

两种新型螺旋藻藻蓝蛋白源多肽制备及护肤功效评价

作者

1. 山东福瑞达生物股份有限公司, 山东济南 250101;
2. 山东福瑞达生物科技有限公司, 山东临沂 276000
..... 李晓杰¹ 王晓娜^{1#} 郭海姣¹ 韩婷婷¹
..... 杨素珍¹ 宁辉¹ 林娣¹ 李静静²

作者简介

李晓杰 (1996—), 女, 硕士, 工程师, 主要从事化妆品研发及应用工作。

[#]通信作者: 王晓娜 (1988—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要从事化妆品研发及应用工作。

联系电话: 13256670868

E-mail: xiaonawang0715@163.com

摘要

以螺旋藻藻蓝蛋白为原料, 通过酶解、纯化及结构鉴定, 成功筛选出2种新型活性多肽FMR (分子质量453.39 Da) 和FPPWE (分子质量675.56 Da)。二者DPPH自由基清除率分别为83.34%、85.36%, ABTS自由基清除率分别为84.63%、86.68%, 表明其抗氧化能力优异; 1 mg/mL多肽FMR和FPPWE的酪氨酸酶抑制率分别为20.14%、16.54%, 且无细胞毒性, 安全性良好; 人皮肤成纤维细胞试验结果显示, FMR和FPPWE对I型胶原蛋白提升率分别为18.68%、44.84%, 对III型胶原蛋白提升率分别为67.35%、53.53%, 表明两者具有抗皱紧致的功效; 进一步通过相关蛋白荧光表达检测, 二者对Claudin-1提升率分别为210.52%、152.63%, 对LOR提升率分别为268.18%、104.54%, 对FLG提升率分别为323.08%、400.00%, 表明两者有助于肌肤屏障修护。综上, FMR和FPPWE多肽在美白、抗皱紧致及修护方面具有广阔的应用前景。

关键词

螺旋藻藻蓝蛋白多肽 分子对接 美白 紧致 修护

Preparation and Evaluation of Skin Care Efficacy of Two New Types of *Spirulina* Phycocyanin Source Skin Care Peptides

LI Xiaojie¹ WANG Xiaona^{1#} GUO Haijiao¹ HAN Tingting¹ YANG Suzhen¹ NING Hui¹ LIN Di¹ LI Jingjing²

(1. Shandong Freda Biotech Co., Ltd., Jinan 250101, Shandong, China; 2. Shandong Freda Biotechnology Co., Ltd., Linyi 276000, Shandong, China)

Abstract: Using *Spirulina* phycocyanin as raw material, 2 novel active peptides FMR (molecular weight 453.39 Da) and FPPWE (molecular weight 675.56 Da) were successfully screened out through enzymolysis, purification and structural identification. Their DPPH radical scavenging rates were 83.34% and 85.36% respectively, and ABTS radical scavenging rates were 84.63% and 86.68% respectively, indicating excellent antioxidant capacity. The tyrosinase inhibition rates of 1 mg/mL FMR and FPPWE were 20.14% and 16.54% respectively, with no cytotoxicity, showing good safety. Human skin fibroblast experiment showed that the increase rates of type I collagen by FMR and FPPWE were 18.68% and 44.84% respectively, and the increase rates of type III collagen were 67.35% and 53.53% respectively, indicating that both peptides had the effects of anti-wrinkle and firming. Further detection of fluorescence expression of related proteins showed that the increase rates of Claudin-1 were 210.52% and 152.63% respectively, those of LOR were 268.18% and 104.54% respectively,

收稿日期: 2025-04-11; 修回日期: 2025-07-18

and those of FLG were 323.08% and 400.00% respectively, indicating that both peptides possessed skin barrier efficacy. In conclusion, FMR and FPPWE peptides have broad application prospects in whitening, anti-wrinkle firming and skin repairing.

