李志豪, 王海珍, 刘振宇, 等. 基于广泛靶向代谢组学、网络药理学和分子对接揭示不同品种黄花菜黄酮的抗氧化机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(13): 334−346. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070338
LI Zhihao, WANG Haizhen, LIU Zhenyu, et al. Unveiling the Antioxidant Mechanism of Flavonoids in Different Varieties of Daylily via Integrating Widely Targeted Metabolomics, Network Pharmacology and Molecular Docking[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(13): 334−346. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070338

· 分析检测 ·

基于广泛靶向代谢组学、网络药理学和分子对接揭示不同品种黄花菜黄酮的抗氧化机制

李志豪[1,2,3], 王海珍[1,2,3], 刘振宇[4], 王　晗[5], 郭　尚[1,2,3,6,*], 付永霞[1,3,*]
（1.山西农业大学山西功能食品研究院, 山西太原 030031;
2.山西农业大学园艺学院, 山西太谷 030801;
3.农产品营养健康研究与加工技术山西省重点实验室, 山西太原 030031;
4.四川大学轻工科学与工程学院, 四川成都 610065;
5.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;
6.湖南农业大学动物医学院, 湖南长沙 410128）

摘　要: 黄花菜（*Hemerocallis citrina* Baroni）是一种药食两用食品，其核心功效成分为黄酮类化合物。不同品种的黄花菜中黄酮类化合物存在显著差异，从而影响其健康益处。本研究选取在山西大同地区种植的四个品种黄花菜作为研究对象，即大同黄花（DT）、马莲黄花（ML）、猛子花（MZ）和淮阳黄花（HY），通过广泛靶向组学分析揭示其中黄酮代谢物的组成。结果显示：DT 的总黄酮含量（TFC）最高，而 MZ 的抗氧化能力最强。从四个品种黄花菜中筛选到 10 种具有高度差异的黄酮类代谢物，与它们的抗氧化活性呈显著正相关。这些代谢物在 MZ 中的含量最高，对应其最强的抗氧化活性。网络药理学分析表明，与黄花菜中关键黄酮类化合物相关的抗氧化靶点主要集中在 PI3K-AKT 信号通路，其中 AKT1 和 EGFR 是核心抗氧化靶点。分子对接结果揭示了 10 种关键抗氧化黄酮化合物与 AKT 和 EGFR 均具有良好的结合力，表明这些黄酮类化合物可以显著缓解氧化应激。本研究为选育具有更好健康益处的黄花菜提供了重要理论依据。

关键词: 黄花菜, 黄酮类化合物, 代谢组学, 网络药理学, 分子对接
中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)13−0334−13
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070338　　本文网刊:

Unveiling the Antioxidant Mechanism of Flavonoids in Different Varieties of Daylily via Integrating Widely Targeted Metabolomics, Network Pharmacology and Molecular Docking

LI Zhihao[1,2,3], WANG Haizhen[1,2,3], LIU Zhenyu[4], WANG Han[5], GUO Shang[1,2,3,6,*], FU Yongxia[1,3,*]
（1.Shanxi Institute for Functional Food, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China;
2.College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;
3.Shanxi Provincial Key Laboratory of Agricultural Product Nutrition, Health Research and Processing Technology, Taiyuan 030031, China;

收稿日期: 2025−07−28
基金项目: 国家重点研发计划项目（2021YFD1600102）; 山西省基础研究计划项目（202203021222178）; 山西农业大学博士科研启动项目（2023BQ32）; 山西省特色农产品加工重点实验室开放基金（TSNCPJG2024-1）。
作者简介: 李志豪（2000−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 园艺植物品质研究, E-mail: 18834716156@163.com。
*** 通信作者:** 郭尚（1967−）, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食（药）用菌资源及综合利用, E-mail: guoshang@sxau.edu.cn。
付永霞（1995−）, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 杂粮及果蔬营养与加工, E-mail: fuyongxia@sxau.edu.cn。

4.College of Biomass Science & Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China；
5.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China；
6.College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China）

Abstract: *Hemerocallis citrina* Baroni (daylily) is a medicinal and edible food with flavonoids as its core active ingredient. Daylily showed significant differences in flavonoids across varieties, thereby impacting their health benefits. This study selected four daylily varieties in the Datong, namely Datong (DT), Mallian (ML), Mengzi (MZ), and Huaiyang (HY), for metabolomics to unravel their flavonoid composition. DT exhibited the highest total flavonoid content (TFC), while MZ demonstrated the strongest antioxidant potential. There were ten highly differential flavonoid metabolites in four daylily varieties that had a significant positive correlation with their antioxidant activity. Notably, the levels of these metabolites in MZ were the highest, corresponding to its strongest antioxidant activity. Network pharmacology analysis revealed that antioxidant targets associated with key flavonoids in daylily were primarily focused on PI3K-AKT signaling pathway, identifying AKT1 and EGFR as the core antioxidant targets. Molecular docking results demonstrated their interaction mechanisms, suggesting that daylily flavonoids might attenuate the oxidative stress. This research provides critical insights for selecting and cultivating daylilies with enhanced health benefits.

Key words: daylily; flavonoids; metabolomics; network pharmacology; molecular docking

氧化应激由活性氧(ROS)产生和抗氧化防御之间的失衡引起，进而导致自由基过度生成和抗氧化能力减弱。这种细胞氧化还原稳态的破坏被广泛认为与癌症、动脉粥样硬化、糖尿病和慢性炎症等多种疾病密切相关[1]。抗氧化剂在减少自由基的过量生成方面发挥着关键作用，对于预防和治疗以上疾病具有重要价值[2]。然而，许多工业合成的抗氧化药物会对健康产生不利影响，因此有必要寻找含抗氧化成分的天然化合物及其衍生物。黄酮类化合物是一种强效抗氧化剂，能对脂质过氧化、动脉粥样硬化、癌症和慢性炎症等病理状态所引起的氧化损伤产生防御作用[3]。通常情况下，黄酮类化合物通过水果和蔬菜等途径摄入。

黄花菜(*Hemerocallis citrina* Baroni)，又名“金针菜”，是阿福花科萱草属的多年生宿根性草本植物，因其食用、药用和观赏价值受到广泛关注[4]。目前已有许多研究报道了黄花菜的功能，包括抗氧化活性[5−7]，这与其富含的黄酮类化合物密切相关[8−10]。黄花菜在中国广泛种植，主要分布在湖南、陕西、甘肃、山西、宁夏等生产区[11]，形成了许多品种。不同品种的黄花菜营养成分组成，尤其是黄酮类化合物存在显著差异，这可能影响其健康益处。Guo 等[12] 发现，不同品种黄花菜的黄酮类化合物抗氧化活性差异显著，该差异同时受遗传因素和产区环境(如土壤、气候、温度)影响。因此，为排除环境干扰，准确评估由遗传决定的不同黄花菜品种固有活性，必须在相同环境条件下进行栽培比较。

本研究拟采用广泛靶向代谢组学技术，对山西省大同市云州区种植的四个黄花菜品种的黄酮类化合物进行研究，结合网络药理学和分子对接，揭示黄花菜中关键黄酮类化合物的潜在抗氧化机制。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

黄花菜品种：大同黄花(DT)、猛子花(MZ)、马莲黄花(ML)和淮阳黄花(HY)，在自然光照和常温条件下种植于山西省大同市的三十里铺村。待黄花菜成熟后于清晨采摘。采摘时选择大小均匀、成熟度一致的花蕾(长度为 125±15 mm，颜色为黄绿色)，并在 2 h 内迅速运送回实验室。随后，将完整的花蕾冷冻干燥 48 h，粉碎机磨粉并过筛，存放在干燥器备用；芦丁、PBS 缓冲液、水杨酸　均购自上海源叶生物科技有限公司；氢氧化钠(NaOH)、硫酸亚铁($FeSO_4$)　购自上海麦克林生化科技股份有限公司；氯化铝($AlCl_3$)、亚硝酸钠($NaNO_2$)、过硫酸钾($K_2S_2O_8$)　购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；DPPH、ABTS　购自美国 Sigma 公司。

LC-30A 型超高效液相色谱仪　日本 Shimadzu 公司；TripleTOF 6600+质谱仪　美国 SCIEX 公司；VORTEX-5 涡旋混合器　其林贝尔仪器制造有限公司；CentriVap 型离心浓缩仪　美国 LABCONCO 公司；5424R 型离心机　德国 Eppendorf 公司；KQ5200E 超声清洗仪　昆山市超声仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　不同黄花菜品种的总黄酮及抗氧化活性测定

总黄酮含量(Total flavonoid content, TFC)：将 0.25 g 黄花菜样品与 5 mL 70% 乙醇(v/v)混合，在 60 °C、80 W 条件下超声提取 30 min，重复提取两次后，合并两次提取的上清液，即为黄花菜黄酮提取液，记录总体积为 V。随后，将芦丁标准品溶于 70% 乙醇中，分别稀释其质量浓度为 0.500、0.250、0.125、0.063 和 0.031 mg/mL。称取 50 μL 芦丁标准溶液或样品溶液，加入 20 μL 的 5% $NaNO_2$ 溶液，室温下静置 5 min。然后加入 20 μL 10% $AlCl_3$ 溶液，静置 6 min。最后，加入 200 μL 4% NaOH 溶液，静置 15 min。测定 510 nm 处的吸光度值。以芦丁浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，建立标准曲线。根据标准曲线计算反应液中黄酮的浓度(C，mg RE/mL)。

