

# 大胡蜂蜂毒中多肽和蛋白质结构和功能的多样性

周思彤<sup>1,2</sup>, 车逸豪<sup>1,2</sup>, 倪连丽<sup>1,2</sup>,  
李龙星<sup>3,4</sup>, 袁仕梦<sup>1,2</sup>, 杨自忠<sup>1,2,3</sup>, 杨志斌<sup>1,2,3\*</sup>, 张成桂<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>大理大学 云南省昆虫生物医药研发重点实验室; <sup>2</sup>大理大学 药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心;  
<sup>3</sup>大理大学 中国西南药用昆虫及蛛形类资源开发利用协同创新中心; <sup>4</sup>大理大学分析测试中心, 大理 671000

**摘要:**为证明大胡蜂 *Vespa magnifica* (Smith) 蜂毒具有较大的药用开发价值, 本研究采用超高效液相色谱-质谱和电泳技术对其多肽和蛋白质的分布进行分析, 发现其蛋白质的相对分子质量主要分布在 17 ~ 45 kDa 范围内。蜂毒多肽类物质的相对分子质量呈“单峰”式分布, 61% 在 500 ~ 3 000 Da 范围内, 为大胡蜂蜂毒中多肽含量最为丰富的部分。通过牛津杯法对蜂毒的抑菌活性进行研究, 且以 HepG2 人肝癌细胞及 B16 黑色素瘤细胞为研究对象, 用 MTT 法检测蜂毒的细胞毒性活性, 证明其具有良好的抑菌作用和细胞毒活性, 其结果与已报道的其他蜂类既有相似性又存在具体差异, 展示了大胡蜂蜂毒的分子多样性, 为后续该毒素的物质基础研究及药用价值开发提供参考。

**关键词:**蜂毒; 多肽; 蛋白质; 多样性; 抗菌; 细胞毒活性

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)9-1596-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.9.017

## Determination of peptide and protein diversity in venom of *Vespa magnifica* (Smith) on structure and function

ZHOU Si-tong<sup>1,2</sup>, CHE Yi-hao<sup>1,2</sup>, NI Lian-li<sup>1,2</sup>, LI Long-xing<sup>3,4</sup>, YUAN Shi-meng<sup>1,2</sup>,  
YANG Zi-zhong<sup>1,2,3</sup>, YANG Zhi-bin<sup>1,2,3\*</sup>, ZHANG Cheng-gui<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical R&D, Dali University;

<sup>2</sup>National-local Joint Engineering Research center of Entomocetics, Dali University;

<sup>3</sup>Yunnan Provincial Collaborative Innovation Center for Entomocetics, Dali University;

<sup>4</sup>Analyzing and Testing Center, Dali University, Dali 671000, China

**Abstract:** In order to prove that *Vespa magnifica* (Smith) venom has great medicinal purposes development value. In this study, the distribution of molecular mass of peptides and proteins was analyzed by Ultra Performance Liquid Chromatography-Electrospray-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry (UPLC-ESI-Q-TOF-MS) and Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). The relative molecular mass of the proteins is mainly distributed in the range of 17 to 45 kDa. The peptides present a unimodal distribution and 61% of them are in the range of 500-3 000 Da, which is the most abundant part of the crude venom of *V. magnifica*. The antibacterial activity of the venom was studied by Oxford Cup method. HepG2 human hepatoma cells and B16 melanoma cells were used as the research object to evaluate the cytotoxic activity of the venom by MTT assay, which proved the potential antibacterial activity and cytotoxic activity. The results have similarities and specific differences with other reported bees and wasp, showing the molecular diversity of the venom and providing reference for the subsequent material research and medicinal value development of the venom.