Keywords: *Spirulina* phycocyanin polypeptide molecular docking whitening firming repairing

螺旋藻 (*Spirulina platensis*) 作为一种高营养价值的蓝藻,其蛋白质含量高达 50%~70% (质量分数),近年来在食品、医药和化妆品领域备受关注^[1-2]。其中,藻蓝蛋白 (C-phycocyanin, CPC) 是螺旋藻中主要的藻胆蛋白,具有抗氧化、抗炎、免疫调节等多种生物活性,尤其因其对紫外线诱导的皮肤光老化具有显著保护作用而被广泛研究^[3]。然而,藻蓝蛋白分子质量较大,透皮吸收率较低,限制了其在护肤品中的直接应用^[4]。

近年来,通过酶解技术将蛋白质转化为生物活性多肽已成为功能性原料开发的重要方向。与完整藻蓝蛋白相比,多肽分子质量小、水溶性好,更易被皮肤吸收,且部分多肽表现出更强的抗氧化、抗酪氨酸酶活性等功效^[5-6]。现有研究已证实,螺旋藻可通过抑制酪氨酸酶活性、清除自由基等机制,有效减少黑色素生成并延缓皮肤氧化损伤^[7]。然而,当前针对藻蓝蛋白多肽的制备工艺优化及其护肤功效的系统研究仍较为匮乏,且鲜见对多肽序列与功能活性的关联性分析。

以螺旋藻藻蓝蛋白为亲本蛋白,采用复合蛋白酶酶解法制备并分离、纯化藻蓝蛋白源多肽。通过分子对接技术等生物信息学方法对得到的多肽理化性质、毒性、生物活性等进行预测,并采用体外细胞试验方法进一步对护肤功效进行验证,以期制备出具有护肤功效的螺旋藻藻蓝蛋白源新型生物活性肽,为其在护肤领域的应用提供依据。

1 试验部分

1.1 材料与仪器

钝顶螺旋藻粉,西安晋恒化工有限公司;蘑菇酪氨酸酶、熊果苷、曲酸,美国 Sigma-Aldrich 公司;蛋白酶类 (碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶),磷酸缓冲液 (PBS),北京索莱宝科技有限公司;成纤维细胞、角质形成细胞、KcGrowth 培养液,广东博溪生物科技有限公司;DMEM 培养液, Gibco 公司;噻唑蓝 (MTT)、二甲基亚砜 (DMSO), Sigma 公司;转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), Peprotech 公司;ELISA 试剂盒, Cusabio 公司;0.22 μm 有机滤膜 (直径 50 mm)、0.22 μm 尼龙微孔滤头, 济南隆成生物公司;1,1-二苯基-2-

三硝基苯肼 (DPPH)、2,2'-联氮-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二铵盐 (ABTS)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、盐酸、无水乙醇、甲酸 (色谱级)、乙腈 (色谱级)、甲醇 (色谱级), 国药集团化学试剂有限公司。

FreeZone[®] 型冷冻干燥机, Labconco 公司; Athena C₁₈-WP 型色谱柱、Agilent-1260 LC 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; 高效液相色谱-质谱联用仪, 美国 Waters 公司; 普通 PCR 仪, 博日科技股份有限公司; CFX-96 型荧光定量 PCR 仪, 伯乐生命医学产品有限公司; CO₂ 细胞培养箱、DZKW-S-8 型电热恒温水浴锅、紫外分光光度计, Thermo Fisher 公司; Starter3100 型 pH 计, 常州市奥豪斯仪器有限公司; Epoch 型酶标仪, 美国 Bio Tek Instruments 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 螺旋藻藻蓝蛋白的提取

螺旋藻藻蓝蛋白提取参考董硕等^[8]的方法: 采用反复冻融法破碎螺旋藻, 经盐析提取藻蓝蛋白粗提液。采用疏水层析纯化藻蓝蛋白, 分离纯化参考陈盛仕等^[9]的方法, 最后用透析袋透析除盐, 即为纯化的藻蓝蛋白溶液。

1.2.2 螺旋藻藻蓝蛋白肽的制备及结构鉴定

1) 将螺旋藻藻蓝蛋白溶液 pH 调节至 8, 加入 4 500 U/g 的复合蛋白酶 ($m_{\text{碱性蛋白酶}} : m_{\text{胰蛋白酶}} : m_{\text{木瓜蛋白酶}} = 1 : 1 : 1$), 混匀后置于摇床中振荡酶解, 摇床转速为 100~200 r/min, 酶解时间 5 h, 酶解温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 。沸水浴 10 min 终止酶解反应。

2) 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000~12 000 r/min 下将酶解液离心 15 min, 收集上清液, 弃去沉淀。上清液即为螺旋藻藻蓝蛋白肽溶液。选用 3 kDa 超滤膜进行超滤, 得到分子质量小于 3 kDa 的肽液, 冷冻干燥, 得到藻蓝蛋白肽冻干粉。

