李硕, 郭雨晴, 李彦萍, 等. “抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的虚拟筛选、活性评估及网络药理学分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(11): 126−136. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050017
LI Shuo, GUO Yuqing, LI Yanping, et al. Virtual Screening, Activity Evaluation, and Network Pharmacology Analysis of *Morchella esculenta* Peptides with Dual Antioxidant and Whitening Effects[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(11): 126−136. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050017

· 研究与探讨 ·

“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的虚拟筛选、活性评估及网络药理学分析

李　硕[1], 郭雨晴[2], 李彦萍[2], 苗永美[2], 张　强[2,*]
（1.安徽科技学院食品工程学院, 安徽滁州 233100;
2.安徽科技学院生物医学与健康学院, 安徽滁州 233100）

摘　要: 本研究旨在利用生物信息学方法从羊肚菌中筛选“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽，验证其作用效果，并探究其潜在作用机制。综合运用虚拟酶解、活性预测、理化性质与安全性评估及分子对接等生物信息学方法，从羊肚菌中筛选到 4 条具有潜在“抗氧化+美白”功效的羊肚菌肽，序列分别为：WWVCAK、WWV、RARW 和 VMRWKP。体外实验证实，WWVCAK 的抗氧化和酪氨酸酶抑制活性更好。细胞实验结果表明，WWVCAK 能显著提高 B16F10 细胞的总抗氧化能力，降低胞内活性氧（Reactive oxygen species，ROS）、丙二醛（Malondialdehyde，MDA）和黑色素的水平，并对胞内酪氨酸酶有良好的抑制作用。网络药理学研究提示，*SRC*、*HDAC1*、*ITGB2*、*ITGB1*、*PLG*、*MMP2*、*MMP9*、*HDAC2*、*ITGB3* 和 *ITGAL* 是 WWVCAK 发挥“抗氧化+美白”功效的关键靶点，WWVCAK 通过参与蛋白酶解反应、细胞外基质的组织与分解以及胶原蛋白分解代谢等多种生物过程，并通过调控神经活性配体-受体相互作用、中性粒细胞胞外诱捕网形成以及白细胞跨内皮迁移等多条信号通路发挥“抗氧化+美白”功效。综上，WWVCAK 是一种具有良好“抗氧化+美白”功效的活性肽，值得进一步开发和应用。

关键词: 羊肚菌肽, 抗氧化活性, 酪氨酸酶抑制活性, 生物信息学, 网络药理学
中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)11−0126−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050017
本文网刊:

Virtual Screening, Activity Evaluation, and Network Pharmacology Analysis of *Morchella esculenta* Peptides with Dual Antioxidant and Whitening Effects

LI Shuo[1], GUO Yuqing[2], LI Yanping[2], MIAO Yongmei[2], ZHANG Qiang[2,*]
（1.College of Food Engineering, Anhui Science and Technology University, Chuzhou 233100, China;
2.College of Biomedicine and Health, Anhui Science and Technology University, Chuzhou 233100, China）

Abstract: This study aimed to screen "antioxidant+whitening" dual-function peptides from *Morchella esculenta* using bioinformatics methods, verify their efficacy, and explore their potential mechanisms of action. Through the integrated application of bioinformatics approaches including virtual enzymatic hydrolysis, activity prediction, physicochemical property and safety assessment, and molecular docking, four peptides from *M. esculenta* with potential "antioxidant+whitening" effects were virtually screened as follows: WWVCAK, WWV, RARW, and VMRWKP. *In vitro* experiments confirmed that the hexapeptide WWVCAK exhibited better antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity. Cell experiments further revealed that WWVCAK could significantly enhance the total antioxidant capacity of B16F10 cells, reduce intracellular reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), and melanin levels, and effectively inhibit intracellular

收稿日期: 2025−05−08
基金项目: 安徽省教育厅高校协同创新项目（GXXT-2023-08）; 安徽科技学院稳定人才项目（SKWD202001）。
作者简介: 李硕（1998−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 2375690543@qq.com。
*** 通信作者:** 张强（1979−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物开发与利用, E-mail: zhangq@ahstu.edu.cn。

tyrosinase activity. Network pharmacology research indicated that *SRC*, *HDAC1*, *ITGB2*, *ITGB1*, *PLG*, *MMP2*, *MMP9*, *HDAC2*, *ITGB3*, and *ITGAL* were key targets of the "antioxidant+whitening" effects of WWVCAK. The peptide exerted its dual activity by participating in various biological processes including proteolysis, organization and disassembly of extracellular matrix, and collagen catabolic process, as well as by regulating multiple signaling pathways such as neuroactive ligand-receptor interaction, neutrophil extracellular trap formation, and leukocyte transendothelial migration. In conclusion, WWVCAK is a bioactive peptide with promising "antioxidant+whitening" properties and thus has potential for further development and application.

Key words: *Morchella esculenta* peptide; antioxidant activity; tyrosinase inhibitory activity; bioinformatics; network pharmacology

生物活性肽是由 2~20 个天然氨基酸组成的具有多种功能的活性多肽，因其结构简单、安全性好、易于吸收等特点，在功能性食品和保健品开发中备受关注[1]。生物活性肽可通过抑制酶活性、抗菌、抗氧化等不同方式发挥广泛的生物学功能，且在人体内很少蓄积，无副作用，是功能性成分开发的理想候选者[2]。随着现代生活节奏的加快和环境压力的增大，人体面临着氧化应激损伤的挑战，机体内自由基水平升高可导致细胞损伤、衰老加速，同时影响皮肤健康状态[3−4]。因此，开发具有抗氧化和美白双重功效的天然活性肽，通过口服保健的方式实现由内而外的健康维护，已成为功能性食品研究的重要方向。

传统生物活性肽的研究通常采用酶解法制备，再利用超滤、层析、色谱和质谱等进行分离和鉴定，最后通过体内外活性检测进行功能评价，整个过程繁琐，成本高、时间长、产率低、有时会导致含量少但活性高的目标肽段丢失[5]。近年来，生物信息学在生物活性肽研究中的应用逐年增加。利用生物信息学方法可以实现前体蛋白的分析和优选，优化母体蛋白的可控水解，还能实现目标肽的活性预测和理化特性与安全性评估[6−7]。相对于传统生物活性肽的研究方法，生物信息学工具的应用可极大地提高生物活性肽的筛选效率。最近，应用生物信息学方法已从明太鱼[8]、棉籽粕[9]、椰子[10]、三角帆蚌[11] 和蛋清[12] 等不同原料蛋白中鉴定出多种抗氧化肽和酪氨酸酶抑制肽。然而，将"生物信息学+实验验证+网络药理学"多维度整合的研究策略应用于功能性食品活性肽的开发尚不多见，这种综合性研究方法有望为活性肽的精准筛选和机理阐释提供新的技术路径。

羊肚菌（*Morchella esculenta*）又名羊肚蘑、羊肚菜等，是一种极为珍稀的药食两用真菌，具有极高的营养价值和多种优良的生物活性。已有研究表明，羊肚菌蛋白酶解物具有较强的抗氧化活性，并对酪氨酸酶有一定的抑制作用，有望作为功能性食品成分得到开发利用[13]。基于此，本研究拟通过生物信息学方法从羊肚菌中筛选具有良好“抗氧化+美白”功效的活性肽；通过体外化学实验和细胞实验验证羊肚菌肽的生物活性；运用网络药理学方法探究羊肚菌肽发挥抗氧化和美白作用的潜在分子机制。本研究为功能性食品中活性肽类成分的开发提供了新的研究思路，对推动药食同源资源的深度开发和功能性食品产业发展具有重要的理论指导意义。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

三氯化铁、三氯乙酸、铁氰化钾、七水合硫酸亚铁　国药集团化学试剂有限公司；乙二胺四乙酸二钠　上海展云化工有限公司；水溶性维生素 E（Trolox）、2,2′-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸（ABTS）、菲咯嗪、L-多巴（L-DOPA）、曲酸、酪氨酸酶（5 kDa）　合肥博美生物科技有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）　Sigma-Aldrich 公司；B16F10 细胞、活性氧（ROS）、丙二醛（MDA）检测试剂盒　江苏凯基生物技术股份有限公司；总抗氧化能力检测试剂盒　上海碧云天生物技术有限公司；小鼠黑色素酶联免疫分析试剂盒、小鼠酪氨酸酶酶联免疫分析试剂盒　上海酶联生物科技有限公司。