**Key words:** *Vespa magnifica* (Smith) venom; peptides; proteins; diversity; antibacterial; cytotoxic activity

收稿日期: 2019-05-24 接受日期: 2019-08-13

基金项目: 国家自然科学基金(81360679); 云南省应用基础研究青年项目(2016FD074); 云南省科技创新平台建设项目(2015DG030)

\* 通信作者 Tel: 86-872-2214251; E-mail: 79204431@163.com; cheng-gui\_zcg@163.com

大胡蜂 *Vespa magnifica* (Smith) 在云南地方习称土蜂、黄土甲等, 是景颇族民间传统运用的蜂类昆虫药之一。主要分布在我国西北地区, 包括云南、四川、西藏等地, 在越南、缅甸、印度等也有所分布。早在《本草纲目》中对于土蜂及其蜂房、幼虫便有所记

载,主治蜘蛛咬疮、痈肿、利大小便等,《中国药典》(2015版)第一部中记载了胡蜂酒,用于风湿闭阻所致的痹病,如关节疼痛、肢体沉重等,对于急性风湿病、风湿性关节炎等有治疗效果<sup>[1]</sup>。

蜂毒中含有多种生物活性成分,包括小分子化合物、高丰度的肽、蛋白和过敏原等,其作为一种药用资源引起了人们的广泛关注,现已逐渐成为生物毒素研究的新热点<sup>[2,3]</sup>。目前,对于大胡蜂蜂毒的研究主要集中在活性物质的分离与鉴定方面,已成功分离出具有抗菌、抗凝血及磷脂酶活性的肽和蛋白类物质<sup>[4-7]</sup>。

大胡蜂蜂毒中的多肽和蛋白质成分复杂且具有多种药理活性,目前对其的研究报道尚不全面。在本实验中,利用超高效液相色谱-电喷雾-四极杆-飞行时间质谱技术和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术分析了大胡蜂蜂毒中多肽和蛋白质的组成,首次对该蜂毒所富含的多肽与蛋白质的多样性进行了探索,同时对蜂毒的抑菌活性进行初步研究。已有研究表明,蜂毒肽(Melittin)可抑制黑色素瘤及肝癌细胞,故本实验通过使用MTT法检测大胡蜂蜂毒对HepG2人肝癌细胞及B16黑色素瘤细胞的细胞毒活性,为后续对该毒素的物质基础研究及药用开发提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

质谱仪(Compact QTOF, Bruker),超高效液相色谱仪(UltiMate 3000,戴安),电子天平(BSA124S,赛多利斯),垂直电泳仪(Mini-Protein, Bio-Rad),低温高速离心机(5430R, Eppendorf),冷冻干燥机(FD8-4a, GOLD-SIM),CO<sub>2</sub>培养箱(3111, Thermo),酶标仪(SN255939, BIO-TEK)。

SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(20171120, Solarbio), SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(101218181015, 碧云天),甘氨酸(418Q066, Solarbio), Tris(527K073, Solarbio), SDS(323A033, Sigma), Marker(20160425, Solarbio 180 kDa-11 kDa),考马斯亮蓝G-250(No. C8430, Solarbio),乙腈ACN(178497, TEDIA),三氟乙酸TFA(17040277, TEDIA),营养琼脂培养基(20160618, 北京奥博星生物技术有限责任公司),沙氏琼脂培养(20170426, Solarbio),克霉唑溶液(B1036, 广州白云山医药集团股份有限公司),青霉素钠(017171048, 中诺药业有限公司), RPMI-1640培养基(1915379, Gibco),胎牛血清(FBS)

(1828728, Gibco),胰蛋白酶(2046777, 密理博),噻唑蓝(MTT)(ST316, Sigma),二甲基亚砜(DMSO)(RNBF1095, Sigma)其他试剂均为国产分析纯,水为超纯水。

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, 25923),白色念珠菌(*Candida albicans*, 10231),大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, 25922),由大理大学基础医学院提供。HepG2人肝癌细胞株由昆明中国科学院细胞库提供,B16黑色素瘤细胞株由上海细胞库提供。

### 1.2 昆虫

蜂毒取自大胡蜂成虫。虫种收集自云南德宏等地,由中国科学院云南动物研究所董大志鉴定,现存于大理大学昆虫生物医药研究院。供试个体的养殖与取毒均由大理大学昆虫生物医药研究院养殖基地完成。

### 1.3 粗毒收集

于蜂群处采用电刺激法进行多次取毒。取毒器自制,输出电压为12 V,每次采集毒液30 min。收集足够量的毒液后经真空冷冻干燥得白色或略带黄色的粉末,即为粗毒粉末,于-20℃保存。

