

活性海星肽的分离纯化及其对人乳腺癌细胞的作用

李开涛¹, 冉晓勇², 郝奇², 宋淑亮^{1*}

(1. 山东大学(威海)海洋学院, 山东威海 264209) (2. 威海银河生物技术股份有限公司, 山东威海 264204)

摘要: 为了从海星中分离纯化出活性肽并探究其对人乳腺癌细胞 MCF-7 的作用, 采用仿生酶解法制备了海星肽粗品。通过阴离子交换层析法和凝胶柱层析法进行了分离纯化, 得到了两组活性海星肽, 利用 MTT 法比较了这两组活性海星肽对 MCF-7 人乳腺癌细胞的抑制作用的强弱; 海星肽粗品经阴离子交换层析法分离获得 A1、A2、A3、A4、A5 五种组分后, 再通过凝胶柱层析法分离获得 B1、B2、B3 三种组分, 利用 MCF-7 细胞作为筛选模型作抗肿瘤活性鉴定。通过阴离子交换层析法获得的组分 A2 质量浓度为 600 $\mu\text{g/mL}$ 时可比较有效地抑制 MCF-7 细胞生长, 抑制率为 21.65%; 通过凝胶柱层析法分离获得的组分 B1、B2、B3 均具有明显的抗肿瘤活性, 其中 B1 质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 时能有效抑制 MCF-7 细胞生长, 抑制率为 14.65%; B2、B3 质量浓度为 300 $\mu\text{g/mL}$ 时能有效抑制 MCF-7 细胞生长, 抑制率分别为 21.23%、24.68%。研究表明通过阴离子交换层析和凝胶柱层析从海星中分离纯化出的活性肽组分对人乳腺癌细胞 MCF-7 呈现出明显的抑制作用, 这为进一步研究海星肽活性组分的抗肿瘤性能提供了依据。

关键词: 仿生酶解法; 海星肽; 抗肿瘤活性; 离子交换层析; 凝胶柱层析

文章编号: 1673-9078(2025)04-125-130

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.4.0219

Isolation and Purification of Active Starfish Peptides and Their Effects on Human Breast Cancer Cells

LI Kaitao¹, RAN Xiaoyong², HAO Qi², SONG Shuliang^{1*}

(1. Shandong University (Weihai) College of Oceanography, Weihai 264209, China)

(2. Weihai Galaxy Biotechnology Co. Ltd., Weihai 264204, China)

Abstract: Raw starfish peptides were prepared by biomimetic enzymatic hydrolysis to isolate and purify active peptides from starfish and explore their effects on human breast cancer cells MCF-7. Two groups of active starfish peptides were separated and purified by anion exchange chromatography and gel column chromatography. The MTT method was used to compare the inhibitory effect of these two groups of active starfish peptides on MCF-7 human breast cancer cells. The crude starfish peptide was separated by anion exchange chromatography to obtain five coomponents, A1, A2, A3, A4 and A5, which were then separated by gel column chromatography to obtain three components, B1, B2 and B3. MCF-7 cells were used as a screening model for evaluating the antitumor activity. The A2 component obtained by anion exchange chromatography inhibits the growth of MCF-7 cells by 21.65% at an A2 concentration of 600 $\mu\text{g/mL}$. The B1, B2 and B3 components obtained by separation using gel column chromatography showed significant anti-tumor activities. B1 at 200 $\mu\text{g/mL}$ significantly inhibited the

引文格式:

李开涛,冉晓勇,郝奇,等.活性海星肽的分离纯化及其对人乳腺癌细胞的作用[J].现代食品科技,2025,41(4):125-130.

LI Kaitao, RAN Xiaoyong, HAO Qi, et al. Isolation and purification of active starfish peptides and their effects on human breast cancer cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 125-130.

