

國立臺灣師範大學生命科學專業學院

生技醫藥產業碩士學位學程

碩士論文

Graduate Program of Biotechnology and Pharmaceutical Industries

School of Life Science

National Taiwan Normal University

Master's Thesis

龜鹿二仙膠抗氧化能力與對關節細胞活性的影響

Effects of Guilu Erxian Glue on Antioxidant Capacity and
Joint Cell Activity



Wu, Hsuan-Mei

指導教授 Advisor：吳忠信 博士 Ph.D.

中華民國 112 年 6 月

June 2023

謝辭

大學畢業二十多年，心中始終有個未竟的夢想，於是前年在陪伴女兒考大學之際，決心報考研究所，一連報了四所，很幸運都上榜，最後選擇最具未來潛力發展的生技醫藥產業學程，展開為期兩年的研究所生涯。

老實說，一邊工作一邊成就學業，不是一件容易且輕鬆的事，很感謝研究所的指導老師 吳忠信教授在我猶豫不決時，給了我一盞明燈，提點我關於生技醫藥產業的未來趨勢，讓我有勇氣跨域學習，打開新的視野，創造人生新的契機點。在這兩年的研究歷程中，老師無私的教導與提攜，不斷支持和勉勵，幫助我在有限的時間內完成這項艱鉅的任務。再者，我要感謝我的班導 陳冬生教授，每堂課絕對上好上滿，為學生帶來非常扎實的新知和歷練，除了這兩位讓我大開眼界的教授外，還有畢業口試的委員臺灣大學國際體育運動事務學程 連家瑩教授和臺灣師範大學生命科學系 沈賜川教授，感謝教授詳細的解說和指導，幫助我了解自己不足之處，以及如何修正論文臻於完善。此外，我也要感謝研究所的同學和實驗室的學長、學姐、學弟們，隨和又親切的關心和慰問，以及主動伸出援手鼎力相助的情誼，更是此生難忘。最後，我也要感謝我最親愛的家人百分百的支持，包容我長時間處理繁重的工作和課業，家事無法親力親為，所幸孩子們健康平安長大，家人長伴到老，期待未來繼續築夢有成，活到老學到老。最後謹以此向所有關心我的人致上最深的謝意。

吳炫梅 謹誌

中華民國 112 年 06 月

中文摘要

龜鹿二仙膠是由龜板和鹿角等重要藥材，再加上枸杞、人參等多種天然成分熬製而成的中藥製劑。它的功效在於強化骨骼和減緩關節退化的症狀，常被民間視為補筋骨的良方。然而，龜鹿二仙膠在市場上的價格差異極大，品質也參差不齊，時常發生以假亂真的情況。為此，我們希望針對龜鹿二仙膠成分中的龜板和鹿角建立中藥指紋圖譜，並且檢視龜板和鹿角溶離胜肽的抗氧化能力以及對於關節滑膜細胞(synoviocyte, HIG-82)的活性，希望藉此確立龜鹿二仙膠的成分品質，並且從龜鹿二仙膠篩選出有效緩解關節退化的成分，提供科學中藥廠家研製成有效緩解關節退化的健康食品或是藥物。我們首先與科學中藥廠家合作，建立傳統中藥龜鹿二仙膠的中藥成分指紋圖譜；然後選取科學中藥廠家提供的龜板與鹿角溶離胜肽成分，利用 DPPH 抗自由基實驗檢視龜板與鹿角以及溶離後胜肽成分的抗氧化能力；以及採用關節滑膜細胞，利用 MTT 細胞存活試驗檢視龜板與鹿角溶離胜肽對關節滑膜細胞的生長存活率，藉此篩選出有效緩解關節退化的溶離胜肽成分。本實驗結果顯示：從龜板與鹿角的 13 種溶離胜肽成分中，發現從鹿角萃取的 7 種溶離胜肽成分的抗氧化能力較佳，對於關節滑膜細胞的細胞生長存活情形也最佳，至於其他從龜板萃取的 6 種溶離胜肽成分的抗氧化能力則較差，對於關節滑膜細胞的細胞生長存活情形也較鹿角萃取的 7 種溶離胜肽來得差。從胺基酸序列的分析發現抗氧化能力佳以及對於關節滑膜細胞的細胞生長有利的溶離胜肽成分，均含有丙胺酸(Alanine, Ala)-絲胺酸(Serine, Ser)-半胱胺酸(Cysteine, Cys)的序列片段。換句話說，從鹿角溶離胜肽對於抗氧化能力以及關節滑膜細胞的細胞生長，都比龜板溶離胜肽來得效果佳。因此，本論文推論從鹿角溶離胜肽應該比較有機會研製成有效緩解關節退化的健康食品或是藥物。

關鍵字：龜鹿二仙膠、胜肽、溶離試驗、生物確效、骨質疏鬆、關節退化

Abstract

The main medicinal materials of Guilu Erxian Gum (GEG) include tortoise plastron and antlers with adding wolfberry and ginseng to strengthen bone density and slow down the degeneration of joints. In view of the fact that Taiwanese folks often use GEG to replenish their muscles and bones, but the market price varies greatly, the quality is different, and the fake is often reported. To this end, we hope to establish a fingerprint of traditional Chinese medicine for the tortoise plastron and antlers in GEG, and to examine the antioxidant capacity and the activity of synovial cells (synoviocyte, HIG-82) in dissolved peptides from tortoise plastron and antler. We hoped to establish the quality of GEG, and screen out dissolved peptides from GEG that can effectively relieve joint degeneration, and provide traditional Chinese medicine (TCM) manufacturers to develop healthy food or medicine that can effectively relieve joint degeneration. We first cooperated with TCM manufacturers to establish the fingerprints of GEG. Then we selected the dissolved peptides from tortoise plastron and antler that provided by TCM manufacturer, and used the DPPH anti-free radical assay to examine the antioxidant capacity in these dissolved peptides. We used the MTT cell survival assay to examine survival rate of joint synoviocytes in these dissolved peptides. We hoped to screen out the dissolved peptides that can effectively relieve joint degeneration. The results of our experiment showed that among 13 dissolved peptides from tortoise plastron and antlers, Seven dissolved peptides components extracted from antlers have been found that have better antioxidant capacity, and better cell growth and survival rate of joint synoviocytes. As for the other six dissolved peptides extracted from tortoise plastron, the antioxidant capacity is poor, and the cell growth and survival of joint synoviocytes are also worse than dissolved peptides from antlers. From the analysis of the amino acid sequence, it was found that the dissolved peptide components with good antioxidant capacity

and beneficial to the cell growth of joint synoviocytes all contain sequence of Alanine (Ala)-Serine (Ser)-Cysteine (Cys). In other words, dissolved peptides from deer antlers have a better effect on antioxidant capacity and cell growth of synoviocytes than dissolved peptides from tortoise plastron. We suggested that dissolved peptides from antlers may have a better chance to develop into healthy food or medicine that can effectively relieve joint degeneration.

Keywords: Guilu Erxian Gum, Peptides, Dissociation assay, Bio-Validation, Osteoporosis, Joint Degeneration



目次

中文摘要	II
Abstract	III
表次	VI
圖次	VII
第一章緒論	1
第一節 研究背景	1
第二節 文獻探討	3
第三節 研究目的	7
第二章 研究材料與方法	9
第一節 龜鹿二仙膠指紋圖譜分析與溶離胜肽配製	9
第二節 龜板與鹿角溶離胜肽清除氧化自由基能力的DPPH的測定	10
第三節 龜板與鹿角溶離胜肽對關節滑膜細胞生長情形的 MTT 測定	11
第四節 統計與資料分析	12
第三章 研究結果	13
第一節 龜鹿二仙膠的指紋圖譜	13
第二節 龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠的抗氧化能力比較	14
第三節 龜板與鹿角溶離胜肽的胺基酸序列	14
第四節 龜鹿溶離胜肽的抗氧化能力比較	14
第五節 龜鹿溶離胜肽對關節滑膜細胞的活性與生長	15
第四章 討論	16
第五章 結論	22
參考文獻	23
附錄 實驗圖表	32

表次

表一：龜板、鹿角以及龜鹿兩者混合物溶離胜肽樣品的胺酸序列 32



圖次

圖一：龜鹿二仙膠成分之鹿角膠的液相層析質譜儀指紋圖譜	33
圖二：龜鹿二仙膠成分之龜腹板膠的液相層析質譜儀指紋圖譜	34
圖三：龜鹿二仙膠成分之人參的 3D 高效能液相層析指紋圖譜	35
圖四：龜鹿二仙膠成分之枸杞的 3D 高效能液相層析指紋圖譜	36
圖五：DPPH 實驗檢測龜板、鹿角與龜鹿二仙膠清除自由基的抗氧化能力	37
圖六：DPPH 實驗比較不同龜鹿胜肽清除自由基之抗氧化能力	38
圖七：MTT 實驗比較不同龜鹿胜肽對關節滑膜細胞存活率的影響	39
圖八：龜鹿胜肽Ala-Ser-Cys序列的2D構造圖	40



第一章 緒論

第一節 研究背景

臺灣邁入高齡化社會，迫切需要國家和社會共同面對相關的議題，包括快速增加的醫療和長照需求，以及對社會福利帶來沉重負擔等。根據 2022 年國發會最新發布的人口推估報告顯示，老年人口將在 2042 年超過 700 萬人，並持續增加。隨著老年人口比重的增加，年齡結構也更加高齡化。估計 85 歲以上老人口佔老年人口比例會從 2022 年的 10% 上升至 2070 年的 31%，到時候每 10 個人中就有 4 個是老年人口，其中一位是年齡超過 85 歲的老人。

依據衛生福利部的 110 年死因統計，高齡族群中，跌倒是造成事故傷害死亡的第二大原因。跌倒不僅會造成長者當下的身體傷害，也可能導致長期臥床，進而使身體器官快速老化，日常生活自理能力下降。不僅患者痛苦，也加重照顧者的負擔，影響生活品質，不容忽視。

高齡者的視力、聽力、移動能力也會隨著年齡增加而降低，這使得長者的反應時間更長，平衡和協調能力也下降，這些都是跌倒的常見原因。加上骨質疏鬆、退化性關節炎、失智和各種慢性疾隨年紀增加，也會慢慢浮現。從衛福部的統計數據中，發現國內有 15% 的人正在經歷膝關節退化的疼痛，這意味著約 350 萬人有此困擾。在年齡超過 58 歲以上的族群中，每 5 位長者中，就有一位有關節退化問題；在 70 歲以上的老人中，有 70% 以上罹患關節退化性關節炎。另外，根據世界衛生組織的統計，全球關節退化疾病的患者數量急遽增長。目前，全球約有 3.5 億人罹患關節炎，而到了 2020 年，這個數字將飆升至 5.9 億人，換言之，每 5 個人當中就有 1 個人患有關節炎。

而女性在更年期停經後，因為雌激素分泌減退，急速促使關節軟骨之衰耗，所以女性通常比男性更容易遭受關節疼痛之苦。退化性關節炎是一種不可逆的關節軟骨逐漸破壞的疾病，其病情會逐步惡化，對患者本身和照顧者都帶來很大的不便和負擔，更是高齡長者不可避免的問題。