### 1.4 样品处理

取一定量的粗毒粉末用超纯水溶解至浓度为16 mg/mL,于4℃以10 000 rpm离心5 min,使用0.22 μm滤膜滤过,即得。

### 1.5 SDS-PAGE 检测

对供试品溶液采用SDS-PAGE的方法进行蛋白质相对分子质量的测定,使用5%的浓缩胶和12%的分离胶,具体操作参考凝胶制备试剂盒说明书。电泳完成后使用考马斯亮蓝G-250进行染色。蛋白质相对分子质量的计算方法如下:以标准蛋白质相对分子质量的对数( $\lg Mw$ )为纵坐标,标准蛋白质的相对迁移率( $R_f$ )为横坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程及回归系数。将样品的 $R_f$ 值代入回归方程计算出其 $\lg Mw$ ,从而得到样品的相对分子质量。 $R_f$ 值的计算公式为:

$$R_f = \frac{L1}{L2}$$

其中, $L1$ 为加样孔至条带中心的距离; $L2$ 为加样孔至溴酚蓝区带的距离。

### 1.6 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 检测

色谱条件:使用超高效液相色谱仪,色谱柱为Agilent Poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>(3.0 × 150 mm, 2.7

$\mu\text{m}$ ), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈(B), 梯度洗脱(0~35 min, 5%→54% B; 35~49 min, 54%→79% B; 49~58 min, 79%→95% B), 流速: 0.2 mL/min, 进样量: 5  $\mu\text{L}$ , 检测波长为 214 nm, 柱温: 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱条件: 使用高分辨质谱仪, 离子源采用电喷雾离子源(ESI), 正负离子检测模式, 毛细管电压为 3 500 V, 扫描范围 300~3 000  $m/z$ , 雾化器气体压力 2.0 Bar, 干燥气体流速 8.0 L/min, 干燥加热温度 200  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.7 蜂毒的抑菌活性研究

将供试菌制成  $10^8$  cfu/L 均匀的菌悬液, 取 0.1 mL 用无菌涂布环将菌悬液均匀涂布在凝固的无菌培养基中, 放入牛津杯, 每个牛津杯加入 200  $\mu\text{L}$  的 10 mg/mL 的蜂毒水溶液, 以无菌水为空白对照, 细菌平板置 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 24 h, 真菌平板置 27  $^{\circ}\text{C}$  培养 48 h, 测定蜂毒对各共试菌的抑菌效果, 游标卡尺测定各抑菌圈的的大小, 重复 3 次。同时, 取 1 mg/mL 的青霉素钠溶液及 0.15 mg/mL 的克霉唑溶液为阳性对照。

### 1.8 细胞毒活性研究

取对数生长期的 HepG2 及 B16 细胞, 胰蛋白酶消化后以 5 000 个/孔接种于 96 孔板, 设置实验组、细胞阴性对照组和空白培养基对照组, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h 后, 实验组加 160、80、40、20、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的蜂毒溶液, 阴性对照组加入等体积 PBS, 每组 5 个复孔, 于培养箱中孵育 48 h。弃去上清液, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20  $\mu\text{L}$ , 继续孵育 4 h, 每孔加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO 溶解甲瓚(Formazan)晶体, 于酶标仪上 490 nm 波长测定各孔的光密度值(OD 值), 并计算  $\text{IC}_{50}$ 。

$$\text{生长抑制率}(\%) = \frac{(\text{OD 值}_{\text{阴性对照组mean}} - \text{OD 值}_{\text{实验组mean}}) / (\text{OD 值}_{\text{阴性对照组mean}} - \text{OD 值}_{\text{空白组mean}})}{\times 100\%}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 SDS-PAGE 检测

结果如图 1 所示, 样品的 SDS-PAGE 最佳上样量为 5  $\mu\text{L}$ , 凝胶背景清晰, 蛋白条带分辨率较高。电泳图谱中, 除相对分子质量在 11 kDa 以下多肽外, 其他蛋白质主要分布在 17~45 kDa 的区域内, 共有 4 条分离度较佳的清晰条带。

