

汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼的降尿酸作用及其氨基酸序列分析

魏连会,董艳,石杰,李国巍,张正海,姬妍茹,杨庆丽,潘静

(黑龙江省科学院大庆分院,黑龙江大庆163319)

摘要:为促进汉麻仁多肽在功能食品及特医食品领域的应用,利用斑马鱼模型研究汉麻仁多肽的降尿酸作用及可能的机制,分析降尿酸活性肽组分的氨基酸序列。采用10 mmol/L尿酸酶活性抑制剂氧嗪酸钾和50 μ mol/L尿酸合成前体黄嘌呤钠盐饲喂斑马鱼20 h,建立斑马鱼高尿酸血症模型。以别嘌呤醇为阳性对照,以不同质量浓度的汉麻仁多肽饲喂斑马鱼,测定斑马鱼的尿酸荧光强度、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(*HPRT1*)和有机阴离子转运蛋白(*OAT1*)基因的mRNA表达,利用液相色谱-串联质谱技术对降尿酸活性肽组分氨基酸序列进行分析。结果表明:汉麻仁多肽能够通过上调*HPRT1*和*OAT1*基因表达,有效降低高尿酸斑马鱼的尿酸水平;汉麻仁多肽活性组分中丰度较高的8个峰对应的肽段分子质量分别为499.23、578.24、628.27、653.29、715.31、918.43、982.41、1128.49 Da,其氨基酸序列分别为PGTPE、MPDDV、TTSYTG、TPHWN、NNGDSPL、DDFNPRR、NPHDEFQP、YHSYLCKTD。综上,汉麻仁多肽可作为功能性成分用于降尿酸相关功能食品和保健品的开发。

关键词:汉麻仁多肽;斑马鱼;高尿酸血症;降尿酸;氨基酸序列

中图分类号:TS222+.1;TS221 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)02-0057-06

Effect of hemp kernel polypeptide on reducing uric acid in zebrafish with hyperuricemia and analysis of its amino acid sequence

WEI Lianhui, DONG Yan, SHI Jie, LI Guowei, ZHANG Zhenghai,
JI Yanru, YANG Qingli, PAN Jing

(Daqing Branch of the Heilongjiang Academy of Sciences, Daqing 163319, Heilongjiang, China)

Abstract: In order to promote the application of hemp kernel polypeptide in functional foods and specialty medical foods, the uric acid-lowering effect and its possible mechanisms of hemp kernel polypeptide in zebrafish model were investigated, and the amino acid sequences of polypeptide components with uric acid-lowering activity were analyzed. The zebrafish hyperuricemia model was established by feeding zebrafish with an uricase inhibitor potassium oxonate at 10 mmol/L and uric acid synthesis precursor xanthine sodium salt at 50 μ mol/L for 20 h. Hemp kernel polypeptide with different mass concentrations administered to the zebrafish, with allopurinol as a positive control. The fluorescence intensity of uric acid, and mRNA expression of hypoxanthine guanine-phosphoribosyltransferase (*HPRT1*) and organic

anion transporter (*OAT1*) gene in zebrafish were measured. The amino acid sequences of the active polypeptides were analyzed by liquid chromatography-mass spectrometry. The results showed that hemp kernel polypeptide effectively reduced uric acid level of zebrafish through up-regulating *HPRT1* and *OAT1* gene expression. The molecular weight of eight polypeptides with

收稿日期:2023-11-08;修回日期:2024-09-04

基金项目:功能食品工程技术领军人才梯队建设项目(RC2022DQ01);黑龙江省科学院对外合作项目(HZ2022-04);黑龙江省科学院院长基金项目(YZ2023DQ01);黑龙江省省属院所科研业务费项目(CZKYF2021-2-B015)

作者简介:魏连会(1983),男,副研究员,硕士,研究方向为功能性食品及植物蛋白工程(E-mail)wlhctv@126.com。

通信作者:董艳,研究员(E-mail)6550454@qq.com。

high abundance in hemp kernel polypeptide were 499.23, 578.24, 628.27, 653.29, 715.31, 918.43, 982.41, 1 128.49 Da, and their amino acid sequences were PGTPE, MPDDV, TTSYTG, TPHWN, NNGDSPL, DDFNPRR, NPHDEFQP, YHSYLCKTD, respectively. In conclusion, the hemp kernel polypeptide can be used as functional components in the development of functional food and health care products related to lowering uric acid.