根据以下公式计算 TFC:

$$TFC(mg\ RE/g) = \frac{V \times C \times D}{M}$$

式中, V—提取液的总体积(mL); C—从标准曲线计算得到的反应溶液中黄酮的浓度(mg RE/mL); D—黄酮提取液的稀释倍数; M—样品质量(g)。

DPPH 自由基清除率: 将 100 μL 的 0.1 mmol/L DPPH 溶液(溶于 60% 乙醇)加入 96 孔板, 然后加入 100 μL 的黄花菜黄酮提取物溶液, 室温下避光反应 30 min, 在 517 nm 测定吸光度值, 记录为 A_s。对照组用 60% 乙醇溶液代替 DPPH 溶液, 记录吸光度值为 A_c。空白组用 60% 乙醇代替样品溶液, 记录吸光度值为 A_b。根据以下公式计算 DPPH 自由基清除率:

$$DPPH\ 自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}\right) \times 100$$

$ABTS^+$自由基清除率: 首先, 配制 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L $K_2S_2O_8$ 水溶液, 将上述溶液按 2∶1 的体积比混合后在室温下避光保存 16 h。随后, 向 ABTS 溶液中加入 PBS 缓冲液(pH7.4), 直至 734 nm 处的吸光度值达到 0.70±0.02。取 180 μL ABTS 溶液, 加入 20 μL 黄花菜黄酮提取物溶液, 在室温下避光反应 20 min。测定 734 nm 处的吸光度值, 记录为 A_s。对照组用 PBS 缓冲液代替 ABTS 溶液, 记录吸光度值为 A_c。空白组用 PBS 缓冲液代替样品溶液, 记录吸光度值为 A_b。根据以下公式计算 $ABTS^+$自由基清除率:

$$ABTS^+自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}\right) \times 100$$

羟自由基清除率: 分别配制 50 μL 的 2 mmol/L $FeSO_4$ 溶液、6 mmol/L 水杨酸溶液和 6 mmol/L H_2O_2 溶液。随后加入 50 μL 的黄花菜黄酮提取液和 80 μL 的水, 充分混匀, 测定 510 nm 处的吸光度值, 记录为 A_s。对照组用蒸馏水代替 H_2O_2 溶液, 记录其吸光度值为 Ac。空白组用蒸馏水代替样品溶液, 记录其吸光度值为 A_b。根据以下公式计算羟自由基清除率:

$$羟自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_s - A_c}{A_b}\right) \times 100$$

1.2.2 广泛靶向代谢组学分析 采用组织研磨仪将黄花菜样品研磨成粉。准确称取 50 mg 粉碎后的黄花菜, 将其与 1200 μL 70% 的甲醇溶液混合, 每次涡旋 30 s, 共涡旋 6 次, 并在 4 ℃ 下储存过夜。最后, 将混合物在 12000 r/min 下离心 3 min, 上清液通过 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 用于后续的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)分析。

采用配备了 ExionLC™ AD 系统的 UPLC 和 Applied Biosystems 6500 QTRAP 仪器进行 MS/MS 分析。色谱柱为 Agilent SB-C_{18}, 粒径为 1.8 μm, 尺寸为 2.1 mm×100 mm。流动相 A 由超纯水和 0.1% 甲酸组成, 流动相 B 为乙腈。洗脱梯度设置如下: 0.00~9.00 min, 5%~95% B; 9~10 min, 95%B; 10.00~11.10 min, 95%~5%B; 11.10~25.10 min, 5%B。流速设定为 0.35 mL/min, 柱温为 40 °C, 进样量为 2 μL。

质谱条件设置如下: 电喷雾电离(ESI)温度设定为 500 °C; 正离子模式下, 电离电压设定为 5500 V, 负离子模式下, 电离电压设定为−4500 V。气体设置如下: 气体 I(GSI)设定为 50 psi, 气体 II(GSII)设定为 60 psi, 而帘气(CUR)保持在 25 psi。碰撞诱导解离(CID)参数经过优化处理。在多反应监测(MRM)模式下进行三重四极杆(QQQ)扫描, 使用氮气作为碰撞气体, 并设置为中等压力。

对每对多反应监测(MRM)离子对的去簇电位(DP)和碰撞能量(CE)进行了优化。基于洗脱的代谢物在每个阶段监测特定组的 MRM 离子对。使用定制的二级光谱信息数据库 MWDB 进行物质定性分析。同时, 在分析过程中排除了如同位素信号、K^+离子、Na^+离子、NH_4^+离子等的重复信号, 以及代表较大分子量物质的碎片离子的重复信息, 以确保结果的准确性和可靠性。

1.2.3 代谢物定量分析 代谢物的定量分析采用三重四极杆串联质谱仪的多反应监测(MRM)模式。在该操作模式下, 第一个四极杆选择性地分离出目标化合物特有的前体离子(也称为母离子), 同时排除与其他分子量物质相关的离子, 以降低任何潜在的干扰。随后, 前体离子在碰撞室中通过电离产生多个碎片离子, 这些碎片离子通过三重四极杆过滤, 以分离出所需的特征碎片离子, 这可以有效去除非目标离子的干扰, 从而提高定量的准确性和重现性。从各种样品中获得质谱分析数据后, 对所有物质的色谱峰进行峰面积积分。为确保定量的一致性和可靠性, 通过积分调整对不同样品中相同代谢物的质谱峰进行归一化处理[13]。

1.2.4 多元统计分析 为了研究每个样本的代谢物积累, 对代谢数据进行了多种统计分析, 包括层次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和主成分分析(principal component analysis, PCA)。基于投影变量重要性(VIP)>1、log_2fold change(FC)≥2 且 P<0.05 的阈值来筛选差异代谢物, 其中高度差异黄酮类代谢物(HDFMs)定义为 log_2FC≥3。此外, 使用 Venn 图来可视化通过此筛选过程识别到的独有代谢物。

1.2.5 网络药理学分析 从 SwissTarget Prediction 数据库(http://swisstargetprediction.ch/)中检索黄花菜中鉴定的关键黄酮类化合物的靶点信息, 从 GeneCards 数据库(https://www.genecards.org/)中获取抗氧化靶点。然后通过 Venn 图分析来识别黄花菜黄酮类化合物靶点与抗氧化相关靶点之间的交

集靶点。随后，使用 DAVID 数据库（https://david.ncifcrf.gov/）对这些交集靶点进行 KEGG 和 GO 通路富集分析。通过 Cytoscape 3.9.1 软件构建了“代谢物-靶点-活性”网络和“蛋白-蛋白相互作用”（PPI）网络。最后，使用 CytoNCA 插件进行拓扑分析，计算五个中心性指标：介数中心性（betweenness centrality，BC）、接近中心性（closeness centrality，CC）、度中心性（degree centrality，DC）、特征向量中心性（eigenvector centrality，EC）和局部边连通性（local average connectivity，LAC）。基于这些参数的中位数筛选关键抗氧化靶点。

1.2.6　分子对接　从 PDB 蛋白质数据库（https://www.rcsb.org/）中获取 AKT1（PDB ID：5kcv）和 EGFR（PDB ID：6lud）的蛋白质晶体结构，使用殷赋云平台（http://cloud.yinfotek.com/）的“准备化合物结构”模块生成已鉴定黄花菜黄酮的三维结构。同时，使用“处理 PDB 结构”模块准备 AKT1 和 EGFR 的蛋白质结构，以修复结构缺陷。随后，在殷赋云平台上使用 DOCK 6.9 软件对所有已鉴定黄酮与目标蛋白（AKT1 和 EGFR）进行分子对接。对接结果使用网格评分（Grid score，kcal/mol）进行评估。

1.3　数据处理

实验数据均以均值±标准差（Mean±SD）表示，并使用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），并进一步使用 Dunnett's 检验进行事后多重比较。统计显著性设定为 $P<0.05$。所有图表均通过 GraphPad Prism 8.0 绘制。

2　结果与分析

2.1　不同黄花菜品种的黄酮含量和抗氧化分析

如图 1A 所示，DT 的 TFC 最高，而 ML 的 TFC 最低。与 TFC 相比，抗氧化能力表现出不同的趋势。MZ 表现出最强的抗氧化活性，DPPH 自由基、$ABTS^+$自由基、羟自由基的清除率分别为 67.11%、43.17% 和 34.05%，而 ML 的抗氧化活性最弱，分别为 39.26%、19.28% 和 21.10%（图 1B）。植物体内的黄酮类化合物能通过多种机制表现出巨大的治疗潜力：例如对心血管保护、对肿瘤细胞的促凋亡作用、自由基中和以及抗菌活性[14−15]。因此，MZ 可能具有显著的营养功效表现。

2.2　不同黄花菜品种的代谢物组成分析

图 2A 展示了四个黄花菜品种的花蕾形状。然后，针对黄花菜中多种代谢物进行全面分析，共鉴定出 1642 种代谢物，包括 408 种氨基酸及其衍生物（24.9%）、287 种黄酮类化合物（17.5%）、212 种酚酸（12.9%）、190 种脂质（11.6%）、102 种有机酸（6.2%）、95 种生物碱（5.8%）、81 种核苷酸及其衍生物（4.9%）、48 种木质素和香豆素（2.9%）、33 种醌类化合物（2%）、25 种萜类化合物（1.52%）、8 种苯及其衍生物（0.49%）、2 种甾体（0.12%）、1 种单宁（0.06%）以及 150 种其他代谢物（9.1%）（图 2B、图 2C）。其中，氨基酸及其衍生物是黄花菜中的主要代谢物，其次是黄酮类化合物。

生物体中的代谢过程受到错综复杂关系的调控，因此，本研究采用皮尔逊相关分析[16]来研究不同代谢物之间的关系，相关系数阈值定义为$|r|>0.8$（图 2D）。结果显示，苯及取代衍生物与萜类化合物显著正相关；生物碱与氨基酸及其衍生物显著正相关；核苷酸及其衍生物与黄酮类化合物之间显著正相关，与脂质之间显著负相关；氨基酸及其衍生物与黄酮类化合物之间显著正相关。

