析的有效手段之一[70]。已被用于穿山甲及其炮制品[71]、鸡内金与鸭内金[72]、海马、海龙[73]等的鉴别, 为动物类药材的鉴别提供了一定的参考依据。

凝胶电泳法对一些动物药能达到理想鉴别效果, 同时也具有操作繁琐、重现性差等不足。CE 技术与凝胶电泳技术相比具有高效、微量、分离模式多样等优势, 同时其也存在一些需要解决的问题, 如线性范围窄、重现性差等[74]。

### 2.2.3. 质谱及其联用技术

液质联用技术是当代最重要的分离和鉴定分析方法之一, 弥补了紫外检测仪定量灵敏度差、高效液相色谱仪无法进行全成分分析等缺点, 具有灵敏度高、分离能力强等优点[75]。目前, 该技术已被广泛应用于动物药的鉴别, 如皮胶类[76] [77]、蜈蚣[78]等, 为动物药的质量控制提供了依据。

基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)用于快速灵敏地分析聚合物和蛋白质等大分子[79], 是当今筛选和诊断研究的常用方法。如 Yang 等[80]采用 SDS-PAGE、2-DGE 和基质辅助激光解吸/电离飞行时间/飞行时间质谱(MALDI-TOF/TOF-MS)结合方法实现驴皮、龟壳和鹿角的鉴别。

随着各种高分辨率质谱技术的不断发展与蛋白质数据库的日益完善, 基于鸟枪法(shotgun)的“自下而上”的蛋白质与多肽鉴定策略因其高灵敏度与高通量的极大优势已经成为复杂体系中蛋白质组学与多肽组学研究的主流方法[81]。如 Zhang 等[82]采用无标记定量质谱法发现了 165 种可用于区分野生与人工培养冬虫夏草的差异蛋白。张晗星等[83]采用蛋白质组学同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)质谱分析技术对不同生长发育阶段冬虫夏草的差异蛋白质组进行比较, 为冬虫夏草质量评价标准提供参考。

纳升级液相色谱与高分辨质谱仪已实现了无缝链接, 更高效的色谱分辨率、灵敏度, 有着常规液相色谱无可比拟的优势, 成为目前研究蛋白质组学的最佳工具[2]。咸瑞卿等[84]采用纳升级液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(Nano LC-Q-Exact-MS)筛选出具有种属特异性的矛头蝮蛇蛇毒类凝血酶特征肽“EAYNGLPAK”。Liu [85]、Gu [86]等采用纳升级液相色谱-串联质谱联用(nano LC-MS/MS)技术成功实现了基于特征肽的不同品种地龙鉴别。Yang 等[87]采用纳升级液相色谱串联 Orbitrap 质谱检测器的新



策略, 筛选出了 14 个可用于快速鉴定阿胶、鹿角胶及龟甲胶的特征多肽。

质谱及其联用技术具有分离效果好、灵敏度高、选择性强、通量高等特点, 较好地解决了中药质量控制全成分分析的难题, 在中药质量标准化监测中发挥巨大作用, 使中药逐渐走向国际化。液质联用仪器通常具有价格昂贵、运行费用较高、操作相对复杂等不足[75]。

### 3. 总结与展望

我国中药资源丰富, 动物药作为中药的重要组成部分, 在中药临床应用中具有不可替代的作用。蛋白多肽作为动物药的主要化学成分, 不仅是动物药的主要活性基础, 被应用于抗凝、纤溶、抗血栓、抗肿瘤、解热、镇痛、抗炎、抗惊厥等活性的研究; 还具有良好的专属性, 基于蛋白多肽的动物药质量控制方法被不断报道。目前, 尚未有将动物药药效成分与质量控制指标相关联的报道, 因此, 如何发展和运用多学科技术将两个重要特性结合起来探究反映药效的标志蛋白类成分, 用于动物药质量控制, 是一个重要挑战。