3) 用超纯水复溶藻蓝蛋白肽冻干粉, 经 0.22 μm 水系滤膜过滤, 经液相色谱按照出峰时间收集样品, 进行初步分离。超高效液相色谱条件: 流动相 A 为体积分数 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液; 洗脱时间为 60 min, 梯度洗脱条件见表 1; 进样量为 5 μL , 流

速为 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

表1 流动相洗脱程序(均为体积分数)

时间/min	流动相A	流动相B
0	95%	5%
5	95%	5%
45	50%	50%
50	10%	90%
55	10%	90%
60	95%	5%

串联质谱采用正离子模式, 二级质谱分析, 以 120 000 的分辨率在 100 ~ 2 000 m/z 进行全 MS 扫描, 具体质谱参数设定见表 2。

表2 串联质谱分析条件

参数	MS	MS/MS
毛细管电压	3 500 V	3 500 V
离子扫描范围	100 ~ 2000 m/z	60 ~ 1 000 m/z
采集频率	4 Hz	2 Hz
锥孔电压	20 V	20 V
离子源温度	100 $^{\circ}\text{C}$	100 $^{\circ}\text{C}$
脱溶剂温度	400 $^{\circ}\text{C}$	400 $^{\circ}\text{C}$
脱溶剂气流量	700 L/h	700 L/h
锥孔气流量	50 L/h	50 L/h
碰撞电压	6/20 eV	10 ~ 25 eV

质谱数据分析: 通过 MMFileConversion 软件将质谱原始文件转换成 MGF 格式, 再利用 Mascot 质谱数据分析平台对 Uniprot 数据库中的蛋白质数据进行检索。具体检索参数见表 3。

表3 Mascot 检索参数

参数	设定值
固定修饰	脲甲基化(C)
可变修饰	氧化(M)
酶	无
最大切割位点数量	1
一级质谱质量容差	1.2 Da
二级质谱容差	0.6 Da
肽段/碎片离子质量数	单一同位质量
电荷肽	1+、2+和 3+
显著性阈值	0.05

注: 检索比对数据库 <http://www.uniprot.org/taxonomy/8139>, 检索软件 <http://www.matrixscience.com/>。

1.2.3 藻蓝蛋白肽的潜在生物学活性和毒性预测

(1) 生物活性与毒性预测

利用 Peptide Ranker 在线平台 (<http://distilldeep.ucd>) 对所得多肽序列的潜在生物活性进行分析, 模型预设阈为 0.5, 超过 0.5 视为具有潜在生物活性。选择阈值 > 0.8 作为高活性多肽的筛选条件。

采用 ToxinPrep (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/>

) 平台, 基于 SVM (Swiss-Port 数据集) 算法预测多肽序列潜在毒性。

(2) 抗氧化活性预测

采用 AnoxPepred 平台对筛选出的无毒性 and 潜在生物活性多肽进行抗氧化活性预测。分析模型选择 PeptideMode, 设置最小和最大肽链长度参数。以 FRS score > 0.5 或 CHEL score > 0.25 为多肽具有抗氧化活性的标志, 最终选定 2 个新型活性肽用于后续试验验证。

(3) 新型活性肽的制备及结构鉴定

采用 1.2.2 节方法对选定的 2 个新型活性肽 (FMR 和 FPPWE) 进行液相色谱分离纯化, 并利用超高效液相色谱-串联质谱法鉴定组分的序列结构和分子质量。

(4) 分子对接试验

将筛选到的 2 个新型活性肽与细胞酪氨酸酶 (tyrosinase) 进行分子对接。利用 Pepsite2.0 (<http://Pepsites2.russelllab.org/>)、AutoDock1.5.6 与来自 PDB 数据库 (登录号 2IMG) 的 tyrosinase 结构进行模拟分子对接试验并计算对接分数, 利用 Pyrx 软件 (<https://pyrx.sourceforge.io/>) 内部的 Vina 对接 tyrosinase 靶点结构。其结合自由能 (Affinity) 代表两者的结合能力。Affinity 值越低, 说明配体与受体结合越稳定。