为评估不同黄花菜品种间代谢物类别的差异，对各类代谢物中的累积相对强度进行比较分析，结果以直方图形式展示（图 3）。在 DT 中，氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、黄酮类化合物、木脂素和香豆素、生物碱和有机酸表现出最高的相对强度。与之相反，在 MZ 中，苯及其取代衍生物以及萜类化合物表现出最高的相对强度。此外，HY 和 ML 的醌类化合物含量高于 DT 和 MZ；相比之下，DT 和 MZ 的酚酸含量则显著高于 HY 和 ML（$P<0.05$）。另外，ML 中的脂质表现出最高的相对强度。黄酮类化合物通常存在于水果、蔬菜和各种谷物中，具有丰富的生物活性，如抗炎和抗衰老作用，对包括心血管疾病和动脉粥样硬化在内的多种疾病具有有益效果[14]。此外，黄酮类化合物能清除 ROS、激活抗氧化酶和减少 α-生育酚，在减轻氧化损伤方面发挥着至关重要

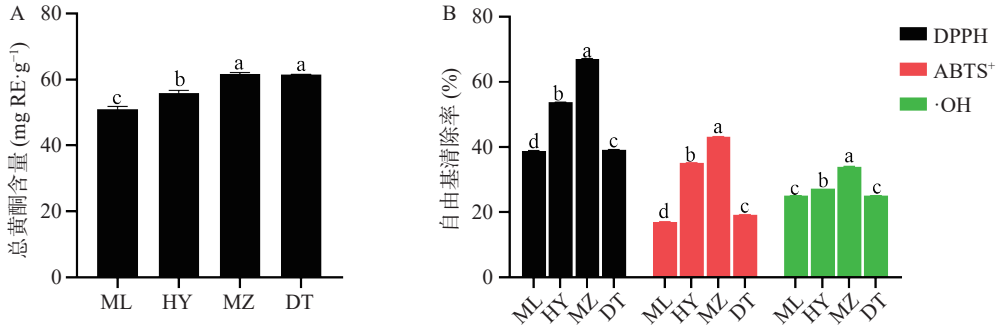


图 1　不同黄花菜品种的总黄酮含量（TFC）和抗氧化活性

Fig.1　Total flavonoid content (TFC) and antioxidant activities of different daylily varieties

注：A：TFC；B：DPPH、$ABTS^+$和羟自由基清除率；不同字母表示组间差异显著（$P<0.05$），图 3、图 4、图 6 同。

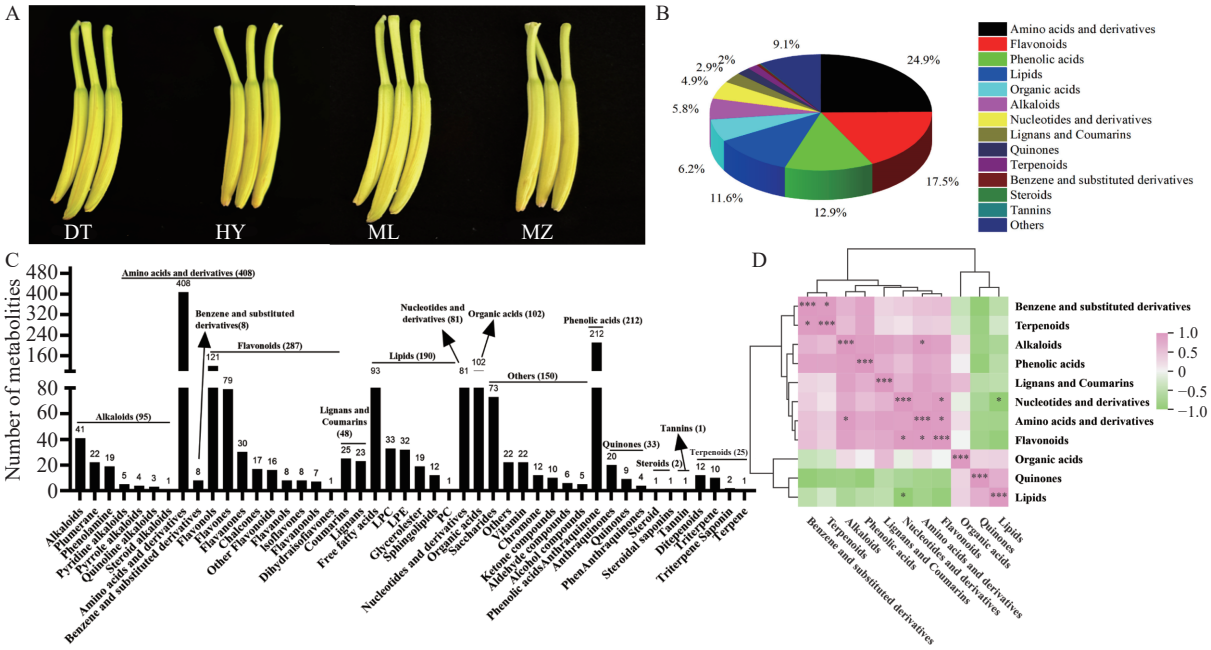


图 2　不同黄花菜品种中不同代谢物种类、数量及占比

Fig.2　Different types, quantities, and proportions of metabolites in different daylily varieties

注: A: 不同品种黄花菜的图片, DT, 大同; HY, 淮阳; ML, 马莲; MZ, 猛子; B: 黄花菜样本中 1642 种代谢物的分类; C: 一级和二级代谢物分类的柱状图; D: 代谢物种类的皮尔逊相关网络图; 星号代表代谢物之间相关性的显著性水平, ***表示 $P<0.001$, *表示显著性 $P<0.05$。

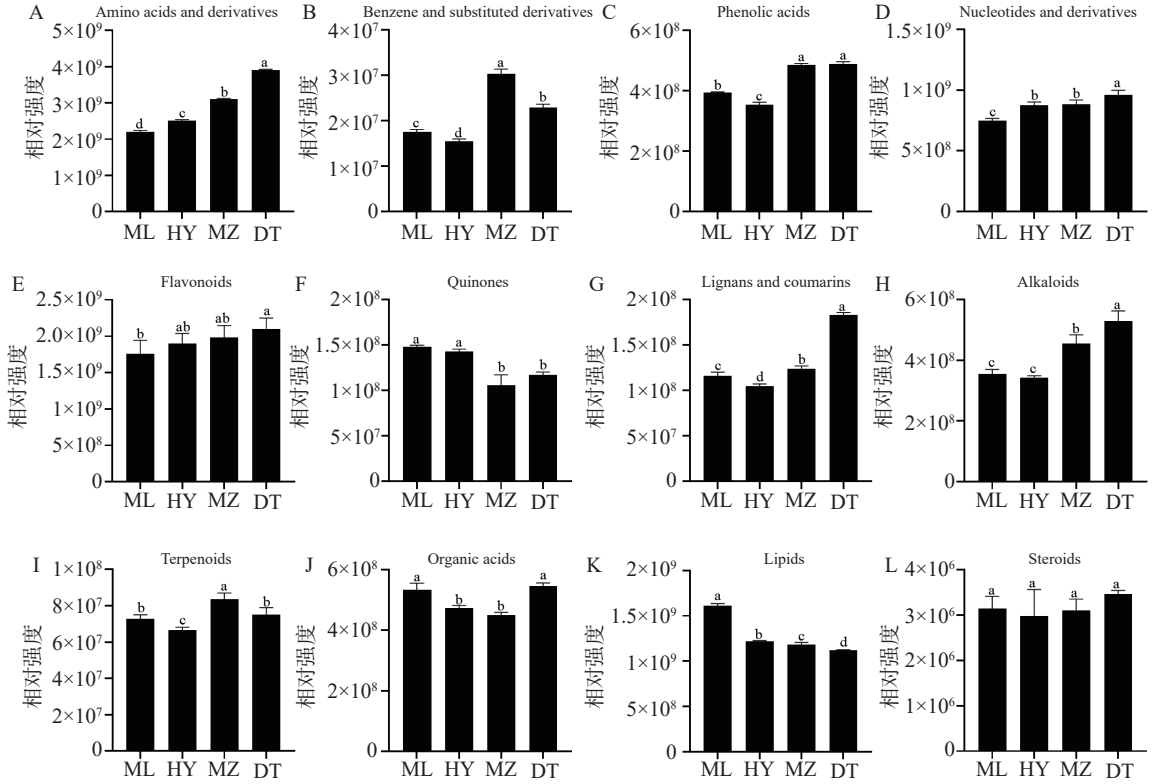


图 3　不同黄花菜品种中不同分类代谢物的相对强度

Fig.3　Relative intensity of metabolites with different classifications in different daylily varieties

的作用[17]。如图 3E 所示, DT 黄花菜中黄酮类化合物的累积丰度显著高于 ML($P<0.05$), 而与 MZ 和 HY 相比则无显著差异, 这表明 DT、MZ 和 HY 可能具有更好的生理效应。总的来说, 黄花菜的代谢物在不同品种之间存在相当大的差异性。

2.3　不同品种黄花菜中黄酮类代谢物分析

如图 4A 所示, 共鉴定出 287 种黄酮类代谢物, 分为九大类, 其中黄酮醇(121 种)、黄酮(79 种)和黄烷酮(30 种)构成了主要的亚类(图 4A)。通过主成分分析(PCA)评估不同品种间黄酮类化合物组成的

