

基于 HPLC-Q-TOF-MS 分析陈皮中多甲氧基黄酮部位的化学成分

唐惠玲¹, 张竞研², 谭冰艳², 孙颖¹, 宋金瑶¹, 张奕阳¹, 李心如³, 康安²

(1. 江苏食品药品职业技术学院药学院, 江苏 淮安 223001; 2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 3. 南京海纳医药科技股份有限公司, 江苏 南京 210000)

摘要: **目的** 采用 D101 大孔吸附树脂对陈皮中的多甲氧基黄酮部位进行富集, 进一步采用高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法 (HPLC-Q-TOF-MS) 对其中的化学成分进行分析。 **方法** 陈皮提取物经 D101 大孔树脂吸附后, 以不同浓度乙醇溶液洗脱, 富集得到多甲氧基黄酮部位; 采用高效液相色谱法分析测定其中的主要黄酮类成分含量; 进一步采用 HPLC-Q-TOF-MS 结合多甲氧基黄酮类化合物的碎裂规律对其进行定性分析。 **结果** 建立的同时测定陈皮中 7 种黄酮类化合物的 HPLC 分析方法准确、可靠。富集后的多甲氧基黄酮类部位中, 川陈皮素等化合物含量显著提高。采用高分辨质谱技术, 分别从陈皮提取物和多甲氧基黄酮部位中鉴定出 70 和 60 个化合物, 其中多甲氧基黄酮类化合物均为 53 种。 **结论** 研究结果为进一步辨识陈皮中多甲氧基黄酮部位的药效物质基础及质量控制方法的建立提供了实验依据。

关键词: 陈皮; 多甲氧基黄酮; 高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-0482(2024)11-1223-11

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2024.1223

引文格式: 唐惠玲, 张竞研, 谭冰艳, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 分析陈皮中多甲氧基黄酮部位的化学成分[J]. 南京中医药大学学报, 2024, 40(11): 1223-1233.

Analysis of Polymethoxyflavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium by HPLC-Q-TOF-MS

TANG Huiling¹, ZHANG Jingyan², TAN Bingyan², SUN Yin¹, SONG Jin-yao¹, ZHANG Yi-yang¹, LI Xinru³, KANG An²

(1. School of Pharmacy, Jiangsu Food & Pharmaceutical Science College, Huai'an 223001, China; 2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 3. Nanjing Healthnice Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To enrich the polymethoxyflavonoid-rich fraction from Citri Reticulatae Pericarpium using D101 macroporous resin, and further to analyse the chemical constituents using High-Performance Liquid Chromatography Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry (HPLC-Q-TOF-MS). **METHODS** Citri Reticulatae Pericarpium extract was adsorbed on D101 macroporous resin and then eluted with different concentrations of ethanol to enrich the polymethoxyflavonoid-rich fraction; the content of the major flavonoid components was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC); and the components were further analysed by HPLC-Q-TOF-MS. **RESULTS** The established HPLC method for the simultaneous determination of seven flavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium extract was accurate and reliable. The contents of compounds such as nobiletin and tangeritin were significantly increased in the polymethoxyflavonoid-rich fraction. Using high resolution mass spectrometry (HRMS), 70 and 60 compounds were identified from the Citri Reticulatae Pericarpium extract and the polymethoxyflavonoid-rich fraction, respectively, with 53 polymethoxyflavonoids being detected in these two extracts. **CONCLUSION** The results of this study provide an experimental basis for further identification of the pharmacological substance basis of the polymethoxyflavonoids in Citri Reticulatae Pericarpium and the establishment of quality control methods.

KEYWORDS: Citri Reticulatae Pericarpium; polymethoxyflavonoid; HPLC-Q-TOF-MS

陈皮是芸香科柑橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培品种的干燥果皮经加工后形成的内表面淡黄白

色, 外表面橙红色或红棕色的成熟果皮^[1]。作为一种常用的药食同源类中药, 其最初的记载可追溯到

收稿日期: 2024-08-08

基金项目: 江苏省高等学校自然科学重大项目 (22KJA350002); 淮安市自然科学计划项目 (HAB2024064)

第一作者: 唐惠玲, 女, 副教授, E-mail: tanghuilingyaya@126.com

通信作者: 李心如, 女, 助理工程师, 主要从事药品生产及质量控制研究, E-mail: 1061966479@qq.com;

康安, 男, 教授, 主要从事中药药效物质基础研究, E-mail: kanga@njucm.edu.cn

《神农本草经》。其中广东新会因所产柑橘中富含丰富的多甲氧基黄酮类化合物, 又称广陈皮或新会陈皮^[2]。

黄酮类化合物被认为是陈皮中发挥作用的主要生物活性成分, 包括二氢黄酮类和多甲氧基黄酮类 (Polymethoxyflavones, PMFs) 化合物^[3], 后者为柑橘属特有成分且具有较多药理活性, 因此受到了广泛的关注。多甲氧基黄酮类化合物为陈皮中具有 2 个或 2 个以上甲氧基的黄酮类化合物, 由核心的 C₆-C₃-C₆ 环 (2-苯基色原酮) 以及不同位置的取代基组成。甲氧基取代通常发生在 6, 7, 8, 3', 4' 位上, 偶有 5' 和 6' 位取代, 天然来源多甲氧基黄酮最多有 7 个甲氧基取代^[4]。其中川陈皮素和桔皮素因具有显著的药理和生理活性, 是迄今为止研究最广泛的多甲氧基黄酮类化合物^[5-6]。

多甲氧基黄酮类化合物是陈皮中主要的活性成分, 迄今为止已有多项文献报道其具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗炎、降脂、肝保护和心血管保护等药理活性^[7-9]。多甲氧基数目的增加可显著增加陈皮中黄酮类化合物的脂溶性, 因此多采用高浓度乙醇来提取陈皮中的多甲氧基黄酮部, 并对其物质基础进行研究, 但对其中的同分异构体的分析较少^[10]。因此本研究拟对新会陈皮中多甲氧基黄酮部位进行分离纯化, 并结合 HPLC 和 HPLC-Q-TOF/MS 对其多甲氧基黄酮部位进行定性和定量分析, 从而为陈皮的多甲氧基黄酮中主要活性成分的作用研究提供基础。

1 材料

1.1 药材及试剂

新会陈皮 (批号: 20190427) 购自长沙市益民陈皮贸易有限公司。橙皮苷 (批号: B20182) 购自上海源叶生物科技有限公司; 6-去甲氧基桔皮素 (批号: RFS-Q05002101006), 川陈皮素 (批号: RDD-C01502205007), 去甲基川陈皮素 (批号: RFS-Q12602112010), 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮 (批号: RFS-Q11302112017), 桔皮素 (批号: RFS-J02211807014) 和甜橙黄酮 (批号: RFS-T04602011019) 均购自成都瑞芬思得丹生物科技有限公司。以上对照品纯度均 98%。