另外，在臺灣 65 歲以上的老人中，骨質疏鬆症也是一種很常見的慢性疾病。對停經後的婦女影響更大，依據內政部的人口統計資料估算，臺灣 50 歲以上的人口中，約有 95.6 萬名女性和 36.3 萬名男性患有骨質疏鬆症。有高達 80% 的骨質疏鬆症患者沒有意識到自己已經罹患了這種疾病。隨著臺灣人口老化，預計到 2025 年我們將進入超高齡社會，65 歲以上的長者將有大約 150 萬人有骨質疏鬆症。

龜鹿二仙膠在中醫被用於治療骨骼疾病，它的歷史可以追溯到幾百年前的中國古籍，如《醫方考》等。其主要成分包括鹿角、龜板、枸杞和人參等，被用於治療退行性關節病、骨質疏鬆、骨關節炎和關節痛等病症。

【刪補名醫方論】談及：「人參益氣，枸杞生精，佐龜鹿補陰補陽，無偏勝之愛，人氣入血有和平之美，由是精生而氣旺，氣旺而神昌，庶幾龜鹿之年矣！故曰二仙。」

根據中醫認為龜鹿二仙膠組成中藥材之性味和效果整理如下：

藥材	鹿角	龜板	枸杞	人參
性味	溫和甘甜	甘甜平和	甘甜平和 無毒副作用	溫和甘甜 微帶苦味
效果	促進精氣、滋養髓質，補血增陽氣，強化筋骨健康。	補益心臟和腎臟功能，滋養陰血。	能滋補肝腎功能，有效提升精氣和視力。	可補充元氣且對脾和肺臟有滋補效果。

由於鹿角和龜板的稀有性和高昂價格，再加上烹煮過程的繁複，使得龜鹿二仙膠的銷售價格持續居高不下。不幸的是，有些不良的商家為了謀取暴利，用劣質原料冒充真正的龜鹿二仙膠，這樣可能會對消費者的健康造成傷害。因此，了解如何辨別真偽龜鹿二仙膠是非常重要的課題。

第二節 文獻探討

(一) 龜鹿二仙膠的藥用功能

龜鹿二仙膠是由龜腹板、鹿角、人參和枸杞等四種藥材經過長時間熬煮而成的，它作為一種膠劑，便於保存並保持藥物的功效。由於它富含膠質，因此成為治療退化性膝關節炎的首選方法，至今仍被廣泛運用。龜鹿二仙膠在中醫中被用於治療骨骼疾病，如退行性關節病、骨質疏鬆、骨關節炎和關節痛已有數百年的歷史(Liao et al., 2022)。這種製劑最早出現在公元前 1584 年出版的中國古代醫書《醫方考》中。該配方通常包括龜板、鹿角、枸杞和人參。龜板膠和鹿角膠在中國社會已被用於治療骨病。鹿角富含膠質、碳酸鈣和磷酸鈣，而龜板則含有多種胺基酸。此外，人參和枸杞具有補充氣血、明目保肝的功效，同時還能增強免疫功能。通過 LC-MS/MS 鑑定了具有刺激成骨細胞增殖特性的鹿角胜肽。鹿角胜肽的治療可促進成骨細胞礦化和密度顯著增加、軟骨細胞數量顯著增加；而龜板胜肽也可以和鈣離子協同作用促進成骨細胞增殖和分化(Ho et al., 2023)。

目前在臨床上，龜鹿二仙膠被應用於以下症狀：(1) 預防骨質疏鬆症：由於其高含量的膠原蛋白，有助於促進骨質生成並被人體吸收 (Mao et al., 2008)；治療更年期後骨質疏鬆症有顯著且安全有效的效果(Si et al., 2020)；通過 PI3K/Akt/NF- κ B 信號通路增強成骨細胞的分化標誌物活性並增加骨形態發生蛋白的產生，因此可適用於治療骨質疏鬆症(Wu et al., 2017)。(2)

緩解關節痛：可以有效治療膝骨關節炎(Liao et al., 2022)；可緩解小鼠關節痛並且改善骨關節發炎(Chou et al., 2018)。(3) 緩解肌肉老化：可以有效緩解老年男性的肌肉力量退化(Tsai et al., 2014)。(4) 減緩更年期障礙：調整更年期後內分泌機能障礙(Si et al., 2020)。(5) 緩解癌症化療不良副作用：可以減輕小鼠癌症化療引起的體重減輕、運動障礙、血液循環異常、骨髓抑制、心肌損傷、關節退化和骨質疏鬆(Lien et al., 2021)。

然而，龜鹿二仙膠丸在服用上有其劑量限制。由於其成分在中藥理論中偏向於溫補的藥物，應注意可能引起口乾、便秘、失眠等上火的副作用。是否需要使用龜鹿二仙膠丸來調理身體或治療疾病，應由中醫師根據症狀判斷是否適合。如果非必要，也可以考慮使用其他方劑、藥物或藥食代替或補充。

(二) 鹿角的藥用功能

由於硬化鹿角的市場價值低，因此很少有人研究。鹿角在 2000 多年前的中國醫學經典《神農本草經》中就有記載，被視為有滋養陰虛、補益腎氣、健脾益胃、強化筋骨、促進血液循環等功效(Wu et al., 2013)。藥理學研究發現鹿角膠具有免疫調節、抗癌、抗疲勞、抗骨質疏鬆、抗炎、鎮痛、抗菌、抗病毒、抗應激、抗氧化、降血糖、造血調節活性及對乳腺增生的治療作用(Wu et al., 2013)。雖然作用機制尚不清楚，主要的生物活性化合物，如氨基酸、胜肽和蛋白質，可能是造成藥理活性的主要原因。但藥理活性可能主要歸因於主要的生物活性化合物氨基酸、胜肽和蛋白質。根據動物研究和臨床試驗，鹿角膠並不會引起嚴重的副作用。

(三) 龜板的藥用功能

龜腹板具有甘甜平和的性味，擁有滋養陰虛、清熱降火、補益腎氣、強化骨骼、滋養血液、補益心臟的功效(Li et al., 2017)，藥理研究表明，龜

腹板萃取物具有提高免疫系統的作用(Gu et al., 2007)。龜腹板不但是一種抗衰老食品(Xie et al., 2006 ; Li et al., 2007)，它還可以保護神經免於退化(Chen et al., 2002 ; Li et al., 2003)。龜腹板之主要成分有動物膠、角蛋白(Keratin)、脂肪、骨膠原、18 種胺基酸。現代藥理研究顯示龜腹板有增強免疫功能、抗腫瘤、益腎、強健骨頭之能力。常用於治療腎陰不足引起的盜汗、遺精症狀、小孩子筋骨不健全的情形。龜腹板也富含胺基酸，可能是其營養功能的原因(Cheung et al., 1998 ; Luo et al., 2008)。

(四) 市售龜鹿二仙膠的摻假問題

龜鹿二仙膠是一種經過長時間熬煮由龜腹板、鹿角、人參和枸杞等藥材製成的膠劑，被廣泛應用於補充膠質和鈣質的經典中藥方劑中。然而，龜鹿二仙膠的價格並無固定標準，一斤的價格可能高達一萬多元，且在市面上價格差異很大，從幾百元到數千元都有。由於這種情況，龜鹿二仙膠常常面臨著摻假的問題。從藥材的角度來看，鹿角可分為梅花鹿角、馬鹿角、水鹿角和麋鹿角，價格本身就有差異，而且還受產地的影響。至於龜板，有些人使用龜腹板，有些人使用龜背殼，但由於多數龜類屬於保育類動物，因此龜板的來源非常重要且易引起國際關注。人參方面，有高麗參和大陸吉林參之分，有些製劑中則用黨參來代替。優質的人參主要生長在大陸的長白山一帶，其生長年限也會影響所含的人參皂含量。至於枸杞，雖然價格相對較低，但在選材上，品質優良的枸杞子應具有紅亮的皮色和豐厚的果肉。許多不誠實的廠商會使用硫磺燻枸杞以使其色澤更漂亮，且枸杞農藥殘留的疑慮也是不容忽視的議題。為了確保龜鹿二仙膠的品質和安全性，首先應在正宗的產區和適當的季節收購高品質的藥材，再利用氣相層析儀(GC/MS)、離子耦合電漿儀(ICP/MS)、液相層析檢譜儀(HPLC/MS)等精密儀器進行指標含量的檢測。同時，要加強對農藥、重金屬、微生物、黃麴毒素等殘留物的檢測，以確保藥材的品質和安全性。

純正的龜鹿二仙膠在燈光下呈現透明的琥珀色，但有些假貨也能模仿透光性，肉眼很難辨識。正宗的龜鹿二仙膠是由鹿角、龜板、人參和枸杞熬煮製成，具有香醇的味道。而劣質的產品或假貨則容易散發出腥臭味。坊間有許多龜鹿二仙膠的品質好壞難辨，一些不誠實的業者可能使用次級藥材或摻入豬皮、雞腳、豬骨，甚至添加仙草凍、焦糖等成分來製作，以欺騙消費者。此外，傳統的快速加熱濃縮方法可能會導致對熱不穩定成分的破壞。這些成分在製作過程中可能受到高溫的影響，使其失去活性或降低其療效。因此，在製作龜鹿二仙膠時，應注意選擇適當的加熱方式，以確保藥材中的有效成分得以保留。為了製作優質的龜鹿二仙膠，應依循古方並使用現代化的生產設備。根據標準處方和藥材特性，制定投料順序、時間控制和溫度控制等步驟。從藥材的前處理、泡洗、去除腐肉、熬煮、過濾到烘乾成膠，每個步驟都經過層層嚴格的管制。在符合 GMP 藥廠的生產環境下，龜鹿二仙膠的製造過程經過嚴格的確效作業評估，以確保產品的品質和最佳療效。

龜鹿二仙膠是由龜板、鹿角、人參和枸杞子等四種藥材煉製而成，被衛生署歸列為藥品等級。製造廠商在製造和銷售之前，必須向衛生署申請查驗登記。衛生署將詳細審核產品的藥材來源、藥材成分比例、農藥檢測結果、製造設備、製膠過程、包裝衛生、安定試驗等相關資料。此外，衛生署和衛生局會派遣專人到工廠實地勘查製造過程、生產設備以及成品的多項檢測，這些措施旨在確保產品的安全性。只有在所有檢測項目符合安全衛生規範後，衛生署才會核發藥品字號，允許廠商製造和銷售產品。因此，由 GMP 藥廠生產的龜鹿二仙膠，在產品的安全衛生、藥材比例和產品效果方面相對安全有保障。消費者應特別小心謹慎，對於標示不清、來路不明的產品要保持警惕，避免隨便購買，以免花錢又傷了身體。

龜鹿二仙膠兩個重要的成分「龜板」和「鹿角」成本價格高，取材不易，加上烹煮提煉過程費時費力，因此常有許多不肖業者以來路不明的動物部位，提煉膠質，看似黑又稠的膠狀，蒙騙消費者以高價購買，從中賺取暴利。不知情的消費者，長期食用還可能傷身，甚至危害生命，類似的案件層出不窮。現代生技產業蓬勃發展，市售龜鹿二仙膠的產品，不只膠片、散劑、濃縮劑等，綜整普遍存在下列這些問題：