BSA124S 型电子天平　德国赛多利斯公司；V-5000 型可见分光光度计　上海元析仪器有限公司；DT5-4 型离心机　北京时代北利离心机有限公司；SPARK 多功能酶标仪　瑞士帝肯公司；SW-CJ-1FD 超净工作台　苏州净化设备有限公司；XD-101 型 CO_2 培养箱　日本三洋公司。

1.2　实验方法

1.2.1　基于生物信息学的“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的筛选

1.2.1.1　羊肚菌蛋白的优选　从 UniProt KB 蛋白数据库（https://www.uniprot.org/）下载羊肚菌蛋白序列。利用 BIOPEP-UWM 数据库（https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/）的“CALCULATIONS”模块对这些蛋白序列进行优选[14]。综合 ΣA 值（抗氧化肽出现频率+酪氨酸酶抑制肽出现频率），筛选出 10 种羊肚菌蛋白作为获取“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的原料蛋白（表 1）。

1.2.1.2　羊肚菌蛋白的虚拟酶解与肽段活性预测　通过 BIOPEP-UWM 数据库的 ENZYME（S）ACTION 模块，使用网站提供的 33 种酶解方法，分别对表 1 中 10 种羊肚菌蛋白进行虚拟酶解[14]。分别用 PeptideRanker（ http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/）和 CPPpred（http://distilldeep.ucd.ie/CPPpred）

表 1 10 种羊肚菌的蛋白序列

Table 1 Protein sequences of 10 species of morel mushrooms

序号	UniProt ID|AC	蛋白名称	氨基酸个数	分子量(kDa)	ΣA
1	A0A3N4L3M8|A0A3N4L3M8_9PEZI	60S ribosomal protein L29	65	7.545	0.2000
2	A0A3N4KK35|A0A3N4KK35_9PEZI	60S ribosomal protein L27	135	15.522	0.1111
3	A0A3N4KRD3|A0A3N4KRD3_9PEZI	Ribosomal protein S9	145	16.146	0.1103
4	A0A3N4L328|A0A3N4L328_9PEZI	54S ribosomal protein L4, mitochondrial	230	25.909	0.1087
5	A0A3N4KJE6|A0A3N4KJE6_9PEZI	RNase III domain-containing protein	208	23.054	0.1058
6	A0A3N4KR01|A0A3N4KR01_9PEZI	Ribosomal protein L38e	77	8.838	0.1039
7	A0A3N4L324|A0A3N4L324_9PEZI	Ribosomal_S13_N domain-containing protein	151	16.823	0.0993
8	A0A7G5KLU9|A0A7G5KLU9_9PEZI	Lectin	111	12.474	0.0991
9	A0A3N4L508|A0A3N4L508_9PEZI	Ribosomal protein L6	192	21.454	0.099
10	A0A3N4KXN9|A0A3N4KXN9_9PEZI	60S ribosomal protein L5	300	34.414	0.0967

评价所得肽段具有生物活性的潜力及细胞渗透性；将 PeptideRanker 得分大于 0.6 且 CPPpred 得分大于 0.5 的肽段用 AnOxPePred（https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?AnOxPePred-1.0）预测其抗氧化活性（FRS 分和 CHEL 分各占 50%），进一步，将抗氧化得分大于 0.3 的肽段用 pepsite2（http://pepsite2.russelllab.org/）预测其酪氨酸酶抑制活性，选取酪氨酸酶抑制活性得分小于 0.02 的肽进行后续研究。

1.2.1.3 分子对接 从 RCSB 蛋白质数据库下载 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1（Keap1，PDB ID：2FLU）和酪氨酸酶（PDB ID：2Y9X）的晶体结构。在对接之前，用 Pymol 软件（V2.3.2）移除受体上的有机小分子配体，并用 AutoDock 软件（V1.5.6）进行去水和加氢处理，再用 HPEPDOCK 工具（http://huanglab.phys.hust.edu.cn/hpepdock/）进行分子对接。

1.2.1.4 理化性质与安全性评估 利用 Expasy（http://web.expasy.org/compute_pi/）预测肽的分子量和等电点（PI）；Pepdraw（http://www.tulane.edu/~biochem/WW/PepDraw）预测肽的净电荷和疏水性；Innovagen（http://www.innovagen.com/proteomics-tools）预测肽的溶解性；PlifPred（https://webs.iiitd.edu.in/raghava/plifepred/analog.php）预测肽的半衰期。使用 Allergylab（https://sortaller.gzhmu.edu.cn/）预测肽的致敏性；HemoPI（https://webs.iiitd.edu.in/raghava/hemopi/design.php）预测肽的溶血性；ChemAGG（https://admet.scbdd.com/ChemAGG/index/）预测肽的聚集性；IEDB（http://tools.iedb.org/immunogenicity/）预测肽的免疫原性；ToxinPred（https://webs.iiitd.edu.in/raghava/toxinpred/design.php）预测肽的毒性。

1.2.2 “抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的活性验证

1.2.2.1 体外化学实验 将筛选到的 4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽（WWVCAK、WWV、RARW 和 VMRWKP）送上海 Synpeptide 生物科技公司进行固相合成（纯度>95%）。利用铁氰化钾-三氯化铁比色法，通过测定反应体系在 700 nm 处的吸光度检测肽的还原力；利用菲咯嗪比色法，通过检测反应体系在 562 nm 处的吸光度检测肽对 Fe^{2+}的螯合能力[15]；利用分光光度法，分别测定 2 个反应体系在 734 nm 和 517 nm 处的吸光度检测肽对 $ABTS^{+}$自由基[16] 和 DPPH 自由基清除能力[17]；利用多巴醌比色法，通过测定反应体系在 475 nm 处的吸光度检测肽对酪氨酸酶的抑制活性[16]。

1.2.2.2 细胞实验 取对数生长期的 B16F10 细胞，消化、计数，用 RPMI-1640 培养基（含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素）配制成浓度为 3×10^4 个/mL 的细胞悬液，接种于 96 孔板，培养 24 h；弃上清，用培养基稀释待测物至所需浓度，每孔加入 100 μL 含有待测物的培养基，以不含待测物的完全培养基作为空白对照，以 Trolox 或曲酸作为阳性对照，于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 48 h。采用试剂盒测定细胞总抗氧化能力、细胞 ROS 含量、MDA 含量、黑色素含量和酪氨酸酶活性。

1.2.3 基于网络药理学探究“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的潜在作用机制

1.2.3.1 获取作用靶点 利用 Swiss TargetPrediction（http://www.swisstargetprediction.ch/）预测“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽（WWVCAK）的潜在作用靶点。分别以氧化（oxidative）和色素沉着（pigmentation）作为检索词，在 OMIM 数据库（https://omim.org/）和 GeneCards 数据库（https://www.genecards.org/）检索相应靶点，经合并与去重处理后，将 WWVCAK 的潜在作用靶点与氧化和色素沉着相关靶点取交集，获得 WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点。

1.2.3.2 构建蛋白互作网络（PPI） 将 WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点上传到 STRING 数据库（https://string-db.org/），设定物种为“Homo sapiens”，最小相互作用阈值为 0.9，获得 PPI 网络，利用 Cytoscape 3.10.0（http://www.cytoscape.org/）对 PPI 网络数据进行分析和可视化。使用 CytoHubba 插件基于 Degree 拓扑分析算法从 PPI 网络中筛选关键靶点。

1.2.3.3　GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析　将 WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点导入 DAVID 数据库(https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp)，设定物种为“Homo sapiens”，进行基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用微生信平台(https://www.bioinformatics.com.cn/)将排名前 10 的 GO 条目及显著富集的信号通路进行可视化。

1.3　数据处理

所有实验均进行 3 次重复，通过 GraphPad Prism 8.3 进行数据处理，结果以平均值±标准差表示，采用 Tukey 法进行显著性检验，$P<0.05$ 表示差异显著。

