

昆仑雪菊多酚鉴定及抗糖化老化损伤作用

陈小芳¹, 梅漫雪², 李名洁³, 舒鹏³, 邓长生¹, 朱伟^{4*}

(1. 广州市白云区石井人民医院, 广东广州 510430) (2. 南方医科大学中医药学院, 广东广州 510515)

(3. 深圳护家科技有限公司 HBN 研发中心, 广东深圳 518000) (4. 广东省中医院, 广东广州 510120)

摘要: 为研究昆仑雪菊多酚的抗糖化老化损伤作用, 本研究首先采用响应面法优化昆仑雪菊多酚提取物 (*Coreopsis tinctoria* Nutt. Extract, CtNE) 的制备工艺, 并利用液质联用技术进行成分鉴定; 随后以丙酮醛诱导建立 HaCaT 细胞糖化老化损伤模型, 评价 CtNE 的干预效应。通过检测晚期糖基化终产物 (Advanced glycation end products, AGEs)、 β -半乳糖苷酶 (Senescence-associated β -galactosidase, SA- β -Gal)、超氧化物歧化酶 (Reactive oxygen species, SOD) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 水平, 采用流式细胞术分析活性氧 (Reactive oxygen species ROS) 含量、细胞周期分布及细胞凋亡情况, 并借助 Western blot 技术检测核因子红系 2 相关因子 2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 和血红素氧合酶 1 (Heme oxygenase-1, HO-1) 的蛋白表达。发现优化后的 CtNE 共鉴定出 28 种化合物; 与模型组相比 ($P < 0.05$), CtNE 使 AGEs 水平下降 28.81%, SA- β -Gal 阳性率降低 43.97%, ROS 下降 61.05%, SOD 活性恢复至 95.75%, MDA 减少 42.16%, S 期细胞比例提升至 35.50%; 高剂量 CtNE 使 Nrf2 核蛋白表达增加 2.21 倍, HO-1 提升 1.82 倍, 通过上调 Nrf2/HO-1 信号通路改善 HaCaT 细胞糖化老化氧化应激损伤。本研究为昆仑雪菊在改善皮肤糖化衰老方面的应用提供了理论基础, 有助于进一步拓展其开发利用。

关键词: 昆仑雪菊; 多酚; 响应面法; 液质联用技术; 糖化老化; 皮肤保护

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.7.1811

Characterization of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Polyphenols with Anti-Glycation and Anti-Aging Potential for Functional Applications

CHEN Xiaofang¹, MEI Manxue², LI Mingjie³, SHU Peng³, DENG Changsheng¹, ZHU Wei^{4*}

(1. Shijing People's Hospital of Baiyun District, Guangzhou 510430, China)

(2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

(3. HBN Research Institute and Biological Laboratory Shenzhen Hu jia Technology Co. Ltd., Shenzhen 518000, China)

(4. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

Abstract: In this study, the protective effects of polyphenols from *Coreopsis tinctoria* Nutt. against glycation-induced aging damage were investigated. First, response surface methodology was employed for the optimization of polyphenol extraction from *Coreopsis tinctoria* Nutt. (CtNE), and liquid chromatography-mass spectrometry was applied for component identification. Second, a glycation-mediated aging damage model was established in HaCaT cells using methylglyoxal, and intervention with CtNE was subsequently performed. The levels of advanced glycation end products (AGEs), senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) were detected. Reactive oxygen species (ROS) content, cell cycle distribution, and cell apoptosis were analyzed by flow cytometry. The protein expression levels of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) were determined by Western blot assay. The results showed that 28 compounds were identified in the optimized CtNE. Compared with the model group ($P < 0.05$), AGE levels were reduced by 28.81%, the positive rate of SA- β -Gal was decreased by 43.97%, and ROS content was lowered by 61.05% after CtNE treatment. SOD activity was recovered to 95.75%, while MDA content was reduced by 42.16%. The proportion of cells in S phase was increased to 35.50%. Furthermore, the nuclear protein expression of Nrf2 was increased by 2.21-fold and that of HO-1 by 1.82-fold in the high-dose CtNE group, the Nrf2/HO-1 signaling pathway was upregulated, and glycation-induced aging as well as oxidative stress damage in HaCaT cells were ameliorated. This study was designed to provide a theoretical basis for the application of *Coreopsis tinctoria* Nutt. in improving skin glycation senescence,

收稿日期: 2025-12-16; 修回日期: 2026-07-15; 接受日期: 2026-07-16

基金项目: 广东省中医院中医药科学技术专项 (YN2023MS44)

作者简介: 陈小芳 (1993-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 中药物质基础及药效研究, E-mail: cxiaofang589009@163.com

通讯作者: 朱伟 (1975-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 中药物质基础及药效研究, E-mail: zhuwei9201@163.com

and its application and development were further promoted.

Key words: *Coreopsis tinctoria* Nutt; polyphenol; response surface methodology; liquid mass combination technology; anti-glycation; skin protection

昆仑雪菊, 学名两色金鸡菊 (*Coreopsis tinctoria* Nutt.), 主要分布于新疆昆仑山北麓海拔 3 000 米以上的高寒地区。作为维吾尔族传统茶饮, 其性平、味甘, 具有清热解毒、活血化瘀功效, 对燥热烦渴、心慌、胃肠不适、食欲不振、痢疾及疮疖肿毒等具疗效^[1]。近年来, 随着天然产物研究的深入, 昆仑雪菊被证实富含多酚、多糖、黄酮、挥发油、皂苷、脂肪酸、氨基酸及微量元素等多种活性成分^[2], 在抗氧化^[3]、调节血糖^[4,5]、降低血压血脂^[6,7]、抗肿瘤^[8]、改善脑功能^[9]、保护肝^[10]肾^[11]胰^[12]脏器、调节肠道菌群^[13]、保护关节^[14]、抗皮肤老化^[15]等方面表现出良好活性, 其中昆仑雪菊中的多酚类成分具有较强的自由基清除能力和抗氧化活性^[16], 是其主要的功能性组分之一, 已成为功能食品和化妆品开发的热点植物资源。

尽管响应面法已被应用于雪菊多酚提取工艺优化, 在乙醇体积分数 54.00%、料液比 1:42 (g:mL)、提取时间 55 min 的条件下, 多酚提取量可达 63.10 mg GAE g DW⁻¹^[17], 但是针对特定生物活性导向的多酚提取工艺研究仍显不足。此外, 液质联用技术 (Liquid Chromatography-mass Spectrometry, LC-MS) 也被广泛应用于昆仑雪菊中多酚类物质的分析, 能够实现对多种黄酮类、酚酸类^[18]成分的分离与初步鉴定, 但多酚提取物在复杂生物体系中的作用靶点与分子机制尚待阐明。

尤为重要的是, 在皮肤老化机制中, 非酶促糖基化反应 (糖化反应) 产生的晚期糖基化终产物 (Advanced glycation end products, AGEs) 是导致胶原蛋白交联、弹性下降及肤色暗沉的核心病理环节^[19]。AGEs 的累积不仅破坏皮肤结构蛋白, 更通过氧化应激放大炎症损伤^[20]。现有研究表明, 昆仑雪菊多酚具有较强的自由基清除能力^[16], 但其抗糖化活性研究尚处于起步阶段, 主要集中于体外 AGEs 抑制实验^[21], 缺乏基于细胞模型的系统性评价, 更未见“成分-活性-机制”的整合研究。

基于此, 本研究拟构建以下技术路线: 首先, 采用响应面优化策略, 建立多酚高效提取工艺; 其次, 运用 LC-MS 技术对多酚组分进行定性分析; 最后, 通过糖化诱导的细胞模型^[22], 结合抗氧化与抗糖化双指标评价体系, 系统阐释昆仑雪菊多酚延缓皮肤老化的作用机制。该研究不仅可为雪菊资源的高值化利用提供理论支撑, 更为抗衰老功能食品及化妆品的开发提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

选用的昆仑雪菊采于 2021 年 9 月新疆和田昆仑山区, 由新疆维吾尔自治区皮山县科技局提供。所有样品均经干燥处理, 密封, 4 °C 冰箱保藏。

1.2 主要实验试剂

没食子酸、绿原酸、木犀草苷、(-)-3,5-二咖啡酰奎宁酸、黄诺马苷、马里苷、花旗松素、福林酚均购自上海源叶有限公司; 无水乙醇、HPLC 甲醇、HPLC 乙腈、HPLC 甲酸, 购自广州化学试剂厂; 维生素 E、40.00%丙酮醛溶液, 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; FBS 胎牛血清、DMEM 高糖培养基、青霉素-链霉素、0.25%胰蛋白酶及无血清细胞冻存液, 购自 Biological Industries。Human AGEs Elisa Kit 试剂盒, 购自上海爱萌优宁生物技术有限公司; β -半乳糖苷酶染色试剂盒, 购自北京索莱宝科技有限公司; 总超氧化物歧酶活性检测试剂盒、脂质氧化检测试剂盒、活性氧试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒, 购自上海碧云天生物技术有限公司; Cell Cycle Staining Kit 细胞周期检测试剂盒, 购自联科生物; 血红素氧合酶-1 兔单克隆抗体、核因子 E2 相关因子 2 兔单克隆抗体, 购自赛信通 (上海) 生物试剂有限公司。

1.3 主要仪器和设备

U-2910 紫外双光束分光光度计, 日立高新技术公司; FreeZone 真空冷冻干燥机, 美国 Labconco; UltiMate 3000 超高效液相与 O-Exactive Plus 高分辨质谱联用系统, Thermo Fisher; Z326K 小容量泛用高速冷冻型离心机, Hermle;

Vortex-Genie2T 定时涡旋振荡器, Scientific Industries; 31111CO₂ 细胞培养箱, Thermo; SHZ-B 双功能水浴恒温振荡器, 上海晶坛仪器制造有限公司; ECLIPSE Ti2-E 全自动倒置荧光显微镜, Nikon; NovoCyte Quanteon 流式细胞仪, 安捷伦。