### 参考文献

- [1] 王玄, 欧阳罗丹, 代春美, 马莉, 肖小河. 动物类中药质量控制的生物评价研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(12): 2228-2235.
- [2] 陈银芳, 章常华, 魏学鑫, 余日跃, 涂秀英. 动物药中蛋白质、氨基酸检测分析研究进展[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 186-189.
- [3] 黄招明. 浅谈动物药的应用[J]. 光明中医, 2006(1): 27-28.
- [4] 王海璐, 李庆杰, 赵海平, 李春义. 动物药材鉴别及质量评价方法研究进展与策略[J]. 中草药, 2018, 49(16): 3942-3949.
- [5] 边学峰, 李晶峰, 金力群, 杜延佳, 李志成, 吕金朋, 兰梦, 高旭, 吴楠, 张辉. 对 2020 年版《中国药典》中动物药质量标准的商榷[J]. 吉林中医药, 2021, 41(6): 809-816.
- [6] 赵丽莉. 马鹿茸多肽的制备及质量标准研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [7] 郑洁. 胶类中药蛋白质的分析及鉴定研究[D]: [硕士学位论文]. 镇江: 江苏大学, 2017.
- [8] 顾念念, 索亚然, 乔艺涵, 王昭懿, 冯丹, 赵霞, 孟雪丹, 吴怡青, 李朝峰, 赵崇军, 马志强, 林瑞超, 邹迪新. 柱前衍生-HPLC 法对水蛭的指纹图谱及其 16 种氨基酸含量测定研究[J]. 环球中医药, 2020, 13(4): 592-599.
- [9] 房蕴歌, 王鹏飞, 朱厚达, 陈两绵, 王智民, 高慧敏, 傅欣彤, 聂晶. 蟾酥药材和饮片(蟾酥粉)的质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(8): 1726-1733.
- [10] 王莎莎, 曲悦, 薛大权, 李兰清, 向阳, 张宝徽. 地龙药材的质量标准提升研究[J]. 中国药房, 2019, 30(17): 2379-2383.
- [11] 乔艺涵, 孟雪丹, 索亚然, 刘雯雪, 李二文, 王昭懿, 冯丹, 柯尊洪, 林瑞超, 邹迪新. 珍珠层粉氨基酸指纹图谱的构建及氨基酸含量测定的研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(7): 1353-1363.
- [12] 李勇. 不同来源及品种水蛭、地龙中腐胺的含量测定及统计学分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(11): 38-40.
- [13] 李勇. 九种动物药材氨基酸类成分分析[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [14] 毕晓黎, 刘梦云, 陈伟韬, 李养学. 金边土鳖中 3 种核苷类成分质量控制方法研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(4): 15-18.
- [15] 逯春玲, 王殿波. 九香虫药材中 4 种核苷类成分的高效液相色谱分析[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(10): 2155-2157.
- [16] 张宇静, 夏晶, 曹帅, 仇佳思, 季申. 3 种牛黄中胆汁酸类成分的含量测定与比较[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(4): 546-551.
- [17] 马海芳, 李云, 王昌利, 史亚军. 蜂胶质量标准的研究[J]. 中南药学, 2015, 13(3): 258-262.
- [18] 黄文琦, 林葵, 黄岛平, 黄艳. 乌梢蛇氨基酸图谱研究[J]. 蛇志, 2015, 27(1): 4-6.
- [19] 顾青青, 安徽, 张艺竹, 于静, 刘自华, 王新宏. 不同产地海螵蛸中核苷类成分测定[J]. 中成药, 2015, 37(5): 1016-1021.