Key words: hemp kernel polypeptide; zebrafish; hyperuricemia; uric acid - lowering; amino acid sequence

高尿酸血症是由于体内尿酸生成过多和(或)肾脏尿酸排泄减少引起的一种常见的代谢性疾病^[1],5%~12%的高尿酸血症患者最终会发展为痛风,引起炎症性关节炎,造成关节红肿、疼痛^[2]。同时高尿酸血症还易引发高脂血症、肥胖、胰岛素抵抗性糖尿病、肾功能不全、高血压等多种代谢综合性疾病^[3-7]。目前市场上用于治疗高尿酸血症的药物主要作用是抑制尿酸的产生或促进尿酸的排泄,如别嘌醇、苯溴马酮。然而,这些药物也有一些副作用,如史蒂文斯-约翰逊综合征、超敏综合征、胃肠道反应、线粒体功能障碍、肝肾功能损害等^[8-11]。因此,临床上迫切需要开发更安全有效的治疗痛风的药物,以改善痛风患者的生活质量。

食源性生物活性肽具有生物活性高、易于吸收、毒副作用小等优点,具有显著的降血压^[12]、降尿酸^[13]、抗炎^[14]、抗菌^[15]、降胆固醇^[16]功效,因此生物活性肽的研究备受关注^[17]。黄嘌呤氧化酶(XOD)被认为是治疗高尿酸血症的一个重要靶点,抑制XOD活性可以有效降低尿酸的生物合成^[18]。次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPRT)是嘌呤代谢途径中的一种关键酶。HPRT基因缺陷可抑制嘌呤转化,从而增加尿酸的产生^[19]。有机阴离子转运蛋白(OAT1)是SLC22A转运体家族的一个成员,主要作用是在尿酸处理过程中介导尿酸分泌到尿液中^[20]。Li等^[21]分别研究了鱼水解物、脱酚核桃水解物和大豆水解物的降尿酸功效,发现鱼水解物中有两种肽与XOD有结合位点,其中疏水肽WML较亲水肽PGACSN更容易进入XOD的活性位点,且使XOD的二级结构发生显著变化,这可能是疏水相互作用所致。汉麻蛋白也是开发生物活性肽的重要来源,目前针对汉麻多肽的生物活性进行了广泛的研究,证明其具有抗氧化^[22]、降血压^[23]、抗细胞增殖^[24]、抗炎^[25]、神经保护^[26]等多种功能活性。项目组前期对汉麻仁多肽降尿酸作用进行了体外实验研究,初步证明了其具有抑制XOD活性作

用^[27],然而其在体内的降尿酸作用有待进一步研究。

斑马鱼由于其繁殖周期短、产卵数量高、与人类基因组相比具有较高的基因组同质性,已被用作许多人类疾病的模型^[28]。此外,在斑马鱼中进行基因操作、药物治疗和高通量筛选也相对容易^[29-30]。斑马鱼肝脏中尿酸氧化酶(UOX)基因的表达与小鼠一样,预测该基因保留了完整的UOX活性^[1]。另外,斑马鱼的HPRT1和OAT1基因已经被鉴定,且它们与人类HPRT1和OAT1序列的同源性分别为91%和46%^[1]。

本研究采用斑马鱼建立高尿酸血症模型,探究汉麻仁多肽的降尿酸作用及其相关机制,并且通过液相色谱-串联质谱技术对潜在的功能活性肽氨基酸序列进行鉴定,确定氨基酸序列特征,以期对汉麻仁多肽在功能食品及特医食品领域的应用提供理论依据,为研究高尿酸血症、痛风的机制,以及筛选治疗高尿酸血症和痛风的有效和安全的食品和药物提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

汉麻仁蛋白,实验室自制;中性蛋白酶(11×10^4 U/g),夏盛酶生物技术有限公司;野生型AB品系斑马鱼,南京新环检测科技有限公司;尿酸荧光检测试剂盒,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;氧嗪酸钾,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;黄嘌呤钠盐、二甲基亚砜(DMSO),Sigma公司;无水乙醇,国药集团化学试剂有限公司;FastQuant RT试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司;RNA快速提取试剂盒,上海奕杉生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

