

## 基于序贯代谢和UPLC-HRMS的陈皮入血成分分析

陈洪娇<sup>1</sup>, 刘伟<sup>1</sup>, 李雪岩<sup>1</sup>, 祁东盈<sup>1</sup>, 于爽<sup>1</sup>, 刘慧宁<sup>1</sup>, 刘海波<sup>2</sup>, 刘洋<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488;

2. 中国医学科学院&北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

**[摘要]** **目的:**采用序贯代谢方法和超高效液相色谱-高分辨质谱法(UPLC-HRMS)研究陈皮化学成分在大鼠体内不同部位的代谢情况。**方法:**以SD雄性大鼠为实验对象,在体肠灌注给予陈皮醇提物后分别制备肠代谢、肝代谢血液样品,灌胃给药后收集综合代谢血液样品。运用UPLC-HRMS分析样品,以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~10 min, 10%~30%A; 10~30 min, 30%~95%A; 30~31 min, 95%~10%A; 31~35 min, 10%A),流速 0.35 mL·min<sup>-1</sup>,采用加热电喷雾离子源,正、负离子模式扫描,扫描范围 *m/z* 100~1 500。在此检测条件下,比较陈皮醇提物、空白血浆及不同含药血浆的图谱差异,根据保留时间、精确相对分子质量、二级碎片离子及对照品信息,分析鉴别各样品的化学成分。**结果:**从陈皮醇提物中共鉴定出44个化学成分,包含黄酮氧苷、黄酮碳苷和多甲氧基黄酮类化合物等。序贯代谢研究结果表明,在肠代谢样品中检测到陈皮中的22个化学成分,肝代谢样品中检测到18个化学成分,3种代谢样品中均可以检测到9个相同的化学成分(芸香柚皮苷、橙皮苷、橙皮内酯、5,7,8,3',4',5'-hexamethoxy-flavone、异甜橙黄酮、甜橙黄酮、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橘皮素),共有22个化合物以原型形式入血。**结论:**鉴定的21个结构明确且以原型入血的成分可能是陈皮潜在的活性成分,不同代谢部位的成分差异可为阐明陈皮代谢成分的体内生物转化过程提供实验依据。

**[关键词]** 陈皮; 序贯代谢方法; 超高效液相色谱-高分辨质谱法(UPLC-HRMS); 入血成分; 黄酮氧苷; 黄酮碳苷; 多甲氧基黄酮

[中图分类号] R22;R28;R96;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2023)09-0179-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221047 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20220922.1401.002.html>

[网络出版日期] 2022-09-26 09:00:40

### Analysis on Components Absorbed into Blood of Citri Reticulatae Pericarpium in Rats Based on Sequential Metabolism and UPLC-HRMS

CHEN Hongjiao<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, LI Xuayan<sup>1</sup>, QI Dongying<sup>1</sup>, YU Shuang<sup>1</sup>, LIU Huining<sup>1</sup>,  
LIU Haibo<sup>2</sup>, LIU Yang<sup>1\*</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development,

Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the metabolism of chemical components from Citri Reticulatae Pericarpium (CRP) in different parts of rats by sequential metabolism and ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS). **Method:** SD male rats were employed as experimental subjects, and blood samples of intestinal metabolism and hepatic metabolism were prepared after administration of CRP ethanol extract by *in situ* intestinal perfusion, and comprehensive metabolic samples were collected after intragastric administration. UPLC-HRMS was used to analyze the samples with acetonitrile (A)-0.1% formic acid aqueous solution (B) as the mobile phase for gradient elution (0-10 min, 10%-30%A; 10-

[收稿日期] 2022-07-05

[第一作者] 陈洪娇,在读硕士,从事药物代谢与药靶结合研究,E-mail:1736160007@qq.com

[通信作者] \*刘洋,博士,教授,从事多成分药物代谢研究,Tel:010-61740475,E-mail:liuyang@bucm.edu.cn

30 min, 30%-95%A; 30-31 min, 95%-10%A; 31-35 min, 10%A) at a flow rate of 0.35 mL·min<sup>-1</sup>, using a heated electrospray ionization with positive and negative ion mode scanning in the range of *m/z* 100-1 500. Under these conditions, the differences in the profiles of CRP ethanol extract, blank plasma and drug-containing plasma under different treatment groups were compared, and the chemical components of each sample were analyzed and identified based on the retention time, accurate relative molecular mass, primary and secondary ion fragments, and the information of reference substances. **Result:** A total of 44 chemical components were identified in the CRP ethanol extract, including flavone-*O*-glycosides, flavone-*C*-glycosides and polymethoxyflavonoids, etc. The results of sequential metabolism showed that 22 chemical components in CRP were detected in the intestinal metabolic sample, 18 chemical components were detected in the hepatic metabolic sample, and 9 identical chemical components (narirutin, hesperidin, meranzin, 5, 7, 8, 3', 4', 5'-hexamethoxyflavone, isosinensetin, sinensetin, 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-heptamethoxyflavone, nobiletin and tangeretin) could be detected in all three metabolic samples, with a total of 22 compounds entering the blood in prototype form. **Conclusion:** The identified 21 components with well-defined structures entering the blood as prototypes may be potential active components of CRP, and differences in the components at different metabolic parts can provide an experimental basis for elucidating the *in vivo* biotransformation process of the metabolic components of CRP.