根据标准蛋白质条带绘制成标准曲线(图 2), 得回归方程  $Y = -1.2168X + 2.299$ ,  $r$  为 0.9901,

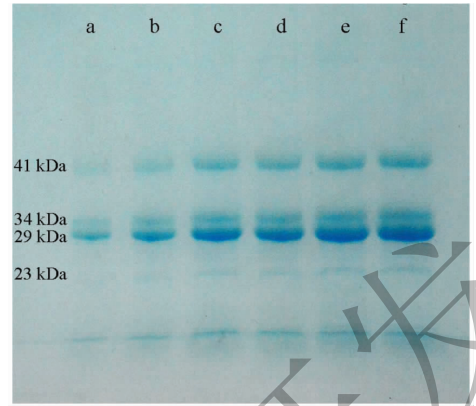


图 1 大胡蜂蜂毒的 SDS-PAGE 结果

Fig. 1 The SDS-PAGE results in the wasp venom of *Vespa magnifica* (Smith)

注: a~f. 上样量分别为 1, 2, 3, 4, 5, 6  $\mu\text{L}$ 。Note: a~f. The amount of loading is 1, 2, 3, 4, 5 and 6  $\mu\text{L}$ , respectively.

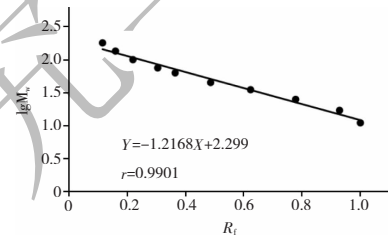


图 2 SDS-PAGE 标准蛋白质相对分子质量标准曲线

Fig. 2 The standard curve of molecular weight of SDS-PAGE protein marker

其中  $X$  代表迁移率( $R_f$ ),  $Y$  代表相对分子质量的对数值( $\lg Mw$ )。将样品中 4 条电泳条带的  $R_f$  值带入公式计算, 它们的相对分子质量从大到小依次为 41、34、29、23 kDa。

### 2.2 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 检测

大胡蜂蜂毒的反相超高效液相色谱图和质谱基峰图(图 3)显示, 大胡蜂蜂毒的成分复杂, 在 214 nm 波长下可以检测到 62 个色谱峰(大部分色谱峰面积较小), 于 40 min 内被洗脱(图 3A)。经 ESI-Q-TOF-MS 鉴定(图 3B, C), 10 min 内的质谱峰较少, 该时间段的洗脱峰主要是小分子化合物, 大部分质谱峰主要集中在保留时间为 10~40 min 内, 为多肽类物质, 在大胡蜂蜂毒中含量丰富。经对质谱正负离子模式下的离子峰进行信号归属, 去除冗余, 大多数质谱峰中均出现了 2 个以上的信号且多为多电荷离子。这说明很多疏水性相近, 但相对分子质量有差异的多肽分子存在于同一洗脱峰中。本试验共鉴定得到 4 个单一成分(表 1)。

表 1 大胡蜂蜂毒中单一成分的相对分子质量

Table 1 Molecular weight of single component in the wasp venom of *Vespa magnifica*(Smith)

保留时间 $t_R$ (min)	正离子 Cation		负离子 Anion	
	$[M+H]^+$	$[2M+H]^+$	$[M-H]^-$	$[M+HCOOH-H]^-$
5.7	403.225 1	-	-	-
9.1	-	-	569.426 7	615.433 0
21.6	926.588 9	463.798 3	-	-
34.0	1 382.882 2	-	1 380.950 4	1 426.956 5

本实验从大胡蜂蜂毒中检测出 160 个物质成分,充分展现了大胡蜂蜂毒的分子多样性情况(图 4A)。大胡蜂蜂毒中多肽的相对分子质量呈“单峰”分布,61% 的分子分布在 500 ~ 3 000 Da 区域,其中有 43% 分子分布在 500 ~ 1 500 Da 内,含量最为丰富,证明此区域的分子可作为大胡蜂蜂毒肽结构与功能研究的重点目标(图 4B)。有 14% 低于 400 Da 的小分子化合物在其中分布。为了直观的展示大胡蜂蜂毒中所含成分的保留时间、相对分子质量以及质谱峰的强度,分别以流分(fraction number)、质荷比( $m/z$ )和质谱峰强度(peak intensity)为 X 轴、Y 轴和 Z 轴绘制大胡蜂蜂毒中各成分的三维分布图(图