SZX7解剖显微镜,Olympus公司;Spark多功能酶标仪;CP214精密电子天平,Ohaus公司;T100普通PCR扩增仪、CFX Connect荧光定量PCR仪,Bio-rad公司;BE-6100微孔板迷你离心机,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;FD-2A-80真空冷冻干燥

机,上海继谱电子科技有限公司;MALDI-TOF 质谱仪,AB SCIEX 公司;PICO17/21 高速冷冻离心机、Nanodrop2000 紫外-可见分光光度计、Q Exactive™ 组合型四极杆 Orbitrap™ 质谱仪、Easy-nLC 1000 纳升级液相色谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 汉麻仁多肽的制备与分离纯化

称取一定量汉麻仁蛋白,按照质量比 1:5 加入蒸馏水溶解,加入 4.5% 的中性蛋白酶,在 pH 6.5、50℃ 的条件下酶解 5 h,100℃ 水浴灭酶 5 min,5 000 r/min 离心 20 min,采用截留分子质量为 2 kDa 的超滤膜分离纯化,收集分子质量小于 2 kDa 的肽段,真空冷冻干燥,得到汉麻仁多肽。

1.2.2 斑马鱼的饲养

根据 GB/T 39649—2020《实验动物 实验鱼质量控制》的要求饲养斑马鱼。饲养条件:普通级;养殖系统采用反渗透水,水温保持在 28℃,电导率为 450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$;pH 为 6.5~8.5;硬度为 50~100 mg/L CaCO_3 ;溶解氧大于或等于 5 mg/L;14 h 光照,10 h 黑暗。

1.2.3 汉麻仁多肽实验剂量的确定

设置正常对照组、模型对照组和实验组。随机选取受精后 5 d 的野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中,每孔容量为 3 mL,30 尾/孔。实验组分别给予不同质量浓度(125、250、500、1 000、2 000、4 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的汉麻仁多肽溶液处理,实验组和模型对照组均给予 10 mmol/L 的氧嗉酸钾和 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 黄嘌呤钠盐溶液,正常对照组给予反渗透水,各组于 28℃ 培养箱中按 1.2.2 条件饲养 20 h 后,观察斑马鱼的死亡情况及表型。

1.2.4 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼降尿酸作用

设置正常对照组、模型对照组、阳性对照组和实验组。随机选取受精后 5 d 的野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中,每孔容量为 3 mL,30 尾/孔,每孔 3 次重复。实验组首先加入低、中、高剂量的汉麻仁多肽溶液,然后加入 10 mmol/L 氧嗉酸钾(尿酸酶活性抑制剂)和 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 黄嘌呤钠盐(尿酸合成前体)溶液,于 28℃ 培养箱中按 1.2.2 条件饲养 20 h。模型对照组仅用氧嗉酸钾和黄嘌呤钠盐溶液处理。阳性对照组以 136 $\mu\text{g}/\text{L}$ 别嘌呤醇溶液^[18] 处理。正常对照组给予反渗透水。

1.2.5 斑马鱼尿酸信号荧光强度的测定

利用尿酸荧光检测试剂盒检测,使用多功能酶标仪软件采集数据,分析斑马鱼体内尿酸荧光信号强度。

1.2.6 斑马鱼 HPRT1 和 OAT1 基因表达的测定

按照试剂盒说明书,采用 RNA 快速提取试剂盒提取各组斑马鱼总 RNA。取 2 μg 斑马鱼样品总 RNA,使用 FastQuant RT 试剂盒合成 cDNA(引物序列信息如表 1 所示)。PCR 反应条件:95℃、2 min;95℃、5 s,60℃、30 s,40 个循环;反应混合物体积 10 μL (cDNA 4.5 μL ,正向引物 0.25 μL ,反向引物 0.25 μL ,5 μL SYBR Green)。通过 q-PCR 检测 β -actin、HPRT1 和 OAT1 基因的表达。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer sequences information	
基因	引物序列(5'-3')
β -actin	正向引物: GCTCTCTCCAGCCTTCCTT
	反向引物: GAAGGTGGTCTCGTGGATACC
HPRT1	正向引物: TTGCAGTAGCTTGTCCGGTGT
	反向引物: CAGACGTTCACTTCGGTCCA
OAT1	正向引物: GGACGATATCCTGCCAGCTC
	反向引物: CGTCCTGTAAGGCCAGATCC