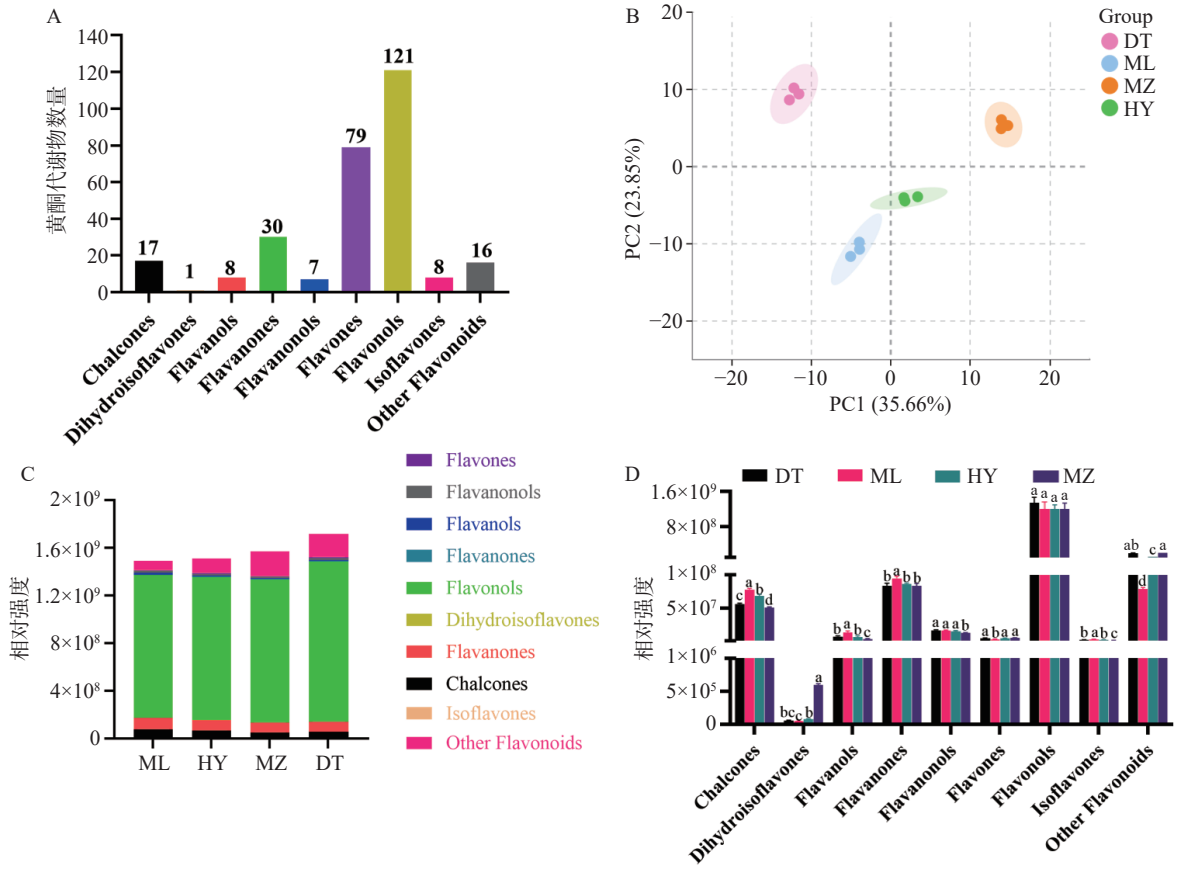


图 4　四种黄花菜品种中黄酮代谢物的组成分析

Fig.4　Overview of flavonoid metabolites among four daylily varieties

注：A：四个黄花菜品种中黄酮代谢物的分类和统计分析；B：不同黄花菜品种中黄酮代谢物的 PCA 分析；C：黄酮代谢物的相对强度；D：四个黄花菜品种中的各类代谢物相对强度。

组间差异和组内一致性（图 4B），前两个主成分解释了总方差的 59.51%（PC1：35.66%，PC2：23.85%），四个样品组在图中明显分离，表明四个品种黄花菜在黄酮类化合物组成上具有显著差异。黄酮类化合物亚类的比较定量分析显示了品种间不同的积累模式（图 4C、图 4D）。虽然黄酮醇是所有品种中的主要类别，但 DT 的黄酮醇水平在数值上略高。ML 的黄烷酮含量显著高于其他品种（P<0.05），且查尔酮的积累量最高（ML>HY>DT>MZ）。以 DT 为对照，采用差异代谢物分析（VIP>1，$|\log_2 FC|\geq 2$，P<0.05）分别在 ML、HY 以及 MZ 中鉴定出 49、48 和 85 种差异代谢物（图 5A）。其中，在 DT vs. ML 的比较组中，36 种代谢物显著上调，13 种代谢物显著下调；DT vs. HY 的比较组中有 30 种代谢物显著上调，18 种代谢物显著下调；DT vs. MZ 的比较显示 56 种代谢物显著下调，29 种代谢物显著上调。Venn 图分析显示，各比较组之间的重叠有限，其中，DT vs. MZ 比较组特有的代谢物数量为 71，DT vs. ML 的比较组特有的代谢物数量为 38，以及 DT vs. HY 的比较组特有的代谢物数量为 45（图 5B）。进一步根据 $|\log_2 FC|\geq 3$ 条件进行筛选，鉴定出 23 种高度差异表达代谢物（highly differentially expressed metabolites，HDFMs），这些代谢物被分类为二氢异黄酮、黄酮和黄酮醇（表 1）。层次聚类分析（HCA）结果显示，DT 和 ML 的聚类簇距离最近，表明其高度差异表达代谢物的组成最为相似（图 5C）。

2.4　不同黄花菜品种中 HDFMs 的分析

对黄花菜中的 23 种 HDFMs 进行比较分析，用于揭示不同品种间各自不同的积累模式。如图 6A 所示，与 DT 相比，HY 和 MZ 中三种黄酮代谢物显著积累：金圣草黄素-7-O-（6"-乙酰）葡萄糖苷、槲皮素 3-O-（6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷）和木犀草素-7-O-（6"-丙二酰）葡萄糖苷（P<0.05）。同时，这两个品种中的 6,7,8-三羟基-5-甲氧基黄酮和金圣草黄素-7-O-（6"-丙二酰）葡萄糖苷显著降低（P<0.05）。研究表明，木犀草素和木犀草素-7-葡萄糖苷等化合物具有一系列生物效应，包括抗炎、抗癌、抗氧化和促氧化活性[18]。因此，HY 和 MZ 可能比其他两个黄花菜品种具有更好的生物活性。

如图 6C 所示，与 DT 相比，HY 和 MZ 中的 8-甲氧基山柰酚-7-O-鼠李糖苷、山柰酚-3-O-（6"-丙二酰）半乳糖苷、山柰酚-3-O-（6"-O-乙酰）葡萄糖苷、槲皮素-3-O-（6"-O-丙二酰）葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷、杨梅素-3-O-β-D-葡萄糖苷和槲皮素-7-O-（6"-丙二酰）葡萄糖苷显著积累（P<0.05）。DT 的槲皮素含量最高，其次是 MZ、HY 和 ML。研究表明，来源于天

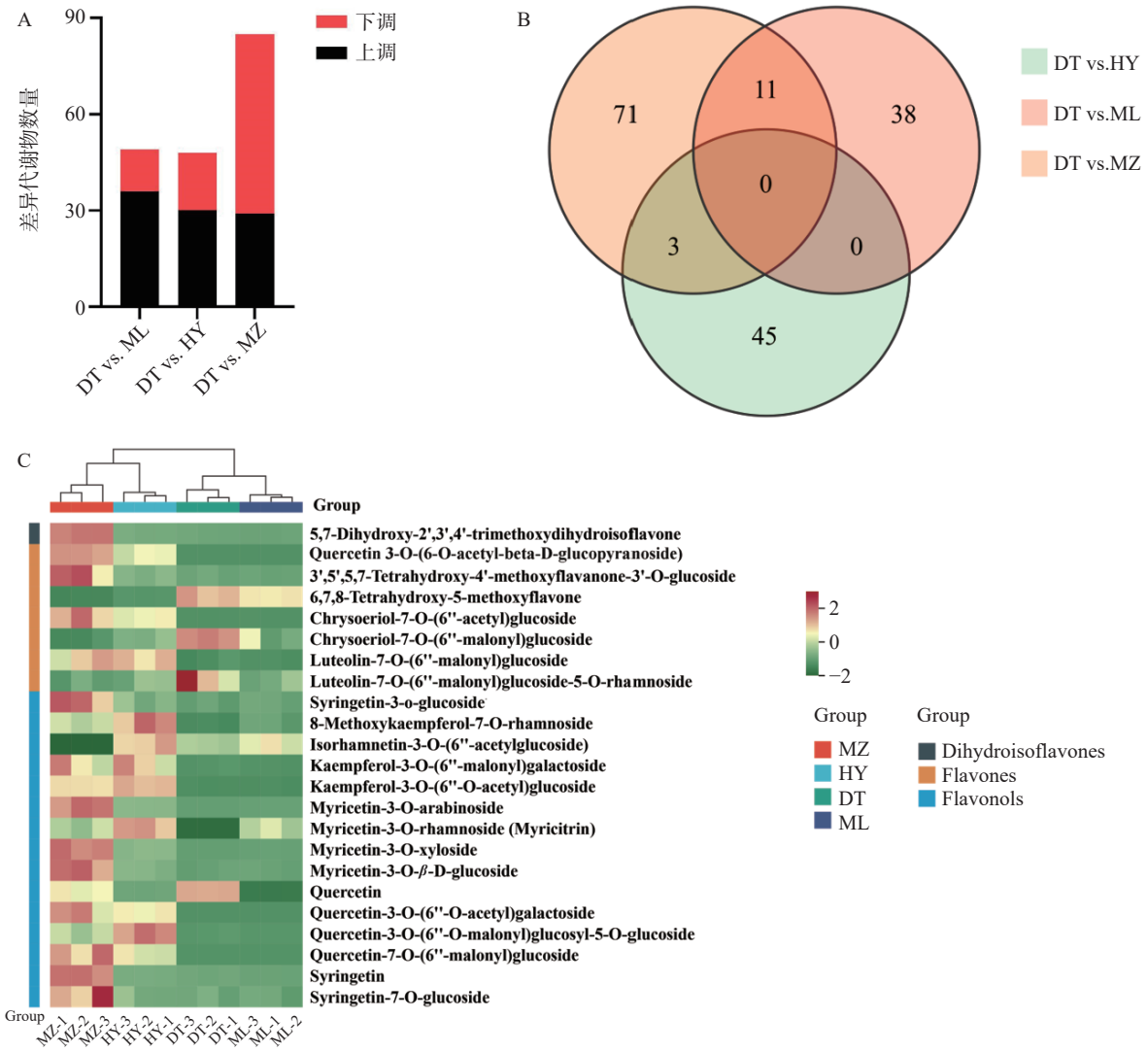


图 5　不同对照组中高度差异黄酮代谢物(HDFMs)的组成分析

Fig.5　Composition analysis of highly differential flavonoid metabolites (HDFMs) among different comparison groups