**[Keywords]** Citri Reticulatae Pericarpium; sequential metabolism; ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS); components absorbed into blood; flavone-*O*-glycosides; flavone-*C*-glycosides; polymethoxyflavonoids

陈皮是中医临床常用的理气药之一,分为陈皮和广陈皮2种,具有理气健脾、燥湿化痰的功效<sup>[1]</sup>。目前,关于陈皮的代谢研究集中在阐述其指标成分橙皮苷、川陈皮素的体内代谢途径和代谢产物<sup>[2-3]</sup>,忽略了陈皮在代谢时的多成分共存环境;同时,此前研究仅获得了陈皮在血浆、尿液及粪便中的代谢产物<sup>[4-6]</sup>,未阐明其在每个部位的代谢情况。序贯代谢是本课题组基于药物口服后的消化吸收过程,为全面、连续表征多成分药物在空间和时间上的生物转化而提出的,可系统描绘中药多成分动态吸收和代谢的变化轮廓,是多成分药物代谢研究的重要内容<sup>[7-8]</sup>。该方法可以追踪、阐明中药化学成分在体内的代谢转化过程,已成功用于白芍、痛风定胶囊的药效成分和作用机制研究,以及川芎、枸杞子、秦艽等的质量控制研究<sup>[9-13]</sup>。本研究在序贯代谢研究思路指导下,应用大鼠在体精细实验技术和超高效液相色谱-高分辨质谱法(UPLC-HRMS)分析陈皮及其不同代谢部位的化学成分,解析其化学成分进入血液循环后的动态变化,为完善陈皮的质量标准提供科学依据,并为揭示其药效物质基础提供参考。

## 1 材料

Vanquish型超高效液相色谱仪、Q-Exactive型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪、Sorvall ST8R型高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher 公司),BSA124S型万分之一电子分析天平、BT25S型十万

分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司),1-15PK型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司),BT-100-1F型蠕动泵、LSP02-1B型注射泵(保定兰格恒流泵有限公司),CM-12型水浴氮吹仪(北京成萌伟业科技有限公司)。

陈皮饮片购于北京同仁堂长阳药店有限公司新悦都店,产地四川,经北京中医药大学王晶娟教授鉴定为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* 的干燥成熟果皮。橙皮素、橙皮苷、芸香柚皮苷、柚皮素和新橙皮苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 C03F6Y1、K02M3C1、P29M6R4、YJ0603HA13、Z31J6L2067,纯度均≥98%),川陈皮素、野漆树苷、橘皮素和甜橙黄酮对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号分别为 8005、6099、10027、4085,纯度均≥98%),芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100080-201811,纯度 91.7%),医用胶(北京康派特医疗器械有限公司,批号 211015),水为屈臣氏饮用水,乙腈和甲酸为质谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF级SD雄性大鼠,体质量280~300 g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,生产许可证号SCXK(京)2019-0010。实验前,大鼠适应性饲养于温度25~27℃、相对湿度50%~70%、12 h/12 h明暗交替的环境下7 d,保证其自由饮水摄食,实验开始前的12 h禁食不禁水。本研究所涉及的实验动物

方案已获得北京中医药大学实验动物伦理委员会的批准,批准号BUCM-4-2022061502-2062。

## 2 方法

**2.1 溶液的制备** 取陈皮饮片,粉碎过三号筛,精密称定,加入20倍量60%乙醇超声30 min(40 kHz, 200 W),纱布滤过,滤渣按上述条件再次提取。合并2次提取液,减压浓缩后于60℃水浴蒸至稠膏状。取稠膏适量,用50%甲醇稀释,0.22 μm微孔滤膜滤过,弃去初滤液,得陈皮醇提物,4℃储存,待测。另取稠膏适量,用0.5%羧甲基纤维素钠溶液复溶混悬制成生药质量浓度为1 g·mL<sup>-1</sup>的陈皮醇提取物混悬液,4℃储存,作为灌流液及灌胃液备用。

**2.2 混合对照品溶液的制备** 称取橙皮素、橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷、柚皮素、川陈皮素、野漆树苷、芦丁、橘皮素和甜橙黄酮对照品适量,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇使溶解并定容,得质量浓度分别为0.632、0.546、0.587、0.562、0.573、0.592、0.615、0.702、0.683、0.558 g·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。分别取橙皮素、橙皮苷、芸香柚皮苷、柚皮素、川陈皮素、野漆树苷、芦丁和橘皮素对照品溶液200 μL,置于同一10 mL量瓶中,加50%甲醇定容,0.22 μm滤膜过滤后弃去初滤液,得混合对照品A溶液;另分别取橙皮素、新橙皮苷、芸香柚皮苷、柚皮素、川陈皮素、野漆树苷、芦丁和甜橙黄酮对照品溶液200 μL,按上述方法制备,得混合对照品B溶液。

**2.3 肠代谢研究** 将大鼠随机分为实验组和供血组,每只实验组大鼠平均需要4只供血组大鼠为其补充实验过程中流失血液。供血组大鼠经10%水合氯醛麻醉后在其腹主动脉处采集血液,血液经纱布过滤,置于盛有适量肝素钠、在水浴锅上控温37℃的离心管中。实验组大鼠麻醉后,固定使其处于仰位平躺姿势,暴露颈静脉后插入静脉留置针,滴加医用胶粘合。沿腹中线打开腹腔,选取10 cm的空肠作为供试肠段,在供试肠段首尾处各剪一小口并插入玻璃管引流液体。用生理盐水冲洗供试肠段至流出液澄清,利用去掉针头的注射器打入空气至供试肠段,使供试肠段内无液体流出。结扎肝门静脉及肠系膜旁支血管,肠系膜静脉插入静脉留置针后,借助注射泵使药液以0.3 mL·min<sup>-1</sup>的流速流过供试肠段。如增强出版附加材料所示,通过蠕动泵连接储血离心管、颈静脉和肠系膜静脉处的静脉留置针及收集血液的离心管,于0.2 mL·min<sup>-1</sup>持续2 h供血、采血。实验过程中用保温灯照射以维持大鼠体温稳定。实验平行3组,灌流时给予生理

盐水作为空白组。采集的血液于4℃保存备用。

**2.4 肝代谢研究** 肝代谢研究中除不结扎肝门静脉并于股静脉处采血外,其他操作同2.3项下。

**2.5 综合代谢** 随机选取3只大鼠,每只灌胃给药4 mL,每天2次,持续3 d,第4天上午给药2 h后腹腔注射10%水合氯醛麻醉,腹主动脉采血并于4℃保存备用。空白组给予生理盐水。

**2.6 血液处理** 取2.3、2.4、2.5项下的血浆样品,于3 500 r·min<sup>-1</sup>离心15 min(4℃,离心半径10 cm,下同),取上清液,加入等体积乙腈沉淀蛋白,涡旋混匀2 min,于10 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,吸取上清液用氮吹仪吹干溶剂,加50%甲醇200 μL复溶,于转速10 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液,待测。