1.2.7 汉麻仁多肽的分子质量分布测定

采用 MALDI-TOF 质谱仪测定汉麻仁多肽的分子质量分布。取 1 μL 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的汉麻仁多肽溶液点至样品靶上,待自然干燥后,再取 1 μL α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)基质溶液点至对应靶位上并自然干燥,然后用相同方法在样品靶位的相邻靶位上点校准标准品 Calibration Mixture 1。质谱条件:正离子,反射模式,一级质谱(MS)范围(m/z) 0~5 000,每张谱图累加 500 个 Laser Shots。采用校准标准品进行外标一级校准,质量误差小于 1×10^{-6} 。

1.2.8 汉麻仁降尿酸活性肽的氨基酸序列分析

参考文献[31],采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法对汉麻仁降尿酸活性肽的氨基酸序列进行分析。

1.2.9 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计分析,结果以“平均值 \pm 标准差”表示。采用方差分析和 t 检验来确定其统计学意义, $p < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 汉麻仁多肽实验剂量的确定

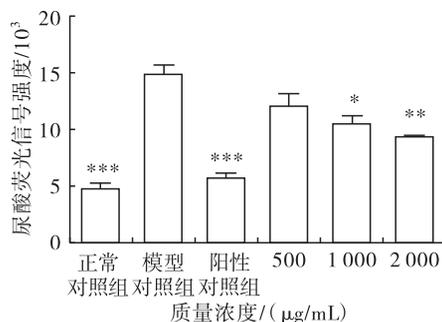
汉麻仁多肽功效评价剂量摸索实验结果见表 2。由表 2 可知,汉麻仁多肽质量浓度在 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及以下时,对斑马鱼生长无毒副作用,因此本实验选取了 500、1 000、2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的汉麻仁多肽溶液作为低、中、高剂量,进行降尿酸作用评价实验。

表2 汉麻仁多肽功效评价剂量摸索实验结果($n=30$)Table 2 Results of dose exploration experiment for the efficacy evaluation of hemp kernel polypeptide ($n=30$)

组别	死亡数 (尾)	死亡率/ %	表型
正常对照组	0	0	未见明显异常
模型对照组	0	0	未见明显异常
实验组/ $(\mu\text{g/mL})$			
125	0	0	与模型对照组状态相似
250	0	0	与模型对照组状态相似
500	0	0	与模型对照组状态相似
1 000	0	0	与模型对照组状态相似
2 000	0	0	与模型对照组状态相似
4 000	5	16.7	行动迟缓,状态下降

2.2 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼尿酸的影响

汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼尿酸水平的影响见图1。



注:与模型对照组相比,*表示 $p < 0.05$,**表示 $p < 0.01$,***表示 $p < 0.001$ 。下同

Note: Compared with the model control group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. The same below

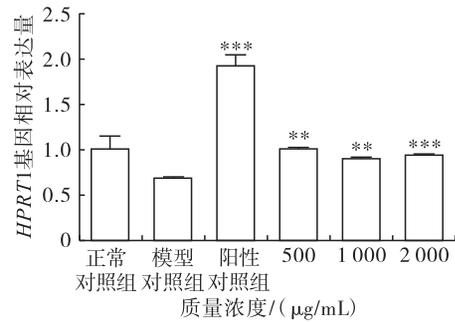
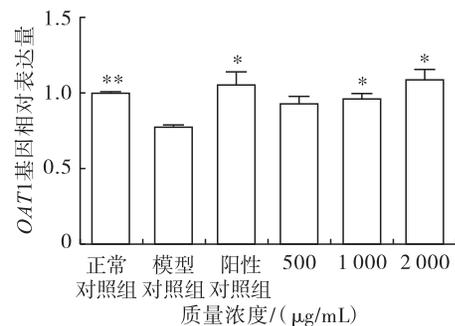
图1 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼尿酸水平的影响

Fig. 1 Effect of hemp kernel polypeptide on uric acid levels in zebrafish with hyperuricemia

由图1可知,模型对照组斑马鱼尿酸荧光信号强度较正常对照组显著增强($p < 0.001$),说明斑马鱼高尿酸血症模型建立成功。与模型对照组比较,阳性对照组斑马鱼尿酸荧光信号强度显著降低($p < 0.001$),汉麻仁多肽中、高剂量组斑马鱼尿酸荧光信号强度显著降低($p < 0.05$, $p < 0.01$),而汉麻仁多肽低剂量组斑马鱼尿酸荧光信号强度降低,但差异不显著,汉麻仁多肽低、中、高剂量组及阳性对照组斑马鱼尿酸荧光信号强度较模型对照组分别降低了18.66%、29.23%、36.89%及61.25%。结果表明,汉麻仁多肽能够降低高尿酸血症斑马鱼尿酸水平。