注: A: 所有对照组中高度差异黄酮代谢物(HDFMs)的数量; B: DT vs. ML、DT vs. MZ 以及 DT vs. HY 之间的 Venn 图分析; C: 所有 HDFMs 的聚类热图。

表 1　不同品种黄花菜中高度差异代谢物

Table 1　Highly differential flavonoid metabolites (HDFMs) in different varieties of daylily

编号	代谢物英文名	代谢物中文名	分类
1	5,7-Dihydroxy-2',3',4'-trimethoxydihydroisoflavone	5,7-二羟基-2',3',4'-三甲氧基-二氢异黄酮	二氢异黄酮
2	Quercetin 3-O-(6-O-acetyl-beta-D-glucopyranoside)	槲皮素3-(6″-乙酰基葡萄糖苷)	黄酮
3	3',5',5,7-Tetrahydroxy-4'-methoxyflavanone-3'-O-glucoside	3',5',5,7-四羟基-4'-甲氧基黄烷酮-3'-O-葡萄糖苷	黄酮
4	6,7,8-Tetrahydroxy-5-methoxyflavone	6,7,8-三羟基-5-甲氧基黄酮	黄酮
5	Chrysoeriol-7-O-(6"-acetyl)glucoside	金圣草黄素-7-O-(6"-乙酰)葡萄糖苷	黄酮
6	Chrysoeriol-7-O-(6"-malonyl)glucoside	金圣草黄素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷	黄酮
7	Luteolin-7-O-(6"-malonyl)glucoside*	木犀草素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷	黄酮
8	Luteolin-7-O-(6"-malonyl)glucoside-5-O-rhamnoside	木犀草素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷-5-O-鼠李糖苷	黄酮
9	Syringetin-3-o-glucoside*	丁香素-3-O-葡萄糖苷	黄酮醇
10	8-Methoxykaempferol-7-O-rhamnoside	8-甲氧基山柰酚-7-O-鼠李糖苷	黄酮醇
11	Isorhamnetin-3-O-(6"-acetylglucoside)	异鼠李素-3-O-(6"-乙酰)葡萄糖苷	黄酮醇
12	Kaempferol-3-O-(6"-malonyl)galactoside*	山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷	黄酮醇
13	Kaempferol-3-O-(6"-O-acetyl)glucoside	山柰酚-3-O-(6"-O-乙酰)葡萄糖苷	黄酮醇
14	Myricetin-3-O-arabinoside	杨梅素-3-O-阿拉伯糖苷	黄酮醇
15	Myricetin-3-O-rhamnoside (Myricitrin)	杨梅素-3-O-鼠李糖苷 (杨梅苷)	黄酮醇
16	Myricetin-3-O-xyloside	杨梅素-3-O-木糖苷	黄酮醇

续表 1

编号	代谢物英文名	代谢物中文名	分类
17	Myricetin-3-O-*β*-D-glucoside	杨梅素-3-O-*β*-D-葡萄糖苷	黄酮醇
18	Quercetin	槲皮素	黄酮醇
19	Quercetin-3-O-(6"-O-acetyl)galactoside*	槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷	黄酮醇
20	Quercetin-3-O-(6"-O-malonyl)glucosyl-5-O-glucoside	槲皮素-3-O-(6"-O-丙二酰)葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷	黄酮醇
21	Quercetin-7-O-(6"-malonyl)glucoside	槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷	黄酮醇
22	Syringetin	丁香亭	黄酮醇
23	Syringetin-7-O-glucoside*	丁香亭-7-O-葡萄糖苷	黄酮醇

注：高度差异黄酮类代谢物(HDFMs)定义为$\log_2$FC≥3。

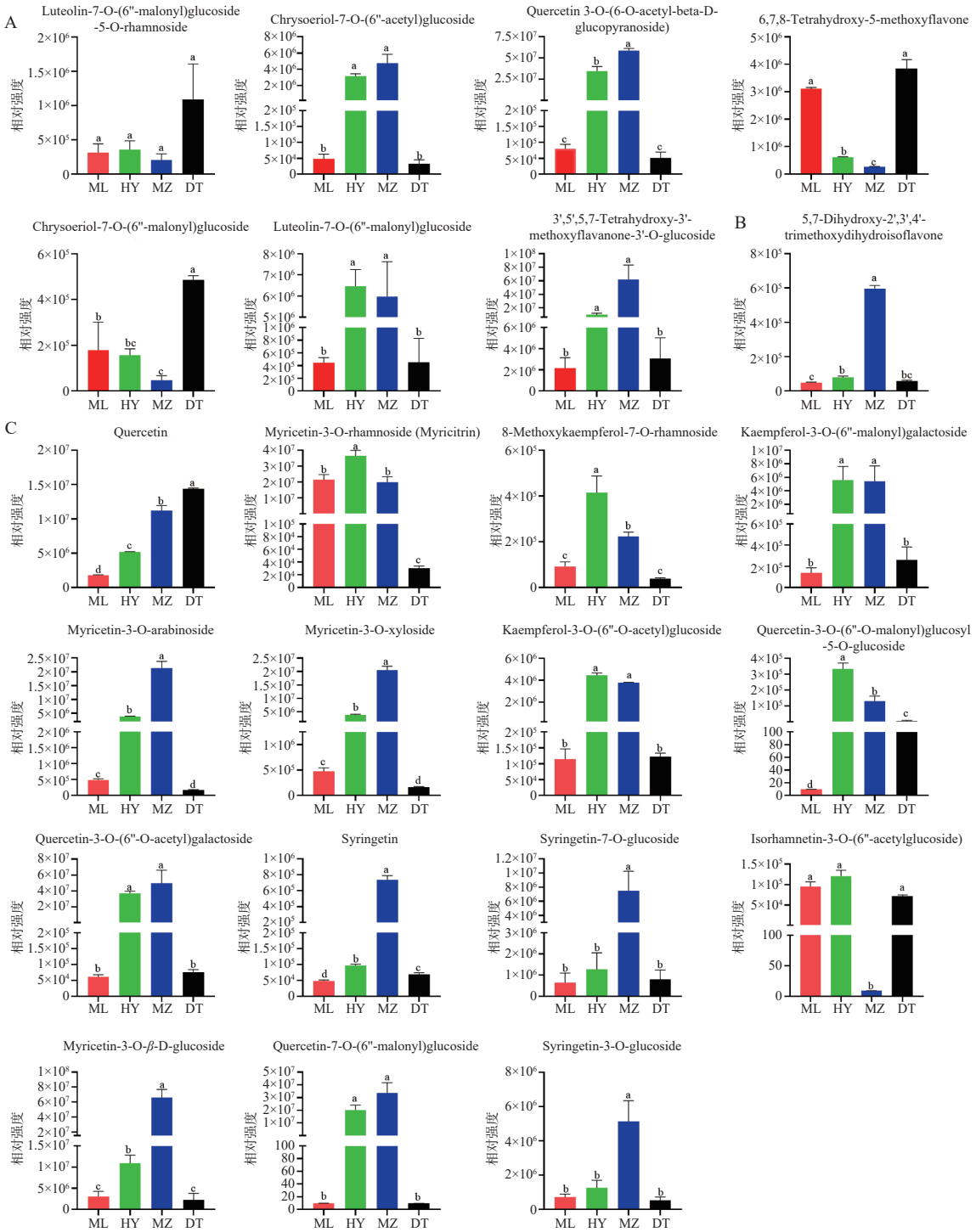


图 6　不同品种黄花菜中不同分类的高度差异黄酮代谢物(HDFMs)对比

Fig.6　Comparison of the highly differential flavonoid metabolites (HDFMs) in different varieties of daylily

注：A：黄酮；B：二氢异黄酮；C：黄酮醇；不同字母表示组间差异显著(P<0.05)。

然植物的酰化黄酮苷具有多种生物活性，包括抗氧化和抗菌作用，表明酰化在增强黄酮苷生物特性中具有积极作用。槲皮素是一种强效黄酮，具有强大的抗氧化活性，通常以糖苷形式存在于水果和蔬菜中[19]。山奈酚广泛分布于多种植物性食物中，因其潜在的生物学特性而受到关注，具有抗癌、抗氧化等多种生物活性，并在相关疾病改善方面表现出潜力[20−21]。此外，与 DT 相比，还在 ML、HY 和 MZ 中鉴定出三种积累显著的黄酮醇类化合物：杨梅素-3-O-鼠李糖苷（杨梅苷）、杨梅素-3-O-阿拉伯糖苷和杨梅素-3-O-木糖苷。杨梅苷是一种具有多种生理益处的化合物，因其结构中含有五个羟基，与其他黄酮醇（如槲皮素）相比，具有显著的抗氧化能力，从而表现出抗炎和抗糖尿病活性[22−24]。此外，MZ 的丁香亭含量最高，其次是 HY、DT 和 ML。研究表明，丁香亭具有抗癌、α-葡萄糖苷酶抑制和抗炎特性[25]。总体而言，与其他黄花菜品种相比，HY 和 MZ 含有更多种类的 HDFMs，包括槲皮素、山奈酚、杨梅苷及其衍生物，主要通过糖基化和甲基化进行修饰，从而增强其生理活性。