**2.7 检测条件** 色谱条件为Waters ACQUITY UPLC BEH Shield RP18色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),柱温35℃,流速0.35 mL·min<sup>-1</sup>,进样量3 μL,流动相乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~10 min, 10%~30%A; 10~30 min, 30%~95%A; 30~31 min, 95%~10%A; 31~35 min, 10%A)。质谱条件为采用加热电喷雾离子源(HESI),正、负离子模式同时采集,扫描范围m/z 100~1 500,喷雾电压分别为3.5 kV(HESI<sup>+</sup>)和3.0 kV(HESI<sup>-</sup>),HESI温度400℃,毛细管加热温度320℃,鞘气和辅助气均为纯度>99%的氮气,碰撞气为纯度>99.99%的高纯氮气,鞘气压力35 arb,辅助气压力10 arb,碰撞能量为20、40、60 eV,MS分辨率70 000。

## 3 结果与分析

**3.1 陈皮化学成分的鉴定** 按2.7项下条件对陈皮醇提物中的化学成分进行分析,总离子流图见增强出版附加材料。结果共鉴定出44个化合物,将供试品与对照品的保留时间(*t<sub>R</sub>*)、准分子离子峰、二级碎片和裂解规律进行比对,确定了其中的7个成分;基于文献信息并综合对照品信息,建立含名称、分子式及相对出峰顺序等信息的陈皮化学成分数据库,并借助Xcalibur 4.0软件对总离子流图上的色谱峰进行精确质量数识别,综合推断出37个化合物,主要为黄酮类、香豆素类、氨基酸类化合物,见表1,多为黄酮氧苷类、黄酮碳苷类和多甲氧基黄酮类。

**3.1.1 黄酮碳苷类化合物的MS解析** 从陈皮醇提物中鉴定出7种黄酮碳苷类化合物,根据糖基数目可分为单糖碳苷黄酮(化合物11)和双糖碳苷黄酮(化合物5、6、9、10、13、14)2种类型,其黄酮苷元多在6-C位和8-C位以C-C键连接糖基单元。在正离子模式下,会形成连续脱水的[M+H-nH<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>特征

表1 陈皮醇提取物中化学成分的UPLC-HRMS分析

Table 1 Identification of chemical components in ethanol extract of Citri Reticulatae Pericarpium by UPLC-HRMS

化合物	$t_R$ /min	准分子离子峰	主要碎片离子	分子式	$\delta$ /ppm	名称
1	0.70	116.070 8 [M+H] <sup>+</sup>	70.065 8	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	1.6	脯氨酸 <sup>[14]</sup>
2	0.73	268.103 5 [M+H] <sup>+</sup>	250.091 7, 232.081 4, 136.061 7	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	-1.9	腺苷 <sup>[14]</sup>
3	1.01	166.086 2 [M+H] <sup>+</sup>	120.080 9, 103.054 5	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	-0.3	苯丙氨酸 <sup>[14]</sup>
4	1.36	205.097 1 [M+H] <sup>+</sup>	188.070 5, 118.065 3	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-0.2	色氨酸 <sup>[14]</sup>
5	3.43	609.146 9 [M-H] <sup>-</sup>	519.112 9, 489.105 2, 399.072 6, 369.061 9, 313.072 2	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	3.1	lucenin-2 <sup>[14]</sup>
6	4.13	593.152 3 [M-H] <sup>-</sup>	503.120 9, 473.108 9, 383.077 7, 353.067 2, 297.077 1	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	3.8	维采宁-2 <sup>[14-16]</sup>
7	4.17	741.226 0 [M-H] <sup>-</sup>	579.171 9, 433.114 5, 271.061 6	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	3.1	narirutin-4'-glucoside <sup>[17]</sup>
8	4.25	743.238 5 [M+H] <sup>+</sup>	417.117 4, 273.075 2	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	-1.1	naringin-4'- $\beta$ -D-glucoside <sup>[17]</sup>
9	4.35	625.175 8 [M+H] <sup>+</sup>	607.164 7, 589.154 2, 571.144 8, 487.123 3, 367.080 5	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	-0.9	diosmetin-6, 8-di-C-glucoside <sup>[16-18]</sup>
10	4.55	625.175 5 [M+H] <sup>+</sup>	607.164 8, 589.153 8, 571.143 6, 487.123 2, 367.080 3	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	-1.2	stellarin-2 <sup>[16-18]</sup>
11	5.72	447.094 0 [M-H] <sup>-</sup>	357.062 0, 327.051 2	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	4.0	荜草苷 <sup>[19]</sup>
12	6.00	597.180 8 [M+H] <sup>+</sup>	399.107 2, 289.070 2, 153.018 2	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	-0.9	圣草次苷 <sup>[19]</sup>
13	6.78	463.122 9 [M+H] <sup>+</sup>	445.112 4, 427.101 9, 409.090 5, 367.080 6, 343.080 7, 313.070 0	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	-1.2	diosmetin-8-C-glucoside 或金雀花素 <sup>[18]</sup>
14	7.12	463.123 0 [M+H] <sup>+</sup>	445.112 4, 427.102 0, 409.091 4, 367.080 6, 343.080 8, 313.070 1	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	-1.1	diosmetin-8-C-glucoside 或金雀花素 <sup>[18]</sup>
15	7.39	581.186 2 [M+H] <sup>+</sup>	419.137 6, 273.075 2, 153.018 1	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	-0.6	芸香柚皮苷 <sup>1)</sup>
16	7.48	609.147 3 [M-H] <sup>-</sup>	301.035 8, 255.030 0, 151.003 9	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	3.7	芦丁 <sup>1)</sup>
17	7.69	303.085 8 [M+H] <sup>+</sup>	177.054 5, 153.018 2	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	-1.5	高圣草酮 <sup>[19-20]</sup>
18	7.69	611.196 7 [M+H] <sup>+</sup>	449.142 6, 303.085 7, 153.018 1	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	-0.5	橙皮苷 <sup>1)</sup>
19	7.99	261.111 9 [M+H] <sup>+</sup>	243.101 2, 189.054 5, 131.049 1	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	-0.9	橙皮内酯 <sup>[14, 17]</sup>
20	8.31	577.157 0 [M-H] <sup>-</sup>	269.046 0	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	2.2	异野漆树苷 <sup>[17]</sup>
21	8.56	625.175 7 [M+H] <sup>+</sup>	317.065 2, 153.018 1	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	-1.0	甲基橙皮苷 <sup>[21]</sup>
22	9.10	515.227 2 [M+H] <sup>+</sup>	469.220 3, 411.215 7	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>9</sub>	-0.6	诺米林 <sup>[22]</sup>
23	9.85	859.249 3 [M+H] <sup>+</sup>	391.101 7, 361.054 7	C <sub>37</sub> H <sub>46</sub> O <sub>23</sub>	-1.2	7, 4'-dihydroxy-5, 6, 8, 3'-tetramethoxy-flavonol-3-O- (5-glucosyl-3-hydroxy-3-methylglutarate)-glucoside 或其异构体 <sup>[23]</sup>
24	9.98	859.249 3 [M+H] <sup>+</sup>	391.101 8, 361.054 9	C <sub>37</sub> H <sub>46</sub> O <sub>23</sub>	-1.1	7, 4'-dihydroxy-5, 6, 8, 3'-tetramethoxy-flavonol-3-O- (5-glucosyl-3-hydroxy-3-methylglutarate)-glucoside 或其异构体 <sup>[23]</sup>
25	10.15	595.201 7 [M+H] <sup>+</sup>	433.148 3, 287.091 0, 153.018 1	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub>	-0.7	枸橼苷 <sup>[14, 20]</sup>
26	10.59	887.280 8 [M+H] <sup>+</sup>	419.133 0, 389.086 1	C <sub>39</sub> H <sub>50</sub> O <sub>23</sub>	-0.8	natsudaian-3-O- (5-glucosyl-3-hydroxy-3-methylglutarate)-glucoside <sup>[23]</sup>
27	11.30	728.397 2 [M+H] <sup>+</sup>	700.401 9	C <sub>36</sub> H <sub>53</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	-1.6	citrusin III <sup>[18-19]</sup>
28	11.97	725.228 5 [M+H] <sup>+</sup>	419.133 1, 404.109 6, 389.086 2	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>18</sub>	-1.2	melitidin <sup>[17, 19]</sup>
29	12.37	375.143 3 [M+H] <sup>+</sup>	211.060 0, 196.036 6, 168.041 7, 150.031 1	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	-3.0	5, 6, 7, 3', 4'-pentamethoxyflavone <sup>[24]</sup>
30	13.11	704.397 0 [M+H] <sup>+</sup>	686.386 1	C <sub>34</sub> H <sub>53</sub> N <sub>7</sub> O <sub>9</sub>	-1.8	citrusin I <sup>[18-19]</sup>
31	13.18	373.127 8 [M+H] <sup>+</sup>	358.103 5, 343.080 8, 315.085 8	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	-2.5	异甜橙黄酮 <sup>[19]</sup>
32	13.48	261.111 9 [M+H] <sup>+</sup>	243.101 3, 189.054 5, 131.049 2	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	-0.9	异橙皮内酯 <sup>[21]</sup>
33	13.80	271.061 4 [M-H] <sup>-</sup>	177.019 3, 151.003 8, 119.050 2, 107.013 9	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	2.8	柚皮素 <sup>1)</sup>
34	13.82	403.138 3 [M+H] <sup>+</sup>	388.114 0, 373.091 2, 327.085 3	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-2.4	5, 7, 8, 3', 4', 5'-hexamethoxy-flavone <sup>[24]</sup>