收稿日期: 2024-02-26

基金项目: 山东省科技型中小企业创新发展专项扶持资金项目 (2023TSGC0658)

作者简介: 李开涛 (2000-), 男, 硕士, 研究方向: 药理学, E-mail: 202317742@mail.sdu.edu.cn

通讯作者: 宋淑亮 (1981-), 男, 博士, 高级实验师, 研究方向: 海洋活性物质开发、药理学, E-mail: songshuliang@sdu.edu.cn

growth of MCF-7 cells, with an inhibition rate of 14.65%. B2 and B3 at concentrations of 300 $\mu\text{g/mL}$ could effectively inhibit the growth of MCF-7 cells, with inhibition rates of 21.23% and 24.68%, respectively. The results showed that the active peptide components isolated and purified from starfish by anion exchange chromatography and gel column chromatography exhibited significant inhibitory effects on human breast cancer cells MCF-7, which provides a basis for further research on the anti-tumor properties of starfish peptides' active components.

Key words: bionic enzymatic method; starfish peptide; anti-tumor activity; ion-exchange column chromatography; gel chromatograph

海星 (*Asteroidea*) 是一类以鱼虾贝类为食的无脊椎的底栖海洋动物^[1], 含有皂苷、多糖、多肽、氨基酸及生物碱等多种活性物质^[2], 具有多种生物功能。罗氏海盘车 (*Asterias rollestoni*) 属棘皮动物门 (Echinodermata) 海星纲 (*Asteroidea*) 钳棘目 (Forcipulata) 海盘车科 (Asteriidae), 广泛分布于中国北方海域, 是海洋中常见的大型无脊椎动物之一^[3]。罗氏海盘车通常为扁平状, 其表面积较大, 外部形态有棘刺, 呈五角形, 由中央盘和 5 条腕组成^[4]。海盘车的腕基部与中央盘上的骨片紧密连接在一起, 能够将腕部牢固连接在体盘上^[5]。罗氏海盘车中含有皂苷、多糖、多肽、生物碱等多种生物成分, 具有解毒、止痛等功效^[6]。研究表明, 罗氏海盘车的水溶性海星皂苷成分具有抗真菌和抗肿瘤活性^[7]; 罗氏海盘车中极性脑苷脂具有体内外抗肿瘤作用和调节非酒精性脂肪肝和肝损伤的作用^[8]。

多肽类药物与传统的抗肿瘤药物相比具有副作用小、活性高、易吸收、不易产生耐药性等优点^[9]。乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一, 多肽类药物对乳腺癌的抑制作用机制主要有抑制迁移, 诱导凋亡, 阻滞细胞周期等^[10]。越来越多的研究表明, 肽类等小分子活性物质对抑制肿瘤细胞的生长具有明显的作用。Xu 等^[11]研究发现从泥蚶中提取的抗肿瘤多肽 TG-1 通过诱导 caspase-3 表达, 诱导肾转移瘤 OS-RC-2 细胞凋亡; Li 等^[12]研究发现在蜂毒中发现的天然多肽 Melittin 通过靶向线粒体, 引起线粒体损伤, 并抑制自噬-溶酶体降解途径从而激活 A549 细胞凋亡信号通路; 阮之平等^[13]研究发现从大蟾蜍卵子提取的活性多肽可能通过将细胞阻滞在 G2/M 期, 即 DNA 合成后期来抑制结肠癌和胃癌肿瘤细胞增殖等。

本文利用 AKTA 蛋白分离纯化系统从罗氏海盘车中制得海星肽, 通过阴离子交换层析和凝胶色谱层析对获得的海星肽进行了体外抗肿瘤活性测试, 主要讨论了海星肽对人乳腺癌细胞 MCF-7 增殖的作

用, 并为改进海星肽分离纯化方案作出探讨, 这将有助于拓宽治疗乳腺癌的道路, 为后续的相关研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

新鲜罗氏海盘车, 采自威海黄海海域; 人乳腺癌细胞系 (MCF-7), 中科院细胞库; Q Sepharose FF 填料, 美国 Cytiva 公司; Superdex 30 填料, 美国 Cytiva 公司; 牛血清白蛋白 A8850-5、胃蛋白酶 P8160-10、胰蛋白酶 T8150-5、木瓜蛋白酶 P8150-5, 北京索莱宝科技有限公司; DMEM 高糖培养基, 美国 Hyclone 公司; 胎牛血清, 以色列 Biological Industries 公司; MTT、DMSO, 美国 Sigma-Aldrich 公司。