- 1.成分不明確：一些龜鹿二仙膠產品並沒有明確標示所有的成分，使得消費者難以確認自己正在服用的產品成分。
- 2.成分不足：一些龜鹿二仙膠產品中，各種成分的比例並不均衡，有些成分的含量可能不足，也會影響產品的療效。
- 3.含有禁藥：有些龜鹿二仙膠產品可能含有禁藥，如激素、鎮痛藥等成分，也會對身體造成傷害。
- 4.衛生問題：一些龜鹿二仙膠產品可能存在衛生問題，如含有細菌、重金屬等，這些成分也會對身體造成傷害。

因為這些問題難以肉眼分辨，如何辨別是否為龜板和鹿角提煉的膠原或成分，只能靠 DNA 比對才能分辨真偽。此外，縱使是真正的龜鹿二仙膠，但是否含足夠數量的龜鹿有效活性胜肽成分，目前也沒有建立一套完善的檢測系統。因此，建立完善的傳統中藥龜鹿二仙膠胜肽成分的指紋圖譜，以及確定其有效活性胜肽成分的研究，具有重要意義，值得進一步深入探討。

第三節 研究目的

本研究的主要目的是建立龜鹿二仙膠的中藥指紋圖譜，並評估龜板和

鹿角中溶離的胜肽成分在抗氧化能力和細胞活性方面的表現。另一方面，在本研究中我們使用關節滑膜細胞(synoviocyte, HIG-82)測定龜板與鹿角溶離胜肽成分對關節滑膜細胞活性的影響，希望能確立龜鹿二仙膠之品質，並且從龜板與鹿角篩選出有效緩解關節退化的胜肽成分，能夠提供科學中藥廠家研製成有效緩解關節退化的健康食品或是藥物。



第二章 研究材料與方法

第一節 龜鹿二仙膠指紋圖譜分析與溶離胜肽配製

龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠均由順天堂藥廠股份有限公司提供（臺灣，新北市），龜鹿二仙膠主要有四種主要成分，即龜板、鹿角、枸杞子和人參，比例為 4: 2: 2: 1。我們使用液相層析儀(HPLC)或高效液相層析質譜儀(LC/MS)對於龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠進行色譜指紋分析。將龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠的所有化合物溶解在蒸餾水（H₂O）/甲醇（MeOH）中，透過將單個峰值的保留時間與參考物質的峰值保留時間進行比較，可以推算出龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠的有效化合物，接著調整龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠的標準有效成分，以相同的濃度進行處理製備。

(一) 試驗樣品：

龜板膠：由順天堂藥廠股份有限公司（臺灣，新北市）提供，半成品。

鹿角膠：由順天堂藥廠股份有限公司（臺灣，新北市）提供，半成品。

龜鹿二仙膠：由順天堂藥廠股份有限公司（臺灣，新北市）提供，成藥(衛部成製字 016966 號)。

(二) 溶離試驗條件：

裝置：Hanson Classic 6，依中華藥典第八版(3015)溶離試驗法裝置 II(攪拌槳)

溶離溶媒：人工腸液；溶媒體積：900 mL；溶媒溫度：37±0.5°C；轉速：100 rpm

樣品量：參考日服劑量，龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠各取 4g。

取樣時間點：2 小時(120 分鐘)

溶離溶液：溶離完成取上清液以 0.22 μm 濾膜(PVDF, Millipore millex-GV) 過濾後作為檢品溶液。

(三) 分析條件：

胺基酸指紋圖譜分析：Shimadzu LCMS-2020 系統液相層析質譜儀

質譜偵測器：LCMS-2020

前置管柱：LichrospherRP-18 endcapped (5 μm , 4.0 x 10 mm, Merck)

分析管柱：IntradaAminoAcid(3 μm , 3x 50 mm, Imtakt)

第二節 龜板與鹿角溶離胜肽清除氧化自由基能力的 DPPH 測定

本實驗採用 DPPH 抗自由基試驗來檢測龜板膠與鹿角膠以及不同龜鹿溶離胜肽的抗氧化能力，取 100 μL 濃度為 1.5mM/mL 的 DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl, D9132, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) 與龜板膠與鹿角膠以及不同龜鹿溶離胜肽分別混合均勻，置於 96 孔盤於室溫靜置 30 分鐘後，然後使用微孔板分光光度計(μ Quant, Biotek Instruments, Inc., VT, USA)記錄了 517 nm 波長下的顏色變化，然後與標準品 L-抗壞血酸 (L-Ascorbic acid, L-AA) (A5960, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 來進行抗氧化能力的比較。根據 Gyamfi et al., 1999) 的研究，本實驗計算龜板膠與鹿角膠以及不同龜鹿溶離胜肽 DPPH 自由基清除率百分比(%) = $(1 - \frac{\text{龜板與鹿角溶離胜肽吸光值}}{\text{標準品 L-抗壞血酸吸光值}}) \times 100$ 。當添加龜板膠、鹿角膠和不同龜鹿溶離胜肽到 DPPH 自由基溶液中，我們觀察到顏色的變化。DPPH 自由基溶液呈現藍紫色，當這些添加物與 DPPH 自由基發生反應時，會阻斷影響 DPPH 自由基的連鎖反應，使溶液從藍紫色轉

變為澄清的黃色。這結果顯示龜板膠、鹿角膠和不同龜鹿溶離胜肽具有捕捉 DPPH 自由基的能力。我們觀察到龜板膠、鹿角膠和不同龜鹿溶離胜肽與 DPPH 反應時呈現較淡的顏色，這表示這些樣品對於捕捉 DPPH 自由基的能力較強。

第三節 龜板與鹿角溶離胜肽對關節滑膜細胞生長情形的 MTT 測定

本研究我們使用 MTT 分析評估龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠、及其溶離胜肽對兔子關節滑膜 HIG-82 細胞的粒線體活性。兔子關節滑膜細胞 (HIG-82, BCRC#60242) 選購來源是財團法人食品工業發展研究所的生物資源保存及研究中心(新竹, 臺灣)。我們將關節滑膜細胞放置在培養瓶中進行培養。細胞維持在含有 10% 胎牛血清 (HyClone, Logan, UT, USA)、4 mM L-谷氨酰胺、100 U/mL 青黴素和將 100 µg/mL 鏈黴素 (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)。所有關節滑膜細胞保持在 37°C 的細胞培養箱中 (95% 空氣和 5% 二氧化碳)。實驗時, 我們將 1×10^5 個關節滑膜細胞接種在細胞培養皿 (Falcon, San Jose, CA, USA) 上, 然後分別加入不同濃度龜板膠、鹿角膠、龜鹿二仙膠、及其溶離胜肽(溶解在磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS; 8 mM Na₂HPO₄, 150 mM NaCl, 2 mM KH₂PO₄, 3 mM KCl; pH 7.4; Sigma-Aldich, St Louis, MO, USA) 處理 24 小時, 接下來用 MTT 處理關節滑膜細胞。

第四節 統計與資料分析

未統計分析本實驗結果，我們採用單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 評估組間的差異，如果獲得顯著的 F 值，則執行 Student-Newman-Keuls 多重比較事後檢驗，*P*-values 只要小於 0.05 就算是有組間具有顯著誤差，本實驗數據呈現為平均值±平均值的標準誤差 (MEAN±SEM)。



第三章 研究結果

第一節 龜鹿二仙膠的指紋圖譜

本研究透過跟順天堂科學中藥廠合作，首先建立傳統中藥龜鹿二仙膠中龜板膠與鹿角膠以及人參與枸杞成分的指紋圖譜。由於龜鹿二仙膠的製作方式是將龜板和鹿角經過水煎煮濃縮後製成膠狀，然後與人參、枸杞等研磨成粉末混合，因此枸杞中脂溶性成分玉米黃素與人參皂苷中 Ginsenoside Rb1、Rb2、Rc、Rd 和 Ginsenoside Rg1 等較能有效保留於成品中。圖一運用液相層析質譜儀(LC/MS)分析龜鹿二仙膠成分之鹿角膠的指紋圖譜。

圖二也是運用液相層析質譜儀(LC/MS)分析龜鹿二仙膠成分之龜腹板膠的指紋圖譜，而試驗樣品中的鹿角膠與龜腹板膠溶離後主要變成胺基酸與短鍊的胜肽。

圖三運用 3D 高效液相層析儀(HPLC)分析人參成分指紋圖譜，結果顯示試驗樣品中人參的生物活性主要有人參皂苷(Ginsenoside) Rg1、人參皂苷 Re、人參皂苷 Ro、人參皂苷 Rf、人參皂苷 Rb1、人參皂苷 Rc、人參皂苷 Rb2、人參皂苷 Rd。

圖四以 3D 高效液相層析儀(HPLC)分析枸杞成分指紋圖譜，結果顯示試驗樣品中枸杞的生物活性主要有甜菜鹼(Betaine)、尿嘧啶(Uracil)、黃嘌呤(Xanthine)、尿苷酸(Uridine)、核苷酸(nucleosides)、鳥苷酸(Guanosine)。

第二節 龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠的抗氧化能力比較

圖五利用清除 DPPH 自由基能力測定實驗，檢測龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠之清除 DPPH 自由基的抗氧化能力。圖五 A 以 DPPH 方法對龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠之抗氧化能力測定，圖五 B 統計了 DPPH 方法測試龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠的自由基清除率變化情形，實驗結果顯示龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠隨著濃度由 0.01mg/mL 遞增到 10.0mg/mL，自由基清除率隨之顯著增加($P < 0.01 \sim 0.05$)，而且鹿角膠與龜鹿二仙膠的抗氧化能力均較龜板膠為佳。

第三節 龜板與鹿角溶離胜肽的胺基酸序列

本研究由順天堂科學中藥廠提供龜板、鹿角以及龜板、鹿角兩者混合物的溶離胜肽樣品，如同表一所示，編號 A~C 的溶離胜肽樣品可以從龜板、鹿角以及龜板、鹿角兩者混合物溶離後獲得，編號 D~G 的溶離胜肽樣品主要從龜板溶離後獲得，編號 I~M 的溶離胜肽樣品則是主要從鹿角溶離後獲得。值得注意的是編號 B~C 以及 I~M 的 8 種溶離胜肽樣品大多含有丙胺酸(Alanine, Ala)-絲胺酸(Serine, Ser)-半胱胺酸(Cysteine, Cys)的序列片段。而編號 A、D~H 等 6 種溶離胜肽樣品大多含有精胺酸(Arginine, Arg)的胺基酸，而編號 D~H 等 5 種溶離胜肽樣品則大多含有精胺酸(Arginine, Arg)-脯胺酸(Proline, Pro)-蘇胺酸(Threonine, Thr)的序列片段。

第四節 龜鹿溶離胜肽的抗氧化能力比較

圖六利用清除 DPPH 自由基能力測定實驗，檢測龜板與鹿角溶離胜肽清除 DPPH 自由基的能力。圖六 A 以 DPPH 方法對龜板與鹿角溶離胜肽之

抗氧化能力測定，圖六 B 統計了 DPPH 方法測試不同龜板與鹿角溶離胜肽的自由基清除率變化情形，實驗結果顯示溶離胜肽 B~C 以及 I~M 具有較佳清除自由基的效率。對照表一的胺基酸序列，編號 B~C 以及 I~M 的 8 種溶離胜肽樣品大多含有丙胺酸(Ala)-絲胺酸(Ser)-半胱胺酸(Cys)的序列片段，而且這 8 種溶離胜肽樣品主要都可以在鹿角溶離胜肽中發現。