2　结果与分析

2.1　“抗氧化＋美白”双功效羊肚菌肽的筛选

生物信息学在生物活性肽的研究中发挥越来越重要的作用[18]。本研究采用 33 种酶解方法对 10 种原料蛋白进行虚拟酶解，共获得 723 个肽段。其中，PeptideRanker 得分大于 0.6 且 CPPpred 得分大于 0.5 的肽段共 45 个。对这些肽段进行理化性质与安全性评估以及分子对接研究，最终筛选出 4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽，其序列分别为：WWVCAK、WWV、RARW 和 VMRWKP。4 种肽的质谱图(图 1)均显示了清晰的分子离子峰信号，且各分子离子峰的离子质荷比与理论计算值高度吻合，表明 4 种肽均得到有效检测与鉴定。4 种肽的活性预测得分、分子对接得分以及理化性质与安全性结果分别列于表 2~表 4。由表 2 可知，4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的 PeptideRanker 得分介于 0.626~0.971 之间，表明其具有较高的生物活性潜力。CPPpred 得分均高于 0.5，提示其细胞渗透能力良好。此外，AnOxPePred 得分均大于 0.3，pepsite2 得分均小于 0.02，提示这些肽可能具备优异的抗氧化和抗黑色素生成活性。根据表 3 数据，4 种肽与 Keap1 和酪氨酸酶均有较高的分子对接得分。与其他肽相比，WWVCAK 与 2 种受体的对接得分均最高，说明其与受体的亲和力更强，提示其可能具有更优越的抗氧化和抗黑色素生成活性。表 4 列出了 4 种肽的理化性质与安全性评估结果，可以看出，所有肽的分子量均低于 1000 Da，除 WWV 外，其余肽均带正电荷，等电点呈碱性，且疏水性较强。4 种肽均无溶血性、毒性和致敏性，基本无聚集性和免疫原性，表明本研究筛选到的“抗氧化+美白”双功效肽可能具有良好的理化性质和安全性。

研究表明，肽的生物活性与其分子量、氨基酸组成及其排列顺序密切相关，通常活性肽的分子量低于 1000 Da[19]。芳香族氨基酸(如色氨酸)以及含硫氨基酸(如半胱氨酸、甲硫氨酸)能有效增强肽的自由基清除能力[20−21]；精氨酸和赖氨酸等带正电荷的氨基酸可通过静电相互作用与金属离子形成螯合物，从而发挥抗氧化作用[22]；此外，疏水性氨基酸，如缬氨酸、丙氨酸和脯氨酸等，可作为供氢体，并能提高肽在脂质-水界面的溶解性，有效中断自由基链式反应并增强自由基清除能力[23]。在酪氨酸酶抑制活性方面，酪氨酸酶抑制肽的 N 端或 C 端通常为色氨酸，通过氢键和疏水作用，与酪氨酸酶的关键残基(His244、His259 等)形成稳定相互作用[24−25]。具有较强酪氨酸酶抑制活性的肽段通常含有一个或多个精氨酸或苯丙氨酸[26]。精氨酸和/或苯丙氨酸与疏水性氨基酸(如缬氨酸、丙氨酸、亮氨酸等)在肽段中同时存在时，能增强肽与酶活性位点的亲和力，常表现出较强的酪氨酸酶抑制作用[27]。此外，肽段中如果有半胱氨

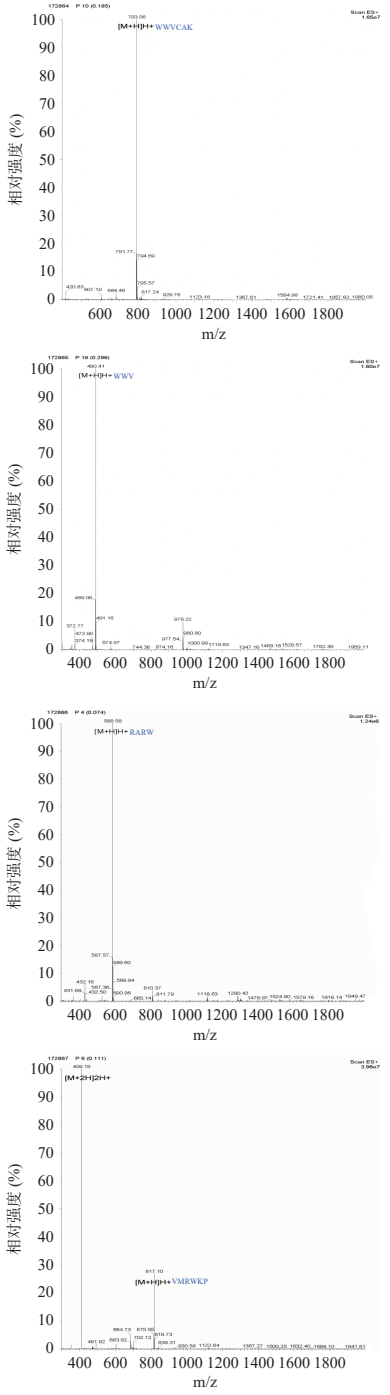


图 1　4 条“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的质谱图

Fig.1　Mass spectra of 4 *Morchella esculenta* peptides with dual effects of "antioxidation+whitening"

表 2 虚拟筛选得到的 4 条“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽

Table 2 Four "antioxidant+whitening" dual-function *Morchella esculenta* peptides obtained by virtual screening

序号	肽序列	蛋白来源	蛋白酶	肽段位置	PeptideRanker分	CPPpred分	AnOxPePred分	pepsite2分（*P*值）
1	WWVCAK	54S ribosomal protein L4, mitochondrial	Ficin EC 3.4.22.3	[127-132]	0.851	0.548	0.340	0.0118
2	WWV	54S ribosomal protein L4, mitochondrial	Stem bromelain EC 3.4.22.32	[127-129]	0.971	0.546	0.371	0.0111
3	RARW	Lectin	Proteinase K EC.3.4.21.67	[105-108]	0.817	0.890	0.303	0.0071
4	VMRWKP	RNase III domain-containing protein	thermolysin EC 3.4.24. 27	[148-153]	0.626	0.712	0.332	0.0069

表 3 4 条“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽与 Keap1 以及酪氨酸酶的分子对接得分

Table 3 Molecular docking scores of four "antioxidant+whitening" dual-function *Morchella esculenta* peptides with Keap1 and tyrosinase

对接得分	WWVCAK	WWV	RARW	VMRWKP
与Keap1对接得分	−227.813	−172.260	−176.807	−183.801
与酪氨酸酶对接得分	−233.078	−211.626	−202.227	−195.809
对接总得分	−460.891	−383.886	−379.034	−379.610

表 4 4 条“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的理化性质与安全性

Table 4 Physicochemical properties and safety of four "antioxidant+whitening" dual-function *Morchella esculenta* peptides

肽序列	分子量(Da)	等电点	溶解性	净电荷	疏水性	半衰期	聚集性	溶血性	免疫原性	致敏性	毒性
WWVCAK	791.97	8.22	水溶性差	+1	6.54	835.31	0.003	0	−0.0027	非致敏	无毒
WWV	489.57	5.52	水溶性差	0	3.26	834.81	0.017	0	0	非致敏	无毒
RARW	587.68	12.00	水溶性良好	+2	9.93	839.61	0.016	0	0.0168	非致敏	无毒
VMRWKP	816.03	11.00	水溶性良好	+2	9.43	858.21	0.010	0	0.0297	非致敏	无毒

酸存在，则更易与多巴醌结合形成共轭，抑制多巴醌转化为黑色素[28]。本研究筛选到的 4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的分子量都低于 1000 Da，均含有色氨酸，大多数含有缬氨酸、半胱氨酸或精氨酸等氨基酸中的一种或多种，与上述文献报道一致。这些肽的分子量及氨基酸组成特性表明，本研究筛选到的 4 种肽可能具备优异的抗氧化和美白功效。