续表 1

化合物	$t_R$ /min	准分子离子峰	主要碎片离子	分子式	$\delta$ /ppm	名称
35	14.29	373.127 7 [M+H] <sup>+</sup>	358.103 1, 343.080 7, 312.098 4	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	-2.8	甜橙黄酮 <sup>1)</sup>
36	14.43	375.143 3 [M+H] <sup>+</sup>	211.059 9, 196.036 5	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub>	-2.8	5, 7, 8, 3', 4'-pentamethoxy-xyflavanone <sup>[24]</sup>
37	14.93	403.138 4 [M+H] <sup>+</sup>	388.114 4, 373.091 2, 327.085 8	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-2.1	5, 6, 7, 3', 4', 5'-hexamethoxy-flavone <sup>[24]</sup>
38	15.20	403.138 3 [M+H] <sup>+</sup>	388.114 2, 373.091 5, 355.080 3, 327.086 4	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-2.5	川陈皮素 <sup>1)</sup>
39	15.81	433.148 9 [M+H] <sup>+</sup>	418.125 9, 403.101 9, 385.091 6, 345.060 2	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	-2.3	3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮 <sup>[24-25]</sup>
40	16.41	373.127 8 [M+H] <sup>+</sup>	358.104 2, 343.080 9, 297.074 6	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	-2.5	橘皮素 <sup>1)</sup>
41	16.48	419.133 1 [M+H] <sup>+</sup>	404.109 7, 389.086 2, 371.075 9	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	-2.5	梔子(黄)素 A <sup>[24]</sup>
42	17.16	403.138 4 [M+H] <sup>+</sup>	388.114 5, 373.091 3, 355.080 7	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	-2.2	hexamethoxy-flavone <sup>[24]</sup>
43	17.66	405.117 6 [M+H] <sup>+</sup>	405.117 3, 390.093 2, 375.070 3, 357.060 0	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	-2.5	dihydroxy-pentamethoxyflavone <sup>[18]</sup>
44	18.07	419.133 1 [M+H] <sup>+</sup>	404.110 3, 389.086 1, 371.074 8	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	-2.2	monohydroxy-hexamethoxyflavone <sup>[18]</sup>