2.3 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼 *HPRT1* 和 *OAT1* 基因表达的影响

汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼 *HPRT1* 和 *OAT1* 基因表达的影响分别见图2、图3。

图2 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼 *HPRT1* 基因表达水平的影响Fig. 2 Effect of hemp kernel polypeptide on expression level of *HPRT1* gene in zebrafish with hyperuricemia图3 汉麻仁多肽对高尿酸血症斑马鱼中 *OAT1* 基因表达水平的影响Fig. 3 Effect of hemp kernel polypeptide on expression level of *OAT1* gene in zebrafish with hyperuricemia

由图2、图3可知,与正常对照组相比,模型对照组斑马鱼的 *HPRT1* 基因表达水平降低,但差异不显著,模型对照组斑马鱼的 *OAT1* 基因表达水平显著降低($p < 0.01$)。与模型对照组比较,汉麻仁多肽高剂量组和阳性对照组斑马鱼的 *HPRT1* 基因表达水平显著上调($p < 0.001$),汉麻仁多肽低、中剂量组斑马鱼的 *HPRT1* 基因表达水平显著上调($p < 0.01$),汉麻仁多肽中、高剂量组及阳性对照组斑马鱼的 *OAT1* 基因表达水平显著上调($p < 0.01$)。

2.4 汉麻仁多肽的分子量分布

采用MALDI-TOF质谱仪测定汉麻仁多肽的分子量分布,结果如图4所示。

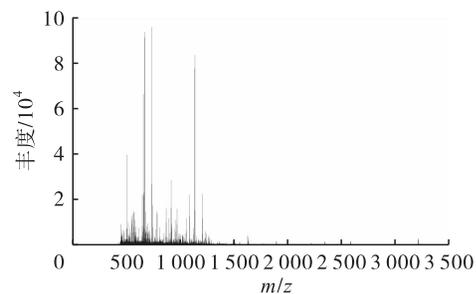


图4 汉麻仁多肽分子量分布

Fig. 4 Molecular weight distribution of hemp kernel polypeptide

由图 4 可知,汉麻仁多肽的分子质量主要分布在 500 ~ 1 300 Da 范围内,丰度较高的汉麻仁肽分子质量分布在 800 Da 以下,推断其含有较多的寡肽。由于寡肽更容易穿越小肠黏膜被人体吸收利用,因此本研究制备的汉麻仁多肽也可能被人体有效地吸收,从而发挥其生物活性功能。

2.5 汉麻仁多肽的氨基酸序列

为了确定可能引起尿酸活性降低的肽段结构,根据汉麻仁多肽组分的分子质量分布,按 1.2.8 方法对汉麻仁多肽组分中丰度较高的 8 个峰所对应的肽段进行氨基酸序列分析,结果如表 3 所示。

表 3 汉麻仁降尿酸活性肽段的氨基酸序列

Table 3 Amino acid sequence of uric acid – lowering peptide of hemp kernel

序号	分子质量/Da	氨基酸序列
1	499.23	PGTPE
2	578.24	MPDDV
3	628.27	TTSYTG
4	653.29	TPHWN
5	715.31	NNGDSPL
6	918.43	DDFNPRR
7	982.41	NPHDEFQP
8	1 128.49	YHSYLCKTD

注:G. 甘氨酸;W. 色氨酸;K. 赖氨酸;C. 半胱氨酸;V. 缬氨酸;L. 亮氨酸;P. 脯氨酸;F. 苯丙氨酸;Y. 酪氨酸;S. 丝氨酸;T. 苏氨酸;M. 甲硫氨酸;N. 天冬酰胺;Q. 谷氨酰胺;D. 天冬氨酸;E. 谷氨酸;R. 精氨酸;H. 组氨酸

Note: G. Glycine; W. Tryptophan; K. Lysine; C. Cysteine; V. Valine; L. Leucine; P. Proline; F. Phenylalanine; Y. Tyrosine; S. Serine; T. Threonine; M. Methionine; N. Asparagine; Q. Glutamine; D. Aspartic acid; E. Glutamic acid; R. Arginine; H. Histidine