(5) 化学合成螺旋藻藻蓝蛋白肽

将筛选得到的 2 个多肽序列交由南京肽谷生物科技股份有限公司进行合成, 合成方法采用 Fmoc 氨基酸固相合成技术。

1.2.4 体外生物活性试验

多肽 FMR、FPPWE 的体外抗氧化活性采用 DPPH 和 ABTS 自由基清除率试验测定^[10]。

1.2.5 细胞毒性和体外酪氨酸酶抑制试验

(1) 细胞毒性试验方法: 参考招敏聪等^[11]方法。试验共设 5 组: 空白对照组 (BC)、 α -熊果苷对照组、曲酸对照组、FMR 试验组、FPPWE 试验组。多肽试验组设置 1、2、4、6、8、10 mg/mL 共 6 个质量浓度梯度; 对照组的质量浓度为 0.5 mg/mL, 每组均设 3 个复孔。BC 组仅添加基础培养基, 所有处理组均使用添加相应物质的培养基, 调零组不含细胞。在细胞培养箱 (37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2) 中放置经过处理的 96 孔板, 培养 24 h。用酶标仪在 490 nm 处测定吸光度 (A), 按式 (1) 计算细胞相对活力 (L)。

$$L = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{调零}}}{A_{\text{空白}} - A_{\text{调零}}} \times 100\% \quad (1)$$

(2) 采用酪氨酸酶活性抑制率评价藻蓝蛋白肽的美白效果^[12]。分别设置空白对照(BC)孔(孔1)、阴性对照孔(孔2)、 α -熊果苷对照孔(孔3)、曲酸对照孔(孔4)、FMR样品孔(孔5)、FPPWE样品孔(孔6);其中孔5和孔6分别设置6个

质量浓度梯度,分别为1、2、4、6、8、10 mg/mL,具体如表4所示。在波长475 nm处用酶标仪测定吸光度(A),按式(2)计算酪氨酸酶活性抑制率(Y)。

$$Y = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{孔1}}}{A_{\text{孔2}} - A_{\text{孔1}}}\right) \times 100\% \quad (2)$$

表4 酪氨酸酶活性抑制试验组设置

单位: μL

试剂	孔1	孔2	孔3	孔4	孔5	孔6
L-酪氨酸溶液(1.5 mg/mL)	0	40	40	40	40	40
FMR溶液(1/2/4/6/8/10 mg/mL)	0	0	0	0	40	0
FPPWE溶液(1/2/4/6/8/10 mg/mL)	0	0	0	0	0	40
α -熊果苷溶液(1.6 mg/mL)	0	0	40	0	0	0
曲酸溶液(1.6 mg/mL)	0	0	0	40	0	0
PBS缓冲液(0.05 mol/mL, pH 6.8)	110	70	30	30	30	30
酪氨酸酶溶液(400 U/mL)	20	20	20	20	20	20
总计	130	130	130	130	130	130

1.2.6 人皮肤成纤维细胞中I型和III型胶原蛋白含量测试

以人皮肤成纤维细胞(HSF)为模式细胞株,具体方法参考文献[13]。分别设置空白对照组(BC)、阳性对照组(PC)和样品组,各试验组设计如表5所示。按ELISA试剂盒说明书测定各试验组I型和III型胶原蛋白的质量浓度(M),按式(3)计算胶原蛋白提升率(T_1)。

$$T_1 = \frac{M_{\text{样品}} - M_{\text{空白}}}{M_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.7 基于角质形成细胞的修护相关蛋白测试

试验以角质形成细胞(HaCaT)作为模式细

胞株,设置FMR和FPPWE样品组、BC组、阴性对照组(NC)及PC组,各试验组设计如表6所示。采用免疫荧光检测修护蛋白表达,按式(4)计算相关蛋白提升率(T_2)。

$$T_2 = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (4)$$

表5 成纤维细胞的I型和III型胶原蛋白测试方案

试验分组	样品	样品质量浓度
BC	/	/
PC	TGF- β 1	2 mg/mL
FMR样品组	FMR	2 mg/mL
FPPWE样品组	FPPWE	2 mg/mL

表6 修护相关蛋白测试方案

试验分组	样品名称	样品质量浓度	刺激条件	检测模型	检测指标	检测方法
BC	/	/	/	HaCaT	Claudin-1、FLG、LOR	免疫荧光检测
NC	/	/	UVB (30 J/cm ²)			
PC	WY(14643)	2 mg/mL				
FMR 样品组	FMR	2 mg/mL				
FPPWE 样品组	FPPWE	2 mg/mL				