1.4 实验方法

1.4.1 昆仑雪菊多酚含量的测定

使用福林酚法^[23], 并在紫外分光光度计 760 nm 测定。得到 $Y=0.009\ 710X+0.037\ 25$, $R^2=0.997\ 4$ 的没食子酸标准曲线, 再根据标准曲线公式计算浓度。昆仑雪菊提取物中多酚(以没食子酸计)的含量按下式计算:

$$TPC = \frac{(0.009\ 710 \times A_{OD} + 0.037\ 25) \times DF \times V}{W_0} \quad (1)$$

式中:

TPC——以每克昆仑雪菊原料所含多酚质量为计, mg GAE g DW⁻¹;

A_{OD}——是吸光度, nm;

DF——为稀释倍数;

V——为溶液体积, mL;

W₀——为雪菊花蕾的重量, g。

1.4.2 响应面法设计

1.4.2.1 昆仑雪菊溶液制备及测定

检测分别用精密天平称取 1.00 g 雪菊, 按料液比 1:10 (g:mL), 按照单因素水平设计条件分别不同的温度、时间、乙醇体积分数, 每组 3 个, 重复 2 次溶液混合, 缺少的补充溶液至相同体积。

1.4.2.2 因素与水平设计方法

采用 Box-Behnken 响应曲面设计(如表 1 所示), 结果使用 Design Expert 软件分析。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Analytical factors and levels for response surface methodology

水平	因素		
	a 温度/℃	b 时间/min	c 乙醇/%
-1	60	45	60
0	65	60	70
1	70	75	80

1.4.2.3 响应曲面模型验证实验

根据 Design Expert 软件进行验证实验, 所得的昆仑雪菊多酚提取量平均值与预测值差距不大, 表明该结果是符合客观实际的。

1.4.3 昆仑雪菊粉末制备

根据响应面法得到的优化条件, 制备适量的药液。离心分离药渣, 用真空冻干机得到昆仑雪菊醇提物粉末, 密封放置于阴凉干燥处密封备用。

1.4.4 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 检测方法

分别精密称定雪菊醇提物粉末及各对照品, 用体积分数 75% 甲醇稀释, 制成质量浓度为 5 μg·mL⁻¹ 的雪菊溶液及混标溶液, 取适量至色谱进样小瓶待用。

1.4.4.1 色谱条件

采用 Xcalibur (version 3.1, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) 软件进行质谱数据采集。色谱柱选用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm, 2.1×100 mm), 流速为 0.20 mL min⁻¹, 柱温 30 ℃。梯度洗脱由乙腈(A)和体积分数 0.1% 甲酸水(B)组成, 梯度程序为: 体积分数 5.00% A, 0~0.5 min; 体积分数 5.00%~95.00% A, 0.5~9.5 min; 体积分数 95.00%~99.00% A, 9.5~10 min; 体积分数 99% A, 10~11 min。柱温 30 ℃, 进样量为 2 μL。

1.4.4.2 质谱方法

采用 HESI 离子源电离, Q Exactive Orbitrap 质谱仪进行检测。离子源及质谱参数设置如下: 离子喷雾电压,

3 500 V; 毛细管温度, 350 °C; 辅助气, 1.03 bar; 鞘气, 3.10 bar; 采用全扫描 (Full scan) 及二级扫描 (data-dependent MS², DD-MS²) 模式分别在负离子模式下对样品进行质谱数据采集, 扫描模式的分辨率分别设置为 35 000、17 500, 扫描范围为 150~1 000 *m/z*, 碰撞能量为 35。

1.4.4.3 数据处理

采用 Xcalibur 的 Qual Browser 模块对采集得到的样品的质谱图进行分析, 通过对总离子流图中色谱峰的母离子峰和碎片离子峰进行峰提取, 提取得到的高分辨一、二级质谱信息, 结合精确的元素组成信息, 并与对照品、文献报道数据进行比对, 对化合物进行分析与鉴定。

1.4.5 昆仑雪菊乙醇提取物改善糖化老化损伤

1.4.5.1 细胞分组

根据前期预实验结果, 把细胞分为阴性组 (C)、丙酮醛 (Methylglyoxal, MGO) 为对照组、昆仑雪菊干预组 (CtNE)、维生素 E (VitaminE, VitE) 为阳性药组。阴性组仅用完全培养基, 对照组 (含 600.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丙酮醛), 昆仑雪菊干预组分为低、中、高剂量 (含 12.50、25.00、50.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ CtNE)、阳性药组 (含 100.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ VitE), 并在细胞培养箱中孵育 24 小时。

1.4.5.2 相关检测方法

运用试剂盒检测 HaCaT 细胞内的 AGEs^[24]、衰老相关 β -半乳糖苷酶^[25] (β -Galactosidase Staining, SA- β -Gal)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛^[26] (Malondialdehyde, MDA); 流式细胞术检测活性氧^[27] (Reactive Oxygen Species, ROS)、细胞周期和细胞凋亡^[28]; 使用 Western blot 检测核因子红系 2 相关因子 2^[29] (Nuclear Factor E2 Related Factor 2, Nrf2)、血红素氧合酶 1 (Heme Oxygenase-1, HO-1) 蛋白表达^[29]。

1.4.6 数据处理与统计学分析

使用 IamgeJ、SPSS、GraphPad Prism、InDraw 软件进行统计分析和画图。计量数据以平均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较采用 Dunnett-t 检验或 Tukey's HSD 检验; 方差不齐时采用 Welch's ANOVA 结合 Games-Howell 检验。显著性水平设定为 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义, $P<0.01$ 表示差异极显著, $P<0.001$ 表示差异高度显著。

2 结果与分析

前述工艺优化确保了多酚的高效溶出, 成分鉴定揭示了其化学组成特征, 待取工艺与成分组成明确后, 本研究通过构建 MGO 诱导的 HaCaT 细胞糖化衰老模型, 从 AGEs 水平、氧化应激指标、细胞周期分布及 Nrf2/HO-1 通路蛋白表达等角度, 系统评价其抗糖化-抗氧化效应, 并探讨分子机制。

2.1 单因素实验结果

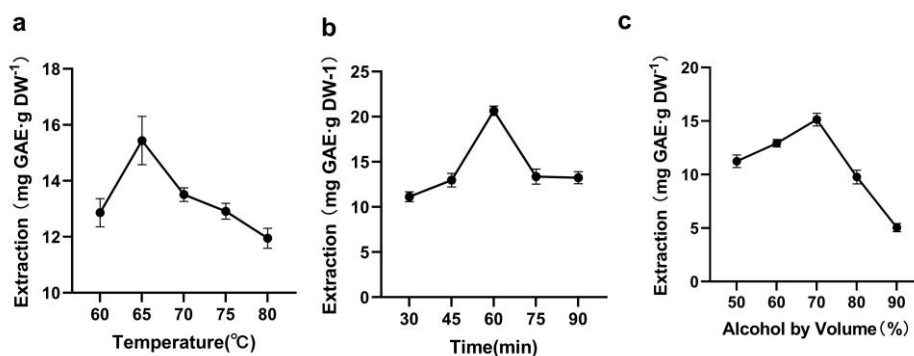


图1 三因素对提取率的影响

Fig.1 Effect of the three factors on the extraction rate of polyphenols

注: (a) 提取温度、(b) 提取时间、(c) 提取乙醇体积分数。

图 1a 中多酚质量分数随温度升高先增后降, 65 °C 时最高, 达 15.44 mg GAE g DW⁻¹。温度升高加快分子运动, 促进多酚向溶剂扩散; 65 °C 后, 可能因酚类随水蒸气挥发或被高温破坏, 导致提取率下降^[30]。图 1b 中提取率随时间延长先增后降, 60 min 时最高, 达 20.65 mg GAE g DW⁻¹。短时提取不充分, 随时间延长多酚浓度差趋于平

衡；超时后，杂质溶出竞争^[31]且多酚长时间暴露氧化^[32]，导致提取率降低。图 1c 中提取效率随乙醇升高先增后降，体积分数 70%乙醇时最高，达 15.01 mg GAE g DW⁻¹。多酚含多个羟基（弱极性），随乙醇浓度升高更易溶于混合液^[33]；但乙醇浓度过高时，其与多酚溶液极性呈负相关，且会导致雪菊蛋白质变性，使多酚无法提取，最终提取量降低^[34]。

最后选择 70%乙醇做为最佳的提取剂浓度，65 ℃为最佳提取温度，60 min 为最佳提取时间。虽然单因素结果为响应面设计提供了因素水平依据，但各因素间可能存在交互作用，单独优化难以获得真实最优值。因此，基于单因素结果，选取温度（60~70 ℃）、时间（45~75 min）、乙醇体积分数（60%~80%）为中心点水平，采用 Box-Behnken 设计开展三因素三水平响应面优化实验。

2.2 Box-Behnken 响应面法实验结果及验证实验

响应面法是一种结合数学建模与统计分析的优化工具，已广泛应用于植物多酚提取工艺的优化研究^[35]。BBD 设计作为 RSM 的常用实验设计方法，具有实验次数少、无极端点组合等优势，适用于提取工艺的多因素优化^[36]。

表 2 Box-Behnken 响应面实验分组设计及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface analysis					
实验号	a 温度/℃	b 时间/min	c 乙醇/%	多酚质量/(mg GAE g DW ⁻¹)	
1	1	1	0	24.84	
2	0	0	0	27.33	
3	-1	1	0	21.03	
4	-1	0	-1	19.52	
5	1	-1	0	24.32	
6	0	0	0	26.53	
7	0	0	0	27.48	
8	-1	0	1	23.94	
9	0	1	-1	24.41	
10	0	0	0	27.61	
11	0	-1	1	25.73	
12	0	0	0	27.43	
13	1	0	-1	25.62	
14	0	1	1	23.98	
15	1	0	1	23.57	
16	0	-1	-1	23.85	
17	-1	-1	0	22.29	