第五節 龜鹿溶離胜肽對關節滑膜細胞的活性與生長

圖七透過利用活細胞內的粒線體中的琥珀酸去氫酶作用，將 MTT 中的 tetrazolium 成分轉化為藍色產物 MTT formazan。這種方法可用於測定關節滑膜細胞中粒線體的活性，進而評估細胞的存活情況。實驗結果顯示溶離胜肽 B~C 以及 I~M 對於關節滑膜細胞粒線體活性較佳($P < 0.01 \sim 0.05$)。對照表一的胺基酸序列，編號 B~C 以及 I~M 的 8 種溶離胜肽樣品大多含有丙胺酸(Ala)-絲胺酸(Ser)-半胱胺酸(Cys)的序列片段，而且這 8 種溶離胜肽樣品主要都可以在鹿角溶離胜肽中發現。分析溶離胜肽的胺基酸序列發現：鹿角胜肽富含丙氨酸(Alanine, Ala)、甘氨酸(Glycine, Gly)、絲氨酸(Serine, Ser)、半胱氨酸(Cysteine, Cys)、蘇氨酸(Threonine, Thr)、谷氨酰胺(Glutamine, Glu)等，而龜板角胜肽富含丙氨酸(Alanine, Ala)、甘氨酸(Glycine, Gly)、精氨酸(Arginine, Arg)、脯氨酸(Proline, Pro)、蘇氨酸(Threonine, Thr)被認為是抗氧化胜肽的優質來源。例如從鹿角膠水解得到鹿角胜肽中的 Ala、Ser、Cys 百分比最高，其中 Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Phe 的 DPPH 自由基清除活性最佳。

根據 PUBCHEM 資料庫，圖八顯示龜鹿胜肽 Ala-Ser-Cys 序列的 2D 構造圖。

第四章 討論

本研究首先建立了傳統中藥龜鹿二仙膠之中藥成分指紋圖譜。龜鹿二仙膠的製作過程包括將龜板和鹿角以水煎煮後濃縮製成膠狀，再與人參、枸杞等研磨成粉末混合。因此枸杞中脂溶性成分玉米黃素與人參皂苷中 Ginsenoside Rb1、Rb2、Rc、Rd 和 Rg1 等較能有效地保留於成品中。根據現代醫學研究，龜板和鹿角中含有多種的氨基酸，具有強身作用，能夠抗疲勞、增加紅血球、白血球和血紅素的生成。人參能夠刺激中樞神經，增強免疫力和造血功能，對抗疲勞並有心臟強效作用。枸杞具有滋養明目的功效，能促進肝細胞再生，增加造血功能和提高免疫力。此外，龜鹿二仙膠還能有效補給人體所需的鈣質和膠質，並能促進軟骨細胞的增殖，增加膠原蛋白和多醣的合成和分泌，以延緩軟骨退化的過程。因此，對於骨質疏鬆症和退化性膝關節炎等疾病的改善具有良好的效果。

我們利用清除 DPPH 自由基能力測定實驗，檢測龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠的抗氧化能力。實驗結果顯示，龜板膠、鹿角膠與龜鹿二仙膠隨著濃度增加，自由基清除率隨之顯著增加，而且鹿角膠與龜鹿二仙膠的抗氧化能力均較龜板膠為佳。鹿角按骨化程度分為上鹿角段、中鹿角段和鹿角基部（硬鹿角板）三部分。關於鹿角膠以及其萃取物的研究，最近的研究從鹿角膠中分離出多種生物活性化合物，如胜肽、脂類、多醣、蛋白質、核苷酸、糖蛋白和微量元素等(Zhao et al., 2010)，透過分子技術以及細胞和動物模型確認這些成分的藥理作用，鹿角膠以及萃取物在治療許多疾病方面，如促進傷口癒合和骨質再生(Zhang et al., 2021)、緩解神經退行性疾病(Liu et al., 2021)、抗腫瘤作用(Chonco et al., 2021)和抑制發炎(Shin et al., 2016)等均具有巨大的醫療潛力。與其他脊椎動物相比，哺乳動物附肢的再生能力非常有限，但是鹿角則是一個例外，鹿角可以每年完全再生，這過

程主要由鹿角幹細胞啟動鹿角再生過程。而鹿角幹細胞能夠在體外分化為多種細胞類型，在大鼠身上傷口局部應用鹿角幹細胞可以促進傷口癒合，在兔子身上植入鹿角幹細胞可以刺激骨質再生並且修復骨骼缺陷(Zhang et al., 2021)。此外，鹿角萃取物可以抑制活性氧、一氧化氮、腫瘤壞死因子- α (TNF- α)和白介素-6(IL-6)的過量產生，阻斷小膠質細胞激活，藉此保護多巴胺神經元避免受到小膠質細胞介導的神經毒性影響，有助於改善小鼠的神經發炎狀態並改善帕金森病的症狀。(Liu et al., 2021)。而最近的一項研究表明，由於原癌基因的表達，雖然鹿角可以刺激高度再生，惟鹿角還可以進化為表達多種腫瘤抑制基因，以控制患癌症的風險。研究指出鹿角萃取物可以透過誘導細胞週期進程的變化並促進細胞凋亡，對於膠質母細胞瘤細胞系產生抗腫瘤作用(Chonco et al., 2021)。過去鹿角在韓國、中國和日本已被用作天然藥物，在梅花鹿的鹿角中發現了單乙酰甘油二酯(1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetylglycerol, PLAG)可以作為調節免疫的成分，利用含有脂多醣的呼吸道發炎模式小鼠，實驗結果證實單乙酰甘油二酯可有效抑制由香煙煙霧和脂多醣暴露引起的慢性阻塞性肺病(Shin et al., 2016)。

我們進一步選取科學中藥廠家提供的 13 種龜鹿溶離胜肽成分進行 DPPH 抗自由基檢測以及 MTT 細胞存活試驗，結果發現從鹿角膠溶離的 7 種胜肽的抗氧化能力以及對於關節滑膜細胞的存活率均較於龜腹板萃取的 6 種溶離胜肽表現較佳。而進一步分析溶離胜肽的胺基酸序列發現：從鹿角膠溶離的 7 種胜肽均含有丙胺酸(Alanine, Ala)-絲胺酸(Serine, Ser)-半胱胺酸(Cysteine, Cys)的序列片段。由於鹿角具有多種藥理特性，已廣泛用於多種疾病的臨床治療(Xia et al., 2022)，尤其是鹿角胜肽 (antler peptides) 已被發現可調節免疫活性並具有抗氧化特性，此研究表明鹿角胜肽可以有效治療骨關節炎(Kim et al., 2005 年)。另一項研究也表明骨關節炎的發生與軟骨細胞的病理密切相關(Kraan et al., 2009)。此外，有報導稱鹿角胜肽對兔

子正常軟骨細胞的增殖有影響 (Guo et al., 1998; Qu and Kang, 2000)。根據研究鹿角胜肽可以增加軟骨細胞中和膠原蛋白的水平，因此可以修復軟骨的早期損傷並延緩骨關節炎的進展。由於正常軟骨基質的代謝和分解代謝處於平衡狀態，因此正常軟骨的結構、形態和功能得以維持。當軟骨基質的代償性合成增加和細胞增殖不能抵消細胞外基質分解代謝的損失時，體內環境不穩定導致軟骨細胞發生凋亡，這是骨關節炎中晚期軟骨流失的原因。在骨關節炎的早期階段，凋亡軟骨細胞的比例顯著增加，鹿角胜肽可以抑制早期凋亡軟骨細胞數量的增加，因此可以阻斷軟骨細胞的凋亡並保護它們免於細胞死亡。因此研究表明鹿角胜肽對骨關節炎具有實質性的治療作用。

鹿角生物活性肽由兩個以上的氨基酸組成，分子量小，通常不超過 20 個氨基酸，不同氨基酸的組成和肽序列使得各種生物活性肽具有獨特的生物活性。氨基鹿角生物活性肽通常比整個蛋白質發揮更佳的生物活性，因為前者比後者存在更多的功能性活性基。鹿角生物活性肽被認為具有促進健康的能力，而鹿角膠被認為是鹿角生物活性肽的良好來源。鹿角生物活性肽具有抗氧化(Liu et al., 2020)、抗發炎(Dong et al., 2018)、降血糖(Wang et al., 2019)、抗器官纖維化(Zhao et al., 2019)、抗衰老(Zang et al., 2016)、抗腫瘤(Zheng et al., 2020)、抗神經系統疾病(Xin et al., 2017)以及促進骨再生(Chunhui et al., 2017)等作用。

氧化壓力損傷與自由基和活性氧(ROS)的積累密切相關。由於環境因素和不健康的生活方式，體內可能會積累過多的自由基和活性氧，導致氧化還原失衡，對身體造成氧化壓力損傷，氧化壓力損傷引起的疾病如胃腸道發炎、心臟病、神經退行性疾病等常見慢性病，目前的一些研究表明，胜肽的抗氧化活性與氨基酸組成有關，因為它們作為氫供體轉移電子以清除自由基。鹿角胜肽富含丙氨酸(Alanine, Ala)、甘氨酸(Glycine, Gly)、

絲氨酸(Serine, Ser)、半胱氨酸(Cysteine, Cys)、蘇氨酸(Threonine, Thr)、谷氨酰胺(Glutamine, Glu)等，而龜板角多肽富含丙氨酸(Alanine, Ala)、甘氨酸(Glycine, Gly)、精氨酸(Arginine, Arg)、脯氨酸(Proline, Pro)、蘇氨酸(Threonine, Thr)被認為是抗氧化肽的優質來源。例如從鹿角膠水解得到鹿角肽中的 Ala、Ser、Cys 百分比最高，其中 Ala-Gly-Ala-Ser-Cys-Phe 的 DPPH 自由基清除活性最佳(圖六)。鹿角肽在內皮細胞損傷模型研究指出可以通過阻斷 Caspase-3 信號通路，上調超氧化物歧化酶 (SOD) 和穀胱甘肽 (GSH) 之表達，抑制活性氧(ROS)誘導的細胞損傷和細胞凋亡 (Zhu et al., 2017)，Caspase-3 信號通路在細胞凋亡中扮演關鍵作用。

發炎是身體對抗病毒入侵、微生物感染和細胞損傷的複雜生理反應。然而，過度和長期的發炎會導致組織和器官的損傷，並可能導致許多急慢性疾病，抑制過度和不受控制的發炎對於預防發炎性疾病很重要，下調發炎因子的表達可以調節或抑制過度或持續的發炎。發炎反應的特徵是促炎細胞因子的水平上升。例如白細胞介素 (IL)-1、IL-6 和腫瘤壞死因子 (TNF)- α (Zhang et al., 2007)。利用脂多醣(LPS)誘導大鼠淋巴結細胞發炎給予鹿角肽處理，發現 IL-1 β 、IL-2、IL-6 及 TNF- α 的發炎表達水平顯著降低(Kim et al., 2008)。這證明了鹿角肽在 T 細胞介導的免疫反應中具有調節作用，鹿角肽治療可明顯降低了促炎細胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF α 的水平。在骨頭形成和成骨細胞增殖和分化過程中，表皮生長因子(EGF)通過調節 IL-1 β 、IL-6 和 TNF α 等因子來抑制成骨細胞的發炎(Lee et al., 2014)，這種現象表明鹿角肽在成骨細胞中的抗發炎活性與表皮生長因子有關。