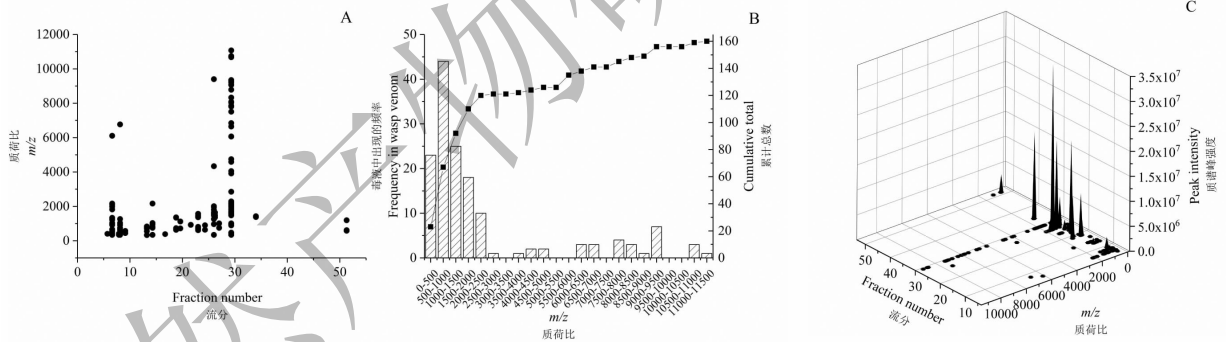


图 4 大胡蜂蜂毒的分子多样性

Fig. 4 Molecular diversity of the wasp venom of *Vespa magnifica*(Smith)

注:A. 结合液相和质谱数据的大胡蜂蜂毒分子质量分布; B. 直方图显示了蜂毒中分子质量的分布频率,曲线显示了蜂毒中液质鉴定成分的累计总数; C. 大胡蜂蜂毒中分子的三维分布图。Note: A. Molecular mass distribution of the wasp venom of *Vespa magnifica*(Smith) by RP-UPLC and ESI-Q-TOF-MS analysis; B. The histogram shows the frequency of molecular mass in the wasp venom. The overlaid curve shows the cumulative total of component masses indentified from UPLC-ESI-Q-TOF-MS analyses; C. 3D distribution of the wasp venom of *Vespa magnifica*(Smith).

### 2.3 抑菌效果分析

以抑菌圈的有无及直径大小作蜂毒水溶液抑菌效果的测定指标,蜂毒水溶液对细菌的抑菌效果见表 2。结果显示蜂毒溶液对 3 种菌的抑菌效果不同,对白色念珠菌抑菌效果最明显,其次是金黄色葡萄球菌,大肠埃希菌在三种菌中最次,抑菌圈直径仅为

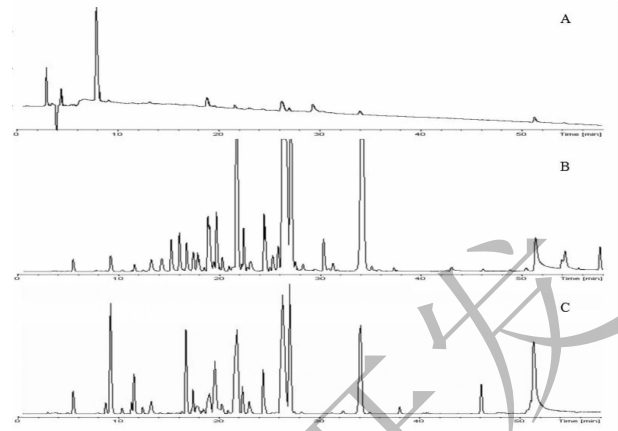


图 3 大胡蜂蜂毒的 UPLC 色谱图和基峰图(+/-)

Fig. 3 The UPLC chromatogram and base peak chromatogram (+/-) of mass spectrometry in the wasp venom of *Vespa magnifica*(Smith)

注:A. 色谱模式; B. 正离子模式; C. 负离子模式。Note: A. The chromatographic mode; B. The positive ion mode; C. The negative ion mode.