2 结果与讨论

2.1 螺旋藻藻蓝蛋白肽结构测定结果

按照1.2.3节方法对目标多肽采用RP-HPLC和MS鉴定其分子结构、纯度和分子质量。经HPLC分析,FMR多肽样品纯度较高(主峰保留时间约13.10 min,杂质峰<5%);ESI-MS实测[M+H]⁺为

m/z 453.39,与FMR理论分子质量(约452.4 Da)吻合。FPPWE多肽样品纯度良好,主峰保留时间约14.44 min。ESI-MS实测[M+H]⁺为 m/z 675.56,与FPPWE理论分子质量(约674.56 Da)吻合。上述结果表明,2种藻蓝蛋白源活性多肽的分子质量符合要求,分子结构式分别见图1、2。

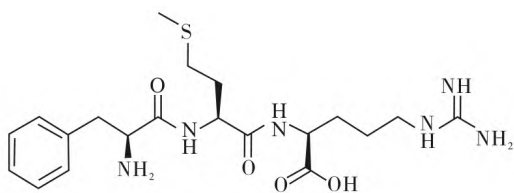


图1 多肽FMR结构式

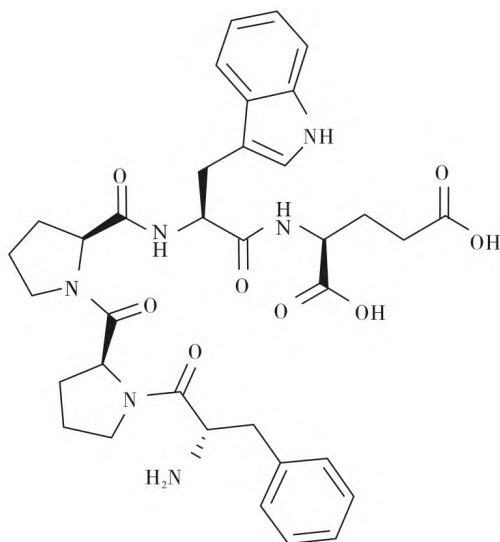


图2 多肽FPPWE结构式

2.2 分子对接试验结果

将多肽FMR、FPPWE与PDB数据库中tyrosinase(登录号为2IMG)进行分子分析对接,研究多肽与酪氨酸酶之间的相互作用亲和力,如图3所示。由结果可知,多肽FMR与酪氨酸酶的GLU113、ARG15、ASN85、ASP82位点形成氢键,结合得较紧密;多肽FPPWE与酪氨酸酶的ASP65、GLU44、GLY46、PRO47、HIS49、SER50位点形成氢键,结合得较紧密。一般认为, Affinity值小于 -4.25 kcal/mol(约 -18.8 kJ/mol)说明两者之间具有一定的结合活性,小于 -5.0 kcal/mol表示有较好的结合活性,小于 -7.0 kcal/mol表示有强烈的结合活性^[4]。多肽FMR、FPPWE与酪氨酸酶结合所需要的 Affinity 值分别为 -7.8 、 -9.0 kcal/mol,均表现出强烈的结合活性。

2.3 螺旋藻藻蓝蛋白肽的体内外生物活性检测

(1) DPPH 自由基清除率试验

DPPH 自由基清除率如图4(a)所示,抑制率越高,表明清除DPPH自由基能力越强。多肽FMR的DPPH自由基清除率为83.34%,多肽FPPWE的DPPH自由基清除率为85.36%,均具有较好的DPPH自由基清除活性。

(2) ABTS 自由基清除率试验

ABTS 自由基清除率如图4(b)所示。经计算,多肽FMR的ABTS自由基清除率为84.63%,多肽FPPWE的ABTS自由基清除率为86.68%,均具有较好的ABTS自由基清除活性。