95%乙醇 (批号: 20230415) 购自无锡市亚盛化工有限公司; 屈臣氏蒸馏水购自南京晚晴玻璃仪器有限公司。乙腈 (质谱纯) 购自德国默克公司; 甲酸 (质谱纯) 购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.2 仪器

UltiMate 3000 高效液相色谱仪含 PDA100 紫外二级管阵列检测器 (Thermo Scientific); ExionLC™ 2.0 (美国 Sciex 公司); SCIEX Zeno TOF™ 7600 多重碎裂高分辨质谱仪 (美国 SCIEX 公司); Sorvall Legend Micro 21R 型离心机 (美国 Thermo Fisher 公司); 冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司)。

2 方法

2.1 陈皮中 PMFs 的提取与纯化

陈皮提取液的制备: 将新会陈皮粉碎, 过筛。称取约 100 g 陈皮粗粉加入 1 400 mL 70% 乙醇浸泡 90 min, 加热回流提取 2 次, 每次 2 h。合并 2 次陈皮提取液并抽滤, 滤液于 70 °C 减压浓缩至 100 mL, 得到生药浓度为 1 g · mL⁻¹ 的陈皮提取液, -20 °C 保存备用。

D101 大孔吸附树脂活化后, 取 50 mL 陈皮提取液上柱, 2 倍树脂体积 (BV) 每 1 h 流速上样; 吸附后, 6 BV · L⁻¹ 的 43% 乙醇洗脱柱子以去除树脂上吸附的糖、色素、黄酮苷类成分和部分二氢黄酮类成分等, 洗脱速度为 3 BV · L⁻¹, 洗脱溶液在 1~2 BV 时为黄色, 第 3 BV 时颜色开始逐渐变浅, 第 6 BV 时趋近无色透明, 说明杂质、极性化合物等已去除, 并通过 HPLC 进行确认; 5 BV 90% 乙醇解吸, 解吸速度为 3 BV · L⁻¹, 获得富含多甲氧基黄酮的提取液, 70 °C 减压浓缩至 100 mL, 得到生药浓度为 0.5 g · mL⁻¹ 的 PMFs 提取液, -20 °C 保存备用。

2.2 HPLC 方法学考察及含量测定

2.2.1 混合对照品溶液的制备 分别精密称取对照品适量, 定容制得对照品储备液。分别取各对照品储备液适量加甲醇配制为含橙皮苷 380.00 μg · mL⁻¹、甜橙黄酮 33.03 μg · mL⁻¹、6-去甲氧基桔皮素 17.48 μg · mL⁻¹、川陈皮素 382.35 μg · mL⁻¹、3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮 42.79 μg · mL⁻¹、桔皮素 325.00 μg · mL⁻¹ 和去甲基川陈皮素 38.33 μg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别精密吸取 2.1 项下陈皮提取液和 PMFs 提取液 500 μL 和 1 mL, 冷冻干燥, 冻干后称质量并分别用 1 mL 甲醇复溶, 12 000×g 离心 10 min 取上清, 用甲醇稀释 15 倍后得陈皮冻干粉供试品溶液和 PMFs 冻干粉供试品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱: 5C₁₈-MS-II (4.6 mm×250 mm, 5 μm, COSMOSIL), 柱温: 30 °C, 流动相:

0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~10 min, 20%~30%B;10~25 min,30%~42%B;25~37 min, 42%~70%B;37~40 min,70%B;40~42 min,70%~20%B;42~43 min,20%B,流速:1.0 mL·min⁻¹,检测波长:橙皮苷为283 nm,甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素为330 nm,进样量:5 μL。数据采集软件为 Chromeleon 7.10。

2.2.4 方法学考察 专属性考察和分离度考察:取“2.2.1”项下混合对照品溶液并用甲醇稀释2倍、“2.2.2”项下供试品溶液适量,按“2.2.3”项下色谱条件分别进样。

线性关系考察:取“2.2.1”项下混合对照品储备液适量,用甲醇依次以2倍梯度稀释6次,即得7份浓度不同的混合对照品溶液。将这7份混合对照品溶液及一份纯甲醇溶液按“2.2.3”项下的色谱条件,以浓度从低到高的顺序分别进样分析,记录峰面积。

稳定性考察:取“2.2.2”项下所制 PMFs 冻干粉供试品溶液适量,分别于0、3、6、9、12、24 h 按“2.4”项下色谱条件进样,记录各组分的峰面积,并计算 RSD 值。

精密度考察:取“2.2.2”项下 PMFs 冻干粉供试品溶液适量,按“2.2.3”项下色谱条件连续进样测定6次,记录各组分的峰面积,并计算 RSD 值。

重复性考察:按“2.2.2”项下 PMFs 冻干粉供试品溶液的制备方法各平行制备6份后按“2.2.3”项下色谱条件分别进样,记录各组分的峰面积,含量及 RSD 值。

加样回收试验:取已知含量的 PMFs 冻干粉供试品6份,加入等量的橙皮苷、甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素对照品溶液,按“2.2.2”项下制备 PMFs 供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进样分析,测定各组分的含量并计算回收率。

2.2.5 陈皮提取物及 PMFs 提取物中各成分的含量测定 按“2.2.2”项下的制备方法各平行制备6份供试品溶液后按“2.2.3”项下色谱条件分别进样,记录各组分的峰面积,采用外标法计算陈皮冻干

粉和 PMFs 冻干粉中各组分的相对含量。

2.3 基于高分辨质谱的定性分析

2.3.1 混合对照品溶液的制备 分别取各对照品储备液适量,加甲醇配制为含橙皮苷、甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素浓度分别为9.50、11.56、10.14、7.73、11.34、7.93、8.63 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 分别吸取陈皮提取液和 PMFs 提取液250 μL 和500 μL,冷冻干燥,500 μL 甲醇复溶,12 000×g 离心10 min 取上清,用甲醇稀释25倍后滤过,即得生药浓度为20 mg·mL⁻¹ 陈皮和 PMFs 的供试品溶液。

2.3.3 色谱条件 色谱柱:Accucore C₁₈(100 mm×2.1 mm,2.6 μm,Thermo Scientific),柱温:40℃,流动相:0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~1 min,15%B;1~15 min,15%~30%B;15~29 min,30%~70%B;29~30 min,70%B;30~33 min,70%~15%B;33~35 min,15%B,流速:0.4 mL·min⁻¹;进样量:5 μL。

2.3.4 质谱条件 采用 TOF MS-IDA-MS/MS 模式,电喷雾离子源,正负离子模式下扫描,一级质谱扫描范围为 m/z 100~1 250。离子源温度:550℃;气帘气:35 psi;雾化气:55 psi;辅助气:55 psi;电喷雾电压:5 500 V/-4 500 V;去簇电压:80 V/-80 V;TOF-MS 模式下碰撞电压:10 eV/-10 eV,IDA-MS/MS 条件下设置碰撞电压(35±15)V,质谱信号采集软件为 SCIEX OS 3.0。