4C),由图可知,主要的多肽分子群于 15 ~ 35 min 的保留时间内被洗脱,相对分子质量在 500 ~ 2 000 Da 之间;在保留时间 30 min 处附近,洗脱出较多的成分,但含量相对较少。

10.90 mm。

### 2.4 蜂毒溶液与青霉素钠和克霉唑溶液抑菌效果比较

如表 3 所示,青霉素钠对大肠埃希菌及金黄色葡萄球菌有较好的抑菌作用。将 10 mg/mL 的蜂毒水溶液与 1 mg/mL 青霉素钠溶液与 0.15 mg/mL 的

表2 大胡蜂蜂毒水溶液对细菌及真菌的抑菌直径(mm) ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 2 The inhibitory zone diameter of wasp venom to tested strains/mm( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

菌种 Species	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
抑菌圈直径 Inhibitory zone diameter (mm)	12.45 ± 0.27	10.90 ± 0.73	16.77 ± 0.40

克霉唑溶液的抑菌效果进行比较,发现蜂毒溶液对大肠埃希菌及金黄色葡萄球菌的抑菌为青霉素钠溶

液的51%,对于白色念珠菌的抑菌效果比0.15 mg/mL的克霉唑溶液较好。

表3 青霉素钠及克霉唑对细菌及真菌的抑菌直径(mm) ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 3 The inhibitory zone diameter of benzylpenicillin sodium and clotrimazole to tested strains(mm) ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

菌种 Species	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
青霉素钠 Benzylpenicillin sodium	24.35 ± 0.74	21.33 ± 0.20	-
克霉唑 Clotrimazole	-	-	16.03 ± 0.50

## 2.5 细胞毒活性研究

经检测,蜂毒样品的抑制率及 $IC_{50}$ 如表4所示,结果显示,随着蜂毒溶液的浓度逐渐升高,对HepG2人肝癌细胞株、B16黑色素瘤细胞株的抑制率逐渐升高。

表4 蜂毒样品对HepG2及B16细胞的抑制作用( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 4 The inhibition and  $IC_{50}$  of wasp venom samples of HepG2 and B16( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

细胞 Cell lines	样品 Sample ( $\mu\text{g/mL}$ )	抑制率 Inhibition rate (%)	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
HepG2	10	14.07 ± 0.02	32.15 ± 4.33
	20	44.47 ± 0.07	
	40	58.58 ± 0.10	
	80	76.60 ± 0.06	
	160	81.02 ± 0.04	
B16	10	18.28 ± 0.07	29.99 ± 5.51
	20	28.67 ± 0.09	
	40	73.68 ± 0.03	
	80	80.82 ± 0.04	
	160	84.18 ± 0.06	

## 3 讨论

动物毒素均含有较为丰富的多肽及蛋白质类活性成分,已知蛇毒中大约含有100种不同的多肽组分,蛛毒中含有高达1018个多肽,芋螺毒液中肽的

成分也高达上千种,且不同种内肽的数量及组成具有一定的差异,均可作为新型的药用资源<sup>[8-11]</sup>。有文献报道,胡蜂毒液中含有大量的分子量在1400~7000 Da范围内的肽,可占干燥毒液的70%<sup>[12]</sup>。在本实验结果中,大胡蜂蜂毒多肽成分主要分布在500~3000 Da区域内,蛋白质主要分布在17~45 kDa范围内,其结果与胡蜂*Polybia paulista*的蜂毒相似,*P. paulista*的蜂毒在400~3000 Da范围内检测到78~108种不同的肽,占蜂毒干重的70%<sup>[13]</sup>。同样,小黄蜂*Vespa vulgaris*的蜂毒所含蛋白质的相对分子质量主要分布在25~100 kDa范围内<sup>[14]</sup>。这些结果表明大胡蜂与其它蜂在物种进化过程中存在一定的同源性,因此,进一步研究大胡蜂蜂毒与其他胡蜂毒的蛋白和多肽分子差异性,将有助于了解其进化及其毒液的生物活性机制。同时,实验结果显示,大多数的物质含量较低,难以检测和鉴定,其生物活性与结构功能还需进一步研究。

抑菌实验结果显示,蜂毒水溶液对金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌的抑菌效果可达到青霉素钠的1/2,对于白色念珠菌的作用效果与克霉唑相似,证明其具有抑菌功能。现有研究表明,在胡蜂蜂毒中存在着由12~14个氨基酸组成的具有抗菌作用的黄蜂毒素(mastoparans),Xu等<sup>[4]</sup>在大胡蜂蜂毒分离鉴定出类似黄蜂毒素的两种抗菌肽,由13~14个氨基酸组成。在*P. paulista*胡蜂中鉴定出的Polybia-