2.5 HDFMs 与抗氧化活性的相关性分析

图 7 展示了 HDFMs 与抗氧化活性（包括 DPPH、ABTS$^+$和羟自由基清除率）之间的相关性。其中，不同粗细的线条表示各种黄酮之间相互作用的强度。以（$|r|$>0.8 且 P<0.05）为阈值，采用皮尔逊相关性分析筛选得到 19 种黄花菜 HDFMs 与抗氧化活性密切相关。其中，杨梅素-3-O-阿拉伯糖苷、杨梅素-3-O-木糖苷和槲皮素 3-O-（6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷）与 DPPH 自由基清除率表现出极显著正相关性（r>0.95，P<0.001）。槲皮素-3-O-（6"-O-乙酰）半乳糖苷、槲皮素-7-O-（6"-丙二酰）葡萄糖苷、槲皮素 3-O-（6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷）、山柰酚-3-O-（6"-O-乙酰）葡萄糖苷和山柰酚-3-O-（6"-丙二酰）半乳糖苷与 ABTS$^+$自由基清除率表现出极显著正相关性（r>0.95，P<0.001）。此外，5,7-二羟基-2',3',4'-三甲氧基-二氢异黄酮、丁香亭和丁香亭-7-O-葡萄糖苷与羟自由基清除率表现出极显著正相关性（r>0.95，P<0.001）。因此，上述 10 种 HDFMs 被鉴定为黄花菜中的关键抗氧化黄酮代谢物，它们在所研究的黄花菜品种中表现出高效抗氧化能力，而其他 HDFMs 的贡献相对有限。本研究发现，DT 的 TFC 最高但 MZ 抗氧化能力最强。这一现象可能与 $AlCl_3$ 比色法的测定特性有关。铝离子（Al^{3+}）能与黄酮类化合物中特定基团（如 C4 酮基、C3 或 C5 羟基）形成酸稳定络合物并显色[26]。例如，具有邻二酚羟基（如芦丁、槲皮素）或 C3-OH、C5-OH 的黄酮与铝离子络合能力强、显色深，测定值偏高；而缺乏上述基团的黄酮（如异黄酮、黄烷酮）则络合能力弱、显色浅。MZ 中可能富含对 $AlCl_3$ 响应较弱的黄酮结构，导致其 TFC 测定值偏低。然而，MZ 中上述 10 种 HDFMs 的含量显著高于其他三个品种，与其最强的抗氧化活性相符（图 3B）。此外，本研究主要聚焦于不同品种黄花菜中黄酮类化合物的组成与抗氧化活性差异，但黄花菜中还可能存在酚酸、多糖等其他活性物质，这些成分可能同样具有抗氧化潜力，有待后续深入研究。

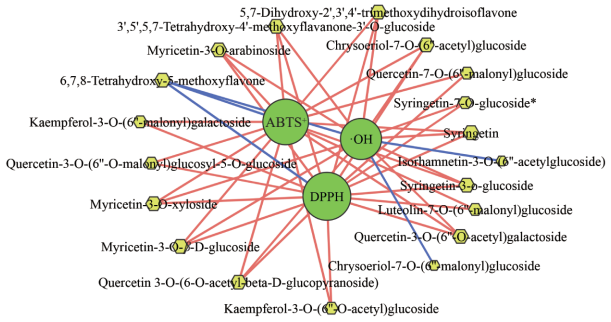


图 7 高度差异黄酮代谢物（HDFMs）与抗氧化活性的相关性分析

Fig.7 Correlation analysis of highly differential flavonoid metabolites (HDFMs) and antioxidant activities

注：红色线条表示正相关，蓝色线条表示负相关。

2.6 黄花菜中关键黄酮类化合物的抗氧化作用机制

2.6.1 基于网络药理学的抗氧化靶点筛选 网络药理学是一个跨学科领域，整合了系统生物学、基因组学和蛋白质组学，综合大量数据集来发现新的药物靶点并阐明分子机制[27]。在本研究中，采用网络药理学来探究黄花菜中关键抗氧化黄酮类化合物的潜在抗氧化机制。利用 SwissTarget Prediction 数据库，确定了与 10 种关键黄花菜抗氧化黄酮类化合物相关的 105 个靶点（score>0）。此外，还从 GeneCards 数据库中获得 1450 个抗氧化相关靶点（score>5.0）。UpSet 图分析显示，63 个黄酮类化合物靶点与抗氧化靶点重叠（图 8A）。通过构建黄酮类化合物-抗氧化靶点相互作用网络，得到 74 个节点和 171 条边（图 8B），相互作用系统表明，黄花菜黄酮类化合物的健康益处可能源于彼此间的协同作用。

进一步采用 GO 和 KEGG 富集分析来鉴定介导黄花菜黄酮抗氧化活性的关键途径。KEGG 分析表明磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B（PI3K-AKT）信号通路是一条重要的调控途径（图 8C）。该途径在细胞增殖、分化、凋亡和自噬等细胞过程中起着至关重要的作用[28−29]。GO 分析则表明，63 个抗氧化靶点的基因产物主要富集在细胞组分中，包括细胞质核周区域、细胞表面和神经元细胞体（图 8D）。

为确定核心抗氧化靶点，利用 STRING 数据库对 63 个与关键黄花菜抗氧化黄酮类化合物相关的抗氧化靶点进行了 PPI 网络构建，并使用 Cytoscape 3.9.1 软件实现可视化（图 8E、图 8F）。该网络包含 62 个节点和 926 条边，表明黄花菜中的关键抗氧化黄酮通过多个靶点和途径发挥其作用。随后，使用 CytoNCA 插件进行拓扑分析，得出以下关键中心性指标的中位数值：BC=12.9743，CC=0.5398，DC=26，

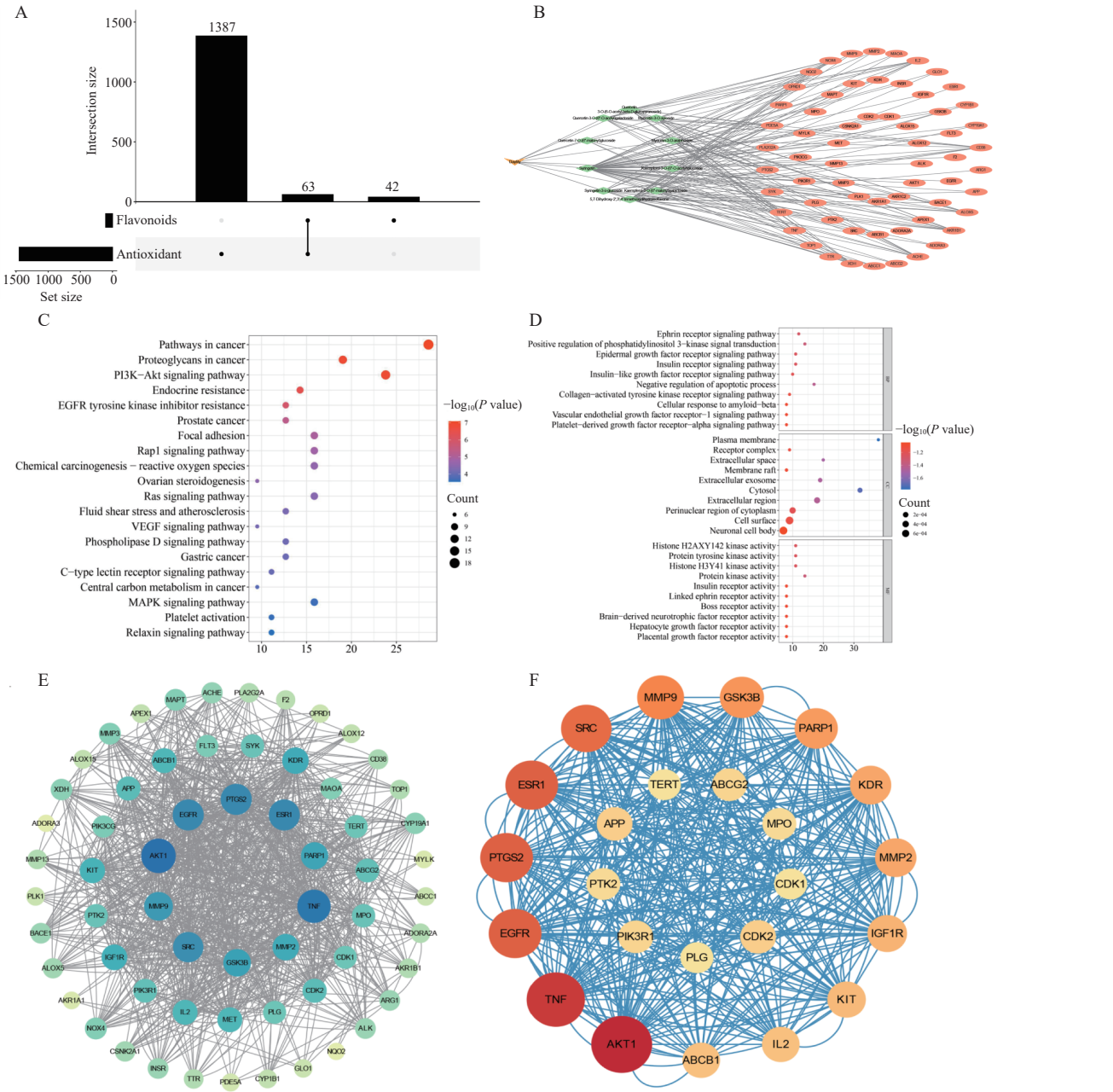


图 8　基于网络药理学的黄花菜中关键抗氧化黄酮筛选

Fig.8　Screening of key antioxidant flavonoids in daylily based on network pharmacology