超纯水系统, 美国 Millipore 公司; pH 计, 美国 Thermo orion; 低温离心机 5810R, 德国 Eppendorf 公司; 紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; BT1-100E 恒流泵, 上海琪特分析仪器有限公司; 中空纤维膜组件 (截留相对分子质量 6 000), 天津天膜工程技术有限公司; 旋转蒸发仪, 郑州长城科工贸有限公司; 真空冷冻干燥仪, 丹麦 Heto Drywinner 公司; 真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; 冷却水循环装置, 上海爱朗仪器有限公司; AvantiTM J-20XP 大型低温离心机, 美国贝克曼库尔特有限公司; XDS-1B 倒置生物显微镜, 重庆重光实业有限公司; 旋涡混合仪, 中国广州艾卡仪器设备有限公司; 酶标仪, 帝肯奥地利有限责任公司; 超净工作台, 哈尔滨东联仪器厂; 数显恒温水浴锅, 德国 Heidolph 公司; 液氮生物容器, 成都金凤液氮容器有限公司; 真空定温干燥器, 上海爱朗仪器有限公司; 高速分散匀浆机, 常州普森电子仪器厂; 立式压力蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; 0.22 μm 过滤器, 美国 Millipore 公司; 96 孔细胞培养板, 无锡耐思生物科技有限公司; 低温冰箱, 日本 SANYO 公司; 微量移液器, 德国 Eppendorf 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 海星肽粗品的提取

1.2.1.1 仿生酶解法提取海星肽粗品

通过实验室之前的实验技术按以上流程图操作，从 110 g 罗氏海盘车体壁中制得海星肽粗品 7.83 g，为棕黄色固体，味微腥，置于干燥器中储存备用。

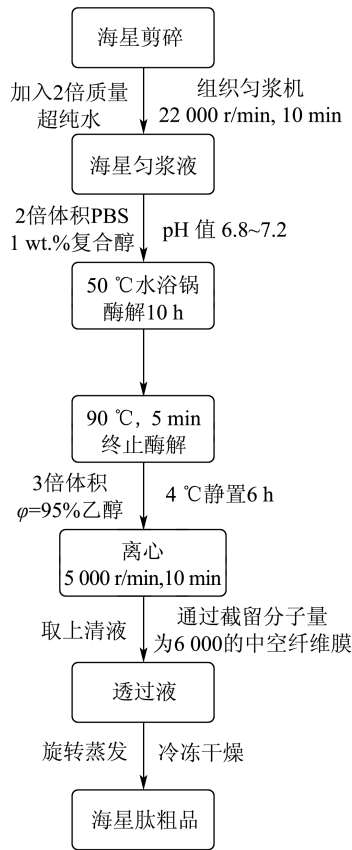


图 1 海星肽粗品提取流程图

Fig.1 Flow chart of raw starfish peptide extraction

1.2.1.2 双缩脲法测定海星肽粗品中的多肽含量

取牛血清白蛋白（BSA）加入纯水配成系列质量浓度梯度蛋白标准品溶液，加入双缩脲试剂混匀，置 37 °C 水浴加热 30 min。另取纯水加双缩脲试剂作为空白对照。以蛋白质质量浓度为横轴、540 nm 处吸光度为纵轴绘制标准曲线。

精密量取 0.5 g 的待测海星肽样品溶于 10 mL 纯水中，制成质量浓度为 50 mg/mL 的待测样品溶液。当样品溶液稀释 2 倍时，所测数值处于标准曲线的线性范围内，故将样品稀释二倍并设三组作为平行对照。加入双缩脲试剂混匀，置 37 °C 水浴中 30 min，根据紫外-可见分光光度法，在波长 540 nm 处测定吸光度，在标准曲线上按照吸光度计算出供试品中的多肽含量。

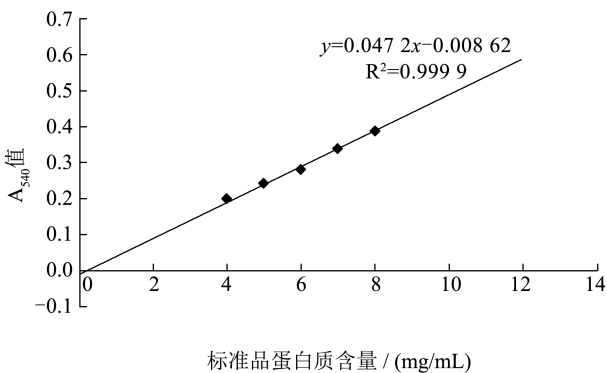


图 2 海星肽多肽含量测定标准曲线

Fig.2 Standard curve for determination of polypeptide content of starfish peptide