注: <sup>1)</sup>与对照品比对后确认

二级碎片离子,如化合物**9**、**10**、**13**、**14**。负离子模式下的[M-H-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup>、[M-H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>、[M-H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup>和[M-H-2C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>的碎片离子更具特征性。以 lucenin-2 为例,化合物**5**的准分子离子峰为  $m/z$  609.146 9 [M-H]<sup>-</sup>,推测其在糖环不同位置裂解生成不同碎片:在糖环上 0,3 键位置发生 X 裂解(糖基开环裂解),丢失中性 C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> 碎片产生  $m/z$  519.112 9 的碎片;在糖环上的 0,2 键位置发生 X 裂解,丢失 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 碎片形成  $m/z$  489.105 2 的碎片;糖环在 0,2 和 0,3 键位置开环裂解,丢失 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>、C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> 碎片得  $m/z$  399.072 6 的碎片; $m/z$  369.061 9 系同时丢失 2 个 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> 碎片,表示连续糖环的断裂,推测有 2 个糖基存在。同时,还出现丢失羰基碎片的离子峰  $m/z$  313.072 2 [M-H-2C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>-2CO]<sup>-</sup>及丰度较低脱掉糖基的离子峰。结合文献数据<sup>[14]</sup>,推测化合物**5**为 lucenin-2,其可能的裂解规律见增强出版附加材料。

**3.1.2 黄酮氧苷类化合物的 MS 解析** 共鉴定出了 13 个黄酮氧苷类化合物,分别为化合物**7**、**8**、**12**、**15**、**16**、**18**、**20**、**21**、**23**、**24**、**25**、**26**、**28**,其中化合物**15**和化合物**18**经对照品比对,确定分别为芸香柚皮苷、橙皮苷,芸香柚皮苷的可能裂解途径见增强出版附加材料。在正离子模式下,化合物**15**的准分子离子峰  $m/z$  581.186 2 [M+H]<sup>+</sup>,脱去一单糖基团生成二级碎片离子  $m/z$  419.137 6,进一步发生糖羟基脱水形成  $m/z$  401.121 9 的碎片;发生 Y 裂解(整个糖基的丢失)中性丢失鼠李糖基生成  $m/z$  435.129 5 的碎片;丢失芸香糖形成碎片  $m/z$  273.075 2;脱去糖基后形成的黄酮苷元 C 环发生逆狄尔斯-阿尔德反应(RDA)裂解生成  $m/z$  153.018 1 [M+H-Glc-Rha-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O]<sup>+</sup>的碎片,与对照品进一步比对,确定其为芸香柚皮苷。

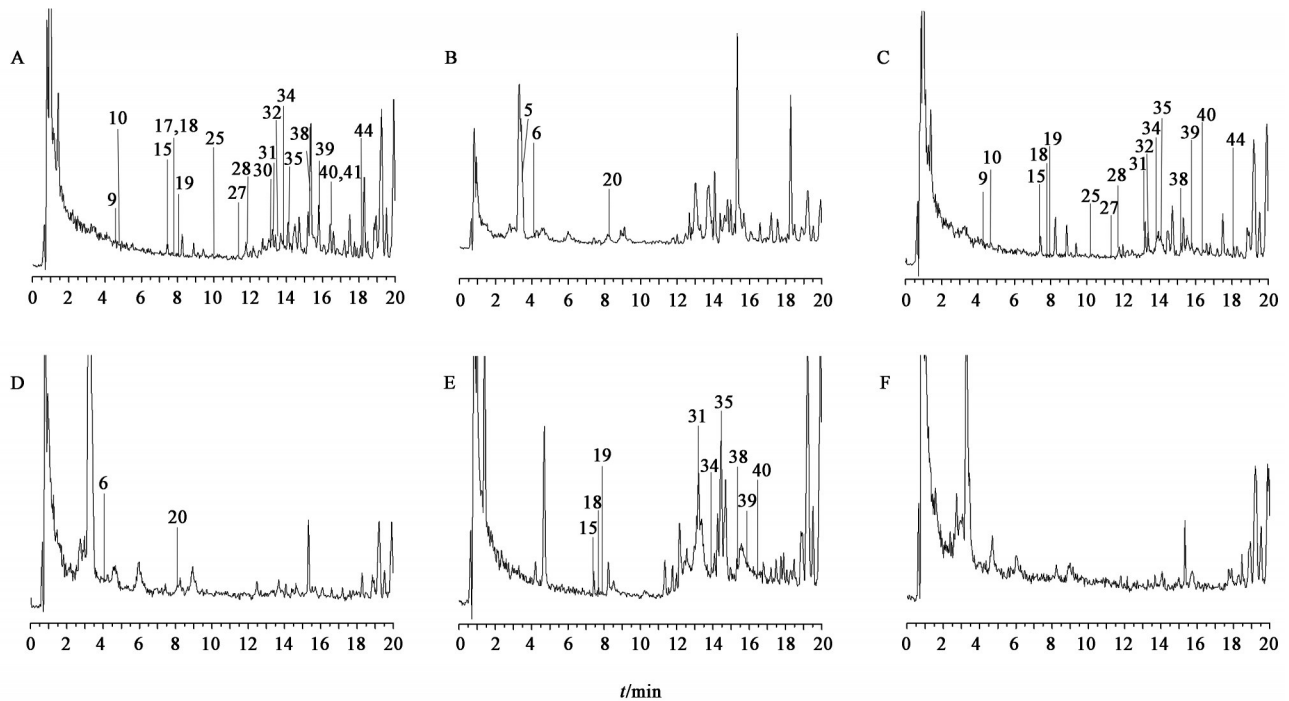
C-C 键能较 C-O 键能更高,故黄酮碳苷发生 X 裂解,而黄酮氧苷多发生 Y 裂解,归纳黄酮氧苷裂解规律有 4 个方面:①脱去糖基保留羟基;②发生 Z 裂解(同时丢失糖基和羟基);③糖羟基脱水,形成丰度较小的峰;④苷元为黄酮或黄酮醇类时易发生 RDA 裂解。此外,在负离子模式下,化合物**20**的准分子离子峰为  $m/z$  577.157 0 [M-H]<sup>-</sup>,在 MS<sup>2</sup>中给出了  $m/z$  269.046 0、225.026 2、151.004 6、117.034 7 的碎片,其中  $m/z$  151.004 6 和  $m/z$  117.034 7 分别为芹菜素 C 环 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>和 C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>键断裂形成的特征二级碎片离子峰,结合文献<sup>[17]</sup>推测化合物为野漆树苷或异野漆树苷,综合野漆树苷对照品的  $t_R$ ,排除化合物**20**为野漆树苷的可能,故最终推测其为异野漆树苷。