- [20] 刘睿, 武文星, 朱悦, 郭盛, 赵明, 曹鹏, 段金彪. 动物药现代研究方法学进展与展望[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(10): 857-869.
- [21] 吴桐, 赵月, 刘苗苗, 谢明, 肖洪贺. 动物药抗肿瘤药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(18): 81-85.
- [22] 郭友立, 谭晓梅. 动物药药理研究概况[J]. 中药药理与临床, 2008(2): 112-115.
- [23] Zhang, Y., Yang, R., Wang, L., *et al.* (2022) Purification and Characterization of a Novel Thermostable Anticoagulant Protein from Medicinal Leech *Whitmania pigra* Whitman. *Journal of Ethnopharmacology*, **288**, Article ID: 114990. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.114990>
- [24] Xiao, L., Nie, J., Li, D., *et al.* (2015) Peptides from Two Sanguinivorous Leeches Analyzed by Ultra-Performance Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometric Detector. *Pharmacognosy Magazine*, **11**, 32-37. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.149699>
- [25] Cheng, R.M., Tang, X.P., Long, A.L., *et al.* (2019) Purification and Characterization of a Novel Anti-Coagulant from the Leech *Hirudinaria manillensis*. *Zoological Research*, **40**, 205-210. <https://doi.org/10.24272/j.issn.2095-8137.2019.037>
- [26] Kwak, H.J., Park, J.S., Medina, J.B.I., *et al.* (2016) Spatiotemporal Expression of Anticoagulation Factor Antistasin in Freshwater Leeches. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 3994. <https://doi.org/10.3390/ijms20163994>
- [27] Schmitz, T., Paul, G.A.A., Nubbemeyer, B., *et al.* (2021) NMR-Based Structural Characterization of a Two-Disulfide-Bonded Analogue of the FXIIIa Inhibitor Tridegin: New Insights into Structure-Activity Relationships. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 880. <https://doi.org/10.3390/ijms22020880>
- [28] Chopin, V., Salzet, M., Baert, J., *et al.* (2000) Therostasin, a Novel Clotting Factor Xa Inhibitor from the Rhynchobdellid Leech. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 32701-32707. <https://doi.org/10.1074/jbc.M909217199>
- [29] Wu, Y., Hu, S., Ma, Y., Zhao, B., *et al.* (2020) Novel *Pheretima guillelmi*-Derived Antithrombotic Protein DPf3: Identification, Characterization, *in Vitro* Evaluation and Antithrombotic Mechanisms Investigation. *International Journal of Biological Macromolecules*, **154**, 545-556. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.097>
- [30] Kong, Y., Shao, Y., Chen, H., *et al.* (2013) A Novel Factor Xa-Inhibiting Peptide from Centipedes Venom. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, **19**, 303-311. <https://doi.org/10.1007/s10989-013-9353-0>