注：A：UpSet 图，展示了抗氧化相关靶点与黄花菜黄酮靶点的交集；B：“黄酮-靶点”网络图；C~D：63 个交集靶点的 GO 和 KEGG 富集分析结果（BP：生物过程；CC：细胞组分；MF：分子功能）；E：PPI 网络；F：核心靶点筛选后的子网络。

EC=0.0976，LAC=16.1077。将每个中心性指标超过中位数的靶点选为核心靶点，共鉴定出 24 个关键抗氧化靶点（表 2）。其中，7 个靶点（CDK2、IL2、KIT、KDR、GSK3β、EGFR 和 AKT1）涉及 PI3K/AKT 信号通路。随后，采用更严格的阈值筛选（DC>50，BC>100，CC>0.7），确定 AKT1 和 EGFR 为核心靶点。AKT1 是 PI3K 信号通路的下游关键效应器，调节包括凋亡抑制、细胞生长刺激和代谢调节在内的多种细胞过程[30]。此外，EGFR 介导的信号传导对多种组织和细胞类型的细胞增殖、分化和存活至关重要[31−32]。在炎症、细胞损伤等病理状况下，PI3K-AKT 信号通路极易出现过度激活的现象[33]，然后经由多种途径促使细胞内氧化应激水平显著上升。黄酮类化合物具备 EGFR 抑制剂的功能，其结构中的色原酮部分能够模拟 ATP 的腺嘌呤部分，进而与 EGFR 的 ATP 结合位点紧密结合，阻碍 EGFR 的磷酸化进程。这一作用机制会对 EGFR 下游信号通路，包括 PI3K-AKT 通路的激活产生影响[34]。随着 PI3K-AKT 通路的激活受到抑制，细胞内 ROS 的生成量随之减少，同时抗氧化酶活性得以维持在相对稳定的水平，最终有效抑制氧化应激的发生与发展进程。

2.6.2　黄花菜中关键黄酮类化合物与核心抗氧化靶点的分子对接　分子对接是一种计算机模拟方法，常用于预测蛋白质靶点与小分子间的相互作用[35]。为

表 2 主要抗氧化靶点的拓扑特性

Table 2 Topological characteristics of the main antioxidant targets

靶点	BC	CC	DC	EC	LAC
PLG	21.1449	0.5495	32	0.1210	20.2500
TERT	15.2177	0.5545	32	0.1313	21.7500
CDK1	23.3729	0.5545	32	0.1197	19.5000
MPO	27.1653	0.5545	34	0.1130	17.8824
ABCG2	35.9915	0.5545	36	0.1303	19.5556
PIK3R1	13.8897	0.5648	36	0.1340	22.2222
PTK2	33.8724	0.5648	34	0.1390	22.3529
CDK2	59.0655	0.5755	38	0.1361	19.5789
APP	31.7957	0.5865	38	0.1453	22.9474
IL2	38.7978	0.5865	42	0.1514	23.6190
KIT	25.5838	0.5922	44	0.1709	27.4545
ABCB1	76.3883	0.5922	42	0.1523	22.6667
IGF1R	23.7218	0.6040	46	0.1822	29.9130
KDR	24.6943	0.6100	50	0.1951	31.0400
MMP2	42.4029	0.6100	50	0.1848	28.1600
PARP1	118.2470	0.6354	54	0.1876	27.2593
GSK3β	87.1957	0.6421	56	0.1933	27.5714
MMP9	71.7692	0.6489	62	0.2201	31.7419
SRC	269.9528	0.6854	70	0.2279	29.8286
EGFR	205.8837	0.7011	74	0.2405	31.4595
ESR1	315.9733	0.7176	74	0.2294	28.5405
PTGS2	345.4044	0.7176	74	0.2211	26.8108
TNF	393.5526	0.7722	86	0.2525	29.6744
AKT1	518.0066	0.8026	92	0.2669	30.5217

注: BC: 介数中心性, CC: 接近中心性, DC: 度中心性, EC: 特征向量中心性, LAC: 局部边连通性。

了进一步探索黄花菜中关键黄酮的潜在抗氧化作用机制, 本文使用殷赋云平台的 Dock6.9 软件计算了关键黄酮类化合物与核心抗氧化靶点(AKT1 和 EGFR)之间的结合能。结果表明, 10 种关键黄酮化合物与 AKT1 和 EGFR 均具有良好的结合能力, 且与 AKT1 的结合能力更强(表 3)。其中, 关键黄酮类化合物: 槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷和山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷与 EGFR 的结合能最高, 分别为-84.64 和-76.17 kcal/mol。而槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷和槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷与 AKT1 的结合能最高, 分别为-99.66 和-93.55 kcal/mol。大多数黄酮类化合物并不能被生物体直接吸收。研究表明, 摄入的黄酮主要在特定的 pH 条件、消化酶和肠道微生物的作用下发生 C 环裂解, 生成各种酚酸。这些酚酸的抗氧化能力主要来自于其酚羟基。因此, 黄酮的抗氧化活性源于其结构中丰富的双键和多酚性质。酚羟基的位置和数量对黄酮的抗氧化能力具有显著影响[36]。在本研究中, 山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷和槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷(均含有四个酚羟基)与 EGFR 发生相互作用。其中, 山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷与 Lys745、Glu762、Met790、Met793、Thr854 和 Asp855 形成氢键, 同时还存在疏水相互作用。槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷与 Lys745、Glu762、Met790、Met793 和 Asp800 形成氢键, 并有疏水相互作用和盐桥(图 9A~图 9B)。同样, 槲皮素-7-O-

表 3 黄花菜中核心抗氧化靶点与关键黄酮类化合物之间的结合能

Table 3 Grid scores between core antioxidant targets and key flavonoids in daylily

关键黄酮类化合物	结合能(kcal/mol)	
	EGFR	AKT1
丁香亭-7-O-葡萄糖苷	−68.463959	−84.070251
5,7-二羟基-2',3',4'-三甲氧基-二氢异黄酮	−50.473202	−63.731796
丁香亭	−54.569649	−69.403275
山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷	−76.168449	−93.14991
山柰酚-3-O-(6"-O-乙酰)葡萄糖苷	−68.191925	−89.349167
槲皮素3-O-(6-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷)	−74.546219	−87.979172
槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷	−84.64032	−99.655106
槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷	−72.790222	−93.546951
杨梅素-3-O-木糖苷	−66.075104	−80.111115
杨梅素-3-O-阿拉伯糖苷	−64.904404	−85.449997

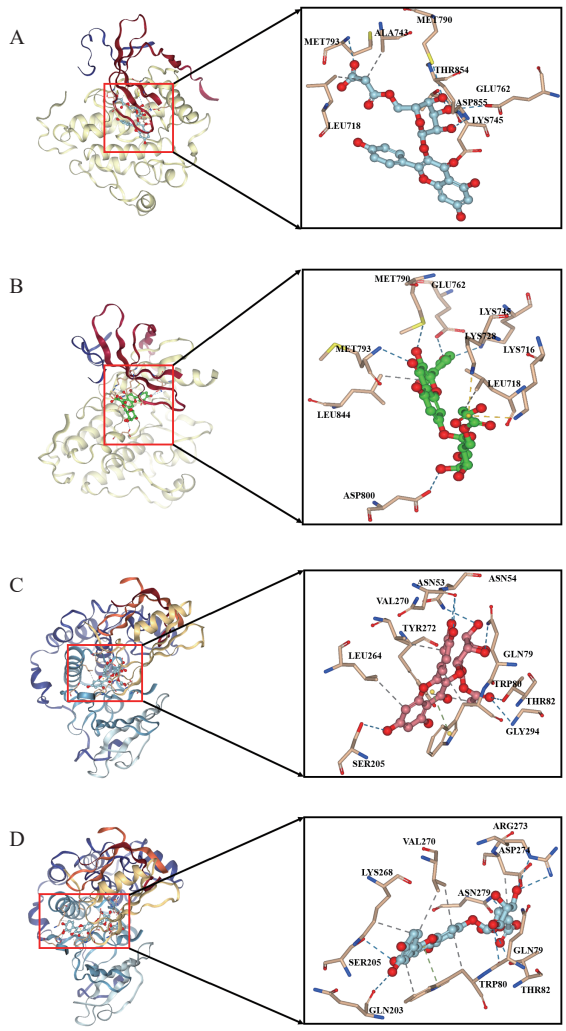


图 9 黄花菜中关键黄酮类化合物与核心抗氧化靶点的分子对接分析

Fig.9 Molecular docking results of key flavonoids and core antioxidant targets in daylily

注: 山柰酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷(A)和槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷(B)与 EGFR 的对接图; 槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷(C)和槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷(D)与 AKT1 的对接图。蓝色虚线: 氢键; 灰色虚线: 疏水相互作用; 黄色虚线: 盐桥。

(6"-丙二酰)葡萄糖苷和槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷(两者均含有四个酚羟基)通过 π-π 堆积、氢键和疏水相互作用与 AKT1 结合。具体而言，槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷与 AKT1 的残基 Asn53、Asn54、Gln79、Thr82、Ser205 和 Gly294 形成氢键，而槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷则与 AKT1 的残基 Gln79、Thr82、Gln203、Ser205、Arg273、Arg273 和 Asn279 形成氢键(图 9C、图 9D)。研究发现，AKT1 的激酶结构域是一个跨越残基 150-408 的保守区域[37]，而与槲皮素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷和槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)半乳糖苷相互作用的 AKT1 残基大多位于该激酶结构域内。