以吸光度 A₅₄₀ 值为纵坐标，标准蛋白质质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。结果如图 2 所示，回归方程为 $y=0.047\ 2x-0.008\ 62$ ， $R^2=0.999\ 9$ 。测得稀释 2 倍的样品质量浓度为 9.3 mg/mL，计算得出多肽含量为 37.2%。

1.2.2 海星肽的分离纯化

1.2.2.1 Q-Sepharose Fast Flow 阴离子交换层析分离纯化海星肽

将溶胀好的 Q-Sepharose Fast Flow 填料，摇晃均匀后迅速倒入装柱器中，沉降 24 h 后以 2 mL/min 的流速、蒸馏水为流动相进行压柱至柱内填料的界面不再向下移动。阴离子交换层析采用柱体积为 30 mL 的 Q-Sepharose Fast Flow 阴离子交换层析柱，上样体积为 50 mL。上样洗脱 10 个柱体积，按质量分数为 0%~7% 的 B 液（B 液为 2 mol/L 的 NaCl 溶液）进行线性洗脱 7 个柱体积（30 mL），质量分数为 7%~15% 的 B 液进行线性洗脱 30 个柱体积，质量分数为 100% 的 B 液洗脱 10 个柱体积。将紫外检测器的检测波长设为 280 nm，收集自动收样器质量分数为 7%~15% 的 B 液线性洗脱时的样品峰，合并相同峰后醇沉脱盐。各段脱盐的收集液真空干燥，置于干燥器中保存备用。使用时采用质量分数为 10% 的 FBS 的 DMEM High Glucose 培养基溶解并用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌。

1.2.2.2 Superdex 30 凝胶层析分离纯化海星肽

通过凝胶柱层析法对阴离子交换层析纯化获得的组分进行进一步的分离纯化，取已溶胀好的 Supedex 30 填料 60 mL，之后流程与前面相同。采用手动进样环进样，每次进样 1 mL。在洗脱 1.5 个柱体积（90 mL）后用紫外检测器检测多肽，检测波长为 280 nm。采用自动收样器收集样品峰，合并

相同峰后醇沉脱盐。将各段收集液适当浓缩之后真空干燥,置于干燥器中保存备用。使用时采用质量分数 10% 的 FBS 的 DMEM High Glucose 培养基溶解并用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌。

1.2.3 MTT法测定海星肽体外抗肿瘤活性

用质量分数 10% 的 FBS 的 DMEM High Glucose 细胞培养基将海星肽溶解,滤膜除菌后 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。用胰酶消化收集 MCF-7 细胞,制成细胞密度为每毫升 4×10^4 个左右的细胞悬液。向 96 孔板各孔内加入 100 μL 的细胞悬液,培养 24 h 后吸净孔内的旧培养基,加入不同浓度的海星肽溶液。再培养 48 h 后,加入 MTT 试剂,于培养箱内孵育 4 h,吸净孔内培养基,加入 DMSO 试剂,使用酶标仪测定各孔的吸光度值。设定测定波长为 570 nm,参比波长为 630 nm。

1.2.4 统计学处理

本实验中所有数据结果均采用 SPSS 19.0 For Windows 统计软件进行统计学处理。方差分析采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有显著性 (*)。

2 结果与讨论

2.1 海星肽的分离纯化

2.1.1 Q-Sepharose Fast Flow阴离子交换柱层析

将紫外检测器的检测波长设为 280 nm, Q-Sepharose Fast Flow 阴离子交换柱层析色谱图共有 5 组较明显峰,合并相同峰后醇沉脱盐,得到 A1、A2、A3、A4、A5 五种组分。将各段脱盐的收集液真空干燥并置于干燥器中保存备用。使用时采用质量分数 10% 的 FBS 的 DMEM High Glucose 培养基溶解,并用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌,比较何种组分具有抗肿瘤活性。