- [31] Kong, Y., Huang, S.L., Shao, Y., *et al.* (2013) Purification and Characterization of a Novel Antithrombotic Peptide from *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Journal of Ethnopharmacology*, **145**, 182-186. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.048>
- [32] You, W.K., Sohn, Y.D., Kim, K.Y., *et al.* (2004) Purification and Molecular Cloning of a Novel Serine Protease from the Centipede, *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **34**, 239-250. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2003.10.003>
- [33] Tran, T.V., Hoang, A.N., Nguyen, T.T.T., *et al.* (2017) Anticoagulant Activity of Low-Molecular Weight Compounds from *Heterometrus laoticus* Scorpion Venom. *Toxins*, **9**, Article No. 343. <https://doi.org/10.3390/toxins9110343>
- [34] 黄镇林, 何亮颖, 王宏涛, 赵韶华, 王玉蓉. 土鳖虫活性组分 F2-2 体内抗凝药效实验[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(6): 1359-1363.
- [35] Li, C., Chen, M., Li, X., *et al.* (2017) Purification and Function of Two Analgesic and Anti-Inflammatory Peptides from Coelomic Fluid of the Earthworm, *Eisenia foetida*. *Peptides*, **89**, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.01.016>
- [36] Wang, G., Long, C., Liu, W., *et al.* (2018) Novel Sodium Channel Inhibitor from Leeches. *Frontiers in Pharmacology*, **9**, Article No. 186. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00186>
- [37] Cui, Y., Song, Y.B., Ma, L., *et al.* (2010) Site-Directed Mutagenesis of the Toxin from the Chinese Scorpion *Buthus martensii* Karsch (BmKAS): Insight into Sites Related to Analgesic Activity. *Archives of Pharmacal Research*, **33**, 1633-1639. <https://doi.org/10.1007/s12272-010-1012-9>
- [38] Liu, Z.R., Tao, J., Dong, B.Q., *et al.* (2012) Pharmacological Kinetics of BmK AS, a Sodium Channel Site 4-Specific Modulator on Nav1.3. *Neuroscience Bulletin*, **8**, 209-221. <https://doi.org/10.1007/s12264-012-1234-6>
- [39] Song, Y., Liu, Z., Zhang, Q., *et al.* (2017) Investigation of Binding Modes and Functional Surface of Scorpion Toxins ANEP to Sodium Channels 1.7. *Toxins*, **9**, Article No. 387. <https://doi.org/10.3390/toxins9120387>
- [40] Lin, S., Wang, X., Hu, X., *et al.* (2017) Recombinant Expression, Functional Characterization of Two Scorpion Venom Toxins with Three Disulfide Bridges from the Chinese Scorpion *Buthus martensii* Karsch. *Protein and Peptide Letters*, **24**, 235-240. <https://doi.org/10.2174/0929866524666170117142404>
- [41] Mao, Q., Ruan, J., Cai, X., *et al.* (2013) Antinociceptive Effects of Analgesic-Antitumor Peptide (AGAP), a Neurotoxin from the Scorpion *Buthus martensii* Karsch, on Formalin-Induced Inflammatory Pain through a Mitogen-Activated