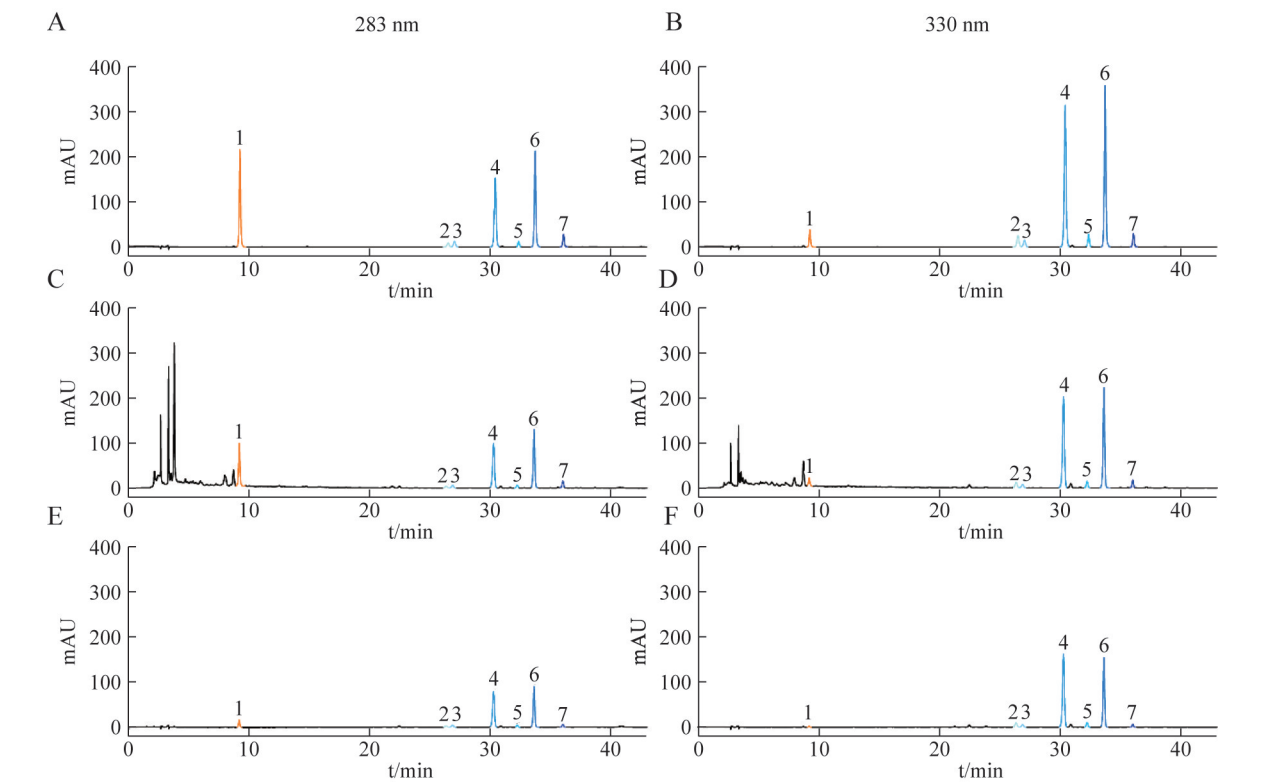
2.4 数据处理

通过查阅相关文献、利用 Pubchem 等建立陈皮中黄酮类化合物数据库。进一步结合结合数据处理软件 Molecule Profiler 1.3 和 PeakView 1.2 软件(AB Sciex),结合中性丢失策略等对陈皮中的化学成分进行分析。

3 结果

3.1 方法学考察

专属性考察:各供试品溶液中样品的保留时间与对照品溶液中的基本一致,说明此方法专属性强,结果见图1。



注:1. 橙皮苷;2. 甜橙黄酮;3. 6-去甲氧基桔皮素;4. 川陈皮素;5. 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮;6. 桔皮素;7. 去甲基川陈皮素

图 1 混合对照品溶液在 283 nm (A) 和 330 nm (B) 下的色谱图;陈皮提取液在 283 nm (C) 和 330 nm (D) 下的色谱图;PMFs 提取液在 283 nm (E) 和 330 nm (F) 下的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of mixed reference solution at 283 nm (A) and 330 nm (B), chromatogram of Citri Reticulatae Pericarpium extract at 283 nm (C) and 330 nm (D); chromatogram of PMFs extract at 283 nm (E) and 330 nm (F)

线性关系考察:以浓度($X, \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,其中回归方程、线性范围和相关系数(R^2)等结果如表 1 所示,各组分线性关系良好。

表 1 各成分的回归方程及线性范围

Table 1 Regression equation and linear range of each component

成分	回归方程	R^2	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
橙皮苷	$Y = 155.23X - 0.0270$	1	5.94~380.00
甜橙黄酮	$Y = 328.99X - 0.0106$	1	0.52~33.03
6-去甲氧基桔皮素	$Y = 366.56X - 0.0102$	1	0.27~17.48
川陈皮素	$Y = 300.11X - 0.0649$	1	5.97~382.35
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	$Y = 217.46X - 0.0049$	1	0.67~42.79
桔皮素	$Y = 341.5X - 0.0677$	1	5.08~325.00
去甲基川陈皮素	$Y = 239.29X - 0.0133$	1	0.60~38.33

稳定性考察:测得 PMFs 提取液中橙皮苷、甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素的 RSD 值分别为 0.81%、0.85%、0.68%、0.13%、0.80%、0.19% 和 2.10%。

精密性考察:测得 PMFs 提取液中橙皮苷、甜橙

黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素的 RSD 值分别为 0.65%、0.65%、0.96%、0.25%、0.46%、0.25% 和 0.25%。

重复性考察:测得 PMFs 提取液中橙皮苷、甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',

4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素的 *RSD* 值分别为 0.37%、1.11%、2.12%、1.81%、2.18%、1.43%和 1.57%。

加样回收试验:各组分加样回收率及 *RSD* 值见表 2。

3.2 陈皮提取物及 PMFs 提取物中各成分的含量测定

陈皮提取物及 PMFs 提取物中各成分的相对含量如表 3 所示,其中川陈皮素在 PMFs 提取物中相对含量最高,为(166.14±0.730 1) mg · g⁻¹。上述结果提示,采用本研究的提取和制备方法,可富集到

陈皮中的多甲氧基黄酮部位。

表 2 各组分加样回收率试验结果

Table 2 Results of sample recovery test of each component

成分	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
橙皮苷	101.57	0.95
甜橙黄酮	94.76	2.90
6-去甲氧基桔皮素	98.26	1.16
川陈皮素	101.33	1.72
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	96.45	2.57
桔皮素	100.94	2.95
去甲基川陈皮素	102.82	1.49

表 3 各供试品含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Results of content determination of each test sample($\bar{x}\pm s$)