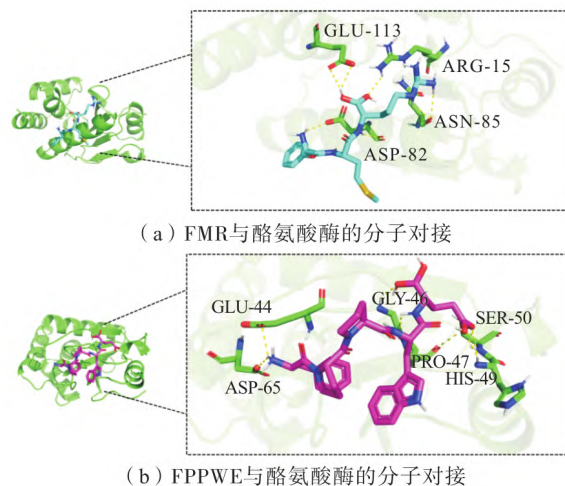


图3 FMR、FPPWE与酪氨酸酶的模拟分子对接

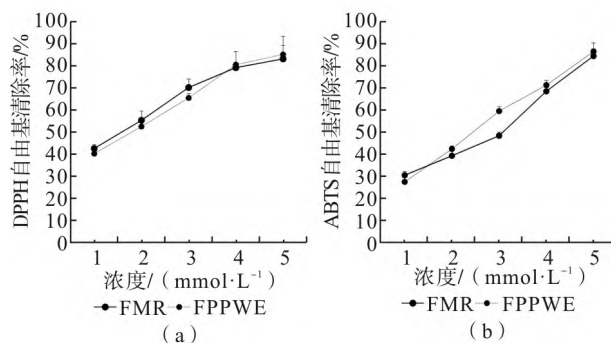


图4 生物活性测试结果

2.4 细胞毒性和体外酪氨酸酶抑制试验结果

不同质量浓度的多肽FMR和FPPWE作用下B16-F10细胞存活率如图5(a)、(b)所示。BC组细胞存活率为100%,阳性对照组0.5 mg/mL α -熊果苷和0.5 mg/mL 曲酸作用后细胞存活率分别为80.20%、63.10%。随着多肽质量浓度增加,多肽FMR、FPPWE作用后细胞存活率逐渐降低,其中8 mg/mL FPPWE作用后细胞存活率最低,为80.78%。不同质量浓度的多肽FMR和FPPWE对B16-F10细胞存活率的影响均低于0.5 mg/mL α -熊果苷和曲酸,表明多肽FMR和FPPWE的毒性显著低于熊果苷和曲酸。

蘑菇源酪氨酸酶活性抑制率如图5(c)、(d)所示。阳性对照组0.5 mg/mL的 α -熊果苷和曲酸

对酪氨酸酶的抑制率分别为37.93%和25.32%,且差异显著,证实了阳性对照的有效性。1 mg/mL多肽FMR对酪氨酸酶的抑制率为20.14%,质量浓度增至10 mg/mL时抑制率提升至36.45%。1 mg/mL

多肽FPPWE抑制率为16.54%,质量浓度增至10 mg/mL时抑制率上升至31.15%。这些结果表明,多肽FMR和FPPWE均能有效抑制酪氨酸酶活性,具有潜在的美白功效。

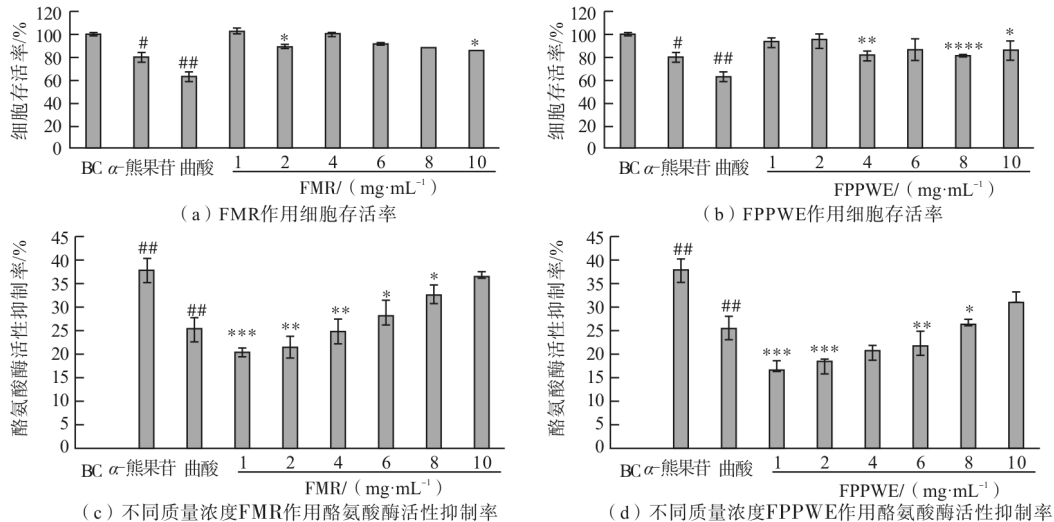


图5 细胞存活率和酪氨酸酶抑制结果

注:与BC组相比,#表示 $P<0.05$,##表示 $P<0.01$;与α-熊果苷相比,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$,****表示 $P<0.0001$ 。