表 3 响应曲面二次模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance of response surface quadratic mode					
来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值
模型	84.40	9	9.38	75.54	<0.000 1
a 温度	16.73	1	16.73	134.80	<0.000 1
b 时间	0.47	1	0.47	3.75	0.094 0
c 乙醇	1.82	1	1.82	14.69	0.006 4
ab	0.79	1	0.79	6.38	0.039 5
ac	10.47	1	10.47	84.31	<0.000 1
bc	1.33	1	1.33	10.75	0.001 35
a ²	31.68	1	31.68	255.21	<0.000 1
b ²	8.41	1	8.41	67.72	<0.000 1
c ²	7.91	1	7.91	63.71	<0.000 1

	0.87	7	0.12	—	—
失拟项	0.13	3	0.044	0.24	0.864 6
纯误差	0.74	4	0.18	—	—
总误差	85.27	16	—	—	—

注：P<0.05，差异显著；P<0.01，差异极显著。

使用 Design Expert 进行实验分组设计及结果（表 2），拟合得到的二次多项回归方程如下：

$$TPC_{CINE} = +27.28 + 1.45a - 0.24b + 0.48c + 0.44ab - 1.62 - 0.58bc - 2.74a^2 - 1.41b^2 - 1.37c^2 \tag{2}$$

式中：

TPC_{CINE} ——表示雪菊总多酚含量占每克雪菊的质量，mg GAE g DW⁻¹；

a ——表示温度，℃；

b ——表示时间，min；

c ——乙醇体积分数，%。

该模型的 $F=75.54$ ， $P=<0.000\ 1$ 表明该模型的差异显著， R^2 为 0.989 8（表 3）。计算得乙醇体积分数 70%，提取时间为 60 min，温度为 65 ℃时最高，预测值最大达质量分数 27.61 mg GAE g DW⁻¹。

选择体积分数 70%乙醇，提取时间为 60 min，温度为 65 ℃条件下进行验证实验，实验 3 次，验证实验所得多酚提取量为 26.98 mg GAE g⁻¹ DW，与预测值（27.61 mg GAE g⁻¹ DW）相对误差为 2.28%，表明该模型拟合良好，预测结果可靠^[36]。

根据图 2 三因素两两相交中，等高线最密的是温度和乙醇浓度，说明这两两因素对雪菊提取影响最大^[36]。

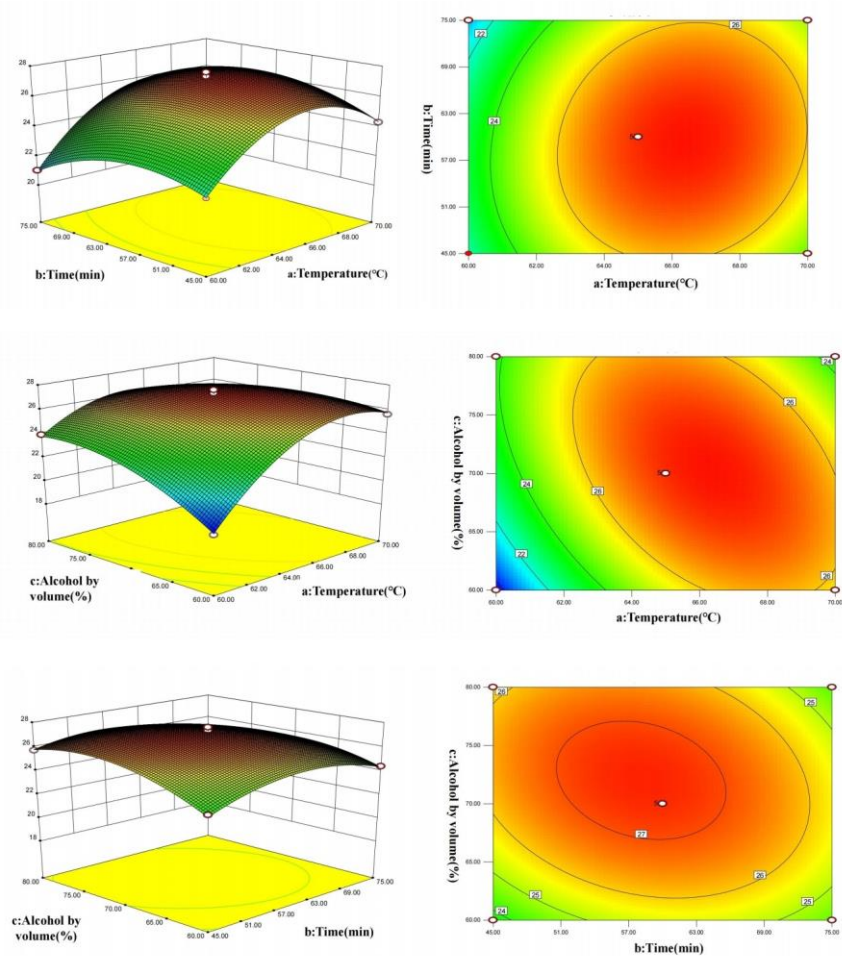


图 2 三因素两两相交对多酚提取的影响

Fig.2 The interaction effect of 3 factors on polyphenol extraction rate

2.3 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 成分鉴定实验结果

提取工艺的优化确保了多酚的高效溶出,但提取物的化学组成尚不明确。为全面表征昆仑雪菊醇提物的多酚谱,本研究采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 技术对优化条件下获得的提取物进行成分鉴定。结合负离子模式总离子色谱(图3)与数据结果(表4),成功从昆仑雪菊中鉴定出28种化合物(图4),其中图3b对应标准品化合物,化合物1为绿原酸、化合物2为木犀草苷、化合物3为(E,E)-3,5-二咖啡酰奎宁酸、化合物4为没食子酸、化合物5为黄诺马苷、化合物6为马里苷、化合物7为花旗松素。依据裂解行为,鉴定出的化合物可以更详细地归为三大类:首先是绿原酸类衍生物,该系列由奎宁酸与咖啡酸单元经脱水缩合而成,特征碎片为奎宁酸 m/z 191.05、咖啡酸 m/z 179.03^[37]。以绿原酸为例,同时出现上述两碎片,经与标准品比对,鉴定为绿原酸;其次是黄酮类(苷元与苷),特征为黄酮苷先失 162 Da 的中性糖得苷元离子,继而发生中性丢失(H_2O 、 CO 、 CO_2)或 RDA 裂解^[38,39]。如 Flavanomarein 先失己糖得 m/z 287.06 苷元,再脱水得 m/z 269.05, RDA 裂解给出诊断离子 m/z 151.00、135.04, A、C 环取代差异导致碎片相差 14 或 16 Da^[40]。最后是小分子有机酸,以脱水、脱羧碎片为主^[41]。如葡萄糖酸即给出脱水离子 m/z 177.04 与脱羧离子 m/z 129.02^[42]。借助上述精细裂解规律及高分辨 MSⁿ 数据,结合优化的 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 方法,实现了昆仑雪菊醇提物中多样多酚组分的可靠鉴定。以下为各化合物鉴定结果分析:

化合物 1: $[M-H]^-$ m/z 353.09 ($C_{16}H_{18}O_9$), 碎片 m/z 191.06 (奎宁酸)、179.03 (咖啡酸), 经对照品比对, 确认为绿原酸 (Chlorogenic Acid)。

化合物 2: $[M-H]^-$ m/z 447.09 ($C_{21}H_{20}O_{11}$), 碎片 m/z 285.04 (木犀草素苷元)、135.04, 经对照品比对, 确认为木犀草苷 (Cynaroside)。

化合物 3: $[M-H]^-$ m/z 515.12 ($C_{25}H_{24}O_{12}$), 碎片 m/z 353.09 (单咖啡酰奎宁酸)、191.06 (奎宁酸)、179.03 (咖啡酸), 经对照品比对, 确认为(E,E)-3,5-二咖啡酰奎宁酸。

化合物 4: $[M-H]^-$ m/z 169.01 ($C_7H_6O_5$), 碎片 m/z 125.02 ($[M-H-CO_2]^-$), 经对照品比对, 确认为没食子酸 (Gallic Acid)。

化合物 5~6: $[M-H]^-$ m/z 449.11 ($C_{21}H_{22}O_{11}$), 碎片 m/z 287.06 (苷元)、269.05 ($[苷元-H_2O]^-$)、151.00 与 135.04 (RDA 碎片), 经对照品比对, 确认为黄诺马苷 (Flavanomarein) 与马里苷 (Marein)。

化合物 7: $[M-H]^-$ m/z 303.05 ($C_{15}H_{12}O_7$), 碎片 m/z 285.04 ($[M-H-H_2O]^-$)、177.02 (RDA 碎片), 经对照品比对, 确认为花旗松素 (Taxifolin)。

化合物 8: $[M-H]^-$ m/z 195.05 ($C_6H_{12}O_7$), 碎片 m/z 177.04 ($[M-H-H_2O]^-$)、129.02 ($[M-H-H_2O-CO_2]^-$), 初步鉴定为葡萄糖酸 (Gluconic Acid)。

化合物 9: $[M-H]^-$ m/z 133.01 ($C_4H_6O_5$), 碎片 m/z 115.00 ($[M-H-H_2O]^-$), 初步鉴定为马来酸 (Malic Acid)。

化合物 10: $[M-H]^-$ 及碎片同化合物 1, 保留时间不同, 推测为绿原酸位置异构体, 初步鉴定为新绿原酸 (Neochlorogenic Acid)。

化合物 11: $[M-H]^-$ m/z 465.10 ($C_{21}H_{22}O_{12}$), MS² 失 162 Da 得 m/z 303.05 (二氢槲皮素苷元), 再失水、RDA 裂解, 确认为花旗松素-3-葡萄糖苷 (Taxifolin-3-Glucoside)。