分子对接技术能有效预测活性肽与靶标蛋白的结合模式和亲和力，显著提升活性肽的筛选效率，并降低研发成本，已成为活性肽研究的重要工具[29]。图 2 展示了 WWVCAK 与 2 种受体的结合位点及相互作用方式。结果显示，WWVCAK 与 Keap1 的 Gly367、Thr560 和 Val(604, 606)以氢键结合，同时与 Leu557、Gly(419, 558, 605)、Ile(416, 559)、Ala(466, 607)、Val(369, 418, 420, 463, 467, 514, 561, 608)、Arg326、Cys(368, 513)通过疏水相互作用结合。在与酪氨酸酶的分子对接中，WWVCAK 通过氢键与酪氨酸酶的 Arg268、His244、Glu256 相互作用，通过配位键与 Phe292 结合，并与 Gly(86, 245, 281)、His(61, 85, 94, 259, 263, 296)、Ser282、Asn260、Phe264、Val(283,248)、Ala286 和 Glu322 通过疏水作用结合。本研究中，与 WWVCAK 相结合的 Keap1 中的氨基酸残基，包括 Cys(368, 513)，Ile 559 和 Val (369, 463, 467, 514, 604, 606)等，均为该蛋白的重要活性位点[30]。此外，与 WWVCAK 相结合的酪氨酸酶分

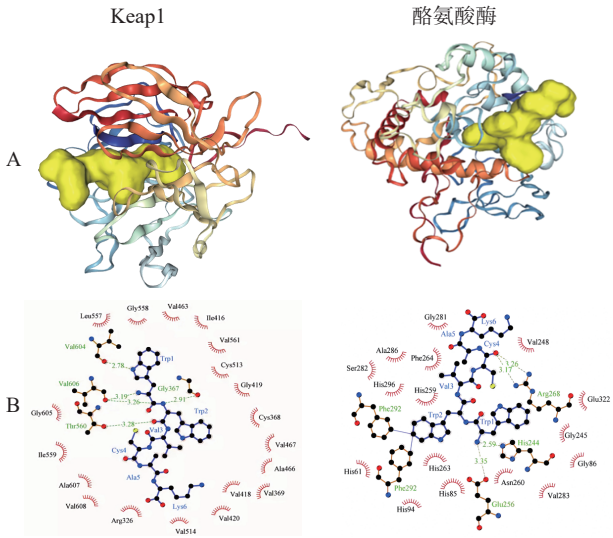


图 2 WWVCAK 与 Keap1 和酪氨酸酶分子对接的 3D 图和 2D 图

Fig.2 3D and 2D diagrams of molecular docking of WWVCAK with Keap1 and tyrosinase

注：A 为 WWVCAK 与 Keap1 和酪氨酸酶相互作用的 3D 图，其中受体用 cartoon 形式表示，WWVCAK 用黄色 surface 形式表示；B 为 WWVCAK 与 Keap1 和酪氨酸酶相互作用的 2D 图，图中绿色的虚线代表氢键，紫色实线代表配位键，眼睫毛状结构代表疏水作用。

子中的 His(61, 85, 94, 244, 259, 263, 296)、Glu256、Asn260、Phe264、Val283、Ala286 和 Phe292 等也均是该酶活性中心的关键氨基酸残基[31]。因此，WWV-

CAK 通过与 Keap1 和酪氨酸酶活性部位的特异性结合发挥抗氧化和美白功效。

2.2　体外抗氧化活性分析

表 5 展示了 4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的还原力、对 DPPH 和 $ABTS^+$自由基的清除能力、螯合能力以及对酪氨酸酶的抑制活性的评估结果。可以看出，所有 4 种肽均表现出一定的还原力和螯合能力，对 DPPH 和 $ABTS^+$自由基具有显著的清除活性，并对酪氨酸酶展现出较强的抑制作用。其中，WWVCAK 的综合活性最为突出，其 $ABTS^+$自由基清除活性的 IC_{50} 值与阳性对照 Trolox 相当，其还原力、DPPH 自由基清除活性和 $ABTS^+$自由基清除活性的 Trolox 当量分别为 127.29±3.77、75.17±2.55 和 969.53±16.88 mg/g，螯合能力的 EDTA-2Na 当量为 7.69±0.22 mg/g，酪氨酸酶抑制活性的曲酸当量为 119.80±3.75 mg/g，均显著高于 WWV、RARW 和 VMRWKP（P<0.05），提示 WWVCAK 是一种具有良好开发前景的“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽。

还原力反映了物质提供电子以终止自由基链式反应的能力；DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除活性直接表征化合物作为氢供体或电子供体，中和特定自由基的效率；金属离子螯合能力通过检测样品对 Fe^{2+}/Cu^{2+} 等过渡金属离子的结合，反映其对 Fenton 反应的抑制能力，这些指标共同构成了抗氧化活性的多维度评估体系[32]。刘鑫等[33]利用生物信息学方法从羊血红蛋白中筛选到 3 条抗氧化肽（KRM、FPL 和 FL），其 DPPH 自由基清除活性的 IC_{50} 值分别为 0.125、0.256 和 1.601 mg/mL，$ABTS^+$自由基清除活性的 IC_{50} 值分别为 0.339、0.374 和 1.601 mg/mL。于梦怡等[34]在超滤和层析法分离及 LC-MS/MS 结构鉴定的基础上，结合生物信息学方法从青刺果中分离到 3 个抗氧化肽（TALDVPPPR、TLSDAGVGGL 和 DLINGGKDA），其 DPPH 自由基清除活性的 IC_{50} 值分别为 0.43、0.83 和 0.51 mg/mL。Plácido 等[35]通过传统分离纯化、结构鉴定与生物信息学相结合的方法，从火鲀皮肤分泌物中筛选到抗氧化肽 salamandrin-I（FAVWGCADYRGY），其 $ABTS^+$自由基清除活性和 DPPH 自由基清除活性当量分别为 0.285 mg Trolox/mg 和 0.08 mg Trolox/mg。酪氨酸酶是黑色素合成的关键限速酶，抑制其活性可有效减少黑色素沉积，进而实现皮肤美白效果[36]。Yu 等[12]使用计算机辅助虚拟筛选，从蛋清中筛选到酪氨酸酶抑制肽 DEK，其对酪氨酸酶抑制活性的 IC_{50} 值为 0.205±0.07 mmol/L。Wang 等[37]结合超滤、LC-MS/MS 及分子对接技术从栉江珧外套膜中筛选到 4 种酪氨酸酶抑制肽，其中 YYP 对酪氨酸酶的抑制作用最强，IC_{50} 值为 1.764±0.025 mmol/L。尽管本研究中 WWVCAK 的抗氧化及酪氨酸酶抑制活性并不及阳性对照，但其同时具备抗氧化和美白双重功效，且活性优于多数已报道的抗氧化肽及酪氨酸酶抑制肽[14]。此外，WWVCAK 作为天然产物，具有较高的安全性及良好的吸收特性。若能在现有基础上对其结构作进一步优化，其抗氧化及酪氨酸酶抑制活性有望得到显著提升，从而增强其应用潜力。

2.3　细胞实验结果

2.3.1　对 B16F10 细胞抗氧化能力的影响　总抗氧化能力是评估细胞抗氧化防御体系效能的重要指标，其水平越高，细胞抵御氧化损伤的能力越强。MDA 是脂质过氧化的主要产物，ROS 则是细胞内氧化应激的关键标志物，二者的含量降低，反映细胞的氧化损伤得到缓解。本研究通过测定总抗氧化能力、MDA 含量及 ROS 水平评估了 WWVCAK 对 B16F10 细胞抗氧化性能的影响（图 3）。结果显示，WWVCAK 以浓度依赖性方式显著增强细胞的总抗氧化能力，并降低 MDA 含量和 ROS 水平（P<0.05）。在 400 μg/mL 浓度下，WWVCAK 处理组的总抗氧化能力较对照组提高了 40.63%，MDA 含量和 ROS 水平分别降至对照组的 70.22% 和 78.58%。这些结果表明，WWVCAK 能够有效提升细胞的抗氧化能力，减轻氧化应激损伤。

已有研究广泛报道了抗氧化肽对细胞氧化应激的保护作用。Xiao 等[38]发现，鹿角抗氧化肽通过增强抗氧化酶活性，降低 ROS 和 MDA 水平，减轻了紫外线诱导的细胞氧化损伤；Xu 等[39]报道，猴头菇抗氧化肽 KSPLY 通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路，促进抗氧化酶表达，抑制 ROS 和 MDA 生成，从而保