骨骼為身體提供結構和支撐，並儲存鈣和磷等礦物質，成骨細胞和蝕骨細胞乃參與骨骼重建之兩個主要骨細胞，他們之間的細胞活性在維持骨吸取和骨形之間的平衡中起著關鍵作用 (Nardone et al, 2014)，兩者間不平衡會導致骨質流失，從而導致骨質疏鬆症。過去研究發現鹿角肽可促進

成骨並抑制骨質疏鬆症的發展(Zhang et al., 2013)，他們利用鹿角胜肽治療去除卵巢後導致骨質疏鬆症的大鼠，研究發現骨質疏鬆症症狀得到緩解。此外，在幾種軟骨細胞和成骨細胞樣細胞中檢測到 IL-1 和 IL-6 水平降低，抑制破骨細胞分化和破骨細胞形成。由於糖尿病引起的胰島素信號受損已被證明會導致骨質疏鬆症，而鹿角胜肽治療後可以通過調節胰島素信號通路促進成骨細胞增殖來治療糖尿病引起的骨質疏鬆症(Yun et al., 2020)。此外，對軟骨細胞的 RNA-Seq 分析表明，鹿角胜肽通過調控多種與增殖、分化、抗發炎、免疫調節相關的轉錄因子以及生長因子，達到促進軟骨細胞增殖的目的(Yao et al., 2018)。

神經退行性疾病的發展受到過度和不受控制的發炎以及細胞內氧化還原穩態失衡的影響。神經發炎導致小膠質細胞激活並釋放多種促發炎細胞因子以及神經毒性介質，氧化壓力誘導自由基攻擊神經細胞，導致災難性的神經病變，並加劇 β -澱粉樣蛋白的產生和聚集以及 tau 蛋白之磷酸化，從而引發神經退行性疾病(Buendia et al., 2016)。由於鹿角胜肽抗發炎和抗氧化的特性，在神經變性的治療中受到關注。鹿角胜肽處理氧化壓力誘導的人類神經母細胞瘤細胞，結果細胞凋亡顯著減少，BCL2 相關 X (Bax) 和 Caspase-3 表達水平受到抑制，而 B 細胞白血病/淋巴瘤 2 (Bcl2) 表達得到促進 (Yang et al., 2020)，Bax 和 Caspase-3 在細胞凋亡的過程中扮演著關鍵的角色，Bcl2 已被證明可以抑制細胞毒素誘導的細胞死亡。阿爾茨海默病 (Alzheimer's disease) 是生活中很常見的一種神經退化性疾病，其發展主因是 β -澱粉樣蛋白的異常聚集，研究發現鹿角胜肽可顯著抑制 β -澱粉樣蛋白沉積(Du et al., 2022)。

鹿角胜肽具有抗癌活性。特別是從硬鹿角中提取的鹿角胜肽通過阻止細胞週期和抑制端粒酶活性來抑制乳腺癌細胞的增殖(Hu et al., 2015)，鹿角胜肽還可以抑制乳腺癌和前列腺癌細胞的增殖(Tang et al., 2015)。此外。

鹿角多肽也被證明可以通過 MAPK 和 NF- κ B 信號通路緩解急性肝損傷(He et al., 2022)，細胞外基質成分，尤其是膠原蛋白的過度積累，則是造成心臟和肝纖維化的重要病因，鹿角胜肽治療顯著抑制小鼠肝臟膠原蛋白沉積，並通過 TGF- β 通路緩解肝纖維化(Chunhua and Hongyan, 2017)。此外，從鹿角中分離出擁有豐富的甘氨酸和脯氨酸的胜肽具有良好的葡萄糖代謝促進活性，並已被建議用於治療糖尿病(Jiang et al., 2015)。

鹿角因其反覆再生、生長速度快而備受關注，幾千年來一直作為醫藥和保健食品食用。經常食用鹿角提取物可補充活力，強健骨骼，對治療多種疾病有積極作用。研究表明，鹿角胜肽作為鹿茸的活性成分，由於其藥理特性，可能有助於許多疾病的治療。深入研究鹿角胜肽的作用機制可能對開發有效的天然藥物具有積極意義。然而，補充天然萃取的鹿角胜肽也存在副作用和與其他藥物相互作用的潛在風險，還需要為特定鹿角胜肽的生產建立統一的條件，闡明氨基酸組成、胜肽結構和生物活性之間的關係，並進行更廣泛的實驗以確定不同提取方法獲得的鹿角胜肽能之間的聯繫和差異方法。此外，鹿角胜肽通常通過口服攝入來給藥，然而，很少有研究關注攝入後鹿角胜肽的消化穩定性和吸收模式，因此需要對鹿角胜肽的吸收和利用進行更多研究，以確定它們在體內的生物利用度和穩定性。本論文中，我們對鹿角胜肽作為健康食品 and 生物活性物質來源的理解有所發展。然而，儘管有許多關於鹿角胜肽的數據，但仍需要在提取和臨床方面進行進一步研究，以評估鹿角胜肽的治療潛力。

第五章 結論

綜合本論文的結果，我們首先建立傳統中藥龜鹿二仙膠之中藥成分指紋圖譜，運用 DPPH 抗自由基檢測發現鹿角膠和龜鹿二仙膠比起龜腹板膠具有更好的抗氧化能力。我們進一步選取科學中藥廠家提供的 13 種龜鹿溶離胜肽成分進行 DPPH 抗自由基檢測以及 MTT 細胞存活試驗，結果發現從鹿角膠溶離的 7 種胜肽的抗氧化能力以及對於關節滑膜細胞的存活率均較於龜腹板萃取的 6 種溶離胜肽表現較佳。我們進一步分析溶離胜肽的胺基酸序列發現：從鹿角膠溶離的 7 種胜肽均含有丙胺酸(Alanine, Ala)-絲胺酸(Serine, Ser)-半胱胺酸(Cysteine, Cys)的序列片段。換句話說，從鹿角膠萃取含有 Ala-Ser-Cys 的序列片段的溶離胜肽應該比較有機會研製成有效緩解關節退化的健康食品或是藥物。



參考文獻

- Buendia, I., Michalska, P., Navarro, E., Gameiro, I., Egea, J., & León, R. (2016). Nrf2-ARE pathway: An emerging target against oxidative stress and neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Pharmacology & therapeutics*, 157, 84–104.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.11.003>
- Cheung, H.Y., Cheung, C.S. (1998) Nutritive value of plastron extracts and its effects on the differentiation of cancer cell. *Hong Kong Pharm. J.*, 7, pp. 104-107.
- Chonco, L., Landete-Castillejos, T., Serrano-Heras, G., Serrano, M. P., Pérez-Barbería, F. J., González-Armesto, C., García, A., de Cabo, C., Lorenzo, J. M., Li, C., & Segura, T. (2021). Anti-tumour activity of deer growing antlers and its potential applications in the treatment of malignant gliomas. *Scientific reports*, 11(1), 42. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79779-w>
- Chou, Y. J., Chuu, J. J., Peng, Y. J., Cheng, Y. H., Chang, C. H., Chang, C. M., & Liu, H. W. (2018). The potent anti-inflammatory effect of Guilu Erxian Glue extracts remedy joint pain and ameliorate the progression of osteoarthritis in mice. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 13(1), 259. <https://doi.org/10.1186/s13018-018-0967-y>
- Chunhua, M., & Hongyan, L. (2017). Protective effect of pilose antler peptide on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *International journal of biological macromolecules*, 99, 648–654.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.024>
- Chunhui, Y., Wenjun, C., Hui, W., Liquan, S., Changwei, Z., Tianzhu, Z., & Wenhai, Z. (2017). Pilose antler peptide protects osteoblasts from inflammatory and oxidative injury through EGF/EGFR signaling.

- International journal of biological macromolecules, 99, 15–20.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.056>
- Dong, Y., Liu, L., Shan, X., Tang, J., Xia, B., Cheng, X., Chen, Y., & Tao, W. (2018). Pilose antler peptide attenuates LPS-induced inflammatory reaction. International journal of biological macromolecules, 108, 272–276.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.176>
- Du, F., Zhao, H., Yao, M., Yang, Y., Jiao, J., & Li, C. (2022). Deer antler extracts reduce amyloid-beta toxicity in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease. Journal of ethnopharmacology, 285, 114850.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114850>
- Gu, Y., Lu, X., Jiang, G., Deng, J., Tang, S., Li, S. (2007) Comparison of the nourishing-yin functions of different types of tortoise shell. Lishizhen Med. Mater. Med. Res. 18: 1417–1418.
- Guo, Y., Zhou, Q., Liu, P., Wang, Y., Fang, J., Wang, B. (1998) The research of pilose antler polypeptides promoting osteoblast precursor cells and chondrocytes proliferation. J Chinese J Biochem Pharmaceutics 19: 74–75.
- Gyamfi, M. A., Yonamine, M., & Aniya, Y. (1999). Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. General pharmacology, 32(6), 661–667. [https://doi.org/10.1016/s0306-3623\(98\)00238-9](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(98)00238-9)
- He, G., Zhao, Q., Zhao, Y., Zong, Y., Gu, S., Li, M., Li, R., & Sun, J. (2022). Deer antler based active ingredients have protective effects on LPS/d-GalN-induced acute liver injury in mice through MAPK and NF- κ B signalling pathways. Pharmaceutical biology, 60(1), 1077–1087.
<https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2068617>
- Ho, T. J., Lin, J. H., Lin, S. Z., Tsai, W. T., Wu, J. R., & Chen, H. P. (2023).

Isolation, Identification, and Characterization of Bioactive Peptides in Human Bone Cells from Tortoiseshell and Deer Antler Gelatin.

International journal of molecular sciences, 24(2), 1759.

<https://doi.org/10.3390/ijms24021759>

Hu, W., Qi, L., Tian, Y. H., Hu, R., Wu, L., & Meng, X. Y. (2015). Studies on the purification of polypeptide from sika antler plate and activities of antitumor. BMC complementary and alternative medicine, 15, 328.

<https://doi.org/10.1186/s12906-015-0845-7>

Jiang, N., Zhang, S., Zhu, J., Shang, J., & Gao, X. (2015). Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of peptides from red deer antlers in streptozotocin-induced diabetic mice. The Tohoku journal of experimental medicine, 236(1), 71–79. <https://doi.org/10.1620/tjem.236.71>

Kim, K. H., Kim, K. S., Choi, B. J., Chung, K. H., Chang, Y. C., Lee, S. D., Park, K. K., Kim, H. M., & Kim, C. H. (2005). Anti-bone resorption activity of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of *Cervus korean TEMMINCK* var. *mantchuricus* Swinhoe (Nokyong) in adjuvant-induced arthritic rats. Journal of ethnopharmacology, 96(3), 497–506.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.039>

Kim, K. W., Song, K. H., Lee, J. M., Kim, K. S., Kim, S. I., Moon, S. K., Kang, B. S., Kim, D. S., Chung, K. H., Chang, Y. C., & Kim, C. H. (2008). Effects of TGFβ1 and extracts from *Cervus korean TEMMINCK* var. *mantchuricus* Swinhoe on acute and chronic arthritis in rats. Journal of ethnopharmacology, 118(2), 280–283.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.04.010>

Kraan, P.M., Blaney Davidson, E.N., Blom, A., Berg, W.B. (2009) TGF-β signaling in chondrocyte terminal differentiation and osteoarthritis: modulation and integration of signaling pathways through receptor Smads. J

Osteoarthritis Cartilage 17: 1539–1545.