化合物 12: $[M-H]^-$ m/z 819.20 ($C_{37}H_{40}O_{21}$), 逐级失 162、210 Da 得 m/z 447.09, 再得绿原酸 m/z 353.09 及二氢槲皮素苷元 m/z 303.05, 确认为绿原酰基二氢槲皮素-葡萄糖苷 (Chlorogenic Acyl Taxifolin-Glucoside)。

化合物 13: $[M-H]^-$ m/z 479.08 ($C_{21}H_{20}O_{13}$), 失 162 Da 得 m/z 317.03 (杨梅酮苷元), 高氧合度符合杨梅酮特征, 确认为杨梅酮葡萄糖甙 (Myricetin Glucoside)。

化合物 14: $[M-H]^-$ m/z 317.03 ($C_{15}H_{10}O_8$), MS 给出 m/z 299.02 ($[M-H-H_2O]^-$)、271.02 ($[M-H-H_2O-CO]^-$), 确认为杨梅酮 (Myricetin)。

化合物 15~16: $[M-H]^-$ m/z 287.06 ($C_{15}H_{12}O_6$), 碎片 m/z 269.05、151.00、135.04, 符合二氢查尔酮裂解规律, 确认为奥卡宁 (Okinin) 与异奥卡宁 (Isookinin)。

化合物 17: $[M-H]^-$ m/z 303.05 ($C_{15}H_{12}O_7$), 碎片 m/z 285.04、175.04 (RDA 特征), 确认为表花旗松素 (Epi-Taxifolin)。

化合物 18~19: $[M-H]^-$ m/z 285.04 ($C_{15}H_{10}O_6$), 碎片 m/z 257.05、151.00 ($^3A^-$ RDA), 提示为木犀草素 (Luteolin)

或山萘酚 (Kaempferol)。

化合物 20~21: $[M-H]^-$ m/z 515.12 ($C_{25}H_{24}O_6$), 碎片含 m/z 353.09 (单咖啡酰奎宁酸)、191.05 (奎宁酸)、179.03 (咖啡酸) 及 3,4-位异构诊断离子 m/z 173.04, 因 3,4-二咖啡酰奎宁酸与 4,5-二咖啡酰奎宁酸为位置异构体, 质谱碎片高度相似, 缺乏标准品无法进一步区分, 暂推测为二者之一或混合物。

化合物 22~23: $[M-H]^-$ m/z 449.11 ($C_{21}H_{22}O_{10}$), 得柚皮素苷元 m/z 271.06 及 RDA 碎片 m/z 153.02、135.04, 符合圣草苷 (Eriodictin) 或洋李甙 (Prunin) 特征。

化合物 24~26: $[M-H]^-$ m/z 491.12 ($C_{23}H_{24}O_{12}$), MS 失 204 Da (己糖+乙酰基) 得脱乙酰奥卡宁苷元 m/z 287.06, 及其特征碎片 m/z 151.00、135.04, 确认为乙酰奥卡宁己糖苷 (Acetyl Okanin Hexoside)、乙酰马里苷 (Acetyl Marein)、乙酰奥卡宁己糖苷 (Acetyl Okanin Hexoside)。

化合物 27~28: $[M-H]^-$ m/z 271.06 ($C_{15}H_{12}O_5$), 碎片 m/z 153.02 ($^1A^+$)、135.04 (B 环碎片), 符合黄烷酮柚皮素特征, 确认为(+)-柚皮素 ((+)-Naringenin)、柚皮素 (Naringenin)。

上述鉴定结果表明, 昆仑雪菊醇提物富含黄酮类、酚酸类等多酚化合物, 其中马里苷、异奥卡宁、绿原酸等均为已知具有抗氧化活性的成分。为验证该提取物在糖化应激条件下的实际生物活性, 并阐明其抗皮肤衰老的作用机制, 本研究进一步构建 MGO 诱导的 HaCaT 细胞糖化衰老模型, 系统评价其对 AGEs 累积、氧化应激及细胞衰老的改善作用。

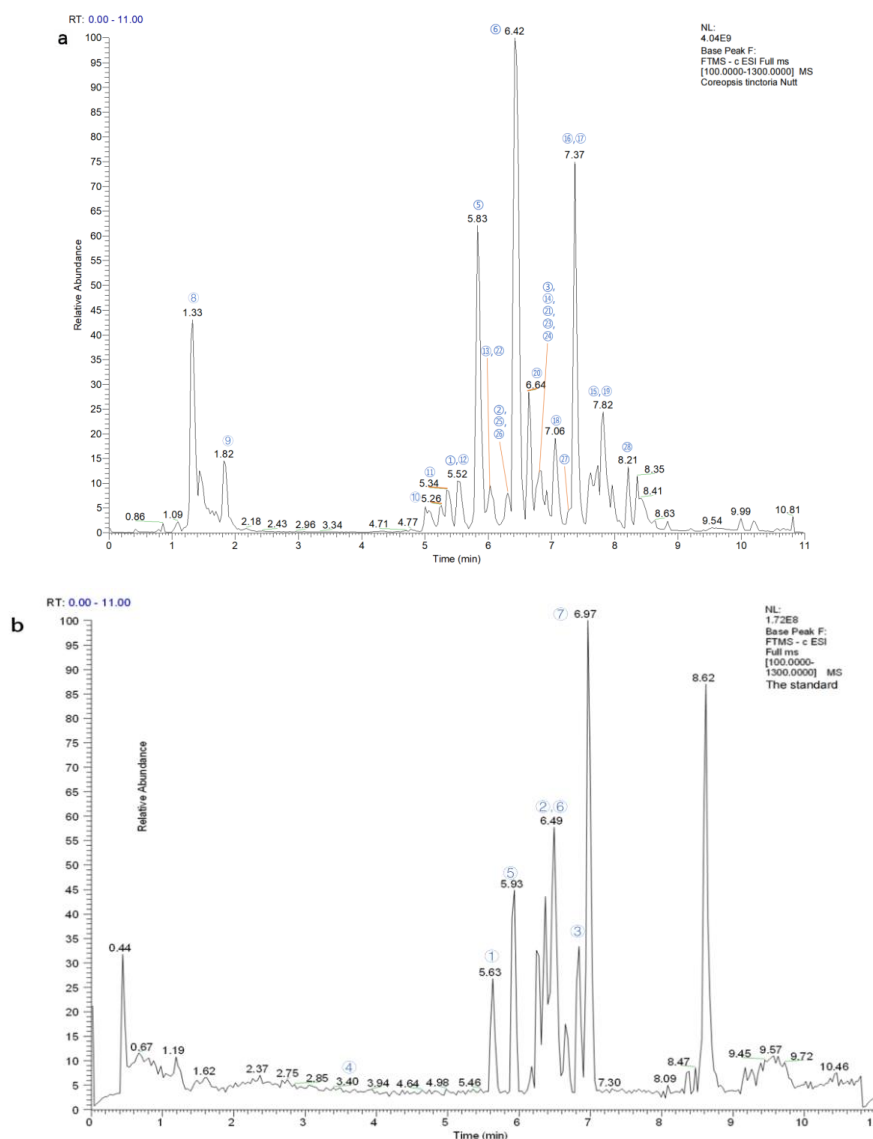


图3 负离子模式下的总离子色谱图

Fig.3 Total ion chromatogram in negative ion mode

注: (a) 负离子模式下昆仑雪菊总多酚的总离子色谱图; (b) 标准品的总离子色谱图。

表4 昆仑雪菊醇提物已鉴定的化合物的UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ数据

Table 4 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ data of the identified compounds in *Coreopsis tinctoria* Nutt

编号	化合物英中名称	结构式	Measured[M-H] ⁻	RT/min	MS ⁿ	ppm
1	Chlorogenic Acid ^a 绿原酸 ^a	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.09	5.54	191.06, 179.03	1.45
2	Cynaroside ^a 木犀草苷 ^a	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.09	6.31	285.04, 327.05, 135.04	2.73
3	(E,E)-3,5-Di-O-Caffeoylquinic Acid ^a (E,E)-3,5-二咖啡酰奎宁酸 ^a	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.12	6.84	191.06, 179.03, 353.09, 173.04, 135.04, 61.99	2.03
4	Gallic Acid ^a 没食子酸 ^a	C ₇ H ₆ O ₅	169.01	2.73	125.02, 78.96, 97.03	0.36
5	Flavanomarein ^a 黄诺马苷 ^a	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.11	5.83	287.06, 151.00, 135.04, 169.01, 269.05	2.68
6	Marein ^a 马里苷 ^a	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	449.11	6.42	287.06, 151.00, 135.04, 169.01, 269.05	3.21
7	Taxifolin ^a 花旗松素 ^a	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	303.05	6.92	125.02, 285.04, 177.02, 241.05, 217.05	2.91
8	Gluconic Acid 葡萄糖酸	C ₆ H ₁₂ O ₇	195.05	1.31	129.02, 129.02, 177.04	1.03
9	Malic Acid 马来酸	C ₄ H ₆ O ₅	133.01	1.45	115.00, 71.01	-1.73
10	Neochlorogenic Acid 新绿原酸	C ₁₉ H ₁₆ O ₈	353.09	5.06	191.05, 179.03, 135.04	1.87
11	Taxifolin-3-Glucoside 花旗松素-3-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₂	465.10	5.37	303.05, 285.04, 275.06, 177.02	2.36
12	Chlorogenic Acyl Taxifolin-Glucoside 新绿原酸酰基二氢槲皮素-葡萄糖苷	C ₃₇ H ₄₀ O ₂₁	819.20 479.08	5.57	447.09, 303.05, 285.04, 275.06, 353.09, 191.06	1.31
13	Myricetin Glucoside 杨梅酮葡萄糖甙	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	959.17 [2M-H]	6.02	317.03	2.20
14	Myricetin 杨梅酮	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	317.03	6.97	299.02, 271.02, 245.05, 227.03, 194.99	1.28
15	Okanin 奥卡宁	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.06	7.84	135.04, 151.00, 169.01, 269.05	3.85
16	Isookanin 异奥卡宁	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	287.06	7.36	135.043, 151.00, 169.01, 269.05	4.37
17	Epi-Taxifolin 表花旗松素	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	303.05	7.39	285.04, 241.05, 217.05, 175.04, 125.02	4.72
18	Luteolin 木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	285.04	7.05	257.05, 257.05, 133.03, 151.00	2.90
19	Kaempferol 山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.04	7.81	241.05, 135.04, 175.04, 151.00	3.42
20	3,4-Dicaffeoylquinic Acid 3,4-O-咖啡酰奎尼酸	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.12	6.58	173.04, 179.03, 191.05, 353.09	2.03
21	4,5-Dicaffeoylquinic Acid 4,5-咖啡酰奎宁酸	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.12	6.80	173.04, 179.03, 191.05, 353.09	2.03
22	Eriodictin 圣草酚	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.11	5.99	271.06, 135.04, 153.02, 253.05	1.89
23	Prunin 柚皮素-7-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	433.11	6.77	271.06, 135.04, 153.02, 253.05	2.15
24	Acetyl Okanin Hexoside 乙酰奥卡宁己糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	491.12	6.72	287.06, 151.00, 135.04, 169.01, 269.05	2.50