表 5　4 种“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽的抗氧化及酪氨酸酶抑制活性

Table 5　Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of four "antioxidant+whitening" dual-function *Morchella esculenta* peptides

样品	还原力	DPPH自由基清除活性		$ABTS^+$自由基清除活性		螯合能力		对酪氨酸酶抑制活性	
	Trolox当量	IC_{50}	Trolox当量	IC_{50}	Trolox当量	IC_{50}	EDTA-2Na当量	IC_{50}	曲酸当量
WWVCAK	127.29±3.77^a	70.24±0.79^c	75.17±2.55^a	51.28±0.79^c	969.53±16.88^a	1944±41^c	7.69±0.22^a	1128±18^c	119.80±3.75^a
WWV	24.18±0.75^b	1962±22.91^b	2.69±0.10^b	56.40±2.39^c	899.2±6.79^b	3447±173^b	4.34±0.21^b	11769±637^b	11.50±0.80^b
RARW	25.15±0.56^b	2225±54.27^a	2.37±0.13^c	270.8±7.22^b	186.42±3.76^c	3475±99^b	4.30±0.09^b	32520±1574^a	4.16±0.29^c
VMRWKP	20.46±0.93^c	1974±36.39^b	2.68±0.12^b	1048±23.07^a	47.29±1.42^d	7234±394^a	2.07±0.09^c	30360±1647^a	4.46±0.26^c
Trolox	–	5.28±0.23^d	–	49.97±1.16^c	–	–	–	–	–
EDTA-2Na	–	–	–	–	–	14.95±0.15^d	–	–	–
曲酸	–	–	–	–	–	–	–	135.07±3.12^d	–

注：每列不同上标小写字母代表差异达显著水平，P<0.05；IC_{50}单位为μg/mL，所有当量的单位为mg/g，–代表未测定。

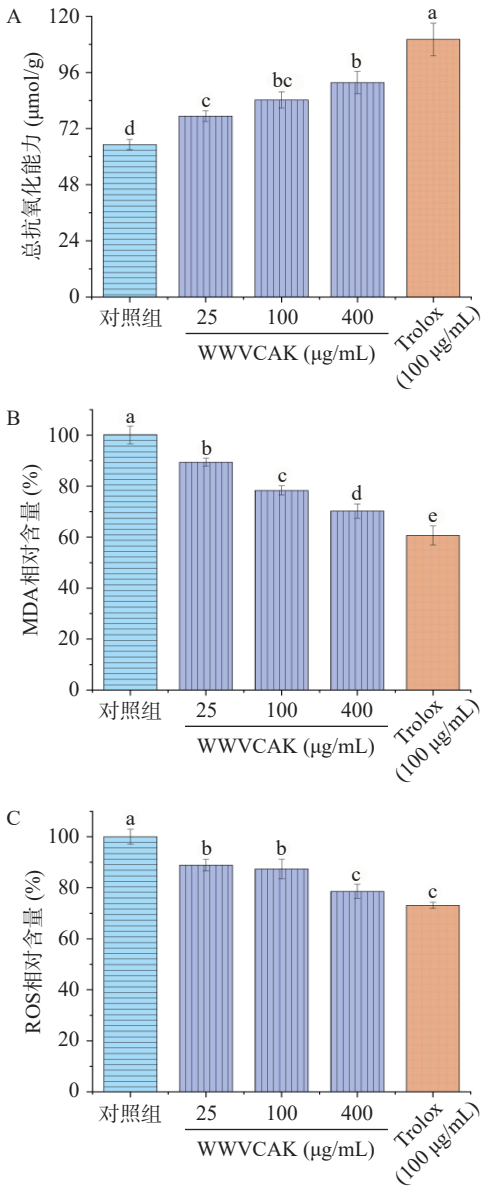


图 3　WWVCAK 对 B16F10 细胞总抗氧化能力(A)、MDA 相对含量(B)和 ROS 相对含量(C)的影响

Fig.3　Effects of WWVCAK on total antioxidant capacity (A), MDA relative content (B), and ROS relative content (C) in B16F10 cells

注：图中不同小写字母代表不同处理之间存在显著差异(P<0.05)，图 4 同。

护 HepG2 细胞免受 H_2O_2 诱导的氧化损伤。与上述研究一致，本研究表明，WWVCAK 能够显著提升 B16F10 细胞的总抗氧化能力，降低 MDA 含量和 ROS 水平，从而保护细胞免受氧化损伤。

2.3.2　对 B16F10 细胞黑素生成的影响　细胞黑色素含量与酪氨酸酶活性呈正相关，抑制酪氨酸酶活性可减少黑色素合成，从而实现皮肤美白[36]。本研究通过检测 WWVCAK 对 B16F10 细胞黑色素生成及酪氨酸酶活性的影响，评估了其美白潜力(图 4)。结果显示，WWVCAK 以剂量依赖方式显著抑制 B16F10 细胞的黑色素生成(P<0.05，图 4A)。在 400 μg/mL 浓度下，黑色素含量降至对照组的 68.78%，其效果与阳性对照曲酸相当。此外，WWVCAK 对 B16F10 细

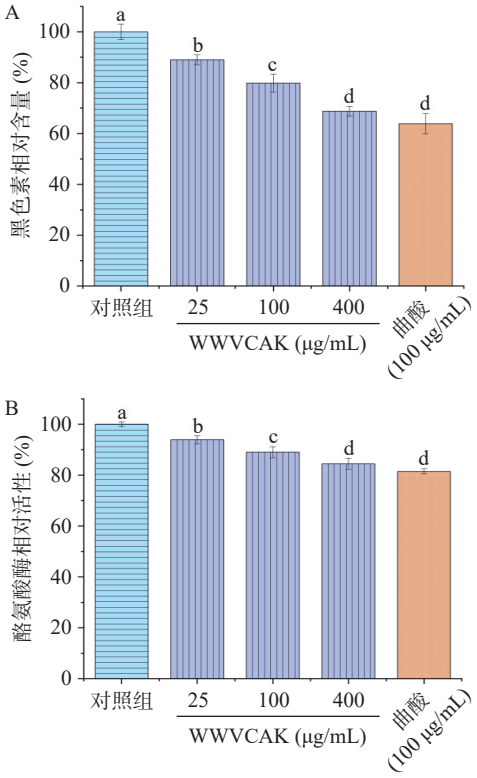


图 4　WWVCAK 对 B16F10 细胞黑色素相对含量(A)和酪氨酸酶相对活性(B)的影响

Fig.4　Effects of WWVCAK on melanin relative content (A) and tyrosinase relative activity (B) in B16F10 melanoma cells

胞酪氨酸酶活性的影响如图 4B 所示。相较于对照组，不同浓度 WWVCAK 处理组的酪氨酸酶活性均显著降低(P<0.05)，呈现明显的量效关系。在 400 μg/mL 浓度下，酪氨酸酶活性降至对照组的 84.47%，与阳性对照曲酸在统计学上无显著差异(P>0.05)。Yap 等[40] 利用细胞模型评价了鸡蛋清肽 GYSLGNWVCAAK 的抗色素沉着潜力和作用机制，发现该肽通过下调 *Tyr* 基因的表达，降低酪氨酸酶的催化活性或影响其结构稳定性，从而抑制 B16F10 细胞的黑色素生成。Hu 等[5] 研究表明，以 1.6 mg/mL 鱼鳞明胶肽 DLGFLARGF 处理 B16F10 细胞，可使酪氨酸酶活性降低 23.19%，黑色素含量减少 38.3%。本研究结果与上述报道一致，WWVCAK 处理组的黑色素含量和酪氨酸酶活性均显著低于对照组，表明 WWVCAK 能通过抑制酪氨酸酶活性，有效减少黑色素合成，具有作为酪氨酸酶抑制剂应用于皮肤美白产品开发的潜力。

2.4　基于网络药理学的潜在作用机制

2.4.1　作用靶点预测结果　利用 Swiss Target Prediction 数据库获得 105 个 WWVCAK 的潜在作用靶点。通过 OMIM 和 Genecards 数据库，分别筛选出 14577 个氧化相关靶点和 12264 个黑色素生成相关靶点。将 WWVCAK 的潜在作用靶点与氧化相关靶点以及黑色素生成相关靶点进行交集分析，获得 74 个共有靶点(图 5A)，这些共有靶点被认为是