**3.1.3 多甲氧基黄酮类化合物的 MS 解析** 从陈皮醇提物中鉴定了多个多甲氧基黄酮类化合物,其质谱裂解特征明显,多具有[M+H-nCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>、[M+H-nCH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>、[M+H-nCH<sub>3</sub>-CO]<sup>+</sup>特征碎片离子,以橘皮素(化合物**40**)为例阐述此类化合物在正离子模式下可能的裂解途径,见增强出版附加材料。取代位置的多样性致使多甲氧基黄酮的同分异构体较多,加上液质联用技术的局限性,使得部分化合物未能区分出同分异构体,后续可通过核磁共振技术进一步鉴别。

**3.2 陈皮代谢成分的 UPLC-HRMS 分析** 在鉴定了陈皮化学成分的基础上,进一步分析空白血浆和不同处理组含药血浆,总离子流图见图 1。结果从各血浆样品中共鉴定了 22 种原型入血成分,monohydroxy-hexamethoxyflavone 同分异构体较多,结构不确定,故共获得 21 个结构明确的原型入血成分。见表 2。其中,维采宁-2、diosmetin-6, 8-di-C-glucoside、stellarin-2、异野漆树苷、枸橼苷、

citrusin III、melitidin、异橙皮内酯、monohydroxy-hexamethoxyflavone这9种成分在肠代谢、肝代谢样品中均可以检测到,但综合代谢样品中未检测到,推测原因有3个方面:①胃内代谢的影响。综合代谢采用灌胃给药,模拟人体口服给药,经过胃内酸性环境可使得部分化合物发生水解;另外,有研究表明因胃黏膜的吸收面积较小,使得部分化合物吸收较差<sup>[26]</sup>。②肠道菌群的影响。肠代谢研究中选取空肠段进行研究,主要考察了肠壁酶对化学成分吸收代谢的影响,但未将含有丰富肠道菌群的结肠段纳入研究,推测一些化合物可能受肠道菌群影响

而代谢转化。③采血时间的影响。陈皮中化学成分复杂,不同成分血药浓度达峰时间不同,理想的采血时间应控制在血药浓度高峰期。一般认为多数化合物在2 h内达峰,故选择灌胃给药后2 h采血,但可能存在因采血时间过早或过晚造成“假阴性”结果。芸香柚皮苷、橙皮苷、橙皮内酯、异甜橙黄酮、5,7,8,3',4',5'-hexamethoxy-flavone、甜橙黄酮、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橘皮素这9种成分在3种血浆样品均可以检测到,说明以上成分经过大鼠体内胃肠道、肝脏等吸收代谢,仍然以原型形式在血液中移行。



注:A.肠代谢正离子模式;B.肠代谢负离子模式;C.肝代谢正离子模式;D.肝代谢负离子模式;E.综合代谢正离子模式;F.综合代谢负离子模式

图1 陈皮不同处理组样品的UPLC-HRMS总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatograms of samples from different treatment groups of Citri Reticulatae Pericarpium

#### 4 讨论

以“质量传递与溯源、成分特有性、成分有效性、成分可测性、复方配伍环境”为基本原则的中药质量标志物的提出推动了中药质量标准化进程<sup>[27]</sup>,其中,中药固有成分的有效性至关重要。此外,现代药理学认为,除肠道起作用的药物和外用药外,大多数药物通过血液运输到器官组织或靶点,并维持一定血液浓度才能发挥药效<sup>[28]</sup>。因此,研究中药的代谢情况,鉴定其入血成分对药效物质基础的阐明和中药质量标准的提升具有重要意义。本研究基于序贯代谢方法和UPLC-HRMS技术,制备并分析了陈皮肠代谢、肝代谢及综合代谢3种不同处理

组的含药血浆,结合文献与对照品信息,对比分析陈皮醇提物、含药血浆及空白血浆,共鉴定出21个结构明确且以原型入血的成分。序贯代谢方法中的在体肠灌注持续给药可解决灌胃给药时由于成分含量低而检测不到的问题,从而较全面地获得入血成分,并在多成分代谢环境下明确陈皮中化合物在大鼠体内的代谢位点和代谢过程,在一定程度上缩小作用靶点范围。通过序贯代谢研究可以系统阐释中药多成分在体内的代谢转化过程,进一步分析中药临床口服给药途径的合理性。例如,有报道石榴中安石榴苷可在肠道中代谢转化为较易被人体吸收的尿石素A<sup>[29]</sup>,临床试验证明尿石素A

表2 陈皮原型入血成分及代谢位点

Table 2 Prototypical blood components and metabolic sites of Citri Reticulatae Pericarpium

化合物	肠代谢	肝代谢	综合代谢
5	Y	ND	ND
6	Y	Y	ND
9	Y	Y	ND
10	Y	Y	ND
15	Y	Y	Y
17	Y	ND	ND
18	Y	Y	Y
19	Y	Y	Y
20	Y	Y	ND
25	Y	Y	ND
27	Y	Y	ND
28	Y	Y	ND
30	Y	ND	ND
31	Y	Y	Y
32	Y	Y	ND
34	Y	Y	Y
35	Y	Y	Y
38	Y	Y	Y
39	Y	Y	Y
40	Y	Y	Y
41	Y	ND	ND
44	Y	Y	ND

注:化合物编号同表1;Y.原型入血成分;ND.未检测到的成分

是石榴发挥抗衰老的活性成分<sup>[30]</sup>,即石榴口服给药后,其中的成分可经肠道转化并吸收入血,进而发挥药效,这也证明了石榴口服给药是其发挥抗衰老作用的合理用药方式。在本研究中,陈皮肠代谢和肝代谢的代谢成分组成有所区别,后续研究若进一步证明肠道代谢成分是活性成分,则可为陈皮建立合理的临床用药方式提供依据。