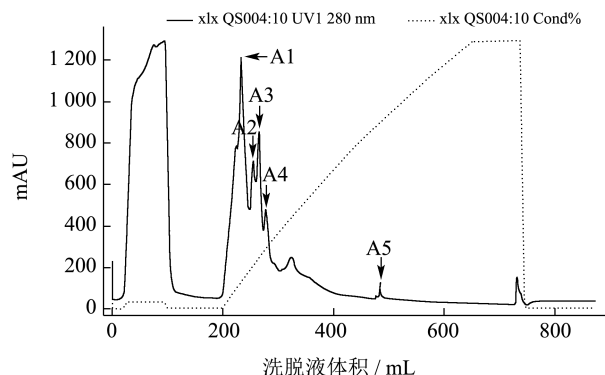


图3 Q-Sepharose Fast Flow 柱层析洗脱图谱

Fig.3 Q-Sepharose Fast Flow column chromatography

2.1.2 Superdex 30凝胶柱层析

将阴离子交换层析获得的抑制 MCF-7 生长效果最好的 A2 组分通过 Superdex 30 凝胶柱进一步分离纯化。将紫外检测器的检测波长设为 280 nm, Superdex 30 凝胶过滤色谱图共有 3 组较明显峰,合并相同峰后醇沉脱盐,得到 B1、B2、B3 三种组分。将各段脱盐的收集液真空干燥并置于干燥器中保存备用。使用时用质量分数 10% 的 FBS 的 DMEM High Glucose 培养基溶解,并用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌。分别检测各段峰有无抑制人乳腺癌细胞增殖的活性,比较何种组分具有抗肿瘤活性。

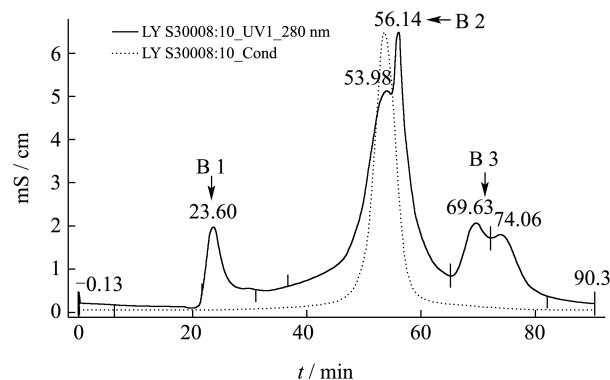


图4 superdex 30 凝胶柱层析洗脱图谱

Fig.4 Column chromatography of superdex 30 gel

2.2 MTT法测定海星肽体外抗肿瘤活性

2.2.1 海星肽粗品对MCF-7细胞的影响

将制备的海星肽粗品配制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后,将其质量浓度分别稀释至 200、300、400、500 $\mu\text{g/mL}$,每个质量浓度设立 6 个复孔平行实验。实验结果如图 5 所示:

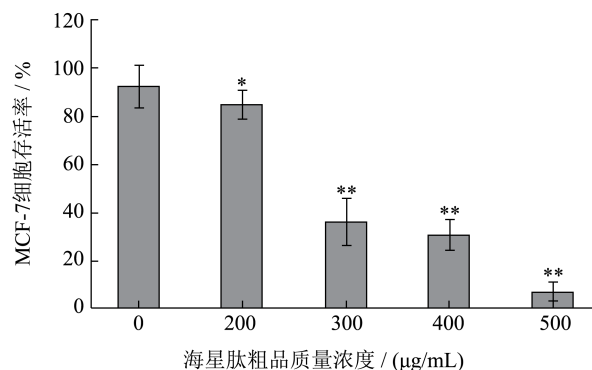


图5 海星肽粗品对 MCF-7 细胞的作用

Fig.5 Effect of raw starfish peptide on MCF-7 cells

注:空白对照组为质量分数 10% 的 FBS 的 DMEM,每组数据均表示三次独立实验的结果。*表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$ 。

从图5可以看出,当加入质量浓度为300 $\mu\text{g/mL}$ 的海星肽粗品时,海星肽粗品能够比较明显地抑制MCF-7细胞生长,抑制率为63.32%。此外,随着加入的海星肽粗品的质量浓度增大,其对MCF-7细胞的抑制作用逐步增强,表现出一定的剂量依赖性。