由表 3 可知,鉴定的汉麻仁降尿酸活性肽段中含有色氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、脯氨酸等疏水性氨基酸。李宇娟^[32]通过分离纯化得到鲤鱼降尿酸肽,并推测多肽发挥降尿酸作用是因为高比例的疏水性氨基酸能与 XOD 结合,从而抑制 XOD 活性。Murota 等^[33]鉴定出具有 XOD 抑制活性的 13 个二肽和三肽均含有苯丙氨酸、色氨酸等疏水性氨基酸。本研究鉴定的肽段均含疏水性氨基酸,与以上研究结果一致,因此认为 PGTPE、MPDDV、TTSYTG、TPHWN、NNGDSPL、DDFNPRR、NPHDEFQP、YHSYLCKTD 多肽序列组成是使汉麻仁多肽组分具有较好降尿酸活性的主要因素。

3 结 论

本研究通过中性蛋白酶水解汉麻仁蛋白制备了汉麻仁多肽,通过高尿酸斑马鱼模型体内实验,验证了汉麻仁多肽能够通过上调 *HPRT1* 和 *OAT1* 基因

表达,促进嘌呤转化和尿酸分泌,从而降低尿酸水平。汉麻仁多肽的分子质量主要分布在 500 ~ 1 300 Da 之间。汉麻仁多肽活性组分中丰度较高的 8 个峰对应的肽段分子质量分别为 499.23、578.24、628.27、653.29、715.31、918.43、982.41、1 128.49 Da,对应的氨基酸序列分别为 PGTPE、MPDDV、TTSYTG、TPHWN、NNGDSPL、DDFNPRR、NPHDEFQP、YHSYLCKTD。

参考文献:

- [1] LIU H, ZHANG X M, WANG Y L, et al. Prevalence of hyperuricemia among Chinese adults: A national cross-sectional survey using multistage, stratified sampling[J]. *J Nephrol*, 2014, 27(6): 653 – 658.
- [2] 骆贤亮, 刘滔, 钱忠英, 等. 降尿酸肽对高尿酸血症的作用及研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(5): 340 – 348.
- [3] AKKASILPA S, AVIHINGSANON Y, HANVIVADHANAKUL P, et al. Clinical manifestations of patients with hyperuricemia [J]. *J Med Assoc Thai*, 2004, 87(Suppl 2): S41 – S44.
- [4] CHOI H K, ATKINSON K, KARLSON E W, et al. Obesity, weight change, hypertension, diuretic use, and risk of gout in men: The health professionals follow-up study[J]. *Arch Intern Med*, 2005, 165(7): 742 – 748.
- [5] JOHNSON R J, KANG D H, FEIG D, et al. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? [J]. *Hypertension*, 2003, 41(6): 1183 – 1190.
- [6] PENG T C, WANG C C, KAO T W, et al. Relationship between hyperuricemia and lipid profiles in US adults [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 127596[2023 – 11 – 08]. <https://doi.org/10.1155/2015/127596>.
- [7] SOLTANI Z, RASHEED K, KAPUSTA D R, et al. Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: Is it time for reappraisal? [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2013, 15(3): 175 – 181.
- [8] FRITSCH P O, SIDOROFF A. Drug – induced Stevens – Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2000, 1(6): 349 – 360.
- [9] HAMMER B, LINK A, WAGNER A, et al. Hypersensitivity syndrome during therapy with allopurinol in asymptomatic hyperuricemia with a fatal outcome [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2001, 126(47): 1331 – 1334.
- [10] PACHER P, NIVOROZHKIN A, SZABÓ C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: Renaissance half a century after the discovery of allopurinol [J]. *Pharmacol Rev*, 2006, 58(1): 87 – 114.
- [11] SCHLESINGER N. Management of acute and chronic