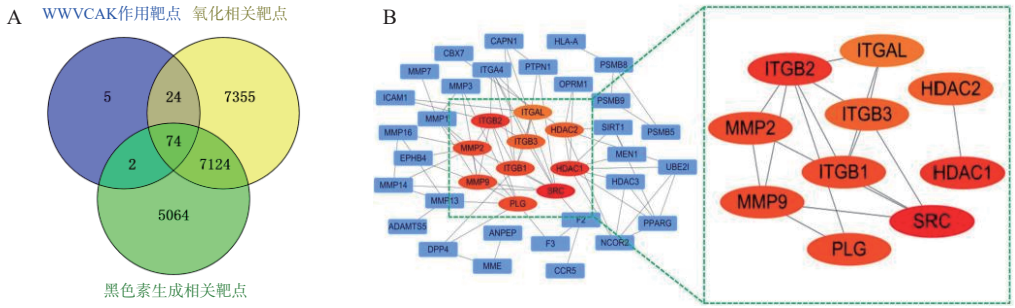


图 5　WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点(A)及蛋白互作网络拓扑分析结果的可视化(B)

Fig.5　Common therapeutic targets for WWVCAK's antioxidant and whitening effects (A) and visualization of the protein-protein interaction (PPI) network topology analysis (B)

WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点。

2.4.2　蛋白互作网络分析结果　利用 STRING 数据库对 74 个共同作用靶点作进一步分析，构建靶点间的互作网络(PPI)。将 PPI 数据导入 Cytoscape 3.10.0 软件，进行拓扑分析和可视化处理。在移除网络中的离散节点后，最终得到的 PPI 网络包含 40 个节点和 76 条边，平均邻域连通性为 4.0。利用 CytoHubba 插件，基于 Degree 值对靶点进行排序，筛选出 Degree 值排名前 10 的靶点，依次为：*SRC*、*HDAC1*、*ITGB2*、*ITGB1*、*PLG*、*MMP2*、*MMP9*、*HDAC2*、*ITGB3* 和 *ITGAL*(图 5B)。这些靶点在整个网络中发挥着关键作用，是 WWVCAK 发挥抗氧化和美白作用的关键靶点。

2.4.3　GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析　通过 DAVID 数据库对 74 个共有靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。以 $P<0.05$ 为筛选阈值，共获得 221 条生物过程(BP)、40 条细胞组分(CC)、49 条分子功能(MF)。图 6A 展示了排名前 10 的 BP、CC 和 MF 条目。由图 6A 可知，WWVCAK 发挥抗氧化和美白功效的共同作用靶点主要参与蛋白酶解反应(proteolysis)、细胞外基质组织及分解(extracellular matrix disassembly collagen catabolic process)以及胶原蛋白分解代谢(collagen catabolic process)等生物过程；相关靶蛋白主要分布于质膜(plasma membrane)、细胞表面(cell surface)以及外泌体(extracellular exosome)等细胞组分；其分子功能主要涉及锌离子结合(zinc ion binding)、内肽酶活性(endopeptidase activity)及金属内肽酶活性(metalloendopeptidase activity)等。GO 富集分析结果表明，WWVCAK 在不同细胞成分中通过调节多种生物过程，介导多种不同分子功能，从而实现抗氧化和美白功效。

KEGG 通路分析(图 6B)结果表明，共有靶点在多种通路中显著富集，其中 $P<0.01$ 的信号通路共 14 条，主要涉及神经、血管、氧化应激、炎症和免疫等方面。去除不相关的广谱通路，WWVCAK 主要通过神经活性配体-受体相互作用信号通路(Neuroactive ligand-receptor interaction，NLRI)、中性粒细胞胞外诱捕网形成信号通路(Neutrophil extracellular traps，NETs)、白细胞跨内皮迁移信号通路(Transendothelial migration，TEM)等多种不同途径发挥抗氧化和美白功效。

NLRI 信号通路在调控色素沉着及细胞抗氧化损伤中具有重要作用。该通路通过上调谷胱甘肽过氧化物酶及超氧化物歧化酶等抗氧化酶的表达，增强细胞的抗氧化防御能力，有效缓解氧化应激[41]。特别是该通路中的黑皮质素 1 受体(MC1R)在调控黑色素细胞的黑色素生成及抗氧化反应中发挥核心作用。

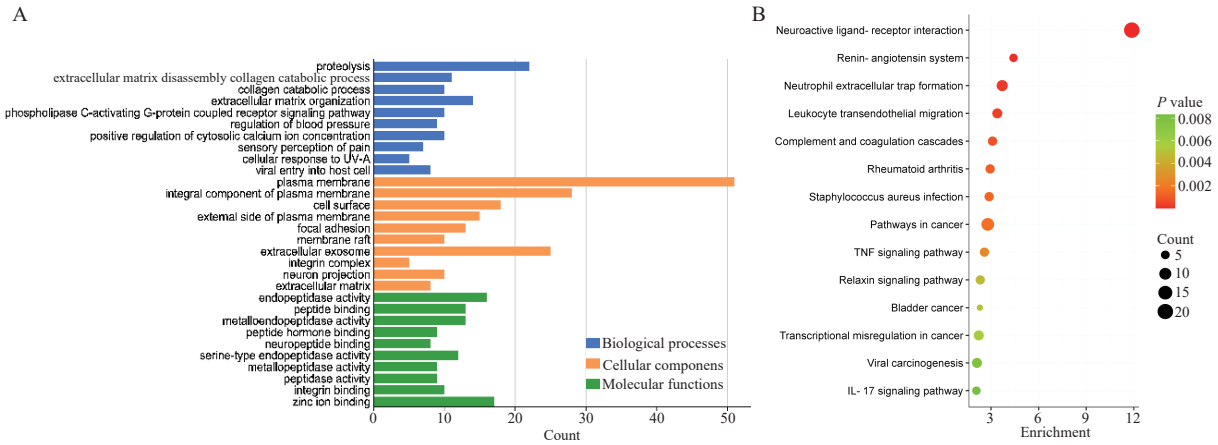


图 6　WWVCAK 抗氧化和美白共同作用靶点的 GO 功能富集分析(A)和 KEGG 通路富集分析(B)

Fig.6　GO functional enrichment analysis (A) and KEGG pathway enrichment analysis (B) of common targets for WWVCAK's antioxidant and whitening effects

MC1R 可被 α-黑素细胞刺激素（α-MSH）等配体激活，进而通过 cAMP/PKA 等下游信号通路诱导黑素生成酶表达，促进黑色素合成[42]。成翠等[43] 研究表明，杜仲雄花多肽通过调控 NLRI 通路有效缓解机体氧化应激。潘素跃等[44] 研究证实，逍遥丸中的主要活性成分具有抗炎和抗氧化作用，能通过清除自由基以及抑制黑色素合成发挥对黄褐斑的治疗作用，其机制涉及 NLRI 以及多巴胺能突触等多条信号通路的调节。NETs 信号通路与抗氧化途径及黑色素生成之间存在复杂的相互作用。氧化应激可促进 NETs 的激活[45]，而抗氧化剂通过抑制 ROS 生成，减轻 NETs 介导的炎症反应，从而降低黑色素生成[46−47]。Guo 等[48] 研究发现，香叶木素可显著抑制脓毒症小鼠 NETs 的激活，减少 ROS 积累及全身炎症。但 NETs 激活与黑色素生成之间的直接关联目前尚缺乏相关文献支持。TEM 信号通路通过 ICAM-1 和 VCAM-1 介导的细胞粘附，激活 Rho/MAPK 信号通路，诱导 ROS 生成及炎症因子释放，进而促进黑色素生成[49−50]。抗氧化剂通过抑制 ROS 及相关炎症反应降低黑色素细胞活性，从而调控黑色素合成[51−52]。郑雅等[53] 的研究表明，栝楼桂枝汤通过调控 TEM、TNF 及 MAPK 等多条信号通路，发挥抗氧化、抗炎及神经保护作用，缓解脑卒中后下肢痉挛。苏俊等[54] 的研究进一步揭示，黑色素瘤的发生发展与免疫及炎症密切相关，HDACi 通过调控 TEM、人乳头瘤病毒感染及癌症转录失调等多条信号通路，发挥抗黑色素瘤作用。