本研究鉴定的21个结构明确且以原型入血的成分,可认为是陈皮的潜在活性成分。据报道,上述入血成分中多甲氧基黄酮川陈皮素、甜橙黄酮、橘皮素、异甜橙黄酮具有抗炎、抗氧化、抗癌等活性<sup>[31-33]</sup>,可通过抑制核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)调控脂多糖(LPS)诱导的生物节律紊乱<sup>[34]</sup>;3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮可通过激活3T3-L1前脂肪细胞中的蛋白激酶A(PKA)信号通路来抑制脂肪形成的早期阶段<sup>[35]</sup>;黄酮碳苷类化合物 lucenin-2、维采

宁-2、stellarin-2能显著抑制LPS刺激的小鼠巨噬细胞RAW264.7一氧化氮(NO)的产生,降低诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)的表达,发挥抗炎活性<sup>[36]</sup>;黄酮氧苷类化合物橙皮苷、芸香柚皮苷和多甲氧基黄酮川陈皮素、甜橙黄酮、橘皮素均可通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路增强葡萄糖摄取和糖生成,从而调节肝脏代谢<sup>[37]</sup>;枸橼苷可能通过激活骨骼肌胰岛素抵抗及调控磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路发挥抗糖尿病作用<sup>[38]</sup>;橙皮苷具有保护心肌细胞<sup>[39]</sup>、抗肿瘤<sup>[39]</sup>及改善记忆<sup>[40]</sup>等作用,芸香柚皮苷具有抗癌、保护神经、抑制脂肪生成和免疫调节等作用<sup>[41]</sup>,梔子(黄)素A具有神经保护<sup>[42]</sup>、降血脂和保肝的作用<sup>[43]</sup>,橙皮内酯、异橙皮内酯具有抗炎作用<sup>[44]</sup>。从入血成分中筛选质量控制成分,除考虑有效性外,还需兼顾成分在药材中的含量水平、适用性、专属性等因素。本研究中所选陈皮产地为四川,陈化年限约2年,而陈皮化学成分的含量和种类受不同年份、产地的影响<sup>[45-47]</sup>,会引起生物活性的差异<sup>[48]</sup>,今后需重点关注。综上所述,本研究解析了陈皮化学成分在大鼠体内的代谢情况及其在不同代谢部位的成分差异,锁定了大部分潜在活性成分,可为陈皮质量标准提升和品质评价提供科学依据,并可指导该药材的临床给药方式制定与进一步资源开发。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:199-200.
- [2] 韩亮. 橘皮汤有效部位制剂开发及其主要成分药物动力学研究[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [3] 李荣荣,赵迪,李蒙蒙,等. 基于UHPLC-Q Exactive-Orbitrap高分辨质谱研究浙贝母和陈皮主要成分在大鼠体内的代谢物[J]. 药物分析杂志,2020,40(8):1413-1424.
- [4] 刘林林,李辉,何丹,等. 利用RRLC-QqQ-MS<sup>n</sup>方法分析比较青皮、陈皮提取物在大鼠尿液及粪便中代谢及排泄过程[J]. 中国中药杂志,2018,43(22):4519-4527.
- [5] 吴蓓,申梦园,王福,等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS的不同年限陈皮入血成分分析[J]. 天然产物研究与开发,2022,34(5):780-789.
- [6] 叶晓岚. 广陈皮体外指纹谱及体内代谢谱研究[D]. 广州:广东药学院,2013.
- [7] 刘洋,潘艳丽,王晶娟,等. 多成分药物代谢理论及技术方法分析[J]. 中草药,2014,45(12):1663-1667.

- [ 8 ] 刘洋, 翟华强, 赵保胜, 等. 多成分药物代谢学术思想在中医临床药学研究中的应用分析[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1335-1338.
- [ 9 ] LUO Z Q, LIU Y, HAN X, et al. Mechanism of Paeoniae Radix Alba in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease based on sequential metabolites identification approach, network pharmacology, and binding affinity measurement[J]. Front Nutr, 2021, 8: 677659.
- [ 10 ] YANG W N, JIANG X Q, LIU J T, et al. Integrated strategy from *in vitro*, *in situ*, *in vivo* to *in silico* for predicting active constituents and exploring molecular mechanisms of tongfengding capsule for treating gout by inhibiting inflammatory responses [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 759157.
- [ 11 ] 吕贝然, 杨文宁, 唐明敏, 等. 大鼠体内川芎多成分序贯代谢研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(4): 77-82.
- [ 12 ] 潘福璐, 韩星, 冀艳华, 等. 基于多成分药物代谢的枸杞子质控成分遴选研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(13): 1865-1871.
- [ 13 ] 杨文宁, 韩星, 杨海洋, 等. 基于多成分药物代谢的秦艽质控成分遴选研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(13): 1897-1902, 1907.
- [ 14 ] HE Y J, LI Z K, WANG W, et al. Chemical profiles and simultaneous quantification of Aurantii Fructus by use of HPLC-Q-TOF-MS combined with GC-MS and HPLC methods[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2189.
- [ 15 ] ZENG X, SU W W, ZHENG Y Y, et al. UFLC-Q-TOF-MS/MS-based screening and identification of flavonoids and derived metabolites in human urine after oral administration of Exocarpium Citri Grandis extract[J]. Molecules, 2018, 23(4): 895.
- [ 16 ] TONG R N, PENG M J, TONG C Y, et al. Online extraction-high performance liquid chromatography-diode array detecto-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry for rapid flavonoid profiling of Fructus Aurantii Immaturus[J]. J Chromatogr B, 2018, 1077/1078: 1-6.
- [ 17 ] LI P L, LIU M H, HU J H, et al. Systematic chemical profiling of *Citrus grandis* 'Tomentosa' by ultra-fast liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 90: 167-179.
- [ 18 ] ZHENG G D, ZHOU P, YANG H, et al. Rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry method for identification of chemical constituents in Citri Reticulatae Pericarpium [J]. Food Chem, 2013, 136(2): 604-611.
- [ 19 ] 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.
- [ 20 ] WANG Y, CUI W L, PANG G W, et al. Analyses of physical and chemical compositions of different medicinal specifications of CRPV by use of multiple instrumental techniques combined with multivariate statistical analysis [J]. Molecules, 2022, 27(10): 3285.
- [ 21 ] 杨放晴, 何丽英, 杨丹, 等. 不同陈化时间广陈皮中黄酮类成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 125-132.
- [ 22 ] JAYAPRAKASHA G K, DANDEKAR D V, TICHY S E, et al. Simultaneous separation and identification of limonoids from *Citrus* using liquid chromatography-collision-induced dissociation mass spectra [J]. Phytochem Anal, 2011, 34(1): 2-10.
- [ 23 ] TONG C Y, GUO K K, XU J J, et al. Online extraction and cleanup-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry for rapid analysis of bioactive components in natural products [J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(3): 679-687.
- [ 24 ] XING T T, ZHAO X J, ZHANG Y D, et al. Fast separation and sensitive quantitation of polymethoxylated flavonoids in the peels of *Citrus* using UPLC-Q-TOF-MS [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(12): 2615-2627.
- [ 25 ] GUO H, CHEN Y H, WANG T M, et al. A strategy to discover selective  $\alpha$ -glucosidase/acetylcholinesterase inhibitors from five function-similar *Citrus* herbs through LC-Q-TOF-MS, bioassay and virtual screening [J]. J Chromatogr B, 2021, 1174: 122722.
- [ 26 ] 周乐, 赵晓莉, 狄留庆, 等. 黄酮类化合物口服吸收与代谢特征及其规律分析[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2313-2320.
- [ 27 ] 邓小芳, 陈鸿, 王爽, 等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS和TCMIP v2.0辨识胆南星防治中风的质量标志物[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(12): 174-182.
- [ 28 ] 李川. 中药多成分药代动力学研究: 思路与方法[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(4): 607-617.
- [ 29 ] CERDÁ B, ESPÍN J C, PARRA S, et al. The potent *in vitro* antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the