- gouty arthritis: Present state – of – the – art[J]. *Drugs*, 2004, 64(21): 2399–2416.
- [12] GUO Y T, WANG K, WU B G, et al. Production of ACE inhibitory peptides from corn germ meal by an enzymatic membrane reactor with a novel gradient diafiltration feeding working – mode and *in vivo* evaluation of antihypertensive effect [J/OL]. *J Funct Foods*, 2019, 64: 103584 [2023 – 11 – 08]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103584>.
- [13] HE W, SU G, SUN – WATERHOUSE D, et al. *In vivo* anti – hyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory properties of tuna protein hydrolysates and its isolated fractions[J]. *Food Chem*, 2019, 272: 453–461.
- [14] GUHA S, MAJUMDER K. Structural – features of food – derived bioactive peptides with anti – inflammatory activity: A brief review[J/OL]. *J Food Biochem*, 2019, 43(1): e12531 [2023 – 11 – 08]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12531>.
- [15] MOURTADA R, HERCE H D, YIN D J, et al. Design of stapled antimicrobial peptides that are stable, nontoxic and kill antibiotic – resistant bacteria in mice[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(10): 1186–1197.
- [16] BOACHIE R, YAO S, UDENIGWE C C. Molecular mechanisms of cholesterol – lowering peptides derived from food proteins[J]. *Curr Opin Food Sci*, 2018, 20: 58–63.
- [17] CHAKRABARTI S, GUHA S, MAJUMDER K. Food – derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities [J/OL]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1738 [2023 – 11 – 08]. <https://doi.org/10.3390/nu10111738>.
- [18] GLIOZZI M, MALARA N, MUSCOLI S, et al. The treatment of hyperuricemia[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 213: 23–27.
- [19] MAK B S, CHI C S, TSAI C R, et al. New mutations of the *HPRT* gene in Lesch – Nyhan syndrome[J]. *Pediatr Neurol*, 2000, 23(4): 332–335.
- [20] ZHANG Y, DENG L, WU C, et al. Konjac glucomannan improves hyperuricemia through regulating xanthine oxidase, adenosine deaminase and urate transporters in rats[J]. *J Funct Foods*, 2018, 48:566–575.
- [21] LI Y, KANG X, LI Q, et al. Anti – hyperuricemic peptides derived from bonito hydrolysates based on *in vivo* hyperuricemic model and *in vitro* xanthine oxidase inhibitory activity[J]. *Peptides*, 2018, 107: 45–53.
- [22] WANG X S, TANG C H, CHEN L, et al. Characterization and antioxidant properties of hemp protein hydrolysates obtained with Neutrase[®] [J]. *Food Technol Biotechnol*, 2009, 47: 428–434.
- [23] ORIO L P, BOSCHIN G, RECCA T, et al. New ACE – inhibitory peptides from hemp seed (*Cannabis sativa* L.) proteins[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(48): 10482–10488.
- [24] LOGARUŠI Ć M, SLIVAC I, RADOŠEVI Ć K, et al. Hempseed protein hydrolysates' effects on the proliferation and induced oxidative stress in normal and cancer cell lines[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(6): 6079–6085.
- [25] RODRIGUEZ – MARTIN N M, LA PAZ S M D, TOSCANO R, et al. Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates promote anti – inflammatory response in primary human monocytes[J/OL]. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 803 [2023 – 11 – 08]. <https://doi.org/10.3390/biom10050803>.
- [26] RODRIGUEZ – MARTIN N M, TOSCANO R, VILLANUEVA A, et al. Neuroprotective protein hydrolysates from hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds[J]. *Food Funct*, 2019, 10(10): 6732–6739.
- [27] 魏连会, 石杰, 张正海, 等. 火麻仁黄嘌呤氧化酶抑制肽的分离鉴定与分子对接研究[J]. *食品工业*, 2023, 44(9): 301–305.
- [28] THISSE C, ZON L I. Organogenesis: Heart and blood formation from the zebrafish point of view[J]. *Science*, 2002, 295(5554): 457–462.
- [29] PAW B H, ZON L I. Zebrafish: A genetic approach in studying hematopoiesis[J]. *Curr Opin Hematol*, 2000, 7(2): 79–84.
- [30] NASEVICIUS A, EKKER S C. Effective targeted gene 'knockdown' in zebrafish[J]. *Nat Genet*, 2000, 26(2): 216–220.
- [31] 宋淑敏, 魏连会, 董艳, 等. 汉麻降脂肽氨基酸序列分析[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(3): 51–58.
- [32] 李宇娟. 鳀鱼降尿酸肽的制备分离、结构表征及功效机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [33] MUROTA I, TAGUCHI S, SATO N, et al. Identification of antihyperuricemic peptides in the proteolytic digest of shark cartilage water extract using *in vivo* activity – guided fractionation[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(11): 2392–2397.