成分	陈皮冻干粉/(mg · g ⁻¹)	PMFs 冻干粉/(mg · g ⁻¹)
橙皮苷	6.26±0.207 0	23.89±0.349 9
甜橙黄酮	0.53±0.018 0	11.41±0.074 3
6-去甲氧基桔皮素	0.28±0.012 0	6.26±0.136 5
川陈皮素	8.30±0.266 7	166.14±0.730 1
3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	0.75±0.024 2	14.09±0.320 3
桔皮素	6.69±0.215 7	117.70±1.109 7
去甲基川陈皮素	0.72±0.023 0	7.23±0.221 4

3.3 多甲氧基黄酮类化合物的碎裂规律及分析策略

PMFs 在正离子模式下裂解方式主要有两种,一种是中性碎片丢失,主要表现为连续丢失 CH₃,这也是该类化合物的特征裂解方式,后续还可见丢失 H₂O 和 CO;另一种裂解方式是在黄酮母核 C 环 1,2 或 1,3 位置上发生逆狄尔斯-阿尔德(Retro diels-alder reaction,RDA)反应裂解或 0,2 位置上发生开环裂解^[3-9]。此外,对于 B 环来说,当该类化合物裂解产生碎片离子 *m/z* 133 或 *m/z* 163 时可推测 B 环分别含有 1 个或 2 个甲氧基取代;对于 A 环来说,当该类化合物裂解产生碎片离子 *m/z* 181,153 或 *m/z* 211,183 时可推测 A 环分别含有 3 个或 4 个甲氧基取代。因 A 环有 4 个位置可供甲氧基取代,当出现 3 个甲氧基取代时可进一步通过是否产生与水有关的中性离子损失(48 Da,61 Da 和 76 Da)进一步区分是 6 位还是 8 位取代,可能的判断流程如图 2 所示^[11-13]。本研究分别以 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素及同分异构体甜橙黄酮、异甜橙黄酮和桔皮素为例,阐述 PMFs 的质谱裂解规律。

3.4 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术分析陈皮提取物及 PMFs 部位的化学成分

图 3 为陈皮提取物,PMFs 提取物和混合对照品

溶液在正、负离子模式下的总离子流图。结果显示,在陈皮提取物中共鉴定出 70 个黄酮类化合物,其中多甲氧基黄酮类化合物共 53 个,其他黄酮类化合物共 17 个;在 PMFs 提取物中共鉴定出 60 个黄酮类化合物,其中多甲氧基黄酮类化合物共 53 个,其他黄酮类化合物共 7 个。其中,橙皮苷、甜橙黄酮、6-去甲氧基桔皮素、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素和去甲基川陈皮素这 7 种化合物通过与对照品的保留时间及裂解碎片比较得到进一步确认。具体质谱信息见表 4。

3.5 典型化合物的鉴定

在正离子模式下,化合物 58(*t*_R=17.94 min)的准分子离子峰为 *m/z* 433.149 7[M+H]⁺,化学式可能为 C₂₂H₂₄O₉,质量误差为 0.81×10⁻⁶。在 MS² 图谱中检测到碎片离子 *m/z* 403.104 9[M+H-2CH₃]⁺与碎片离子 *m/z* 388.079 8[M+H-3CH₃]⁺,推测是由准分子离子峰连续丢失甲基官能团所产生。在 MS² 图谱还检测 *m/z* 360.084 6[M+H-3CH₃-CO]⁺、*m/z* 345.061 2[M+H-4CH₃-CO]⁺、*m/z* 327.121 3[M+H-4CH₃-CO-H₂O]⁺和 *m/z* 317.065 9[M+H-4CH₃-2CO-H₂O]⁺等,这些碎片离子可能是以[M+H-*n*CH₃]⁺为基础进一步丢失

CO 和 H₂O 所产生的,由此可推断该化合物为多甲氧基黄酮。此外,MS² 图谱中还发现碎片离子峰 m/z 165.054 8 [M+H-C₁₃H₁₅O₆]⁺,推测为多甲氧基黄酮 C 环 0,2 位置上发生裂解开环所得。该碎片进一步丢失 CO 得碎片离子峰 m/z 137.059 8 [M+H-C₁₃H₁₅O₆-CO]⁺。碎片离子峰 m/z 211.024 0 [M+

H-C₁₁H₁₂O₃-2CH₃]⁺、 m/z 183.028 6 [M+H-C₁₁H₁₂O₃-2CH₃-CO]⁺则推测为多甲氧基黄酮 C 环上 1,3 位置发生 RDA 裂解后继续丢失 CH₃ 和 CO 得到。查阅文献^[7] 比对质谱信息发现成分 58 与文献一致,进一步将其与对照品进行比对,确定该成分为 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮。

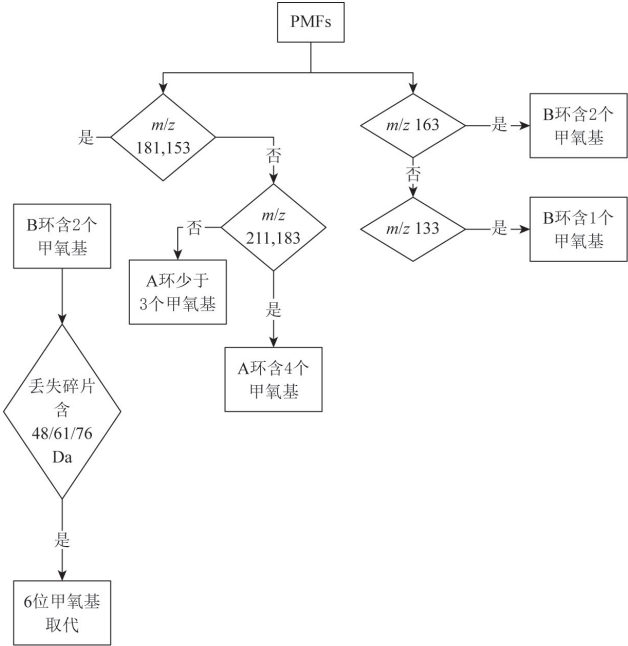
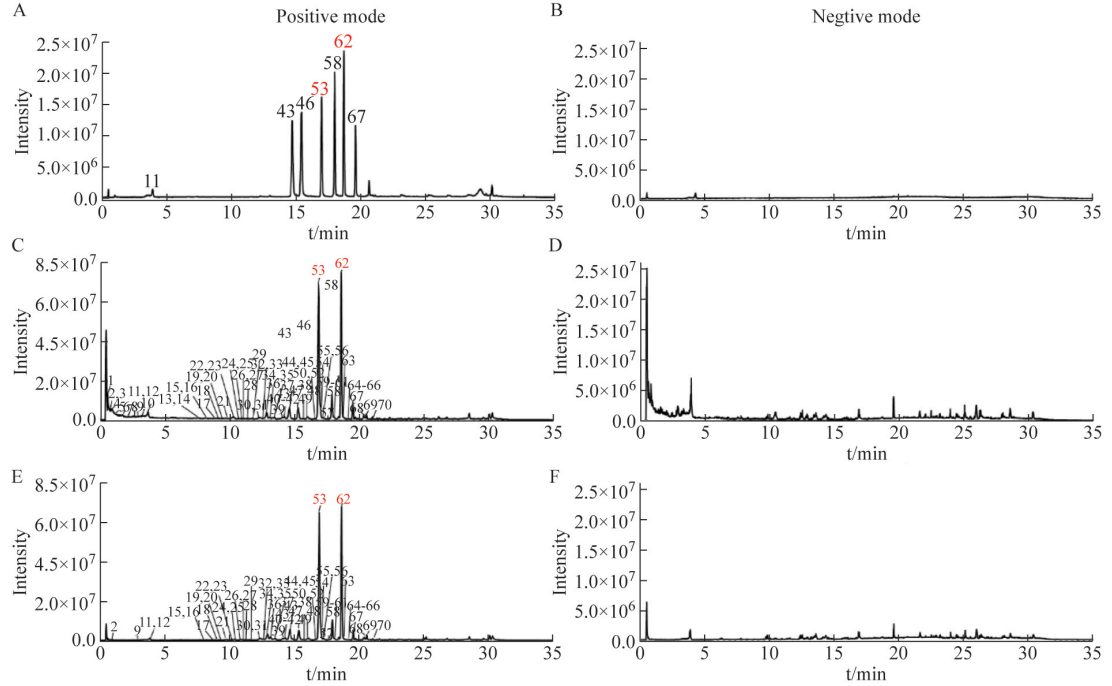