2.5 抗皱紧致及修护功效检测

2.5.1 I型和III型胶原蛋白基因含量测定

皮肤胶原蛋白主要由I型和III型胶原蛋白组成,在维持皮肤紧致度和弹性方面起着重要作用。随着年龄的增长,两者合成量减少,导致皮肤出现皱纹和松弛^[15]。I型胶原是由2条肽链构成紧密的螺旋结构,赋予胶原蛋白很高的张力和强度,为组织提供稳定的结构支撑。III型胶原呈疏网状围绕于细胞周围,由3条肽链组成三螺旋结构,赋予肌肤更好的柔韧性和弹性^[16]。

由图6所示,与BC组相比,PC组I型和III型胶原蛋白含量显著上升,说明阳性对照测试有效;FMR和FPPWE样品组I型和III型胶原蛋白含量均较BC组显著上升,其中FMR组提升率分别为18.68%和67.35%,FPPWE组分别为44.84%和

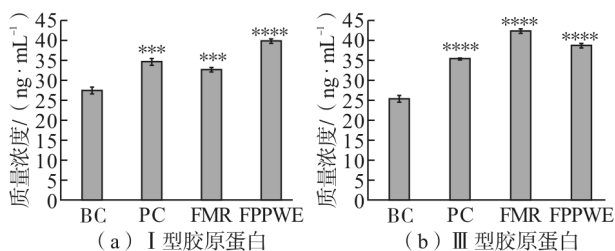


图6 抗皱紧致蛋白含量检测结果

注:与BC组相比,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$,****表示 $P<0.0001$;图7同。

53.53%。因此,FMR和FPPWE均可通过促进I型和III型胶原蛋白合成实现紧致肌肤的功效。

2.5.2 修护相关蛋白荧光表达结果

Claudin-1是表达于颗粒层角质形成细胞重要的屏障相关蛋白,是细胞间紧密连接的骨架蛋白,参与维持紧密连接的各种功能^[17]。兜甲蛋白(LOR)是角质包膜的主要成分,约占角质包膜蛋白质量的80%,可加固角质包膜,增强渗透屏障。丝聚蛋白(FLG)是存在于人表皮角质形成细胞内一种易溶于水的酸/中性蛋白,可与LOR一起支撑角质细胞的强度和外形,并与细胞间脂质通过共价键结合,增强角质层“砖墙”结构的完整性和紧密性,阻隔外界环境及微生物侵害,避免水分过多散失^[18-19]。

如图7所示,与BC组相比,NC组的Claudin-1和FLG、LOR相对积分光密度(OD)值均显著下降,说明测试条件有效;与NC组相比,PC组上述蛋白OD值显著上升,说明阳性对照有效。FMR样品组处理后,Claudin-1、LOR和FLG的OD值显著上升,提升率分别为210.52%、268.18%和323.08%;FPPWE样品组上述蛋白OD值亦显著上升,提升率分别为152.63%、104.54%和400.00%。表明FPPWE和FMR均可促进修护相关蛋白的生成,从而达到修护肌肤的作用。

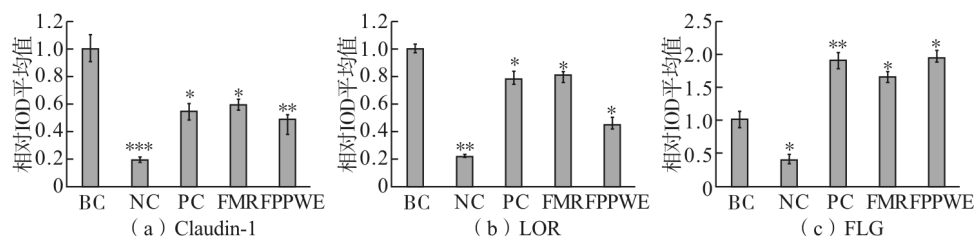


图7 修护相关蛋白 IOD 值

3 结论

从螺旋藻藻蓝蛋白酶解产物中筛选鉴定得到 2 个新型肽 FMR、FPPWE，分子质量分别为 453.39、675.56 Da，体外试验证明 FMR 和 FPPWE 具有良好的自由基清除能力和酪氨酸酶抑制活性，且细胞毒性低于曲酸和 α -熊果苷等美白成分^[20-21]。此外，2 mg/mL 的 FMR 和 FPPWE 显著提升成纤维细胞中 I 型和 III 型胶原蛋白的含量，具有抗皱紧致的功效；FMR 和 FPPWE 可显著促进角质形成细胞 Claudin-1、LOR 和 FLG 生成，具有修护肌肤的功效。