- Protein Kinases-Dependent Mechanism in Mice. *PLOS ONE*, **8**, e78239. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078239>
- [42] Zhang, Y., Xu, J., Wang, Z., *et al.* (2012) BmK-YA, an Enkephalin-Like Peptide in Scorpion Venom. *PLOS ONE*, **7**, e40417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040417>
- [43] Liu, Y., Li, Y., Zhu, Y., *et al.* (2021) Study of Anti-Inflammatory and Analgesic Activity of Scorpion Toxins DKK-SP1/2 from Scorpion *Buthus martensii* Karsch (BmK). *Toxins*, **13**, Article No. 498. <https://doi.org/10.3390/toxins13070498>
- [44] Yang, S., Xiao, Y., Kang, D., *et al.* (2013) Discovery of a Selective NaV1.7 Inhibitor from Centipede Venom with Analgesic Efficacy Exceeding Morphine in Rodent Pain Models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**, 17534-17539. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306285110>
- [45] 弋静, 尹竹君, 全云云, 陈世龙, 郎吉瑞, 黎勇, 赵军宁, 李莉. 麝香多肽分离纯化及其抗炎作用机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2040-2049.
- [46] Guo, R., Liu, J., Chai, J., *et al.* (2022) Scorpion Peptide Smp24 Exhibits a Potent Antitumor Effect on Human Lung Cancer Cells by Damaging the Membrane and Cytoskeleton *in Vivo* and *in Vitro*. *Toxins*, **14**, Article No. 438. <https://doi.org/10.3390/toxins14070438>
- [47] Ren, Y., Song, H., Wu, Y., *et al.* (2020) Structural Characterization and Anticancer Potency of Centipede Oligopeptides in Human Chondrosarcoma Cancer: Inducing Apoptosis. *RSC Advances*, **10**, 29780-29788. <https://doi.org/10.1039/D0RA04811A>
- [48] Richard, S.A., Kampo, S., Sackey, M., *et al.* (2020) The Pivotal Potentials of Scorpion *Buthus martensii* Karsch-Analgesic-Antitumor Peptide in Pain Management and Cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2020**, Article ID: 4234273. <https://doi.org/10.1155/2020/4234273>
- [49] Wu, S., Ma, K., Qiao, W.L., *et al.* (2018) Anti-Metastatic Effect of <sup>131</sup>I-Labeled *Buthus martensii* Karsch Chlorotoxin in Gliomas. *International Journal of Molecular Medicine*, **42**, 3386-3394. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3905>
- [50] Lu, W., Hu, L., Yang, J., *et al.* (2018) Isolation and Pharmacological Characterization of a New Cytotoxic L-Amino Acid Oxidase from *Bungarus multicinctus* Snake Venom. *Journal of Ethnopharmacology*, **213**, 311-320. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.026>
- [51] 廖共山, 周先果, 班建东, 雷丹青. 牡蛎活性肽对人舌鳞癌 Tca8113 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 山东医药, 2009, 49(47): 13-15.
- [52] Zeng, X. C., Zhou, L., Shi, W., *et al.* (2013) Three New Antimicrobial Peptides from the Scorpion *Pandinus Imperator*. *Peptides*, **45**, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.03.026>
- [53] Peng, K., Kong, Y., Zhai, L., *et al.* (2010) Two Novel Antimicrobial Peptides from Centipede Venoms. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*, **55**, 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.07.040>
- [54] Choi, H., Hwang, J.S. and Lee, D.G. (2013) Antifungal Effect and Pore-Forming Action of Lactoferricin B like Peptide Derived from Centipede *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1828**, 2745-2750. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.07.021>
- [55] Choi, H., Hwang, J.S. and Lee, D.G. (2014) Identification of a Novel Antimicrobial Peptide, Scolopendin 1, Derived from Centipede *Scolopendra subspinipes mutilans* and Its Antifungal Mechanism. *Insect Molecular Biology*, **23**, 788-799. <https://doi.org/10.1111/imb.12124>
- [56] Lee, H., Hwang, J.S., Lee, J., *et al.* (2015) Scolopendin 2, a Cationic Antimicrobial Peptide from Centipede, and Its Membrane-Active Mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1848**, 634-642. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.11.016>
- [57] 张希春, 孙振钧, 嵇如朋, 侯全民, 林桂秋. 蚯蚓两种抗菌肽的分离纯化及部分性质[J]. 生物化学与生物物理进展, 2002(6): 955-960.
- [58] Li, Z., Hu, P., Wu, W., *et al.* (2019) Peptides with Therapeutic Potential in the Venom of the Scorpion *Buthus martensii* Karsch. *Peptides*, **115**, 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.02.009>
- [59] Xiao, Q., Zhang, Z.P., Hou, Y.B., *et al.* (2022) Anti-Epileptic/Pro-Epileptic Effects of Sodium Channel Modulators from *Buthus martensii* Karsch. *Acta Physiologica Sinica*, **74**, 621-632.
- [60] 刘侗, 张红印, 杜延佳, 李志成, 张静, 孙佳明, 张辉. 动物类药材现代化质量评价研究[J]. 吉林中医药, 2016, 36(10): 1027-1028+1032.
- [61] 李冰宁, 武彦文, 欧阳杰, 孙素琴, 陈舜琮. 应用红外光谱技术研究中药水蛭的炮制过程[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(4): 979-982.
- [62] 孙素琴, 周群, 秦竹. 中药二维相关红外光谱鉴定图集[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 154.
- [63] 谢晶曦, 常俊标, 王绪明. 红外光谱在有机化学和药物化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 304.