25	Actyl Marein 乙酰马里昔	$C_{23}H_{24}O_{12}$	491.12	6.24	287.06, 151.00, 135.04, 169.01, 269.05	2.50
26	Actyl Okanin Hexoside 乙酰奥卡宁己糖苷	$C_{23}H_{24}O_{12}$	491.12	6.24	287.06, 151.00, 135.04, 169.01, 269.05	2.50
27	(+)-Naringenin(+)-柚皮素	$C_{15}H_{12}O_5$	271.06	7.28	135.04, 153.02, 253.05, 227.07	3.32
28	Naringenin 柚皮素	$C_{15}H_{12}O_5$	271.06	8.21	135.04, 153.02, 253.05, 227.07	3.80

注: a 标准品。

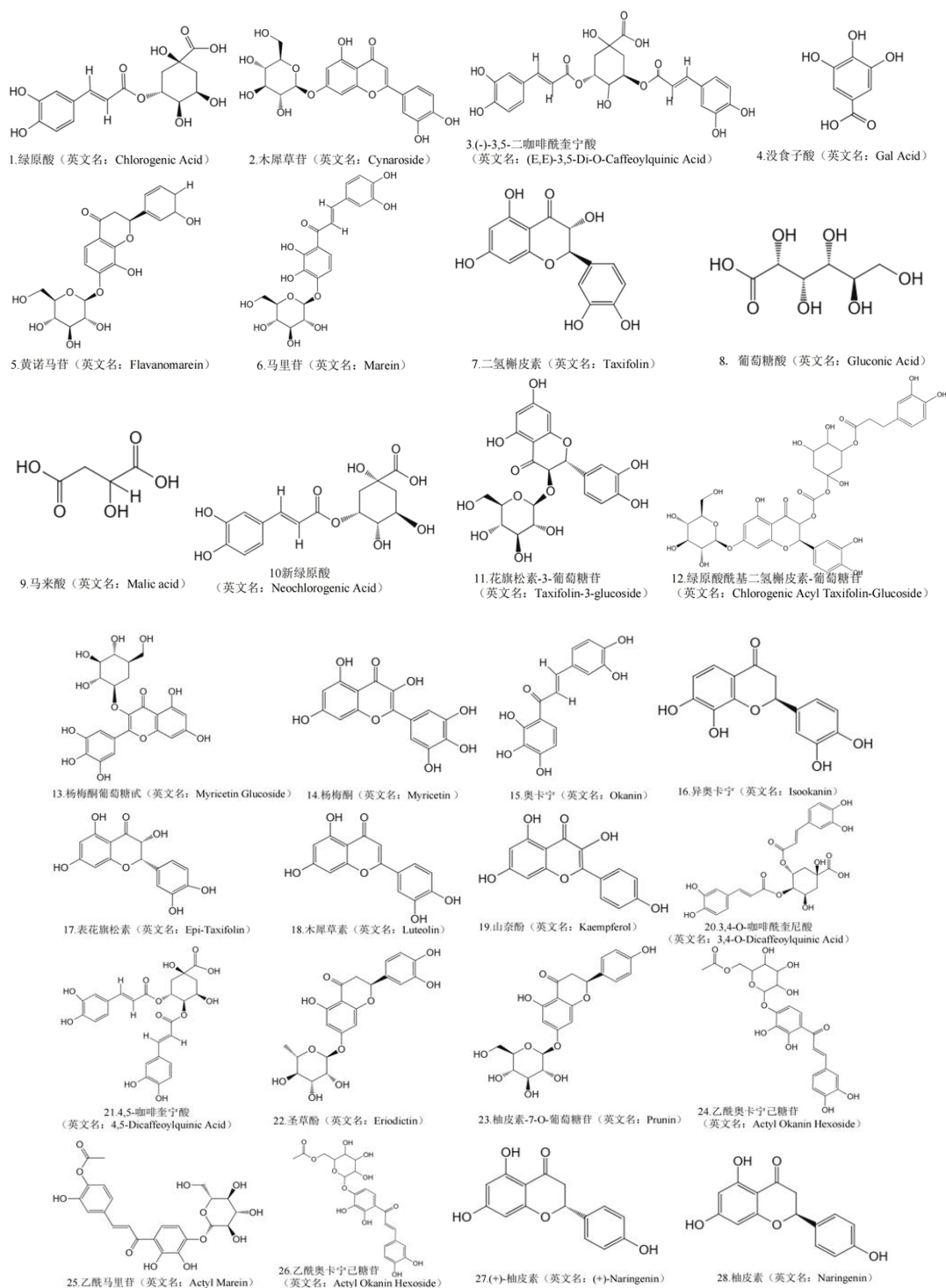


图 4 28 种化合物的分子结构图

Fig.4 Molecular structure maps of the 28 compounds

2.4 昆仑雪菊醇提物改善糖化老化氧化应激损伤

皮肤老化涉及端粒缩短、氧化应激、神经内分泌失调、DNA 损伤累积、细胞凋亡及分子交联等多重机制。研究者认为,除遗传背景外,紫外线辐射、化学暴露等外源性因素亦可诱发皮肤损伤^[15]。近年研究揭示,饮食中的还原糖与蛋白质/氨基酸经美拉德反应(Maillard Reaction)生成的晚期糖基化终末产物及其前体(如甲基乙二醛(Methylglyoxal, MGO))可破坏 DNA、线粒体及蛋白质结构,是糖化老化损伤的核心机制^[22],因此抗糖化已成为皮肤抗衰老的重要策略。

实验当中, MGO 处理可导致 HaCaT 细胞内 AGEs 含量升高至 46.71 微克每微克蛋白(Microgram microgram protein, $\mu\text{g } \mu\text{g pro}^{-1}$)(图 5), ROS 水平升高至 23.75%(图 6a), SOD 活性降至 0.47 每毫克蛋白(U milligram protein, U mg pro^{-1})(图 6b), MDA 水平升高至 88.32 $\mu\text{mol (L mg pro)}^{-1}$ (图 6c); 昆仑雪菊醇提物干预后使 ROS 下降 61.05%, SOD 活性恢复至正常的 95.75%, MDA 减少 42.16%, 总体抗氧化改善程度与 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 维生素 E 相当, 提示雪菊多酚具有较好的细胞利用度。该结果佐证了关于马里昔通过沉默信息调节因子 1(Silent Information Regulator 1, SIRT1)/Nrf2 轴增强 SOD 表达的文献报道^[43], 并进一步说明雪菊“多酚谱”而非单一成分可能产生协同效应。然而, 本研究未发现谷胱甘肽(Glutathione, GSH)过氧化物酶显著回升, 提示其抗氧化机制或偏重于 O_2^- 清除而非 H_2O_2 代谢, 后续可针对性补充过氧化氢酶活性及 GSH 循环检测, 以细化抗氧化通路图谱。

昆仑雪菊醇提物在 MGO 诱导的 HaCaT 细胞模型中表现出显著的“抗糖化-抗氧化”双重活性, 与其富含多酚类化合物(以黄酮和酚酸为主)有关。其中马里昔^[43]、异奥卡宁^[44]、表花旗松素^[45]均具有抗氧化活性, 具有修复细胞的氧化应激损伤潜力。此外, 绿原酸^[46]、木犀草苷^[47]、没食子酸^[48]、二氢槲皮素^[49]等均已单体验证抗氧化活性, 而杨梅素等更可通过直接捕获 MGO 抑制 AGEs 生成^[50], 提示雪菊的抗糖化效应可能兼具“清除羰基”与“激活内源防御”双重路径。

昆仑雪菊使 AGEs 水平下降 28.81%, SA- β -Gal 阳性率降低 43.97%(图 7), 提示其可阻断糖化终产物累积并延缓角质形成细胞衰老表型, 与绿茶多酚(Epigallocatechin gallate, EGCG)在 UVB-光老化模型中降低 AGEs 的幅度相近^[51]。值得注意的是, 本研究在丙酮醛而非葡萄糖或核糖诱导体系中验证雪菊活性, 更贴近糖尿病患者皮肤“高糖-高羰基”微环境, 为后续转化研究提供了更契合的体外证据。细胞周期结果显示, MGO 处理导致细胞周期阻滞, 表现为 S 期细胞比例降低, 提示 DNA 复制受抑制。CtNE 干预后, S 期细胞比例趋于对照组有所改变, 高剂量的雪菊提取物将 S 期比例由模型组的 21.11%提升至 35.50%(图 8), 表明 CtNE 调节细胞周期进程, 加速细胞进入 S 期, 促进 DNA 修复。