图 2 多甲氧基黄酮各环甲氧基数目推测图

Fig. 2 Estimation of the number of methoxy groups of each ring of polymethoxyflavonoids



注:A. 混合对照品(正离子模式);B. 混合对照品(负离子模式);C. 陈皮提取物(正离子模式);D. 陈皮提取物(负离子模式);E. PMFs 提取物(正离子模式);F. PMFs 提取物(负离子模式)

图 3 总离子流色谱图

Fig. 3 Total ion current chromatogram

化合物 35 ($t_R = 12.91$ min), 化合物 43 ($t_R = 14.67$ min) 和化合物 62 ($t_R = 18.66$ min) 在正离子模式下的准分子离子峰为 m/z 373 $[M+H]^+$, 化学式可能为 $C_{20}H_{20}O_7$ 。碎片离子 m/z 358 推测为准分子离子峰丢失 1 分子甲基形成的, 该碎片离子又连续丢失 1 分子甲基和 1 分子 CO 形成碎片离子 m/z 343 和 315。结合文献报道^[12] 推断为桔皮素、甜橙黄酮或异甜橙黄酮。化合物 62 还能够检测到碎片离子 m/z 211.024 5 和 m/z 133.065 0。其中, 碎片离子 m/z 133.065 0 推测为 C 环 1,3 位发生裂解所得, 碎片离子 m/z 211 为 C 环 1,3 位裂解后又连续丢失 2 分子 CH_3 所得。经计算 A 环应该有 4 个甲氧基取代, B 环有 1 个甲氧基取代, 推测化合物 62 为桔皮素。化合物 35 和化合物 43 经 C 环 1,3 位裂

解后产生碎片离子 m/z 181, 163 和 153。经计算 A 环应该有 3 个甲氧基取代, B 环有 2 个甲氧基取代。推测化合物 35 和化合物 43 为甜橙黄酮和异甜橙黄酮。甜橙黄酮和异甜橙黄酮仅在 6 位和 8 位的取代基位置不同, 当甲氧基在 6 位时会产生与水有关的中性损失离子, 这有助于帮助区分 6 位或 8 位取代的异构问题。仅在化合物 62 和化合物 43 中观察到母离子损失 48 Da ($2CH_3 + H_2O$)、61 Da ($CH_3 + CO + H_2O$) 或 76 Da ($2CH_3 + CO + H_2O$)。因此, 化合物 43 被鉴定为甜橙黄酮, 化合物 35 被鉴定为异甜橙黄酮。其中桔皮素和甜橙黄酮进一步通过对照品进行验证。桔皮素、甜橙黄酮和异甜橙黄酮的提取离子流及可能裂解规律图如图 4 所示。

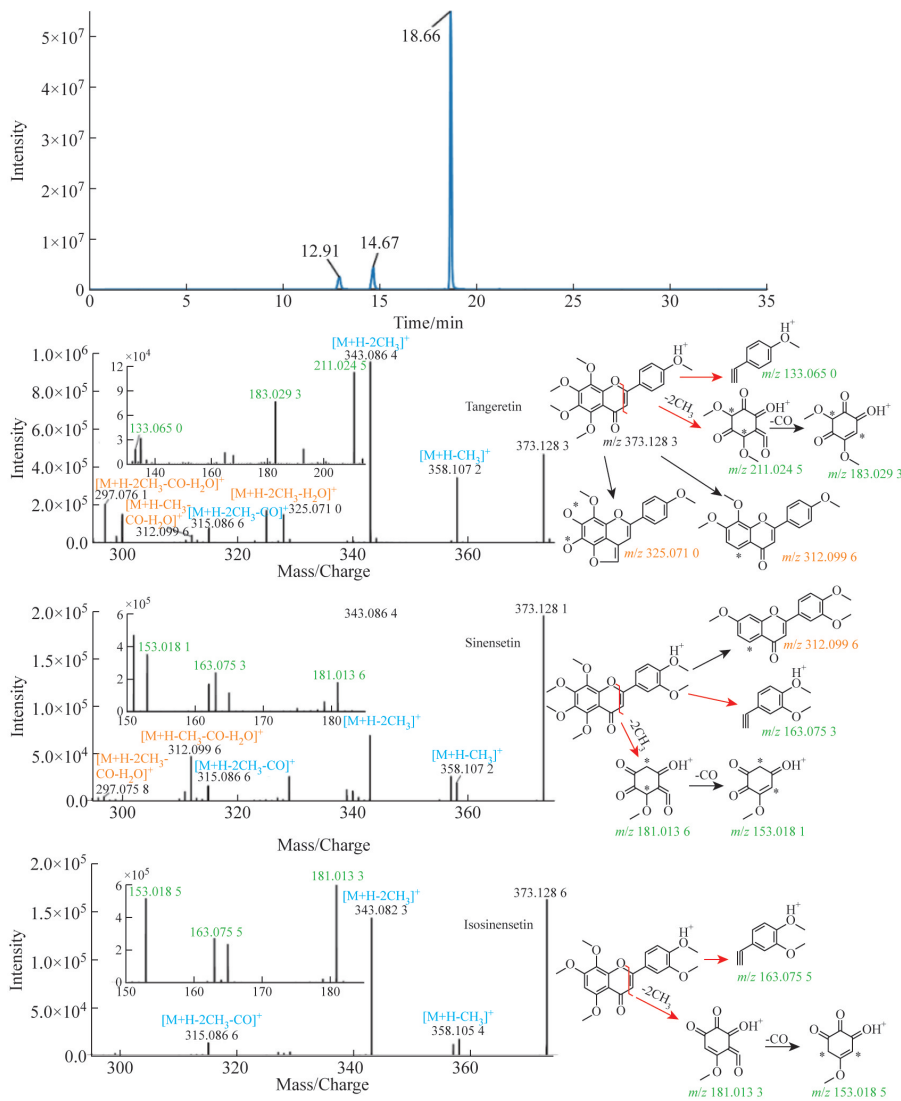


图 4 桔皮素、甜橙黄酮和异甜橙黄酮的提取离子流及可能裂解规律图

Fig. 4 Extracted ion flow and possible fragmentation patterns of hesperidin, sweet orange flavonoids, and isosweet orange flavonoids