- Lee, T. H., Jung, H., Park, K. H., Bang, M. H., Baek, N. I., & Kim, J. (2014). Jaceosidin, a natural flavone, promotes angiogenesis via activation of VEGFR2/FAK/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathways in endothelial cells. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 239(10), 1325–1334. <https://doi.org/10.1177/1535370214533883>
- Li, L. Q., Baibado, J. T., Shen, Q., & Cheung, H. Y. (2017). Determination of the authenticity of plastron-derived functional foods based on amino acid profiles analysed by MEKC. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1070, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.10.036>
- Li, X., Xie, X., Huang, C., Zhong, Y., Li, Y., Zhou, J., Chen, D. (2007) Repairing of oxidative damage to mesenchymal stem cell in rats and anti-lipid peroxidation by *Plastrum testudinis* ethanolic extract. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* 38:1043–1046.
- Li, Y., Cui, X., Chen, D., Du, S., Li, H., Zhou, J. (2003) Effect of tortoises shell on neural stem cell following injured spinal cord. *Chin. J. Neuroanat.* 19: 321–324.
- Liao, J. A., Yeh, Y. C., & Chang, Z. Y. (2022). The efficacy and safety of traditional Chinese medicine Guilu Erxian Jiao in the treatment of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Complementary therapies in clinical practice*, 46, 101515.
- Lien, C. Y., Lu, C. W., Lin, Y. H., Wu, W. J., Hsu, C. H., Chuang, T. Y., Lin, K. F., Chuang, W. C., Lee, M. C., & Wu, C. H. (2021). Chinese Herbal Medicine, Guilu Erxian Glue, as Alternative Medicine for Adverse Side Effects of Chemotherapy in Doxorubicin-Treated Cell and Mouse Models.

- Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM, 2021, 5548968. <https://doi.org/10.1155/2021/5548968>
- Liu, C., Xia, Y., Hua, M., Li, Z., Zhang, L., Li, S., Gong, R., Liu, S., Wang, Z., & Sun, Y. (2020). Functional properties and antioxidant activity of gelatine and hydrolysate from deer antler base. *Food science & nutrition*, 8(7), 3402–3412. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1621>
- Liu, Y., Li, H., Li, Y., Yang, M., Wang, X., & Peng, Y. (2021). Velvet Antler Methanol Extracts Ameliorate Parkinson's Disease by Inhibiting Oxidative Stress and Neuroinflammation: From *C. elegans* to Mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8864395. <https://doi.org/10.1155/2021/8864395>
- Luo, D., Li, H., Li, X., Zhou, J., Du, F., Wang, L. (2008) Determination of collagen in tortoise shell using HPLC with phenyl isothiocyanate derivatization. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* 39: 851–852.
- Mao, C., Zhang, Y., Yan, W., & Zheng, X. (2008). *Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi* = Journal of biomedical engineering = *Shengwu yixue gongchengxue zazhi*, 25(4), 897–902.
- Nardone, V., D'Asta, F., & Brandi, M. L. (2014). Pharmacological management of osteogenesis. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 69(6), 438–446. [https://doi.org/10.6061/clinics/2014\(06\)12](https://doi.org/10.6061/clinics/2014(06)12)
- Qu, M., Kang, Y. (2000) Study on biological characteristics of hypertrophic chondrocytes of damaged articular cartilage. *J Chinese J Sports Med* 19: 76–81
- Shin, I. S., Ahn, K. S., Shin, N. R., Lee, H. J., Ryu, H. W., Kim, J. W., Sohn, K. Y., Kim, H. J., Han, Y. H., & Oh, S. R. (2016). Protective effect of EC-18, a synthetic monoacetyldiglyceride on lung inflammation in a murine model

induced by cigarette smoke and lipopolysaccharide. *International immunopharmacology*, 30, 62–68.

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.11.025>

Si, Y., Yao, Y., Ma, Y., Guo, Y., & Yin, H. (2020). Effectiveness and safety of Guilu Erxian Glue (a traditional Chinese medicinal product) for the treatment of postmenopausal osteoporosis: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 99(29), e20773.

<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020773>

Tang, Y., Jeon, B. T., Wang, Y., Choi, E. J., Kim, Y. S., Hwang, J. W., Park, P. J., Moon, S. H., & Kim, E. K. (2015). First Evidence that Sika Deer (*Cervus nippon*) Velvet Antler Extract Suppresses Migration of Human Prostate Cancer Cells. *Korean journal for food science of animal resources*, 35(4), 507–514. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.4.507>

Tsai, C. C., Chou, Y. Y., Chen, Y. M., Tang, Y. J., Ho, H. C., & Chen, D. Y. (2014). Effect of the herbal drug guilu erxian jiao on muscle strength, articular pain, and disability in elderly men with knee osteoarthritis. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2014, 297458. <https://doi.org/10.1155/2014/297458>

Wang, W., Zhang, J., Yang, X., & Huang, F. (2019). Hypoglycemic activity of CPU2206: A novel peptide from sika (*Cervus nippon* Temminck) antler. *Journal of food biochemistry*, 43(12), e13063.

<https://doi.org/10.1111/jfbc.13063>

Wu, F., Li, H., Jin, L., Li, X., Ma, Y., You, J., Li, S., & Xu, Y. (2013). Deer antler base as a traditional Chinese medicine: a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 145(2), 403–415. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.008>

- Wu, M. H., Lee, T. H., Lee, H. P., Li, T. M., Lee, I. T., Shieh, P. C., & Tang, C. H. (2017). Kuei-Lu-Er-Xian-Jiao extract enhances BMP-2 production in osteoblasts. *BioMedicine*, 7(1), 2.
<https://doi.org/10.1051/bmdcn/2017070102>
- Xia, P., Liu, D., Jiao, Y., Wang, Z., Chen, X., Zheng, S., Fang, J., & Hao, L. (2022). Health Effects of Peptides Extracted from Deer Antler. *Nutrients*, 14(19), 4183. <https://doi.org/10.3390/nu14194183>
- Xie, X., Li, X., Zhong, Y., Huang, C., Du, S., Li, Y., Chen, D. (2006) Study of antioxidant activities of *Plastrum testudinis* in Vitro. *China Pharm.* 17: 1368–1370.
- Xin, J. L., Zhang, Y., Li, Y., Zhang, L. Z., Lin, Y., & Zheng, L. W. (2017). Protective effects of *Cervus nippon* Temminck velvet antler polypeptides against MPP⁺-induced cytotoxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Molecular medicine reports*, 16(4), 5143–5150.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7303>
- Yang, Q., Lin, J. N., Sui, X., Li, H., Kan, M., Wang, J. F., Li, J., Zhang, Z., Liu, X. R., Ming, S. T., Qu, X. B., & Li, N. (2020). Antiapoptotic effects of velvet antler polypeptides on damaged neurons through the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Journal of integrative neuroscience*, 19(3), 469–477.
<https://doi.org/10.31083/j.jin.2020.03.167>
- Yao, B., Zhang, M., Leng, X., Liu, M., Liu, Y., Hu, Y., Zhao, D., & Zhao, Y. (2018). Antler extracts stimulate chondrocyte proliferation and possess potent anti-oxidative, anti-inflammatory, and immune-modulatory properties. *In vitro cellular & developmental biology. Animal*, 54(6), 439–448. <https://doi.org/10.1007/s11626-018-0266-2>
- Yun, C., Qian, W., Wu, J., Yuan, C., Jiang, S., & Lv, J. (2020). Pilose antler

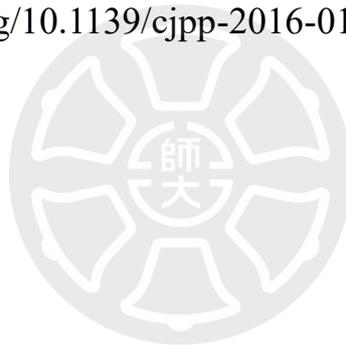
- peptide promotes osteoblast proliferation, differentiation and mineralization via the insulin signaling pathway. *Experimental and therapeutic medicine*, 19(2), 923–930. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.8286>
- Zang, Z. J., Tang, H. F., Tuo, Y., Xing, W. J., Ji, S. Y., Gao, Y., & Deng, C. H. (2016). Effects of velvet antler polypeptide on sexual behavior and testosterone synthesis in aging male mice. *Asian journal of andrology*, 18(4), 613–619. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.166435>
- Zhang, J. M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *International anesthesiology clinics*, 45(2), 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- Zhang, L. Z., Xin, J. L., Zhang, X. P., Fu, Q., Zhang, Y., & Zhou, Q. L. (2013). The anti-osteoporotic effect of velvet antler polypeptides from *Cervus elaphus* Linnaeus in ovariectomized rats. *Journal of ethnopharmacology*, 150(1), 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.029>
- Zhang, W., Ke, C. H., Guo, H. H., & Xiao, L. (2021). Antler stem cells and their potential in wound healing and bone regeneration. *World journal of stem cells*, 13(8), 1049–1057. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i8.1049>
- Zhang, Z., Liu, X., Duan, L., Li, X., Zhang, Y., & Zhou, Q. (2011). The effects of velvet antler polypeptides on the phenotype and related biological indicators of osteoarthritic rabbit chondrocytes. *Acta biochimica Polonica*, 58(3), 297–302.
- Zhao, L., Li, J. H., Zhu, D. Z., & Ji, B. P. (2010). Principal component analysis of nutrients in five varieties of velvet antler (*Cornu Cervi Pantotrichum*). *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* 30(9): 2571–2575.
- Zhao, S., Zuo, W., Chen, H., Bao, T., Liu, X., Sun, T., & Wang, S. (2019). Effects of pilose antler peptide on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in

mice. *Biomedicine & pharmacotherapy* = *Biomedecine & pharmacotherapie*, 109, 2078–2083.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.114>

Zheng, K., Li, Q., Lin, D., Zong, X., Luo, X., Yang, M., Yue, X., & Ma, S. (2020). Peptidomic analysis of pilose antler and its inhibitory effect on triple-negative breast cancer at multiple sites. *Food & function*, 11(9), 7481–7494. <https://doi.org/10.1039/d0fo01531h>

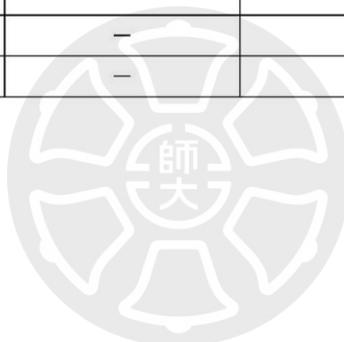
Zhu, W., Wang, H., Zhang, W., Xu, N., Xu, J., Li, Y., Liu, W., & Lv, S. (2017). Protective effects and plausible mechanisms of antler-velvet polypeptide against hydrogen peroxide induced injury in human umbilical vein endothelial cells. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 95(5), 610–619. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0196>