2.2.2 经阴离子交换色谱纯化获得的海星肽组分抗肿瘤活性的筛选

用质量分数10%的FBS的DMEM培养基将Q-Sepharose Fast Flow阴离子交换色谱纯化获得的五种组分溶解,各组分分别配成200、600、1 000 $\mu\text{g/mL}$ 三个质量浓度梯度的溶液,通过MTT比色法测定经阴离子交换色谱纯化的海星肽活性组分对MCF-7细胞增殖的抑制作用。实验结果如图6所示。

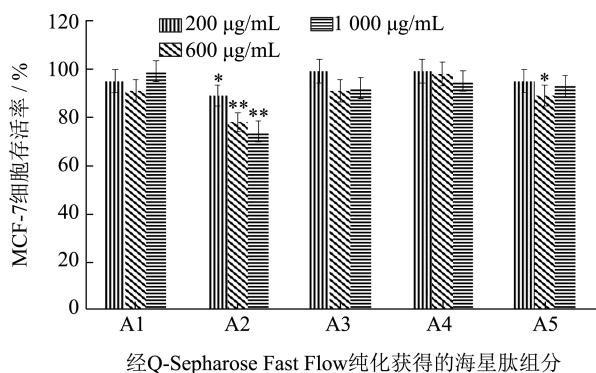


图6 经Q-Sepharose Fast Flow纯化获得的海星肽组分对MCF-7细胞的作用

Fig.6 Effect of starfish peptides purified by Q-Sepharose Fast Flow on MCF-7 cells

注:每组数据均表示3次独立实验平均的结果,每种组分设立三个梯度质量浓度,每种组分的每个质量浓度设立六个复孔,与空白对照组质量分数10%的FBS的DMEM(即海星肽质量浓度为0 $\mu\text{g/mL}$)比较,其中*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。下同。

从图6可以看出,当加入质量浓度为600 $\mu\text{g/mL}$ 的海星肽组分时,海星肽组分A2能够比较有效地抑制MCF-7细胞生长,抑制率为21.65%。通过Q-Sepharose Fast Flow分离的其他组分对MCF-7的抑制作用并不明显。

2.2.3 经凝胶过滤色谱纯化获得的海星肽组分抗肿瘤活性的筛选

用质量分数10%的FBS的DMEM培养基将Superdex 30凝胶过滤色谱纯化获得的三种组分溶解,各组分分别配成30、300、3 000 $\mu\text{g/mL}$ 三个质量浓度梯度的溶液,通过MTT比色法测定海星肽对MCF-7细胞增殖的抑制作用。实验结果如图7所示:

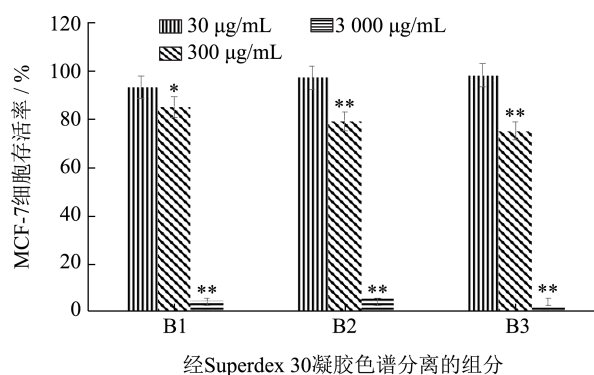


图7 经Superdex 30纯化获得的海星肽组分对MCF-7细胞的作用

Fig.7 Effect of starfish peptides purified by superdex 30 on MCF-7 cells

从图7可以看出,当加入质量浓度为300 $\mu\text{g/mL}$ 的海星肽组分B2、B3时,组分B2、B3能够比较有效地抑制MCF-7细胞生长,抑制率分别达到了21.32%和24.68%。当加入质量浓度为300 $\mu\text{g/mL}$ 的海星肽组分B1时,组分B1也表现出对MCF-7增殖的抑制作用,但组分B1的抑制效果不如组分B2和B3明显。