MGO 阻滞 HaCaT 细胞 DNA 复制于 S 期, 与糖化应激抑制 DNA 聚合酶 δ 及核苷酸还原酶的机制相符^[52]。高剂量的雪菊提取物将 S 期比例明显提升($P < 0.05$), 能快速恢复正常水平, 但未完全逆转 G2/M 停滞, 表明其促增殖效应主要作用于 DNA 合成期, 对 G2 检查点调控有限。而 CtNE 在 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时无凋亡差异, 安全性更优, 支持其作为长期外用活性物的潜力。

Nrf2/HO-1 通路上调是本研究揭示的核心机制。Nrf2 调控 HO-1 是细胞内重要的抗氧化应激途径。Nrf2 是一种转录因子, 通过调节抗氧化反应元件基因的转录来调节细胞氧化还原的稳态。Nrf2 降解和核转位受上游激酶 AKT 和糖原合成酶激酶 3 β 调节。当 Nrf2 降解时, Nrf2 核转位减少, Nrf2 核输出增加, 从而降低抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)基因的转录, 如 SOD、GSH 合成酶和 HO-1。HO-1 可以催化血红素氧化成胆绿素、游离铁和一氧化碳发挥抗氧化应激、抗炎作用。实验中, 高剂量 CtNE 使 Nrf2 核蛋白增加 2.21 倍, HO-1 提升 1.82 倍(图 9), 与山奈酚^[53]在 HaCaT 中通过磷脂酰肌醇-3-激酶(Phosphatidylinositol-3-Kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(Protein Kinase B, Akt)增强 Nrf2 磷酸化的幅度一致。然而, Nrf2 敲除模型或抑制剂干预尚未开展, 因果关系仍属推论。未来可借助成簇规律间隔短回文重复序列(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, CRISPR)/CRISPR 结合蛋白 9(CRISPR-associated protein 9, Cas9)构建 Nrf2-/-HaCaT, 或采用 ML385 抑制剂, 验证该通路是否确为雪菊拮抗糖化-氧化的“必经之路”。此外, AGEs-人晚期糖基化终末产物受体(Receptor for Advanced Glycation End Products, RAGE)轴下游的 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38)/C-Jun 氨基末端激酶(C-Jun N-terminal Kinase, JNK)及核因子 κB (Nuclear Factor Kappa-B, NF- κB)炎症信号亦未涉及, 而炎症放大氧化应激是皮肤衰老的重要环节; 补充 qPCR 阵列或磷酸化蛋白组, 将有助于描绘更完整的信号网络。

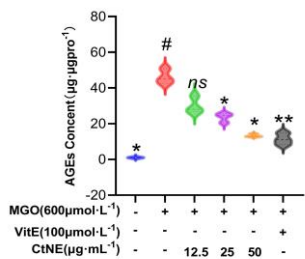


图 5 HaCaT 细胞中的 AGEs 含量

Fig.5 The content of AGEs in HaCaT cell

注：与阴性组比较，# $P<0.05$ ；与对照组比较，* $P<0.05$ 、** $P<0.005$ 、ns 为无统计学差异。

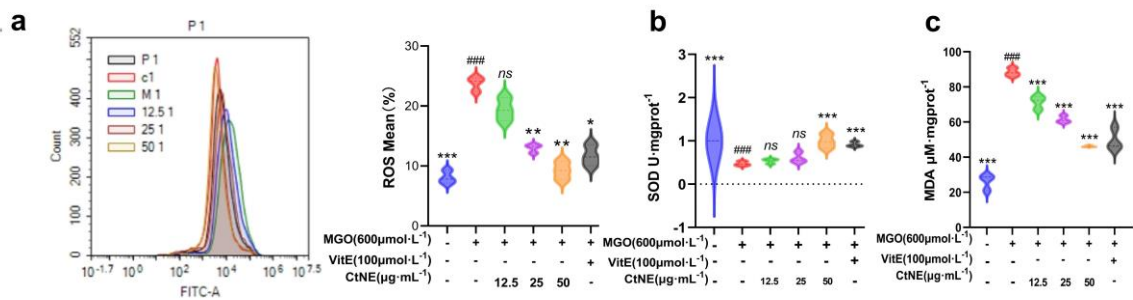
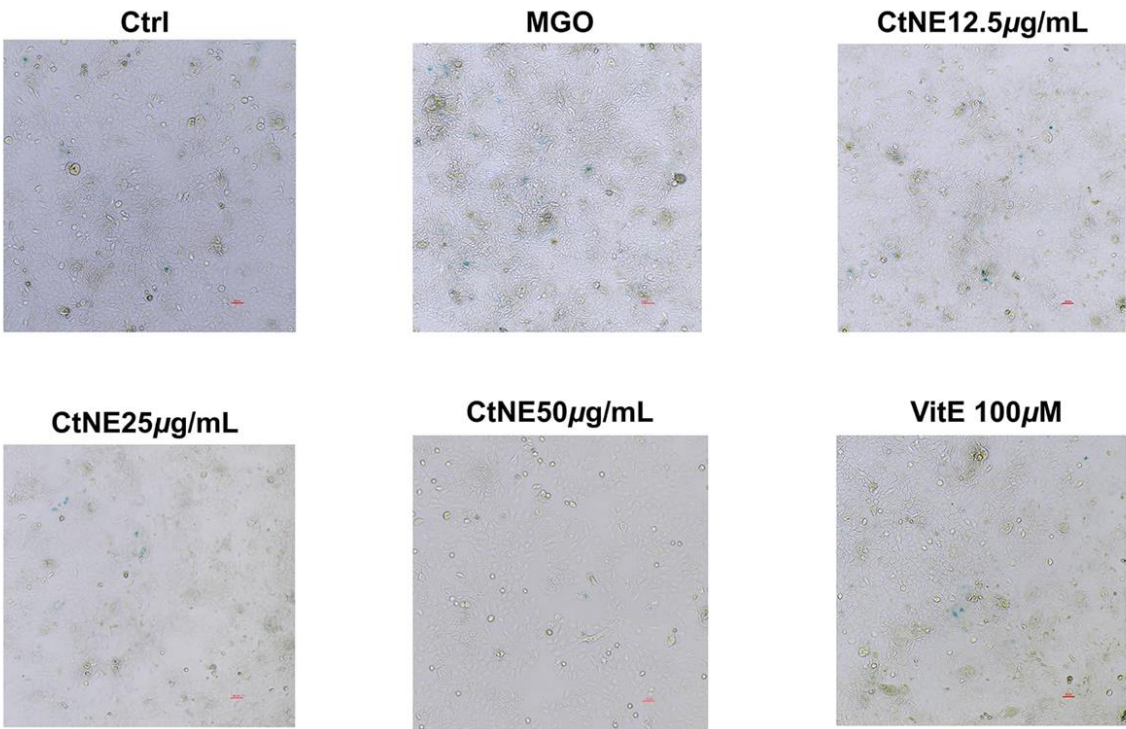


图 6 HaCaT 细胞的氧化应激损伤检测

Fig.6 Oxidative stress damage detection of HaCaT cells

注：A 表示 HaCaT 细胞中 ROS 含量，B 表示 HaCaT 细胞 SOD 酶活力，C 表示 HaCaT 细胞 MDA 含量。同阴性组比较，### $P<0.001$ ；同对照组比较，* $P<0.05$ 、** $P<0.005$ 、*** $P<0.001$ 、ns 为无统计学差异。



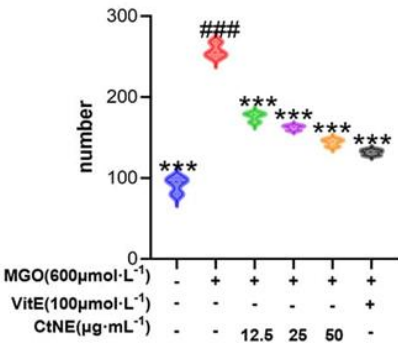
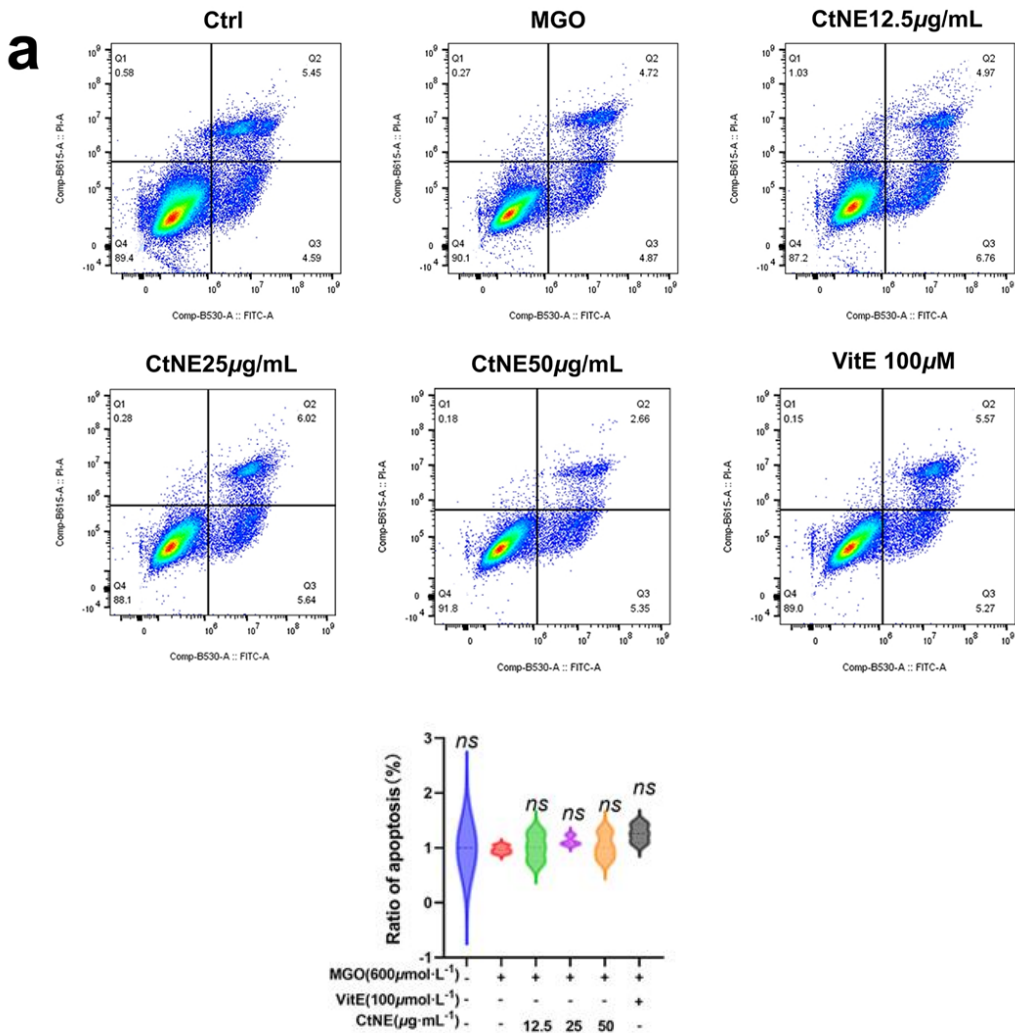