本研究为深入理解 WWVCAK 的作用机制提供了重要的理论依据，并为开发基于多靶点调控的“抗氧化+美白”功能性成分奠定了科学基础。但 WWVCAK 对关键信号通路的特异性调控机制及其通路间的协同作用尚需进一步的实验验证，以明确其在复杂生物环境中的作用效果及靶向特异性。

3 结论

利用生物信息学方法从羊肚菌中筛选到 4 个具有潜在“抗氧化+美白”功效的羊肚菌肽，序列分别为：WWVCAK、WWV、RARW 和 VMRWKP。体外化学实验证实，WWVCAK 较其他 3 种肽具有更强的抗氧化和酪氨酸酶抑制活性，其还原力的 Trolox 当量为 127.29±3.77 mg/g，对 DPPH 和 $ABTS^{+}$ 自由基清除作用以及对 Fe^{2+} 螯合作用的 IC_{50} 值分别为 70.24±0.79、51.28±0.79 和 1944±41 μg/mL，对酪氨酸酶抑制活性的 IC_{50} 值为 1128±18 μg/mL。细胞实验结果表明，WWVCAK 能显著提高 B16F10 细胞的总抗氧化能力，降低胞内 ROS、MDA 和黑色素的水平，并对胞内酪氨酸酶具良好的抑制作用。网络药理学结果提示，*SRC*、*HDAC1*、*ITGB2*、*ITGB1*、*PLG*、*MMP2*、*MMP9*、*HDAC2*、*ITGB3* 和 *ITGAL* 是 WWVCAK 发挥“抗氧化+美白”功效的关键靶点；WWVCAK 可能通过参与蛋白酶解反应、细胞外基质的组织和动态重塑以及胶原分解代谢等生物过程，并通过调控 NLRI、NETs 以及 TEM 等多条信号通路，发挥“抗氧化+美白”作用。本研究筛选的“抗氧化+美白”双功效羊肚菌肽 WWVCAK 有望作为新型功能性活性成分在保健品、功能性食品或医药领域得到应用。未来应在此基础上，通过动物实验进一步验证其作用效果，结合组学方法和技术，更系统地阐明 WWVCAK 发挥“抗氧化+美白”作用的具体机制。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] KANG Linlin, HAN Tingting, CONG Hailin, et al. Recent research progress of biologically active peptides[J]. BioFactors, 2022, 48(3): 575−596.

[2] AGUILAR-TOALÁ J E, HERNÁNDEZ-MENDOZA A, GONZÁLEZ-CÓRDOVA A F, et al. Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products[J]. Peptides, 2019, 122: 170170.

[3] LIMBERT G, MASEN M A, POND D, et al. Biotribology of the ageing skin: Why we should care[J]. Biotribology, 2019, 17: 75−90.

[4] YE Hedan, TAO Xin, ZHANG Weidong, et al. Food-derived bioactive peptides: Production, biological activities, opportunities and challenges[J]. Journal of Future Foods, 2022, 2(4): 294−306.

[5] HU Zizi, SHA Xiaomei, ZHANG Lu, et al. From fish scale gelatin to tyrosinase inhibitor: A novel peptides screening approach application[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 853442.

[6] TU Maolin, CHENG Shuzhen, LU Weihong, et al. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018, 105: 7−17.

[7] UDENIGWE C C. Bioinformatics approaches, prospects and challenges of food bioactive peptide research[J]. Trends in Food Science & Technology, 2014, 36(2): 137−143.

[8] LI Jing, ZHAI Yongnian, LIU Chenglin, et al. Two antihypertensive and antioxidant peptides derived from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin: *In silico*, *in vitro*, and *in vivo* investigation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(16): 9932−9945.

[9] LÜ Liangkang, LÜ Qingqing, YANG Yang, et al. Identification of novel antioxidant peptides from cottonseed meal co-fermented with *Lactobacillus mucosae* LLK-XR1 and acid proteases: *In silico* screening, molecular simulation, and *in vitro* functional analysis[J]. Food Chemistry, 2025, 483: 144285.

[10] ZHAO Wenzhu, TAN Longbin, ZHANG Qian, et al. *In silico* identification and mechanistic evaluation of novel tyrosinase inhibitory peptides derived from coconut proteins[J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104595.

[11] LIN Haisheng, LI Fei, KANG Jiaao, et al. *In vitro in silico* screening strategy and mechanism of novel tyrosinase inhibitory peptides from nacre of *Hyriopsis cumingii*[J]. Marine Drugs, 2024, 22(9): 420.

[12] YU Zhipeng, FU Li, ZHANG Qian, et al. *In silico* identification and molecular mechanism of novel egg white-derived tyrosi-