MP I 黄蜂毒素的分子量为 1 654.09 Da, 是一种潜在的高效、高选择性的抗生素; 由 9 ~ 18 个氨基酸组成的激肽相关肽也是胡蜂蜂毒中主要的肽类物质, 具有很强的生理效应<sup>[11]</sup>。本实验证明, 大胡蜂蜂毒具有良好的细胞毒活性, 可抑制 B16 黑色素瘤细胞及 HepG2 人肝癌细胞的生长繁殖, 其抑制作用具有明显的浓度依赖关系, 与蜜蜂蜂毒相似<sup>[15]</sup>。在大胡蜂蜂毒中, 由 337 个氨基酸组成的磷脂酶类似物 (magnifin) 具有抑制血管生长活性<sup>[16]</sup>, 癌细胞的迁移和生长依赖新生血管的生成, 此蛋白可能是抑制细胞增殖的原因, 同时, 已有大量文献证明由 26 个氨基酸组成的蜂毒肽 (melittin) 可使肿瘤细胞凋亡, 其可能是产生细胞毒性作用的关键因素, 需进一步研究。大胡蜂蜂毒中含有丰富的多肽和蛋白, 是大自然赋予我们的天然宝库, 对蜂毒及其各种有效成分进行药理学研究及抗肿瘤作用机制的研究是蜂毒医药应用研究的努力方向。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 1611.
- 2 Habermann E. Bee and wasp venoms [J]. Science, 1972, 177: 314-322.
- 3 Jaques R. The presence of histamine, 5-hydroxytryptamine and a potent, slow contracting substance in wasp venom [J]. Br J Pharmacol, 1954, 9: 53.
- 4 Xu X, Li J, Lu Q, et al. Two families of antimicrobial peptides from wasp (*Vespa magnifica*) venom [J]. Toxicon, 2006, 47: 249-253.
- 5 Han J, You D, Xu X, et al. An anticoagulant serine protease from the wasp venom of *Vespa magnifica* [J]. Toxicon, 2008, 51: 914-922.
- 6 Yang H, Xu X, Ma D, et al. A phospholipase A1 platelet activator from the wasp venom of *Vespa magnifica* (Smith) [J]. Toxicon, 2008, 51: 289-296.
- 7 An S, Chen L, Wei JF, et al. Purification and characterization of two new allergens from the venom of *Vespa magnifica* [J]. PLoS One, 2012, 7: e31920.
- 8 Calvete JJ, Juarez P, Sanz L. Snake venomomics: strategy and applications [J]. J Mass Spectrom, 2007, 42: 1405-1414.
- 9 Escoubas P, Sollod B, King GF. Venom landscapes: mining the complexity of spider venoms via a combined cDNA and mass spectrometric approach [J]. Toxicon, 2006, 47: 650-663.
- 10 Davis J, Jones A, Lewis RJ. Remarkable inter- and intra-species complexity of conotoxins revealed by LC/MS [J]. Peptides, 2009, 30: 1222-1227.
- 11 Wu XY, An TT, Gao BM. Chemical synthesis and insecticidal activity of conotoxin ImI [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30: 2203-2206 + 2179.
- 12 Dos Santos-Pinto JRA, Perez-Riverol A, Lasa AM, et al. Diversity of peptidic and proteinaceous toxins from social Hymenoptera venoms [J]. Toxicon, 2018, 148: 172-196.
- 13 Dias NB, de Souza BM, Gomes PC. Peptide diversity in the venom of the social wasp *Polybia paulista* (Hymenoptera): a comparison of the intra- and inter-colony compositions [J]. Peptides, 2014, 51: 122-130.
- 14 Blank S, Seismann H, Bockisch B, et al. Identification, recombinant expression, and characterization of the 100 kDa high molecular weight Hymenoptera venom allergens Api m 5 and Ves v 3 [J]. J Immunol, 2010, 184: 5403-5413.
- 15 Liu X. Studies on the anti-cancer activity and the oral colon delivery system of bee venom [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学), 2002.
- 16 Liu WJ, Xu XQ. Inhibitory effect of mastoparan-like peptide from wasp (*Vespa magnifica*) venom on angiogenesis [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2014, 30: 715-718.