表 4 陈皮提取物和 PMFs 提取物的化合物鉴定

Table 4 Identification of compounds from Citri Reticulatae Pericarpium extracts and PMFs extracts

编号	t_R/min	分子式	离子类型	理论值 m/z	实测值 m/z	误差/ 10^{-6}	碎片离子	化合物	CP	PMFs
1	0.69	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	611.160 7	611.161 1	0.74	593.153 3, 575.140 4, 557.128 9, 473.110 1, 353.067 5	Luteolin-6,8-di-C-glucoside	+	-
2	0.81	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	595.165 8	595.165 3	-0.76	577.158 7, 559.146 5, 541.133 9, 457.116 1, 337.072 8	Vicenin-2	+	+
3	0.88	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	625.176 3	625.176 3	0.01	607.165 8, 589.155 9, 571.145 0, 487.126 5, 367.082 1	Chrysoeriol-6,8-di-C-glucoside	+	-
4	0.92	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	581.186 5	581.185 6	-1.51	419.133 7, 273.075 7, 153.017 4	Narirutin	+	-
5	1.16	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.107 8	449.108 7	1.86	431.098 1, 413.088 5, 329.066 4, 299.055 3	Orientin	+	-
6	1.70	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	595.165 8	595.165 7	-0.11	449.109 8, 287.057 1	Neodiosmin	+	-
7	2.16	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	463.123 5	463.123 2	-0.57	445.112 1, 427.102 3, 409.090 7, 343.081 3, 313.070 1	Diosmetin-6-C-glucoside	+	-
8	2.67	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	581.186 5	581.186 0	-0.77	419.132 1, 273.078 5, 153.017 6	Naringin	+	-
9	2.92	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	579.170 8	579.170 9	0.14	433.116 2, 271.068 1	Rhoifolin	+	+
10	3.38	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	609.181 4	609.181 2	-0.30	463.126 0, 301.075 8	Diosmin	+	-
11	3.73	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	611.197 1	611.197 3	0.36	465.139 9, 449.146 8, 431.124 5, 303.094 0, 281.066 4, 263.055 7, 153.019 4	Hesperidin *	+	+
12	3.74	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.086 3	303.086 1	-0.65	153.020 8, 117.033 3	Homoeriodictyol	+	+
13	7.65	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	287.091 4	287.091 0	-1.33	161.059 3, 153.017 8, 133.064 3	Isosakuranetin	+	-
14	7.67	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	595.202 1	595.202 1	-0.07	287.091 1, 153.017 6	Poncirin	+	-
15	8.12	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	273.075 8	273.075 4	-1.25	153.017 9, 147.043 8	Naringenin	+	+
16	8.22	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	329.102 0	329.101 9	-0.17	314.078 5, 299.056 9, 271.060 3	Monohydroxy-trimethoxyflavone	+	+
17	8.81	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	329.102 0	329.101 8	-0.47	314.0789, 299.055 0, 271.059 9	Monohydroxy-trimethoxyflavone	+	+
18	9.11	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.112 5	359.112 6	0.12	344.089 1, 329.066 0	7-Hydroxy-3,5,6,8-tetramethoxyflavone	+	+
19	9.58	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	375.107 4	375.107 3	-0.33	360.084 9, 345.060 9	Dihydroxy-tetramethoxyflavone	+	+
20	9.59	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.086 3	303.085 7	-1.90	177.054 2, 153.017 6	Hesperetin	+	+
21	9.75	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	301.070 7	301.070 9	0.82	229.049 3, 153.018 5	Chrysoeriol	+	+
22	10.15	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	329.102 0	329.101 8	-0.55	314.077 7, 299.054 8, 271.059 5	Monohydroxy-trimethoxyflavone	+	+
23	10.15	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.112 5	359.112 3	-0.52	344.090 4	7-Hydroxy-5,6,8,4'-tetramethoxyflavone	+	+
24	10.42	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.123 1	389.122 7	-1.00	374.098 9, 359.076 8, 341.064 6	7-Hydroxy-5,6,8,3',4'-tetramethoxyflavone	+	+
25	10.48	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	299.091 4	299.091 3	-0.39	284.088 6, 256.071 4	Monohydroxy-dimethoxyflavone	+	+
26	10.87	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.123 1	389.123 0	-0.26	374.099 4, 359.076 6, 341.065 1, 197.007 5	5-Hydroxy-3,7,8,3',4'-penta-methoxyflavone	+	+
27	11.23	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.112 5	359.112 4	-0.42	344.089 0, 329.065 0	5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavone	+	+
28	11.53	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	361.128 2	361.128 0	-0.51	211.062 7	5-Hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavanone	+	+
29	11.79	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 7	419.134 5	1.91	404.110 5, 389.085 3, 371.075 9, 361.089 1	Monohydroxy - hexamethoxyflavone	+	+
30	12.18	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 7	419.132 4	-2.93	404.111 9, 389.087 1, 371.075 6, 361.092 9	Monohydroxy - hexamethoxyflavone	+	+

(续表一)