nase inhibitory peptides[J]. Food Bioscience, 2024, 57: 103567.
[13] ZHANG Qiang, WU Caie, WANG Tao, et al. Improvement of biological activity of *Morchella esculenta* protein hydrolysate by microwave-assisted selenization[J]. Journal of Food Science, 2019, 84(1): 73−79.
[14] MINKIEWICZ P, IWANIAK A, DAREWICZ M. BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(23): 5978.
[15] 翟飞红, 王艳, 赵文婧, 等. 基于 UPLC-ESI-TOF-MS 技术的姬松茸和双孢蘑菇酚化合物定性分析及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(11): 276−281. [ZHAI Feihong, WANG Yan, ZHAO Wenjing, et al. Qualitative analysis of phenolic compounds from *Agaricus brasiliensis* and *Agaricus bisporus* by UPLC-ESI-TOF-MS and their antioxidant properties *in vitro*[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(11): 276−281.]
[16] 王璐馨. 油茶壳提取物的美白功效初探[D]. 杭州: 浙江大学, 2022. [WANG Luxin. Study on the whitening effect of *Camellia oleifera* shell extract[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2022.]
[17] 焦斐, 杨倩, 杨超, 等. 陇藜 1 号藜麦清蛋白体外消化产物抗氧化活性及结构特征分析[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(3): 116−126. [JIAO Fei, YANG Qian, YANG Chao, et al. Antioxidant activity and structural characteristics of digestion products of Longli 1 quinoa albumin *in vitro*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(3): 116−126.]
[18] DU Z J, COMER J, LI Y H. Bioinformatics approaches to discovering food-derived bioactive peptides: Reviews and perspectives[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 162: 117051.
[19] WANG Qianqian, YANG Zherui, ZHUANG Jiachen, et al. Antiaging function of Chinese pond turtle (*Chinemys reevesii*) peptide through activation of the Nrf2/Keap1 signaling pathway and its structure-activity relationship[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 961922.
[20] MATSUI R, HONDA R, KANOME M, et al. Designing antioxidant peptides based on the antioxidant properties of the amino acid side-chains[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 750−755.
[21] 付镓榕, 马尚玄, 魏元苗, 等. 澳洲坚果抗氧化肽的分离纯化及肽段鉴定[J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 91−99. [FU Jiarong, MA Shangxuan, WEI Yuanmiao, et al. Separation, purification and identification of antioxidant peptides derived from *Macadamia integrifolia*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(6): 91−99.]
[22] CHAN P T, MATANJUN P, BUDIMAN C, et al. Novel peptide sequences with ACE-inhibitory and antioxidant activities derived from the heads and bones of hybrid groupers (*Epinephelus lanceolatus×Epinephelus fuscoguttatus*)[J]. Foods, 2022, 11(24): 3991.
[23] XU Baoting, DONG Qin, YU Changxia, et al. Advances in research on the activity evaluation, mechanism and structure-activity relationships of natural antioxidant peptides[J]. Antioxidants, 2024, 13(4): 479.
[24] HUANG Pantian, MIAO Jianyin, LIAO Wanwen, et al. Rapid screening of novel tyrosinase inhibitory peptides from a pearl shell meat hydrolysate by molecular docking and the anti-melanin mechanism[J]. Food & Function, 2023, 14(3): 1446−1458.
[25] MENG Jinhao, LIU Jiaojiao, LU Jing, et al. Isolation, identification, and preparation of tyrosinase inhibitory peptides from *Pinctada martensii* meat[J]. Biotechnology Letters, 2023, 45(11-12): 1495−1511.
[26] 李璇, 谢莎, 卢海立, 等. 牦牛骨胶原蛋白酪氨酸酶抑制肽的分离纯化及构效关系分析[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(23): 227−234. [LI Xuan, XIE Sha, LU Haili, et al. Separation, purification, and structure-activity relationship analysis of tyrosinase inhibitory peptides derived from yak bone collagen protein[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(23): 227−234.]
[27] SCHURINK M, van BERKEL W J H, WICHERS H J, et al. Novel peptides with tyrosinase inhibitory activity[J]. Peptides, 2007, 28(3): 485−495.
[28] 胡姿姿. 鱼蛋白胶水解物酪氨酸酶抑制肽的筛选鉴定、抑制机制及其对抗黑色素能力的影响研究[D]. 南昌: 江西师范大学, 2022. [HU Zizi. Screening, identification and mechanism of tyrosinase inhibitory peptides in fish gelatin hydrolysate and its effect on anti-melanin ability[D]. Nanchang: Jiangxi Normal University, 2022.]
[29] MUTTENTHALER M, KING G F, ADAMS D J, et al. Trends in peptide drug discovery[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2021, 20(4): 309−325.
[30] GOTE S, THAPA S, DUBEY S, et al. Computational investigation of quinazoline derivatives as Keap1 inhibitors for Alzheimer's disease[J]. Informatics in Medicine Unlocked, 2023, 41: 101334.
[31] SONG Yuqiong, CHEN Shengjun, LI Laihao, et al. The hypopigmentation mechanism of tyrosinase inhibitory peptides derived from food proteins: An overview[J]. Molecules, 2022, 27(9): 2710.
[32] GEVRENOVA R, ZENGIN G, BALABANOVA V, et al. *Pelargonium graveolens*: Towards in-depth metabolite profiling, antioxidant and enzyme-inhibitory potential[J]. Plants, 2024, 13(18): 2612.
[33] 刘鑫, 罗唐君, 韩丽娟, 等. 藏羊血红蛋白抗氧化肽模拟酶解筛选及活性验证[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(7): 64−73. [LIU Xin, LUO Tangjun, HAN Lijuan, et al. Simulated enzymatic screening and activity validation of antioxidant peptides from Tibetan sheep hemoglobin[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(7): 64−73.]
[34] 于梦怡, 刘世林, 黄志远, 等. 青刺果抗氧化肽的分离纯化、结构鉴定及其分子对接解析[J]. 食品科学技术学报, 2024, 42(2): 109−119. [YU Mengyi, LIU Shilin, HUANG Zhiyuan, et al. Isolation, purification, structure identification and molecular docking analysis of antioxidant peptide from *Prinsepia utilis* royle[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(2): 109−119.]
[35] PLÁCIDO A, BUENO J, BARBOSA E A, et al. The antioxidant peptide salamandrin-I: First bioactive peptide identified from skin secretion of *Salamandra* genus (*Salamandra salamandra*)[J]. Biomolecules, 2020, 10(4): 512.
[36] YU Zhipeng, LV Hong, ZHOU Mingjie, et al. Identification and molecular docking of tyrosinase inhibitory peptides from allophycocyanin in *Spirulina platensis*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(6): 3648−3653.
[37] WANG Wen, LIN Haisheng, SHEN Weiqiang, et al. Optimization of a novel tyrosinase inhibitory peptide from *Atrina pectinata* mantle and its molecular inhibitory mechanism[J]. Foods, 2023, 12(21): 3884.
[38] XIAO Xingyu, MENG Jilun, CHEN Xi, et al. Preparation, identification, and cellular antioxidant activity evaluation of antioxidant peptides from the antler tips of Sika deer (*Cervus nippon*)[J]. Journal of Food Biochemistry, 2025, 2025: 9974213.
[39] XU Zhengli, HU Qiuhui, XIE Minhao, et al. Protective ef-

fects of peptide KSPLY derived from *Hericium erinaceus* on H_2O_2-induced oxidative damage in HepG2 cells[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(5): 1893−1904.

[40] YAP P G, GAN C Y, NAHARUDIN I, et al. Effect of chicken egg white-derived peptide and hydrolysates on abnormal skin pigmentation during wound recovery[J]. Molecules, 2023, 28(1): 92.

[41] LEE K H, KIM U J, LEE B H, et al. Safeguarding the brain from oxidative damage[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2025, 226: 143−157.

[42] D'MELLO S, FINLAY G, BAGULEY B, et al. Signaling pathways in melanogenesis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(7): 1144.

[43] 成翠, 兰乾敏, 王婷玉, 等. 基于网络药理学与分子对接探讨杜仲雄花多肽抗氧化机制[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(24): 253−260. [CHENG Cui, LAN Qianmin, WANG Tingyu, et al. Exploring antioxidant mechanism of peptides from *Eucommia ulmoides* male flowers based on network pharmacology and molecular docking[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(24): 253−260.]

[44] 潘素跃, 胡敏, 王朴, 等. 逍遥丸治疗黄褐斑的分子机制: 基于整合网络药理学和生物信息学方法[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2023, 30(3): 211−218. [PAN Suyue, HU Min, WANG Pu, et al. Bioactive components and molecular mechanisms of Xiaoyao pill in the treatment of chloasma: Based on integrated network pharmacology and bioinformatics methods[J]. Journal of Diagnosis and Therapy on Dermato-Venereology, 2023, 30(3): 211−218.]

[45] ZAWROTNIAK M, BARTNICKA D, RAPALA-KOZIK M. UVA and UVB radiation induce the formation of neutrophil extracellular traps by human polymorphonuclear cells[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2019, 196: 111511.

[46] FU Wencai, WU Zhifang, ZHENG Rui, et al. Inhibition mechanism of melanin formation based on antioxidant scavenging of reactive oxygen species[J]. The Analyst, 2022, 147(12): 2703−2711.

[47] TANWAR J, SAURAV S, BASU R, et al. Mitofusin-2 negatively regulates melanogenesis by modulating mitochondrial ROS generation[J]. Cells, 2022, 11(4): 701.

[48] GUO Lijuan, LUO Hongyang, LEI Yuxin, et al. Diosmetin inhibits NETs formation in neutrophils through regulating Nrf2 signaling[J]. Thoracic Cancer, 2025, 16(6): e70040.

[49] LI Zhengyi, CHANG Shuhao, LIU Kuangting, et al. Low-dose imiquimod induces melanogenesis in melanoma cells through an ROS-mediated pathway[J]. Journal of Dermatological Science, 2024, 113(1): 18−25.

[50] FU Chuhan, CHEN Jing, LU Jianyun, et al. Roles of inflammation factors in melanogenesis (Review)[J]. Molecular Medicine Reports, 2020: 1421-1430.

[51] COOK-MILLS J M, MARCHESE M E, ABDALA-VALENCIA H. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and signaling during disease: Regulation by reactive oxygen species and antioxidants[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2011, 15(6): 1607−1638.

[52] LEE Y J, CHOI J H, KANG K K, et al. Antioxidant and antimelanogenic activities of *Lactobacillus kunkeei* NCHBL-003 isolated from honeybees[J]. Microorganisms, 2024, 12(1): 188.

[53] 郑雅, 王博龙. 栝楼桂枝汤治疗脑卒中后下肢痉挛的网络药理学研究[J]. 中草药, 2019, 50(22): 5499−5507. [ZHENG Ya, WANG Bolong. Study on network pharmacology of Gualou Guizhi decoction in treatment of lower limb spasm after cerebral apoplexy[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(22): 5499−5507.]

[54] 苏俊, 战杰, 王思夏, 等. 基于生物信息学方法对 HDACi 治疗黑色素瘤的免疫学机制探讨[J]. 实用手外科杂志, 2025, 39(1): 77−81. [SU Jun, ZHAN Jie, WANG Sixia, et al. An bioinformatics approach to explore the immunological mechanism of HDACI in the treatment of melanoma[J]. Journal of Practical Hand Surgery, 2025, 39(1): 77−81.]