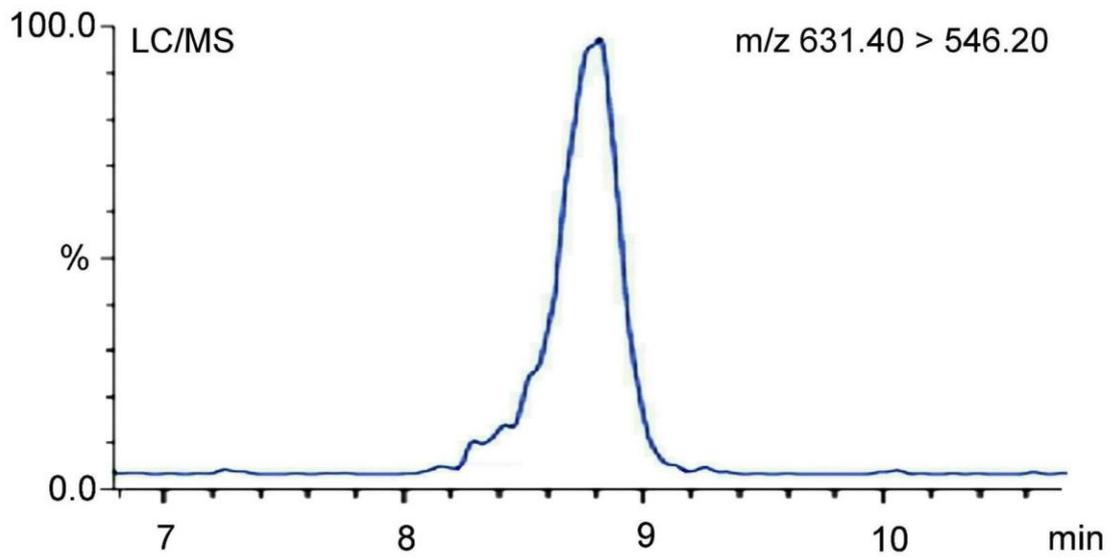
附錄

表一：龜板、鹿角以及龜鹿兩者混合物溶離胜肽樣品的胺基酸序列

編號	龜鹿胜肽的胺基酸序列	烏龜腹板萃取物	鹿角萃取物	烏龜腹板+鹿角萃取物
A	Ala-Gly-Arg	+	+	+
B	Ala-Gly-Ala-Ser	+	+	+
C	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys	+	+	+
D	Ala-Gly-Arg-Pro	+	-	+
E	Ala-Gly-Arg- Pro-Thr	+	-	-
F	Ala-Gly-Arg- Pro-Thr- Arg	+	-	+
G	Ala-Gly-Arg- Pro-Thr-Pro	+	-	-
H	Ala-Gly-Arg- Pro-Thr-Pro-Thr	+	-	-
I	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Thr-Gly	-	+	+
J	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Thr-Gys	-	+	+
K	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Phe	-	+	+
L	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Phe-Gly	-	+	-
M	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Thr-Glu	-	+	-
	Ala-Gly-Ala-Ser -Cys-Thr-His	-	-	+

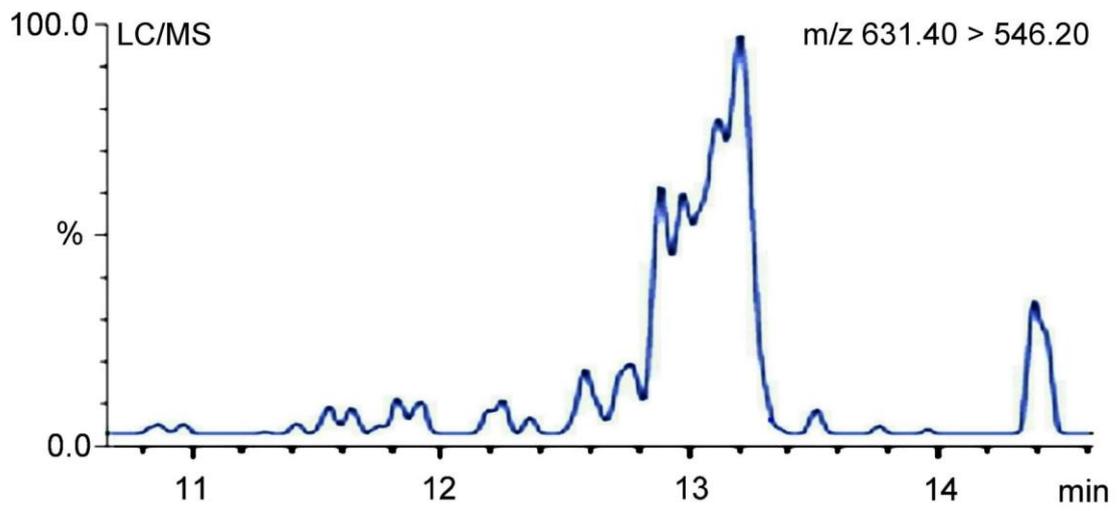


鹿角膠

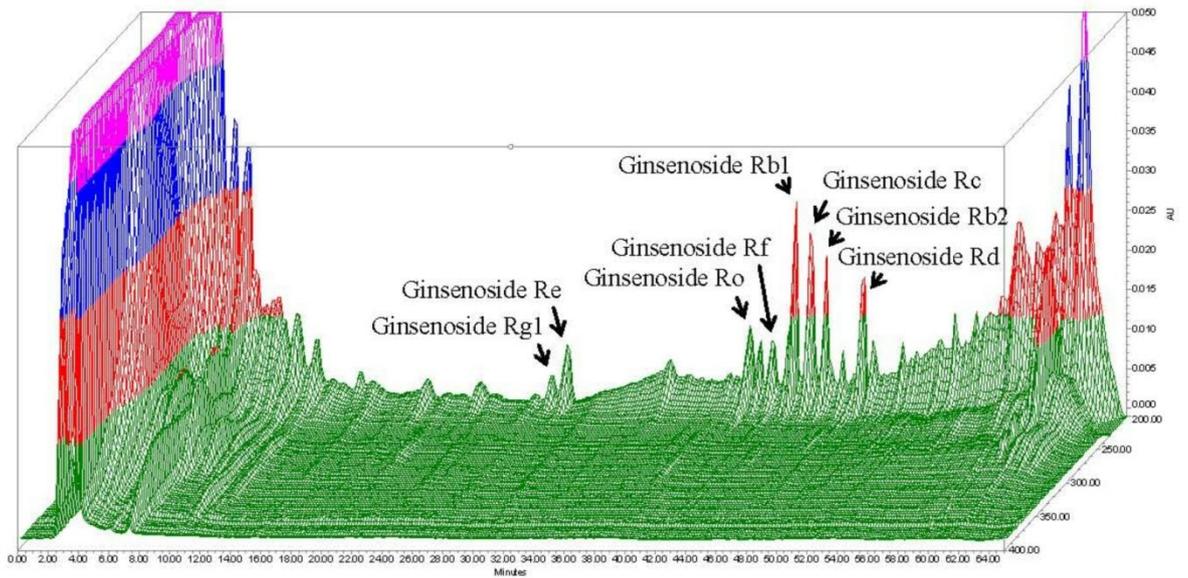


圖一：龜鹿二仙膠成分之鹿角膠的液相層析質譜儀(LC/MS)指紋圖譜

龜腹板膠



圖二：龜鹿二仙膠成分之龜腹板膠的液相層析質譜儀(LC/MS)指紋圖譜



圖三：龜鹿二仙膠成分之人參的 3D 高效能液相層析(HPLC)指紋圖譜

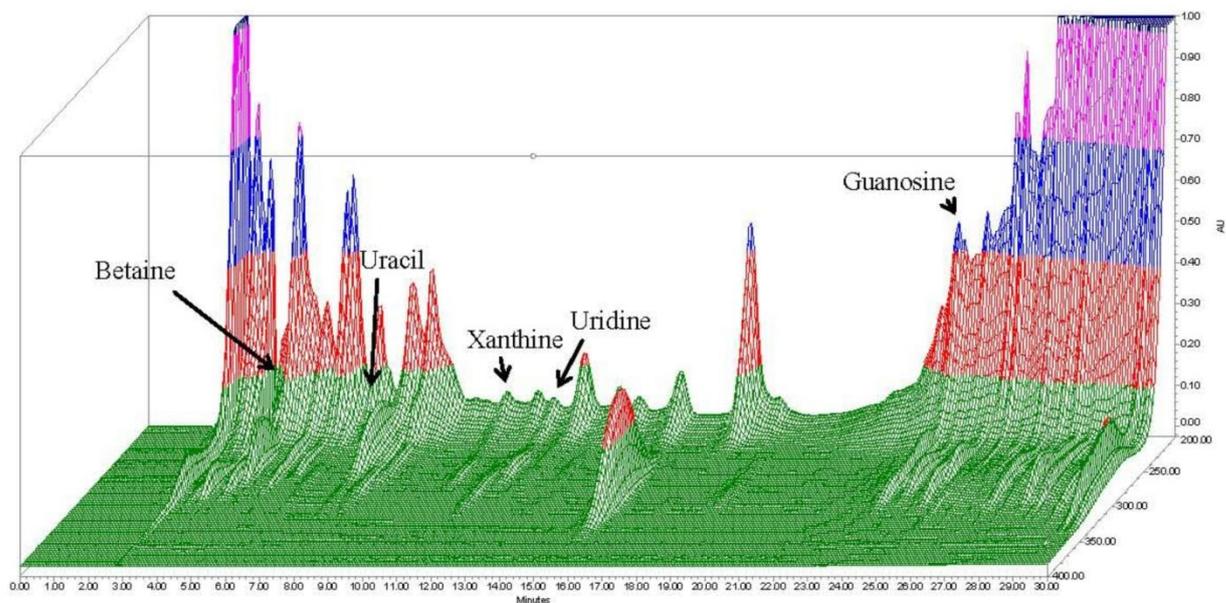
從指紋圖譜圖顯示試驗樣品中人參的的生物活性成分如下：

Ginsenoside Rg1 (27.1 min)、Ginsenoside Re (28.1 min)

Ginsenoside Ro (40.2 min)、Ginsenoside Rf (41.6 min)

Ginsenoside Rb1 (43.2 min)、Ginsenoside Rc (44.2 min)

Ginsenoside Rb2 (45.2 min)、Ginsenoside Rd (47.6 min)