- [64] 吴文如, 李薇, 赖小平, 马明, 林岚, 魏金津. 地龙药材蛋白质电泳鉴定的初步研究[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(3): 267-270.
- [65] 卢颖, 江佩芬. 动物药的蛋白电泳鉴别(I)——土鳖虫[J]. 北京中医药大学学报, 1997(6): 45-46.
- [66] 侯林, 姬涛, 田景振, 王超. 不同炮制方法对全蝎有效成分和活性的影响[J]. 中草药, 2011, 42(5): 897-899.
- [67] 陈振江, 沈瑜琪, 刘焱文. 贵重动物类中药材蛋白质 SDS-PAGE 的图谱研究[J]. 中药材, 2007(7): 69-771.
- [68] 陈佳佳. 蛋白质组学技术在农作物研究中的应用进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(36): 20549-20550+20553.
- [69] 王清蓉, 万德光, 国锦琳, 陈璐. 三斑海马蛋白质组学双向电泳技术的建立与优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(5): 50-54.
- [70] 黄靖涵, 刘远平. 毛细管电泳在中药分析中的应用[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(13): 66-67.
- [71] 陈振德, 许重远, 庄志铨, 侯连兵. 穿山甲及其炮制品蛋白多肽高效毛细管电泳法鉴定[J]. 广东药学院学报, 2000(4): 302-304.
- [72] 陈振德, 许重远, 谢立. 蛋白多肽高效毛细管电泳法鉴别鸡内金与鸭内金[J]. 中药材, 2002(4): 46-247.
- [73] 张朝晖, 范国荣, 徐国钧, 徐珞珊, 王强. 12 种海马、海龙类药材高效毛细管电泳法鉴别[J]. 中国中药杂志, 1998(5): 3-4+62.
- [74] 吕丹, 唐克慧, 王宇弛, 张春然, 王瑛瑛, 丁文字, 王术兰. 毛细管电泳法在药物分析研究中的应用[J]. 海峡药学, 2018, 30(3): 19-21.
- [75] 熊晓莉, 万书源, 龚来颀, 李鹤. 现代化中药质量控制中液质联用技术的应用与展望[J]. 现代盐化工, 2022, 49(3): 73-75.
- [76] 张贵锋, 刘涛, 王前, 罗坚, 秦玉峰, 尤金花, 田守生, 余蓉, 苏志国. 中药阿胶的质量控制方法研究[J]. 药物生物技术, 2009, 16(3): 250-254.
- [77] Liu, R., Huang, Y., Xu, H., et al. (2019) A Strategy for Identifying Species-Specific Peptide Biomarkers in Deer-Hide Gelatin Using Untargeted and Targeted Mass Spectrometry Approaches. *Analytica Chimica Acta*, **1092**, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.064>
- [78] 李彦超, 胡靓君, 张琪, 刘睿, 崔小兵, 柴川, 文红梅. UFLC-MS/MS 法分析蜈蚣中 3 种多肽成分以及在蜈蚣鉴别中的应用[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(10): 945-952.
- [79] Lin, Z. and Cai, Z. (2018) Negative Ion Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometric Analysis of Small Molecules by Using Nanostructured Substrate as Matrices. *Mass Spectrometry Reviews*, **37**, 681-696. <https://doi.org/10.1002/mas.21558>
- [80] Yang, H., Zheng, J., Wang, H.Y., et al. (2017) Comparative Proteomic Analysis of Three Gelatinous Chinese Medicines and Their Authentications by Tryptic-Digested Peptides Profiling Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight/Time of Flight Mass Spectrometry. *Pharmacognosy Magazine*, **13**, 663-667. [https://doi.org/10.4103/pm.pm\\_54\\_17](https://doi.org/10.4103/pm.pm_54_17)
- [81] Zhou, H., Ning, Z., Starr, A.E., et al. (2012) Advancements in Top-Down Proteomics. *Analytical Chemistry*, **84**, 720-734. <https://doi.org/10.1021/ac202882y>
- [82] Zhang, X., Liu, Q., Zhou, W., et al. (2018) A Comparative Proteomic Characterization and Nutritional Assessment of Naturally- and Artificially-Cultivated *Cordyceps sinensis*. *Journal of Proteomics*, **181**, 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2018.03.029>
- [83] 张晗星, 钱正明, 苏尧, 刘杏忠, 李文佳, 董彩虹. 冬虫夏草不同发育时期蛋白质组 iTRAQ 质谱分析[J]. 菌物学报, 2016, 35(4): 411-423.
- [84] 咸瑞卿, 杭宝建, 巩丽萍, 王聪聪, 张迅杰, 彭丽, 石峰. 基于特征肽的超高效液相色谱-串联质谱法检测矛头蝮蛇毒种属来源及类凝血酶含量[J]. 色谱, 2022, 40(9): 810-816.
- [85] Liu, Q., Bi, Q., Zhang, J., et al. (2022) A Rapid and Simple Signature Peptides-Based Method for Species Authentication of Three Main Commercial Pheretima. *Journal of Proteomics*, **255**, Article ID: 104456. <https://doi.org/10.1016/j.jpro.2021.104456>
- [86] Gu, Y., Zhang, J., Sun, J., et al. (2021) Marker Peptide Screening and Species-Specific Authentication of Pheretima Using Proteomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **413**, 3167-3176. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03254-2>
- [87] Yang, H., Shen, Y., Xu, Y., et al. (2015) A Novel Strategy for the Discrimination of Gelatinous Chinese Medicines Based on Enzymatic Digestion Followed by Nano-Flow Liquid Chromatography in Tandem with Orbitrap Mass Spectrometry Detection. *International Journal of Nanomedicine*, **10**, 4947-4955. <https://doi.org/10.2147/IJN.S82291>