- colonic microflora of healthy humans[J]. *Eur J Nutr*, 2004, 43(4):205-220.
- [30] TOMÁS-BARBERÁN F A, GONZÁLEZ-SARRÍAS A, GARCÍA-VILLALBA R, et al. Urolithins, the rescue of "old" metabolites to understand a "new" concept: Metabotypes as a nexus among phenolic metabolism, microbiota dysbiosis, and host health status [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, doi: 10.1002/mnfr.201500901.
- [31] GAO Z, GAO W, ZENG S L, et al. Chemical structures, bioactivities and molecular mechanisms of *Citrus* polymethoxyflavones [J]. *J Funct Food*, 2018, 40:498-509.
- [32] ZOU Y, LI S Z, LI X M, et al. Isosinensetin alleviates the injury of human bronchial epithelial cells induced by PM<sub>2.5</sub> [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(6):1435.
- [33] 杨雪妍. 柑橘黄酮抗氧化、抗增殖及抗衰老活性研究 [D]. 广州:华南理工大学, 2020.
- [34] WANG Y, SONG B, CHEN J B, et al. Polymethoxyflavones in *Citrus* regulate lipopolysaccharide-induced oscillating decay of circadian rhythm genes by inhibiting *Nlrp3* expression [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:8419415.
- [35] SAWAMOTO A, NAKANISHI M, OKUYAMA S, et al. Heptamethoxyflavone inhibits adipogenesis via enhancing PKA signaling [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 865:172758.
- [36] KIM M K, YUN K J, LIM D H, et al. Anti-inflammatory properties of flavone di-C-glycosides as active principles of *Camellia mistletoe*, *Korthalsella japonica* [J]. *Biomol Ther*, 2016, 24(6):630-637.
- [37] RAJAN P, NATRAJ P, RANAWEERA S S, et al. Anti-adipogenic effect of the flavonoids through the activation of AMPK in palmitate (PA)-treated HepG2 cells [J]. *J Vet Sci*, 2022, 23(1):e4.
- [38] ALI M Y, ZAIB S, RAHMAN M M, et al. Poncirin, an orally active flavonoid exerts antidiabetic complications and improves glucose uptake activating PI3K/Akt signaling pathway in insulin resistant C2C12 cells with anti-glycation capacities [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 102:104061.
- [39] ZHANG J X, LIANG R Q, WANG K, et al. Novel CaMKII- $\delta$  inhibitor hesperadin exerts dual functions to ameliorate cardiac ischemia/reperfusion injury and inhibit tumor growth [J]. *Circulation*, 2022, 145(15):1154-1168.
- [40] LEE D, KIM N, JEON S H, et al. Hesperidin improves memory function by enhancing neurogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Nutrients*, 2022, 14(15):3125.
- [41] MITRA S, LAMI M S, UDDIN T M, et al. Prospective multifunctional roles and pharmacological potential of dietary flavonoid narirutin [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150:112932.
- [42] MAITRA U, HARDING T, LIANG Q L, et al. GardeninA confers neuroprotection against environmental toxin in a *Drosophila* model of Parkinson's disease [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1):162.
- [43] TOPPO E, DARVIN S S, ESAKKIMUTHU S, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective effects of gardenin A in cellular and high fat diet fed rodent models [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 269:9-17.
- [44] CHENG Y, MA X F, ZHAO Q, et al. Metabolic profile of C-prenyl coumarins using mass spectrometry-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2021, 26(21):6558.
- [45] 周洁, 黄海龙, 余虹, 等. 不同年份陈皮指纹图谱及黄酮类成分含量测定 [J]. *药品评价*, 2021, 18(9):519-523.
- [46] 李文东, 魏莹, 赵玉玺, 等. 高效液相色谱法测定不同品种来源陈皮中多甲氧基黄酮含量 [J]. *中国药业*, 2019, 28(13):30-32.
- [47] 张鑫. 基于真菌与陈皮药效物质相关性研究陈皮陈化机制 [D]. 成都:成都中医药大学, 2017.
- [48] 刘丽娜, 徐玉娟, 肖更生, 等. 不同年份陈皮黄酮成分分析及抗氧化活性评价 [J]. *南方农业学报*, 2020, 51(3):623-629.

[责任编辑 刘德文]