2.3 讨论

在实验过程中发现,制备海星肽的混合酶的活力比海星肽的提取效率至关重要,并且若在酶解提取之后不进行升温对酶灭活的处理,可能会导致后期超滤和旋转蒸发时海星肽提取液易变质。本次实验先后采取阴离子交换柱层析和凝胶柱层析先后对海星肽粗品进行纯化,获得的产物基本涵盖了海星肽粗品中所有可能存在的物质,也初步筛选出了具有明显抗肿瘤活性的组分,从海星肽粗品对MCF-7细胞的作用可以看出探究海星肽的抗肿瘤活性确实有意义。然而经Q-Sepharose Fast Flow阴离子交换柱层析得到的五个组分对MCF-7的抑制作用均不是非常理想,考虑到的原因可能有:实验参数的设置并不是十分精确,导致抑制MCF-7生长的有效成分的峰并没有被收取;各组分脱盐不充分导致有效的多肽成分的相对含量降低,从而削弱了各组分的抗肿瘤作用;分离出的各组分原来之间可能存在相互作用,海星肽对MCF-7生长的抑制作用可能是它们共同作用的结果。

实验结果表明凝胶柱层析获得的各组分对MCF-7的增殖的抑制作用明显,经多次重复排除了操作因素的影响。凝胶柱层析分离条件更加缓和,分离效果好,且收样时各组分完全被收取,不存在遗漏。进一步探究时可以采用将提取获得的海星肽粗品先凝胶柱层析再经阴离子交换柱层析分离,并

将获得的所有峰段都收集, 经过 MTT 法检测其抗肿瘤的细胞活性。

本实验的局限性在于: 仅检测了海星肽在细胞层面的抗肿瘤作用; 多肽类药物抗肿瘤的机制多种多样, 除直接抑制肿瘤细胞的增殖之外, 还可能影响肿瘤细胞的迁移、影响肿瘤组织血管的生成、调节免疫功能等^[14]; 分离纯化获得的组分若未表现出对肿瘤细胞增殖的抑制作用, 也不能完全确定其不具有抗癌作用; 进一步探究时可以应用小鼠异种移植乳腺癌模型等动物实验来检测海星肽随肿瘤组织血管的影响, 细胞划痕实验检测对肿瘤细胞迁移是否存在抑制作用等^[15]。

目前国内外有很多研究表明多肽具有治疗乳腺癌的潜力, Zheng 等^[16]研究发现从鹿茸中提取的水溶性多肽 PAWP 可以通过激活 caspase-3 的表达和抑制基质金属蛋白酶 MMP 来抑制小鼠多个关键部位的三阴性乳腺癌的发展和转移; Jignesh 等^[17]研究发现海洋天然产物半拉酰胺环戊肽类似物通过使 G1 期的细胞周期停滞、MMP 的减少和 ROS 生成的显著增加来诱导乳腺癌细胞凋亡。

目前国内外对海星的研究比较少, 且主要集中于对海星皂苷、多糖等成分的研究^[18], 而对海星内的肽类等小分子物质的研究较少。研究表明海星内的皂苷等化学成分具有明显的抗肿瘤活性^[20]。本实验通过阴离子交换层析和凝胶柱层析从海氏罗盘车中分离纯化出了海星肽活性组分, 并通过 MTT 法检测出海星肽活性组分对人乳腺癌细胞 MCF-7 具有明显的抑制生长作用。这不仅拓宽了对海星体内化学成分的研究, 为治疗乳腺癌提供了新的思路, 也有助于充分利用沿海地区的海星资源, 为蓝色经济发展进一步做出贡献。

3 结论

本研究用仿生酶法从 110 g 罗氏海盘车 (*Asterias rollestoni*) 体壁中提取获得了海星肽粗品 7.83 g, 产率为 7.1%。经 MTT 法检测出罗氏海盘车多肽粗提物具有一定的抗肿瘤活性。通过阴离子交换柱层析获得了海星肽组分 A1、A2、A3、A4、A5, 通过凝胶柱层析对抑制效果最好的 A2 组分分离纯化获得了组分 B1、B2、B3。其中组分 A2 对 MCF-7 的增殖有较明显的抑制作用, 其质量浓度为 300 $\mu\text{g/mL}$ 时即可比较有效地抑制 MCF-7 细胞生长, 抑制率为 63.32%。组分 B1、B2、B3 对 MCF-7 的增殖有明显的抑制作用, 加入的组分 B2、B3 质量浓度为 300 $\mu\text{g/mL}$ 时即能明显地抑制 MCF-7 细胞生长, 抑制率分别为 21.32% 和 24.68%。加入的组分 B1 质量浓度为 300 $\mu\text{g/mL}$ 时也体现出对 MCF-7 增殖的抑制作用, 但效果不及