综上，FMR 和 FPPWE 多肽具有良好的美白、紧致及修护功效，可为化妆品功效原料的开发提供数据支撑和理论指导。

参考文献

- [1] WU Q H, LIU L, MIRON A, *et al.* The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview [J]. Archives of Toxicology, 2016, 90(8): 1817-1840.
- [2] PEZ JAESCHKE D, ROCHA TEIXEIRA I, DAMASCENO FERREIRA MARCZAK L, *et al.* Phycocyanin from *Spirulina*: a review of extraction methods and stability [J]. Food Research International, 2021, 143: 110314.
- [3] 曾巧辉. 螺旋藻蛋白源生物活性肽的制备及其抗皮肤光老化机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [4] YUAN B, LI Z X, SHAN H H, *et al.* A review of recent strategies to improve the physical stability of phycocyanin [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 2329-2337.
- [5] 李湘河, 徐静雯, 赵勇. 钝顶螺旋藻中 C-藻蓝蛋白的提取及性质[J]. 上海海洋大学学报, 2025, 34(3): 651-663.
- [6] 王迪, 宾雁林, 赵大洲, 等. 螺旋藻中酪氨酸酶抑制活性多肽的研究[J]. 现代食品, 2022, 28(23): 167-170.
- [7] 张廷新. 藻蓝蛋白免疫肽的酶解制备、结构鉴定及功效评价[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2023.
- [8] 董硕, 蒲洋, 聂岩, 等. 红胞藻藻红蛋白的分离纯化及稳定性

研究[J]. 食品科技, 2023, 48(4): 230-236.

- [9] 陈盛仕, 刘梓宜, 李梦琪, 等. 钝顶螺旋藻藻蓝蛋白的提取工艺优化及其纯化研究[J]. 广西科学院学报, 2022, 38(4): 388-402.
- [10] 郭芳钰, 韩婷婷, 王晓娜, 等. 中药双向发酵液制备及其抗衰老、保湿、美白功效研究[J]. 日用化学工业(中英文), 2023, 53(5): 523-531.
- [11] 招敏聪, 张丽山, 田佳佳, 等. 松茸美白功效研究[J]. 香料香精化妆品, 2023(5): 74-80.
- [12] 张建友. 竹子精华水的成分分析及生物学活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [13] 吴黎明, 吴田田, 王长明, 等. 一款含泰束胶原蛋白肽功效护肤产品在面部抗老化方面的研究进展[J]. 中国医疗器械信息, 2024, 30(1): 60-64.
- [14] 左文明, 李锦萍, 李彩明, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 结合网络药理学和分子对接探讨椭圆叶花锚抗肝炎的药效物质及作用机制[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1946-1956.
- [15] FISHER G J, QUAN T H, PUROHIT T, *et al.* Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin [J]. The American Journal of Pathology, 2009, 174(1): 101-114.
- [16] LIU N, MATSUMURA H, KATO T, *et al.* Stem cell competition orchestrates skin homeostasis and ageing [J]. Nature, 2019, 568(7752): 344-350.
- [17] SOARES P, FIDLER K, FELTON J, *et al.* Individuals with filaggrin-related eczema and asthma have increased long-term medication and hospital admission costs [J]. British Journal of Dermatology, 2018, 179(3): 717-723.
- [18] CAU L, PENDARIES V, LHUILLIER E, *et al.* Lowering relative humidity level increases epidermal protein deimination and drives human filaggrin breakdown [J]. Journal of Dermatological Science, 2017, 86(2): 106-113.
- [19] MCLEAN W H I. Filaggrin failure: from ichthyosis vulgaris to atopic eczema and beyond [J]. British Journal of Dermatology, 2016, 175: 4-7.
- [20] 聂燕敏, 齐丽娟, 宁钧宇, 等. 曲酸对健康影响的危害评估[J]. 毒理学杂志, 2024, 38(2): 109-115.
- [21] 吴姣娇, 章为, 王彦超, 等. 3 种熊果苷的安全性评价进展及其化妆品法规管理现状[J]. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(7): 853-858.