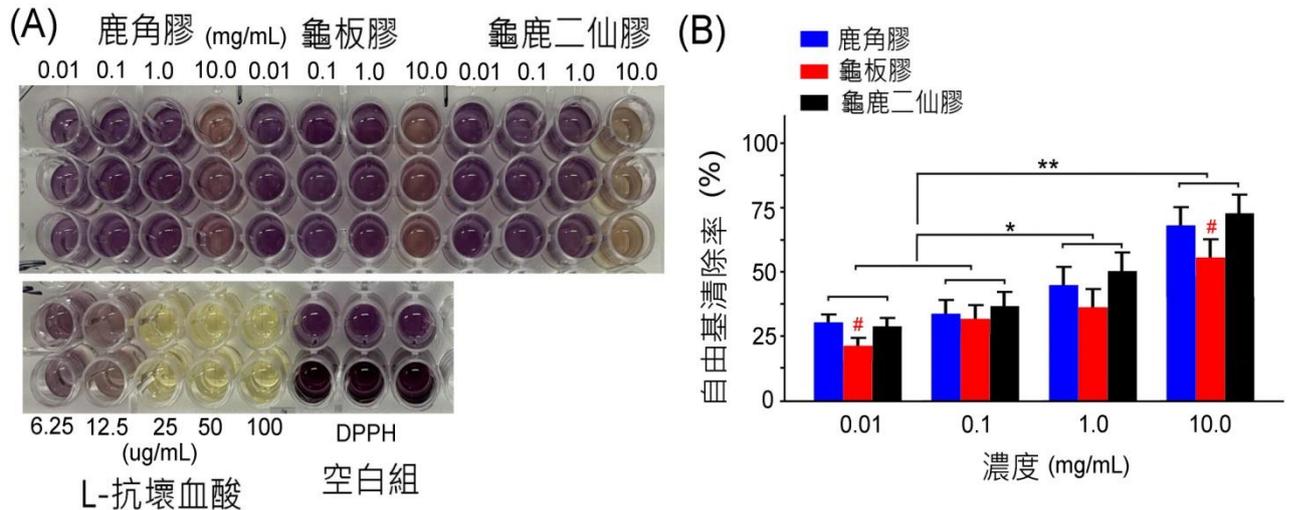
圖四：龜鹿二仙膠成分之枸杞的 3D 高效能液相層析(HPLC)指紋圖譜

從指紋圖譜圖顯示試驗樣品中枸杞的生物活性成分如下：

Betaine and nucleosides (200-400 nm, 0-30 min)

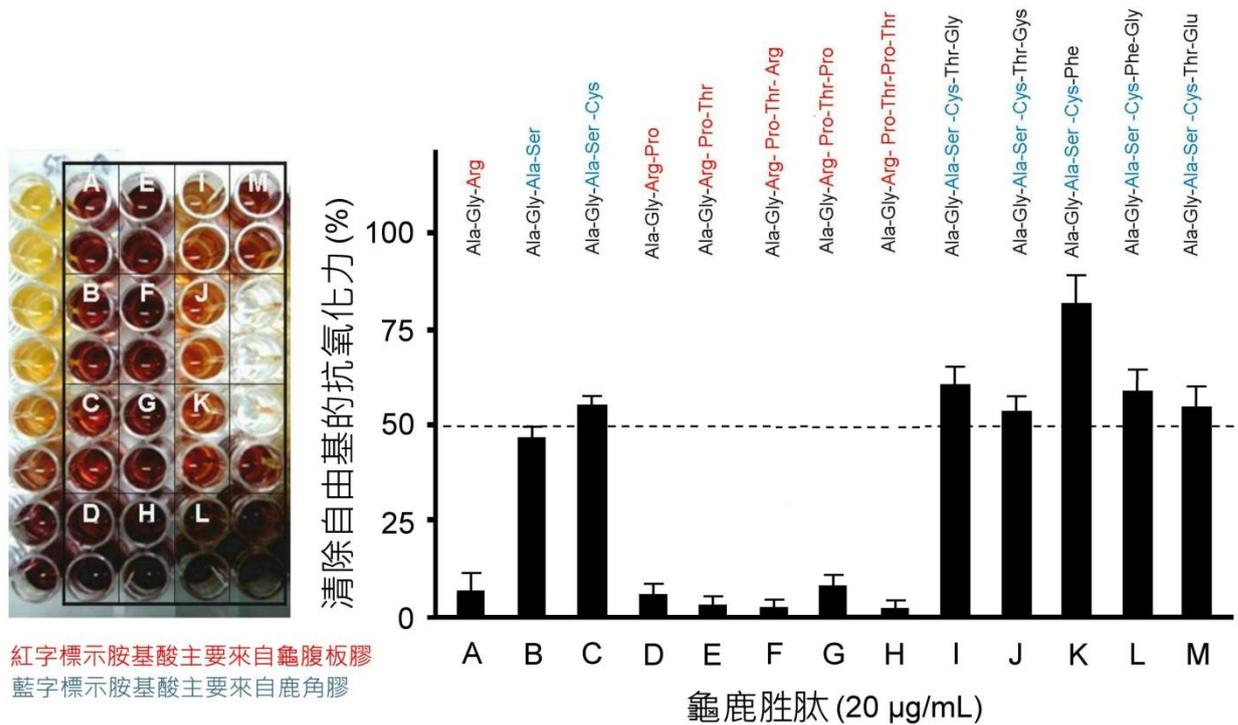
Uracil (5.7 min)、Xanthine (10.4 min)

Uridine (11.8 min)、Guanosine (23.2 min)



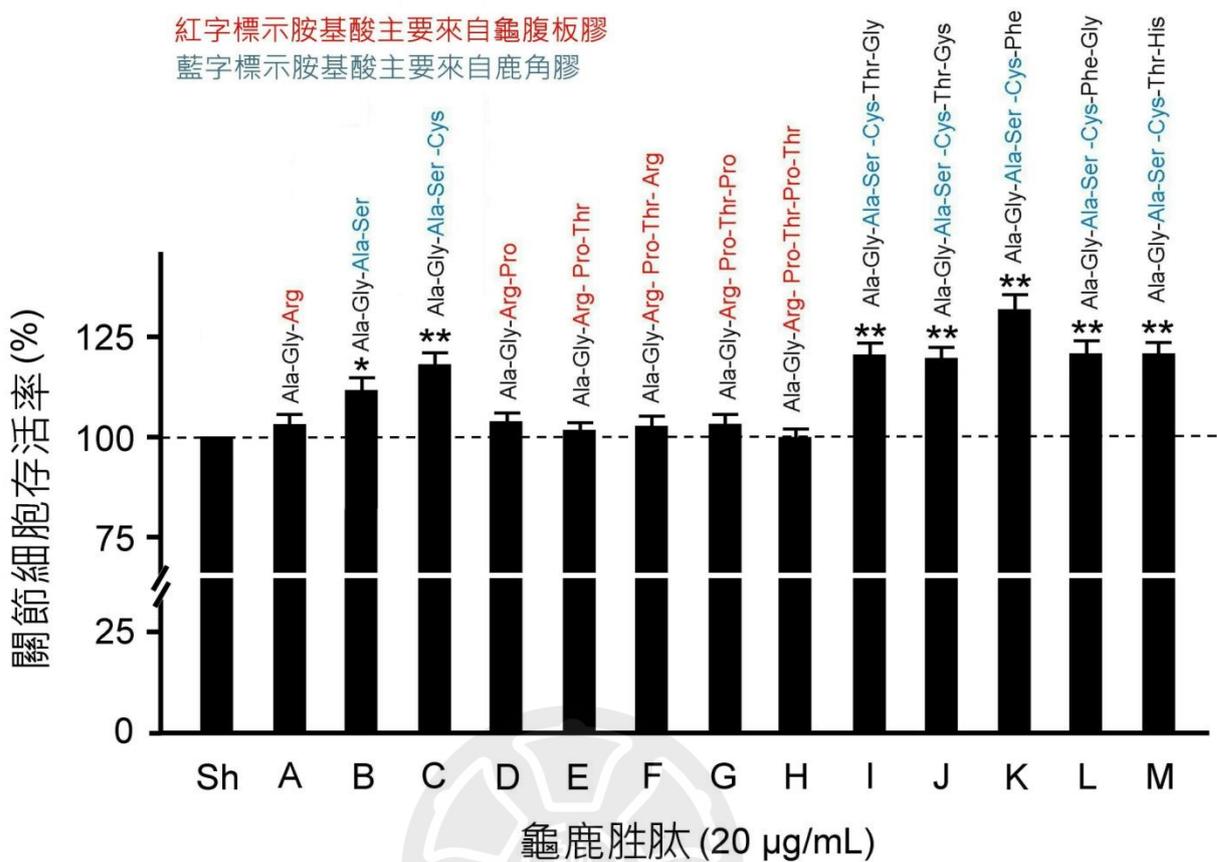
圖五：DPPH 實驗檢測龜板、鹿角與龜鹿二仙膠清除自由基的抗氧化能力

(A)以 DPPH 方法對龜板、鹿角與龜鹿二仙膠之抗氧化能力測定；(B)統計了 DPPH 方法測試不同龜板與鹿角溶離胜肽的自由基清除率變化情形，實驗結果顯示。DPPH 自由基能力測定實驗各組重複三次。每組測試出來的數值都用平均值±平均值標準誤差來表示，並且採用雙因子變異數分析 (Two-way analysis of variance, ANOVA) 和 S-N-K 多重差距檢定 (Student-Newman-Keuls multiple range test) 方式來分析是否有顯著的誤差，顯著誤差**表示 $p < 0.01$ ；# 與 * 表示 $p < 0.05$ 。



圖六：DPPH 實驗比較不同龜鹿胜肽清除自由基之抗氧化能力

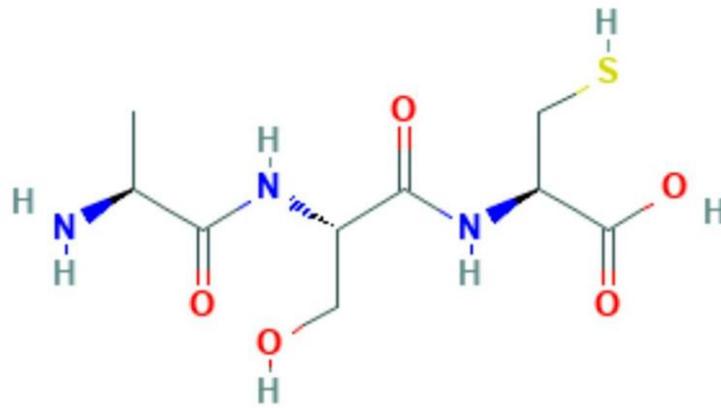
(A) 運用清除 DPPH 自由基能力測定實驗檢測龜鹿溶離胜肽清除 DPPH 自由基之能力；(B) 統計量化 DPPH 方法測試不同龜板與鹿角溶離胜肽的自由基清除率變化情形，實驗結果顯示溶離胜肽 B~C 以及 I~M 具有較佳清除自由基的效率，尤其是編號 K 的龜鹿 peptide 具有最佳清除自由基的能力。DPPH 自由基能力測定實驗各組重複三次。每組檢測出來的數值都用平均值±平均值標準誤差來表示。



圖七：MTT 實驗比較不同龜鹿胜肽對關節滑膜細胞存活率的影響

測定關節滑膜細胞粒線體活性，藉此評估有多少關節滑膜細胞存活。實驗結果顯示溶離胜肽 B~C 以及 I~M 對於關節滑膜細胞粒線體活性較佳 ($P < 0.01 \sim 0.05$)。MTT 測定實驗每組重複三次，全部的實驗數值都以平均值 \pm 平均值標準誤差來表示。這次統計方法則是採用單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 和 S-N-K 多重差距檢定 (Student-Newman-Keuls multiple range test) 方式來分析是否有顯著的誤差，顯著誤差用 $**p < 0.01$ 表示； P -values 只要 < 0.05 就算是有顯著誤差。

H-Ala-Ser-Cys-OH



圖八：龜鹿胜肽 Ala-Ser-Cys 序列的 2D 構造圖

分析溶離胜肽的胺基酸序列發現：從鹿角膠水解得到鹿角多肽中的 Ala、Ser、Cys 百分比最高，其中 Ala-Gly-Ala-Ser-Cys-Phe 的 DPPH 自由基清除活性最佳。根據 PUBCHEM 資料庫，顯示龜鹿胜肽 Ala-Ser-Cys 序列的 2D 構造圖。