编号	t_R/min	分子式	离子类型	理论值 m/z	实测值 m/z	误差/ 10^{-6}	碎片离子	化合物	CP	PMFs
31	12.27	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.112 5	359.112 6	0.27	344.090 1,329.070 1,311.055 5	4'-Hydroxy-5,6,7,8-tetramethoxyflavone	+	+
32	12.35	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.123 1	389.123 2	0.39	374.102 7,359.083 4,344.053 0,341.066 0,197.008 3	3-Hydroxy-5,6,7,3',4'-pentamethoxyflavanone	+	+
33	12.59	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	329.102 0	329.101 5	-1.48	314.078 9	Monohydroxy-trimethoxyflavone	+	+
34	12.69	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	391.138 7	391.138 5	-0.50	241.074 9	5-Hydroxy-6,7,8,3',4'-pentamethoxyflavanone	+	+
35	12.91	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	373.128 2	373.128 6	1.18	358.105 4,343.082 3,315.086 8,181.013 3,163.075 5,153.018 5	Isosinensetin	+	+
36	13.12	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.123 1	389.123 2	0.27	374.102 2,359.084 3,344.055 3,341.066 9,211.024 5	Monohydroxy pentamethoxyflavone	+	+
37	13.46	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 7	419.133 5	-0.28	404.110 4,389.087 1,371.076 5	8-Hydroxy-5,6,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone	+	+
38	13.58	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	315.086 3	315.086 3	-0.16	300.062 5,136.015 2	5,3'-Dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	+	+
39	14.27	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	375.107 4	375.106 4	-2.84	360.084 9,345.061 0	3',3-Dihydroxy-4',5,7,8-tetramethoxyflavone	+	+
40	14.30	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 7	419.134 1	0.96	404.110 1,389.088 0,371.076 7	7-Hydroxy-3,5,6,8,3',4'-hexamethoxyflavone	+	+
41	14.42	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	343.117 6	343.117 3	-0.81	328.094 7	5,7,3',4'-Tetramethoxyflavone	+	+
42	14.48	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	345.096 9	345.097 1	0.52	330.073 9	3',5-Dihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone	+	+
43	14.67	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	373.128 2	373.128 1	-0.16	358.104 7,343.081 8,315.086 6,312.099 6,297.075 8,181.013 6,163.075 3,153.018 1	Sinensetin *	+	+
44	14.89	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	359.112 5	359.112 4	-0.34	344.089 4,329.067 1,311.054 4	6-Hydroxy-5,7,8,4'-tetramethoxyflavone	+	+
45	14.92	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	405.118 0	405.117 9	-0.33	390.096 5,375.0710,357.059 3,347.075 6,329.063 1	3,5-Dihydroxy-6,7,8,3',4'-pentamethoxyflavone	+	+
46	15.34	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	343.117 6	343.117 6	-0.06	328.094 7,313.072 4,285.076 2	4',5,7,8-Tetramethoxyflavone *	+	+
47	15.72	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	345.096 9	345.096 8	-0.37	330.074 8,315.053 6,301.070 6	4',8-Dihydroxy-3,5,6-trimethoxyflavone	+	+
48	15.97	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	345.096 9	345.096 9	0.13	330.073 9,315.051 2	4',7-Dihydroxy-3,5,6-trimethoxyflavone	+	+
49	16.09	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	405.154 4	405.154 4	-0.01	211.029 4,193.013 5,165.018 3	4-Hydroxy-3,5,3',4',5',6'-hexamethoxyflavone	+	+
50	16.52	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_9$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	405.118 0	405.117 7	-0.83	390.095 6,375.069 2,357.057 8,347.075 5,329.065 4	5,4'-Dihydroxy-3,6,7,8,3'-pentamethoxyflavone	+	+
51	16.62	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	375.107 4	375.107 3	-0.47	360.085 2,345.063 8,327.050 6	5,3'-Dihydroxy-4',5',7,8-tetramethoxyflavone	+	+
52	16.78	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	375.107 4	375.107 7	0.75	360.084 7,345.066 3,327.052 8	3,5-Dihydroxy-4',6,7,8-tetramethoxyflavone	+	+
53	16.95	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	403.138 7	403.138 4	-0.83	388.117 3,373.096 3,355.080 7,327.085 7	Nobiletin *	+	+
54	17.05	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	343.117 6	343.117 4	-0.70	328.094 8,313.071 0,285.076 0	5,6,7,4'-Tetramethoxyflavone	+	+
55	17.11	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	313.107 1	313.106 8	-0.82	298.084 4,270.088 2,269.080 9	5,7,4'-Trimethoxyflavone	+	+
56	17.27	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_7$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	361.128 2	361.128 0	-0.37	197.052 0,182.021 5,136.016 3	5-Hydroxy-6,7,8,4'-tetramethoxyflavanone	+	+

(续表二)

编号	<i>t_R</i> /min	分子式	离子类型	理论值 <i>m/z</i>	实测值 <i>m/z</i>	误差/10 ⁻⁶	碎片离子	化合物	CP	PMFs
57	17.56	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	315.086 3	315.086 4	0.13	300.063 2, 403.104 9,388.079 8,360.084 6, 345.061 2,327.121 3,317.065 9, 211.024 0,183.028 6,165.054 8, 137.059 8	5,6-Dihydroxy-7,4'-dimethoxy-flavone	+	+
58	17.94	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	[M+H] ⁺	433.149 3	433.149 7	0.81	344.090 7	3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxy-flavone [*]	+	+
59	18.07	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M+H] ⁺	359.112 5	359.112 4	-0.24	241.079 1,227.062 9,212.032 7	5-Hydroxy-6,7,8,4'-tetrame-thoxyflavone	+	+
60	18.11	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	391.138 7	391.138 7	-0.22	404.113 6,389.092 9,371.077 8, 361.095 8	5-Hydroxy-3,6,7,8,4'-pentam-ethoxyflavanone	+	+
61	18.45	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	419.133 7	419.134 1	1.04	358.107 2,343.086 4,325.071 0, 315.086 6,312.099 6,297.076 1, 211.024 5,183.029 3,133.065 0	Natsudaikai	+	+
62	18.66	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	373.128 2	373.128 3	0.21	344.092 6,311.055 1	Tangeretin [*]	+	+
63	18.83	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M+H] ⁺	359.112 5	359.112 1	-1.11	211.062 5	5-Hydroxy-7,8,3',4'-tetrame-thoxyflavone	+	+
64	19.18	C ₁₉ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	361.128 2	361.128 0	-0.38	227.054 6,197.007 2	3-Hydroxy-5,6,7,4'-tetrame-thoxyflavanone	+	+
65	19.36	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	391.138 7	391.137 8	-2.35	390.095 3,375.073 0,357.061 2, 347.076 4	3-Hydroxy-5,6,7,8,4'-pentam-ethoxyflavanone	+	+
66	19.46	C ₂₀ H ₂₀ O ₉	[M+H] ⁺	405.118 0	405.117 8	-0.41	359.080 0,344.056 5,341.070 5, 197.010 2	5,4'-Dihydroxy-3,6,7,8,3'-pentamethoxyflavone	+	+
67	19.51	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	[M+H] ⁺	389.123 1	389.123 2	0.31	211.031 0,193.013 7,165.018 9	5-Demethylnobiletin [*]	+	+
68	20.43	C ₂₁ H ₂₄ O ₈	[M+H] ⁺	405.154 4	405.154 0	-1.02	404.111 5,389.092 8,371.077 7, 361.092 7	5-Hydroxy-3,4,3',4',5',6'-hexamethoxyflavone	+	+
69	20.55	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	419.133 7	419.133 4	-0.56	344.091 3,329.072 6,311.058 8, 197.009 6,169.013 6	Gardenin A	+	+
70	21.09	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M+H] ⁺	359.112 5	359.112 7	0.50		Gardenin B	+	+