B2 和 B3 明显。实验结果表明从海星中分离纯化出的海星肽活性组分对人乳腺癌细胞 MCF-7 的生长具有一定的抑制作用并且值得进一步探讨。

参考文献

- [1] 陆云阳, 李虎, 刘杨, 等. 中华疣海星中化学成分分离和鉴定[J]. 环球中医药, 2022, 15(11): 2017-2021.
- [2] 宋凯, 张小军, 金雷, 等. 海星化学成分及药理作用研究进展[J]. 广州化工, 2014, 42(24): 42-43, 67.
- [3] 宋龙. 罗氏海盘车 *Asterias rollestoni* 标准组分的制备及其物质基础研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [4] 赵祺. 罗氏海盘车危害及其防治策略[J]. 水产养殖, 2021, 42(5): 62-64.
- [5] 徐思嘉. 中国海域海盘车科系统分类学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- [6] 宋龙, 吕律, 王远红, 等. 罗氏海盘车 (*Asterias rollestoni*) 中 2 种生物碱的分离纯化及其抗肿瘤活性研究[J]. 中国海洋药物, 2016, 35(1): 50-54.
- [7] 赵君, 赵晶, 樊廷俊, 等. 水溶性海星皂苷的分离纯化及其抗肿瘤活性研究[J]. 山东大学学报(理学版), 2013, 48(1): 30-35, 42.
- [8] 张蓓. 海洋棘皮动物脑苷脂对动物肝疾患的改善作用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [9] 杨晓男, 阮丽君, 江兴, 等. 多肽类药物与中药肽研究展望[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 5978-5990.
- [10] LI Q Z, ZHOU Z R, HU C Y, et al. Recent advances of bioactive proteins/polypeptides in the treatment of breast cancer [J]. Food Sci Biotechnol, 2023, 32: 265-282.
- [11] XU W H, KONG X Y, JIANG C Q, et al. The anti-tumor effect of a polypeptide extracted from *Tegillarca granosa* Linnaeus on renal metastatic tumor OS-RC-2 cells [J]. Archives of Medical Science: AMS, 2015, 11(4): 849-855.
- [12] LI X, LI Z, MENG Y Q, QIAO H, et al. Melittin kills A549 cells by targeting mitochondria and blocking mitophagy flux [J]. Redox Report, 2023, 28(1): 2284517.
- [13] 阮之平, 田涛, 焦敏, 等. 蟾蜍活性多肽对不同肿瘤细胞的抗癌功能及机制研究[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(15): 2100-2104.
- [14] 陈泽锋, 白丽. 抗肿瘤多肽类药物的来源及其机制的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(12): 1099-1104.
- [15] 崔锡炜, 钟民衍, 热汗姑丽·艾买尔, 等. 人多效蛋白抑制恶性周围神经鞘瘤转移的机制研究[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2022, 42(9): 1225-1238.
- [16] ZHENG K X, LI Q L, LIN D D, et al. Peptidomic analysis of pilose antler and its inhibitory effect on triple-negative breast cancer at multiple sites [J]. Food Funct, 2020, 11(9): 7481-7494.
- [17] LUNAGARIYA J, LIAO X J, LONG W L, et al. Cytotoxicity study of cyclopentapeptide analogues of marine natural product galaxamide towards human breast cancer cells [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 8392035.
- [18] 陈宁, 唐祉娟, 刘冰, 等. 海星皂苷类化合物抗肿瘤分子对接研究[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(10): 50-55, 64.
- [19] 李军, 蒋碧蓉, 吴红梅, 等. 海星多糖的提取分离与抗氧化活性研究[J]. 广东化工, 2010, 37(2): 188-189, 193.
- [20] 赵君, 赵晶, 樊廷俊, 等. 水溶性海星皂苷的分离纯化及其抗肿瘤活性研究[J]. 山东大学学报(理学版), 2013, 48(1): 30-35, 42.