图 7 HaCaT 细胞的 β -半乳糖苷酶染色数量

Fig.7 The number of β -galactosidase staining in HaCaT cells

注：同阴性组比较，### $P < 0.001$ ；同对照组比较，*** $P < 0.001$ 。



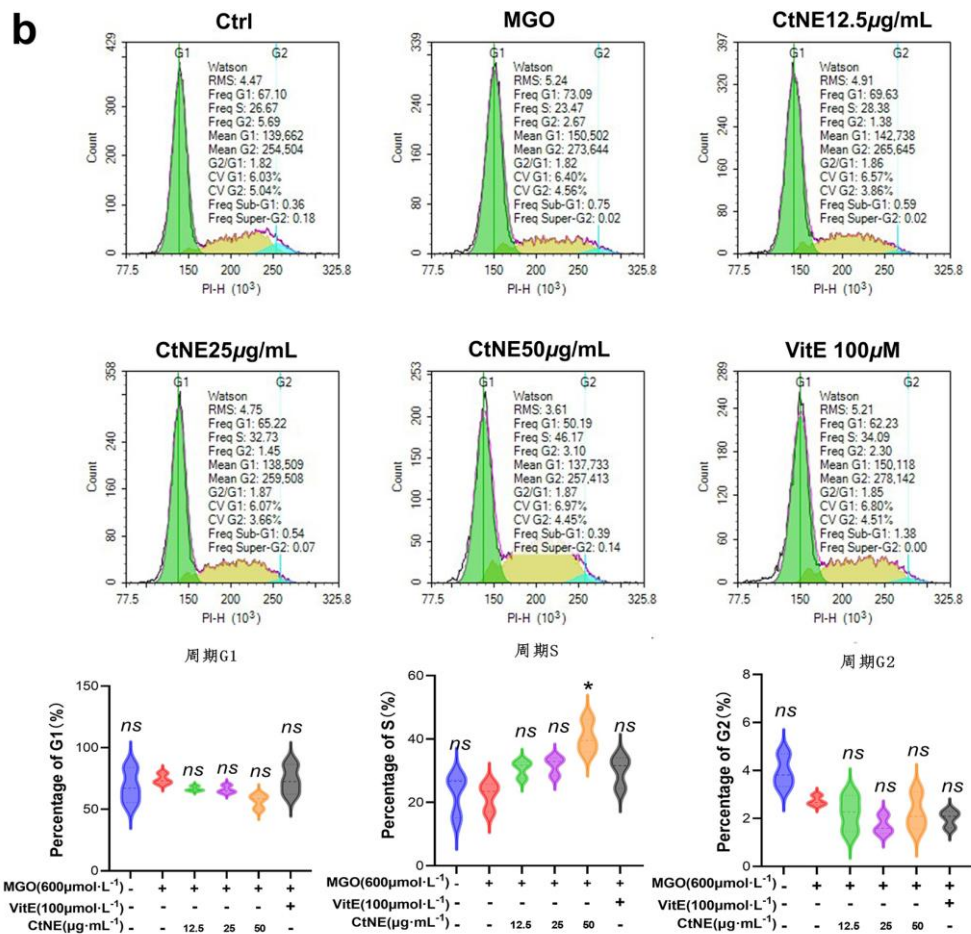


图 8 昆仑雪菊醇提物对 HaCaT 细胞周期和凋亡的影响

Fig.8 CtNE affected the cell cycle and apoptosis of HaCaT cells

注: a.表示昆仑雪菊醇提物对 HaCaT 细胞凋亡的影响, b.表示昆仑雪菊醇提物对 HaCaT 细胞周期 G1/S/G2 的影响。与对照组比较, **P*<0.05, *ns* 为无统计学差异。

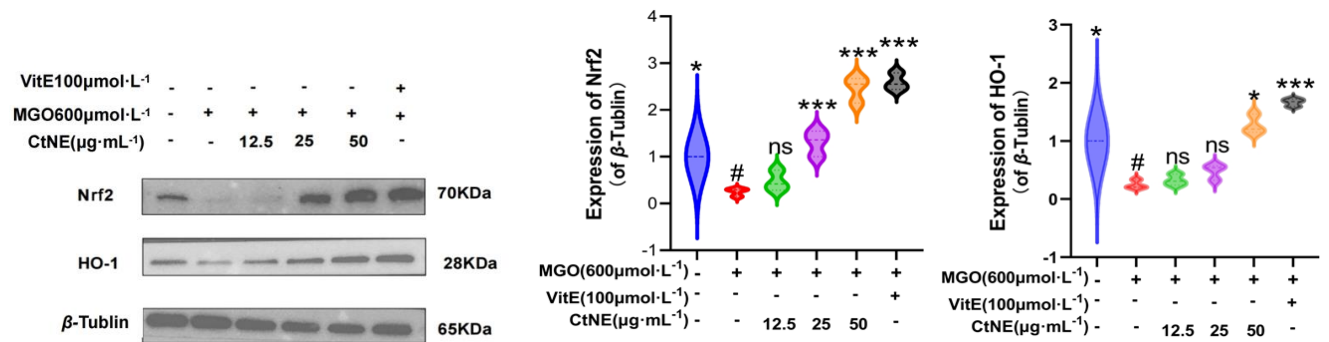


图 9 HaCaT 细胞中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达

Fig.9 Nrf2 and HO-1 proteins were expressed in HaCaT cells

注: 与阴性组比较, #*P*<0.05; 与对照组比较, **P*<0.05, ****P*<0.001, *ns* 为无统计学差异。

3 结论

综上所述, 本研究通过响应面法优化了昆仑雪菊多酚的提取工艺, 利用 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MSⁿ 技术系统鉴定了 28 种多酚类化合物, 并在 MGO 诱导的 HaCaT 细胞模型中证实提取物可显著降低 AGEs、SA-β-Gal 及 ROS 水平, 恢复 SOD 活性, 促进细胞 DNA 合成, 并上调 Nrf2/HO-1 抗氧化通路, 显著改善糖化-氧化应激损伤。该研