然而，本研究在实验验证环节存在不足，一方面，研究未构建细胞氧化应激模型，既未检测化合物处理后细胞内 ROS 水平的变化，也未探究其对抗氧化酶活性的调控效果，无法在细胞层面直接验证黄花菜中关键黄酮类化合物的抗氧化作用。另一方面，对于“黄花菜黄酮类化合物通过抑制 AKT1/EGFR 磷酸化发挥抗氧化作用”这一机制，未开展相关验证实验，无法证实该通路与氧化应激调控效果之间的关联性，相关结论仍停留在理论推测层面。

3　结论

本研究通过广泛靶向代谢组学技术，研究了四种黄花菜品种中的营养和黄酮代谢物组成；通过网络药理学和分子对接技术，探讨了黄花菜黄酮对氧化应激的潜在调节机制。研究发现，不同品种黄花菜的代谢产物分布存在显著差异。对不同品种黄花菜中的总黄酮含量(TFC)、抗氧化活性和黄酮代谢产物组成的进一步分析表明，DT 的 TFC 含量最高，而 ML 的含量最低。与 TFC 的趋势不同，抗氧化能力测定显示 MZ 的抗氧化潜力最强。在四种黄花菜品种中，共鉴定出 23 种高度差异表达代谢物(HDFMs)，包括二氢异黄酮、黄酮和黄酮醇三类。其中，有 10 种黄酮代谢产物与抗氧化能力呈显著正相关，MZ 中上述代谢产物的水平显著高于其他三种黄花菜品种，这与其较强的抗氧化活性一致。网络药理学分析显示，黄花菜中黄酮类化合物的抗氧化靶点主要集中在 PI3K-AKT 信号通路中。AKT1 和 EGFR 是黄花菜黄酮化合物的两个核心抗氧化靶点。分子对接结果表明，这些黄酮类化合物可能通过靶向 AKT1 和 EGFR 来缓解氧化应激。通过深入了解黄花菜中的代谢物组成，可为根据所需功能特性来指导黄花菜品种的选择提供依据。此外，针对实验验证环节的不足，后续需要通过细胞模型对黄花菜黄酮类化合物的抗氧化作用及机制进行分析，并证实黄花菜黄酮类化合物是通过抑制 AKT1/EGFR 磷酸化发挥抗氧化作用，明确该通路与氧化应激之间的密切关系。

© 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] KOTHA R R, TAREQ F S, YILDIZ E, et al. Oxidative stress and antioxidants-A critical review on *in vitro* antioxidant assays[J]. Antioxidants, 2022, 11(12): 2388.

[2] LÜ Renzhi, DONG Yifei, BAO Zhijie, et al. Advances in the activity evaluation and cellular regulation pathways of food-derived antioxidant peptides[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 122: 171−186.

[3] JAGANJAC M, MILKOVIC L, ZARKOVIC N, et al. Oxidative stress and regeneration[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2022, 181: 154−165.

[4] MENG Qingran, CHEN Zhihong, CHEN Feng, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Hemerocallis citrina* and the antioxidant activity study[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(7): 3082−3096.

[5] GUO Shang, QIN Nannan, WANG Xiuying, et al. Freeze-dried powder of daylily bud improves bromocriptine-induced lactation disorder in rats via JAK2/STAT5 pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 313: 116536.

[6] LIANG Yuxuan, ZHAN Xiaomei, WEI Xiaoyi, et al. Study on the material basis and mechanism of *Hemerocallis citrina* Baroni on sleep-improvement using *Drosophila* activity monitoring, metabolomic, targeted screening and transcriptomic[J]. Food Research International, 2023, 172: 112562.

[7] LIU Jinghong, YE Tian, YANG Shuaiyong, et al. Antidepressant-like activity, active components and related mechanism of *Hemerocallis citrina* Baroni extracts[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 967670.

[8] CHU Qianqian, LI Linlin, DUAN Xu, et al. Effect mechanism of different drying methods on the quality and browning for daylily [J]. LWT, 2023, 182: 114862.

[9] LIU Wei, ZHANG Juhua, ZHANG Qun, et al. Effects of postharvest chilling and heating treatments on the sensory quality and antioxidant system of daylily flowers[J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2018, 59(5): 671−685.

[10] YANG Yang, QIN Nannan, HUANG Jinling, et al. Dynamic changes of pectin epitopes and daylily tepals during flower opening and senescence of *Hemerocallis citrina*[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 288: 110367.

[11] 邓放明, 尹华, 李精华, 等. 黄花菜应用研究现状与产业化开发对策[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003, 29(6): 529−532. [DENG Fangming, YIN Hua, LI Jinghua, et al. On latest application and countermeasure for industrialization exploitation of daylily flower[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2003, 29(6): 529−532.]

[12] GUO Xiaofei, XUN Zhili, XU Lina, et al. Constructed the metabolic compound accumulation profiles of daylily at different main producing areas using multi-omics techniques[J]. Food Bioscience, 2024, 59: 104128.

[13] FRAGA C G, GALLEANO M, VERSTRAETEN S V, et al. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2010, 31(6): 435−445.

[14] SHEN Nan, WANG Tongfei, GAN Quan, et al. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2022, 383: 132531.

[15] URQUIAGA I, LEIGHTON F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress[J]. Biological Research, 2000, 33(2): 55−64.

[16] MA Da, WANG Bo, XIAO Shan, et al. Non-targeted metabolomics unveils metabolic spectrum characteristics and core metabolite interaction networks in water kefir fermentation[J]. LWT, 2024, 195: 115840.
[17] WILLIAMSON G, KAY C D, CROZIER A. The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: A review from a historical perspective[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2018, 17(5): 1054−1112.
[18] CAPORALI S, de STEFANO A, CALABRESE C, et al. Anti-inflammatory and active biological properties of the plant-derived bioactive compounds luteolin and luteolin 7-glucoside[J]. Nutrients, 2022, 14(6): 1155.
[19] WANG Weiyou, SUN Cuixia, MAO Like, et al. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 56: 21−38.
[20] BANGAR S P, CHAUDHARY V, SHARMA N, et al. Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(28): 9580−9604.
[21] SHAHBAZ M, IMRAN M, ALSAGABY S A, et al. Anticancer, antioxidant, ameliorative and therapeutic properties of kaempferol[J]. International Journal of Food Properties, 2023, 26(1): 1140−1166.
[22] AHANGARPOUR A, OROOJAN A A, KHORSANDI L, et al. Hyperglycemia-induced oxidative stress in isolated proximal tubules of mouse: The *in vitro* effects of myricitrin and its solid lipid nanoparticle[J]. Archives of Physiology and Biochemistry, 2021, 127(5): 422−428.
[23] KIM D Y, KIM S R, JUNG U J. Myricitrin ameliorates hyperglycemia, glucose intolerance, hepatic steatosis, and inflammation in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic mice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(5): 1870.
[24] KRISHNAN B, PUGALENDI K V, SARAVANAN R. Ameliorative potential of chrysoeriol, a bioactive flavonoid on oxidative stress and hepatic marker enzymes in Streptozotocin induced diabetic rats[J]. Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2019, 5(3): 614−624.
[25] CHMIEL M, STOMPOR-GORĄCY M. The spectrum of pharmacological actions of syringetin and its natural derivatives-A summary review[J]. Nutrients, 2022, 14(23): 5157.
[26] SULTANA S, HOSSAIN M L, SOSTARIC T, et al. Investigating flavonoids by HPTLC analysis using aluminium chloride as derivatization reagent[J]. Molecules, 2024, 29(21): 5161.
[27] ZHAO Li, ZHANG Hong, LI Ning, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 309: 116306.
[28] ABULIZI A, SIMAYI J, NUERMAIMAITI M, et al. Quince extract resists atherosclerosis in rats by down-regulating the EGFR/PI3K/Akt/GSK-3β pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 160: 114330.
[29] SUN H, WANG Z Y, YAKISICH J. Natural products targeting autophagy via the PI3K/Akt/mTOR pathway as anticancer agents[J]. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2013, 13(7): 1048−1056.
[30] LIU Rui, CHEN Youwen, LIU Guangzhi, et al. PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11: 797.
[31] BHRDWAJ A, ABDALLA M, PANDE A, et al. Structure-based virtual screening, molecular docking, molecular dynamics simulation of EGFR for the clinical treatment of glioblastoma[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2023, 195(8): 5094−5119.
[32] KIM M J, CHOI W G, AHN K J, et al. Reduced EGFR level in eIF2α phosphorylation deficient hepatocytes is responsible for susceptibility to oxidative stress[J]. Molecules and Cells, 2020, 43(3): 264−275.
[33] LI Jun, YANG Xuemei, LIU Fang, et al. Activated PI3K/AKT signaling pathway associates with oxidative stress and impaired developmental potential of vitrified-thawed oocytes[J]. Reproductive Sciences, 2020, 27(1): 404−410.
[34] TEILLET F, BOUMENDJEL A, BOUTONNAT J, et al. Flavonoids as RTK inhibitors and potential anticancer agents[J]. Medicinal Research Reviews, 2008, 28(5): 715−745.
[35] PAGGI J M, PANDIT A, DROR R O. The art and science of molecular docking[J]. Annual Review of Biochemistry, 2024, 93: 389−410.
[36] ZUO Airen, DONG Huanhuan, YU Yanying, et al. The antityrosinase and antioxidant activities of flavonoids dominated by the number and location of phenolic hydroxyl groups[J]. Chinese Medicine, 2018, 13(1): 51.
[37] KUMAR B H, KABEKKODU S P, PAI K S R. Structural insights of AKT and its activation mechanism for drug development[J]. Molecular Diversity, 2025, 29(6): 5443−5463.