注：* 表示经过对照品确认，+表示可检测到，-表示未检测到。

4 讨论

由于 D101 大孔吸附树脂可高效吸附和分离黄酮类成分^[10,14],因此本研究首先用其对陈皮中的多甲氧基黄酮部位进行了分离纯化。结合本文所建立的同时测定陈皮中七种黄酮类化合物的 HPLC 分析方法,从陈皮提取物和 PMFs 提取物的液相图可知, D101 大孔吸附树脂可以较好地去除陈皮中其他黄酮类化合物,富集纯化多甲氧基黄酮类化合物。本研究考察的 6 种 PMFs 中,川陈皮素和桔皮素的含量远比其他 PMFs 要高,表明川陈皮素和桔皮素是广陈皮多甲氧基黄酮中的主要成分,为进一步辨识陈皮中的活性成分提供了研究基础^[15]。

本研究应用高分辨质谱技术对陈皮提取物及 PMFs 提取物中的黄酮类化合物进行了全面鉴定和

分析,通过飞行时间质谱仪提供的精确分子量信息、二级质谱碎片、对照品比对及归纳黄酮类化合物和多甲氧基黄酮类化合物的裂解规律的方式,初步从陈皮提取物和 PMFs 提取物中鉴定出 70 个和 60 个黄酮类化合物,其中多甲氧基黄酮类化合物均有 53 个。本研究分别以 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素及同分异构体甜橙黄酮、异甜橙黄酮和桔皮素为例具体对多甲氧基黄酮类化合物裂解规律进行阐明,以期陈皮中多甲氧基黄酮类化合物的药效物质基础研究提供相关依据^[9,15]。

多甲氧基黄酮类化合物具有确切的调控氧化还原、免疫及炎症、抗肿瘤等作用^[7,9,16],因此深入研究其物质基础,为进一步诠释其独特药效提供了一定的依据。但本文仍存在一些不足的地方,如未分析

陈皮中的挥发油成分、尚存在一些同分异构体未确定性,后续可通过对照品比对或者采用离子淌度质谱对一些同分异构体进行准确鉴别。此外,对于这些多甲氧基黄酮类化合物在体内的吸收、代谢、分布和排泄也需要深入研究。

参考文献:

- [1] 张琪,胡安琪,范倩,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS的柑普茶外果皮、鲜陈皮和鲜砂糖橘皮的全成分对比分析[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2021, 60(6): 128-141.
ZHANG Q, HU A Q, FAN Q, et al. Comprehensive chemical analysis of peels of Ganpu Tea, *Citrus reticulata* cv. Chachiensis and *Citrus tachibana* based on UPLC-Q-TOF-MS[J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni, 2021, 60(6): 128-141.
- [2] 梅振英,张荣菲,赵志敏,等. 陈皮多甲氧基黄酮类成分组成、提取纯化及生物活性研究进展[J]. 中成药, 2020, 42(10): 2709-2715.
MEI Z Y, ZHANG R F, ZHAO Z M, et al. Research progress on composition, extraction, purification and biological activity of polymethoxy flavonoids from pericarpium citri Tangerinae[J]. Chin Tradit Pat Med, 2020, 42(10): 2709-2715.
- [3] BRITS M, NAESSENS T, THEUNIS M, et al. Identification and quantification of polymethoxylated flavonoids in different Citrus species using UPLC-QTOF-MS/MS and HPLC-DAD[J]. Planta Med, 2021, 87(12/13): 1080-1088.
- [4] ZHANG H J, TIAN G F, ZHAO C Y, et al. Characterization of polymethoxyflavone demethylation during drying processes of Citrus peels[J]. Food Funct, 2019, 10(9): 5707-5717.
- [5] SUN X M, DENG H D, SHAN B J, et al. Flavonoids contribute most to discriminating aged Guang Chenpi (*Citrus reticulata* 'Chachi') by spectrum-effect relationship analysis between LC-Q-Orbitrap/MS fingerprint and ameliorating spleen deficiency activity[J]. Food Sci Nutr, 2023, 11(11): 7039-7060.
- [6] 任雪,石凯欣,张震,等. 广陈皮中多甲氧基黄酮提取物对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(3): 248-255.
REN X, SHI K X, ZHANG Z, et al. Protective effects of polymethoxyflavones extract from *Citrus reticulata* 'Chachi' on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. J Huazhong Agric Univ, 2021, 40(3): 248-255.
- [7] SAITO T, ABE D, NOGATA Y. Nobiletin and related polymethoxylated flavones bind to and inhibit the nuclear export factor Exportin-1 in NK leukemia cell line KHYG-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(2): 457-462.
- [8] XU J J, WU X, LI M M, et al. Antiviral activity of polymethoxylated flavones from "guangchenpi", the edible and medicinal pericarps

- of *Citrus reticulata* 'Chachi' [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(10): 2182-2189.
- [9] PAN M H, LI M Y, TSAI M L, et al. A mixture of Citrus polymethoxyflavones, green tea polyphenols and lychee extracts attenuates adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and obesity-induced adipose inflammation in mice [J]. Food Funct, 2019, 10(12): 7667-7677.
- [10] ZHENG Y Y, ZENG X, PENG W, et al. Characterisation and classification of Citri Reticulatae Pericarpium varieties based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS combined with multivariate statistical analyses[J]. Phytochem Anal, 2019, 30(3): 278-291.
- [11] 黄芳,周熙,罗辉泰,等. 基于HPLC-Q-TOF-MS及化学模式识别方法对陈皮的化学成分快速鉴别及产地判别研究[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6361-6368.
HUANG F, ZHOU X, LUO H T, et al. Chemical constituents and habitats identification of Citri Reticulatae Pericarpium by HPLC-Q-TOF-MS and chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(20): 6361-6368.
- [12] CHENG L, WANG F, CAO Y X, et al. Rapid profiling of potential antitumor polymethoxylated flavonoids in natural products by integrating cell biospecific extraction with neutral loss/diagnostic ion filtering-based high-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Phytochem Anal, 2022, 33(6): 895-905.
- [13] GAO Z, WANG Z Y, GUO Y, et al. Enrichment of polymethoxyflavones from *Citrus reticulata* 'Chachi' peels and their hypolipidemic effect[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2019, 1124: 226-232.
- [14] 童超英,彭密军,施树云. 在线提取-高效液相色谱-二极管阵列检测-四极杆飞行时间质谱法快速鉴定陈皮中黄酮类化合物[J]. 色谱, 2018, 36(3): 278-284.
TONG C Y, PENG M J, SHI S Y. Rapid identification of flavonoid compounds in Pericarpium Citri Reticulatae by online extraction-high performance liquid chromatography-diode array detection-quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(3): 278-284.
- [15] 张珂,许霞,李婷,等. 利用UHPLC-IT-TOF-MS分析陈皮的化学成分组[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 899-909.
ZHANG K, XU X, LI T, et al. Chemome profiling of citri reticulatae pericarpium using UHPLC-IT-TOF-MS[J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45(4): 899-909.
- [16] MIAO W, LIU X J, LI N, et al. Polarity-extended composition profiling via LC-MS-based metabolomics approaches: A key to functional investigation of Citrus aurantium L [J]. Food Chem, 2023, 405(Pt B): 134988.

(编辑:董宇)