究系统阐明昆仑雪菊多酚“成分-活性-机制”的关联,揭示了其抗皮肤糖化的作用机制,也为后续功能原料开发提供了可复制的技术路径与实验依据。

参考文献

- [1] 刘伟新,邓继华,徐鸿.一种金鸡菊花的生药学研究[J].中国民族医药杂志.2009:24-25.
- [2] 兰卫,赵保胜,李玉清,等.昆仑雪菊中多种成分的含量测定[J].中国实验方剂学杂志.2012,18(10):101-103.
- [3] 王波,曾瑜,罗咏彬,等.昆仑雪菊挥发物 GC-MS 分析[J].广州化学.2016,41(3):6-10.
- [4] ZHAO L S, LIU R F, KANG Y T, et al. Effects of Four Main Active Flavonoids of *Coreopsis tinctoria* Nutt. on Oleic Acid-Induced Lipid Metabolism and Oxidative Stress in HepG2 Cells [J]. Discover Medicine, 2025, 37(193): 372-382.
- [5] YE Y, LIU H, XIN M, et al. Comparative Analysis of the Chemical Constituents and Hypoglycemic Activities of Two Chinese Juhua Teas (*Chrysanthemum morifolium* Ramat. and *Coreopsis tinctoria* Nutt.) [J]. Chemistry & Biodiversity, 2025, 22(7): e202500008.
- [6] 阿米拉 阿不拉提,范雪梅,毛新民,等.两色金鸡菊黄酮成分对高糖高脂诱导的细胞模型能量代谢紊乱的影响[J].中国中医药信息杂志.2020,27(5):35-41.
- [7] 李永平,赵学慧,杜文琪,等.昆仑雪菊水提液对高血压模型大鼠血脂和血压的影响[J].西部中医药.2017,30(6):15-17.
- [8] 刘苑星.昆仑雪菊中总黄酮的提取及其对肿瘤细胞活性研究[J].科技经济市场,2016,5:197-198.
- [9] 岳志敏,陈新梅,夏梦瑶,等.雪菊水提物对东莨菪碱和亚硝酸钠所致小鼠记忆障碍的影响[J].化工时刊.2017,31(8):5-6+55.
- [10] DU J, ZHOU X, CHEN X. "UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS-network pharmacology-experimental verification"integrated strategy to explore substance basis of *Coreopsis tinctoria* flavonoids for liver protection [J]. Fitoterapia, 2025, 184: 106640.
- [11] 姚蓝,张雨洁,刘菁,等.两色金鸡菊提取物对大鼠肾小球系膜细胞增殖及纤维化因子表达的影响[J].中国实验方剂学杂志.2017,23(19):134-139.
- [12] 姚林波,夏庆,牡丹.雪菊中一种二氢黄酮醇糖苷对小鼠酒精性急性胰腺炎的作用研究[J].四川大学学报(医学版).2019,50(4):533-539.
- [13] KAI S, FAZHENG Y, AIZHE L, et al. The protective effect of Okanin on Colitis induced by dextran sulfate sodium in mice [J]. Food Bioscience, 2024, 57: 103527.
- [14] YIN L, HE Z, FAN Y, et al. Marein ameliorates the progression of osteoarthritis: An in vitro and in vivo studies [J]. International Immunopharmacology, 2025, 144: 113695.
- [15] SUN S, LI M, WANG M, et al. Anti-photoaging effect and the mechanism of *Coreopsis tinctoria* okanin against UVB-induced skin damage in mice [J]. International Immunopharmacology, 2024, 139: 112657.
- [16] 木合塔尔 吐尔洪,陈义磊,热依汗姑丽 买买提,等.昆仑雪菊总酚及其抗氧化活性研究[J].喀什大学学报.2016,37(3):17-19.
- [17] 周莉,赵乃玉,何元鹏,等.响应曲面优化昆仑雪菊多酚提取工艺研究[J].中南民族大学学报:自然科学版,2021,2(10):165-170.
- [18] 孙森,王梦溪,舒鹏,等.昆仑雪菊标志性黄酮化合物的分离与鉴定[J].食品科学,2024,45(20):48-56.
- [19] JIA G, AROOR A R, JIA C, et al. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(7): 1802-1809.
- [20] CHMIELEWSKI R, LESIAK A. Mitigating Glycation and Oxidative Stress in Aesthetic Medicine: Hyaluronic Acid and Trehalose Synergy for Anti-AGEs Action in Skin Aging Treatment [J]. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, 2024, 17: 2701-2712.
- [21] 逢格雨,徐硕,张子豪,等.昆仑雪菊醇提物对不同模拟体系晚期糖基化终产物生成活性的影响[J].山东理工大学学报(自然科学版),2024,38(1):54-60.
- [22] OTT C, JACOBS K, HAUCK S, et al. Methylglyoxal induces premature senescence in human fibroblasts via activation of the p38 MAPK pathway [J]. Aging Cell, 2014, 13(2): 288-297.
- [23] RUIZ-VASQUE L, RUIZ-MESIA L, MACO MM, et al. Optimized Folin-Ciocalteu Method for Determination of Total Polyphenols in Medicinal Plants of the Peruvian Amazon: Validation and Application to Twelve Species [J]. AppliedChem 2026, 6(1): 17.
- [24] SULTANA R., PARVEEN A., KANG M C., et al. Glyoxal-derived advanced glycation end products (GO-AGEs) with UVB critically induce skin inflammaging: in vitro and in silico approaches [J]. Scientific Reports 2024, 14: 1843.
- [25] KIM, H.K. Protective Effect of Garlic on Cellular Senescence in UVB-Exposed HaCaT Human Keratinocytes [J]. Nutrients, 2016, 8: 464.
- [26] SHU P, MO J, LI Z, et al. Ferulic acid in synergy with retinol alleviates oxidative injury of HaCaT cells during UVB-induced photoaging

- [J]. Aging (Albany NY). 2024, 18(16): 7153-7173.
- [27] GAO J, GUO J, NONG Y, et al. 18 β -Glycyrrhetic acid induces human HaCaT keratinocytes apoptosis through ROS-mediated PI3K-Akt signaling pathway and ameliorates IMQ-induced psoriasis-like skin lesions in mice [J]. BMC Pharmacol Toxicol. 2020, 21(1): 41.
- [28] WANG Q, ROH E, KHAN A U, et al. Deletion of p53-Related Protein Kinase Suppresses Solar UV-Induced Photocarcinogenesis by Inhibiting PD-L1 Expression and Enhancing CD8 T-Cell Infiltration [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2026, 146(2): 405-417.
- [29] ZHU X., CHEN Z., DENG B, et al. The extract of buddleja officinalis maxim. alleviates UVB-induced oxidative damage via the NRF2 pathway in HaCaT cells [J]. Pharmaceutical Biology, 2025, 63(1), 567-581.
- [30] ANTONY A, FARID M. Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction [J]. Applied Sciences. 2022, 12(4): 2107.
- [31] 何若彤,李梦璐,阳策瑶,等.低共熔溶剂提取金银花多酚的工艺优化及其活性分析[J].农业工程学报,2025,41(17):339-348.
- [32] GHANDAHARI YAZDI AP, BARZEGAR M, SAHARI MA,et al. Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull [J]. Food Science & Nutrition. 2019, 7: 356-366.
- [33] HIRANPRADITH V, THERDTHAI N, SOONTRUNNARUDRONGSRI A, et al. Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Phenolics and Flavonoids Content from Centella asiatica [J]. Foods. 2025, 14(2): 291.
- [34] KULBAT-WARYCHA K, NAWROCKA J, KOZŁOWSKA L, et al. Effect of Light Conditions, Trichoderma Fungi and Food Polymers on Growth and Profile of Biologically Active Compounds in Thymus vulgaris and Thymus serpyllum [J]. International Journal of Molecular Sciences. 2024, 25(9): 4846.
- [35] ATANACKOVIĆ KRSTONOŠIĆ M, SAZDANIĆ D, MIKULIĆ M ,et al. Optimization of Surfactant-Mediated Green Extraction of Phenolic Compounds from Grape Pomace Using Response Surface Methodology [J]. International Journal of Molecular Sciences. 2025, 26(5): 2072.
- [36] ELGUDAYEM F, ALDIYAB A, ALBALAWI MA,et al.Box-Behnken design based optimization of phenolic extractions from Polygonum equisetiforme roots. Front Sustain [J]. Frontiers in Sustainable Food Systems. 2023, 7: 1141207.
- [37] DRIORCHE A, AL KAMAIY O, BAAMMI S,et al.Nutraceutical potential of moroccan Juglans regia: phytochemical profiling and multi-modal evaluation of bioactivities [J]. Frontiers in Chemistry. 2025, 13: 1638205.
- [38] TAN X, WANG A, LI H,et al. Molecular Networking-Guided Phytochemical Profiling and Anti-Inflammatory Evaluation of Honglangqi, an Underutilized Commercial Specification of Astragali Radix [J]. Plants. 2026, 15(10): 1442.
- [39] WANG H, YANG Y, HE Y,et al. Rapid Discovery of Antioxidants in Rosa rugosa by UHPLC-PDA-Q-TOF/MS-TACD Integrated Technique [J]. Analytica Chimica Acta. 2025, 6(4):45.
- [40] ZHU Y, GUO L, ZHU J, et al. Biotransformation of Coreopsis tinctoria major flavonoids marein and flavanomarein [J]. Journal of Food Bioactives,2026, 33: 85-93.
- [41] AMORISCO A, LOCAPUTO V, PASTORE C, et al. Identification of low molecular weight organic acids by ion chromatography/hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry during Uniblu-A ozonation [J]. Rapid Commun. Mass Spectrometry Reviews, 2013, 27(1): 187-199.
- [42] JAVED A, ALAM MB, NAZNIN M,et al. RSM- and ANN-Based Multifrequency Ultrasonic Extraction of Polyphenol-Rich Sargassum horneri Extracts Exerting Antioxidative Activity via the Regulation of MAPK/Nrf2/HO-1 Machinery [J]. Antioxidants. 2024, 13(6): 690.
- [43] ZHAO L, LIU R, KANG Y, et al. Marein from *Coreopsis tinctoria* Nutt. alleviates oxidative stress and lipid accumulation via SIRT1/Nrf2 signaling [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1): 18761.
- [44] ZHANG R, TENG L, ZHONG Y, et al. Neuroprotection of isookaonin against MPTP-induced cell death of SH-SY5Y cells via BCL2/BAX and PI3K/AKT pathways [J]. Psychopharmacology, 2023, 240(7): 1509-1520.
- [45] LIU XL, ZU S, YUE H, et al. Taxifolin ameliorates the D-galactose-induced aging of mouse hippocampal neurons HT-22 cells through modulating SIRT1/p53 and PI3K/AKT signaling pathways [J]. Journal Of Asian Natural Products Research, 2025, 27(4): 615-631.
- [46] GU T, ZHANG Z, LIU J, et al. Chlorogenic Acid Alleviates LPS-Induced Inflammation and Oxidative Stress by Modulating CD36/AMPK/PGC-1 α in RAW264.7 Macrophages [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(17): 13516.
- [47] TABREZ S, RAHMAN F, ALI R, et al. Cynaroside inhibits Leishmania donovani UDP-galactopyranose mutase and induces reactive oxygen species to exert antileishmanial response [J]. Bioscience Reports, 2021, 41(1): BSR20203857.
- [48] LIN Y, LUO T, WENG A, et al. Gallic Acid Alleviates Gouty Arthritis by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation and Pyroptosis

- Through Enhancing Nrf2 Signaling [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 580593.
- [49] XIE X, FENG J, KANG Z, et al. Taxifolin protects RPE cells against oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Molecular Vision*, 2017, 23: 520-528.
- [50] MA J, LIU J, CHEN Y, et al. Myricetin Improves Impaired Nerve Functions in Experimental Diabetic Rats [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, 13: 915603.
- [51] CAPASSO L, DE MASI L, SIRIGNANO C, et al. Epigallocatechin Gallate (EGCG): Pharmacological Properties, Biological Activities and Therapeutic Potential [J]. *Molecules*, 2025, 30(3): 654.
- [52] CHEN L, ZHAI L, GAO Y, et al. Nrf2 affects hydroquinone-induced cell cycle arrest through the p16/pRb signaling pathway and antioxidant enzymes [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249: 114389.
- [53] TIE F, DING J, HU N, et al. Kaempferol and Kaempferide Attenuate Oleic Acid-Induced Lipid Accumulation and Oxidative Stress in HepG2 Cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(16): 8847.