

内部萃取电喷雾电离质谱研究枳壳 炮制前后的化学成分

杨飞祥¹, 钟凌云², 陈焕文¹, 方小伟¹

(1. 江西中医药大学生命样品直接质谱分析研究室, 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004)

摘要: 炮制是中药材减毒增效的重要工艺。本文采用内部萃取电喷雾电离质谱(iEESI-MS)技术, 考察不同产地枳壳麸炒前后化学成分的变化, 在无需复杂的样品预处理条件下, 直接对炮制前后的枳壳粉末进行质谱分析, 获得其指纹谱图, 并利用主成分分析(PCA)和偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)进行数据处理, 筛选枳壳炮制前后主要的差异物质。结果表明, 在正离子模式下, 从枳壳样品中共鉴定出 35 种物质, 枳壳炮制前后的化学成分差异显著, 黄酮类化合物占所鉴定差异化合物的 2/3, 是区分枳壳产地和品质的重要质量标志物。本工作可为现代质谱技术用于枳壳等药材的品质鉴定及枳壳炮制前后药效变化的物质基础研究提供技术支持。

关键词: 枳壳; 内部萃取电喷雾电离质谱(iEESI-MS); 主成分分析(PCA); 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA); 化学成分

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2024)06-0763-10

DOI: 10.7538/zpxb.2024.0109

CSTR: 32365.14.zpxb.2024.0109

Research of Chemical Comparison of Aurantii Fructus Before and After Processing by Internal Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry

YANG Fei-xiang¹, ZHONG Ling-yun², CHEN Huan-wen¹, FANG Xiao-wei¹

(1. Mass Spectrometry Laboratory for BioSample Analysis, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang, 330004, China)

Abstract: The concoction process is a vital technique for reducing the toxicity and enhancing the efficacy of Chinese herbal medicines. To examine the alterations in the chemical compositions of Aurantii Fructus before and after stir-frying in diverse origins, a method of internal extraction electrospray ionization mass spectrometry (iEESI-MS) was developed. It combines the advantages of internal extraction and electrospray ionization mass spectrometry, and is capable of detecting target molecules in complex samples with highly efficient and sensitive manner. iEESI-MS was employed to directly analyze the Aurantii Fructus samples before and after processing without complex sample pretreatment, which can obtain their fingerprints and identify the principal difference substances present in the samples before and after processing. Principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were used for data handling. The aforementioned screened main differences in substances were subjected to analysis in a variety of origins. The

experimental conditions were optimized including the temperature of ion transport tube, spray voltage, flow rate of the extractant, proportion of methanol spray solution and distance from the spray port to the mass spectrometry port, etc. The results showed that a total of 35 substances are identified in the Aurantii Fructus samples, including flavonoids, coumarins, alkaloids, volatile oils, and amino acids. The chemical composition of Aurantii Fructus exhibits notable differences before and after preparation. Flavonoids constitute approximately two-thirds of the identified distinct compounds, and serve as crucial quality markers for differentiating the origin and quality of Aurantii Fructus. The results of the human heat map analysis of Aurantii Fructus from disparate origins in Hunan, Sichuan and Jiangxi demonstrated that the variation of the 12 distinct substances present in Aurantii Fructus from different origins is considerable. This indicated that the contents of these 12 substances are inconsistent among the different origins, which is related to the disparate quality of Aurantii Fructus from different origins in terms of its medicinal effects. This study provides a novel approach to ambient mass spectrometry for the quality identification of herbs such as Aurantii Fructus and the material basis of efficacy change before and after processing.

Key words: Aurantii Fructus; internal extractive electrospray ionization mass spectrometry (iEESI-MS); principal component analysis (PCA); partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA); chemical constituents

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实, 是我国常用的大宗药材, 具有理气宽中、行滞消胀、燥湿化痰之功效。现代药理研究表明, 枳壳具有调节胃肠^[1]、抑菌^[2]、抗抑郁^[3]、抗肿瘤^[4-5]、抗氧化^[6-7]、改善心血管^[8]、调节免疫^[9]等作用, 其有效成分主要为黄酮、生物碱、香豆素等^[10]。因生品燥性较强, 临床上常炮制后使用, 麸炒是枳壳炮制最常用的方法之一^[11]。传统中医药理论认为, 枳壳经炮制后具有减燥增效的作用, 但目前对于枳壳炮制技术的机制机理与科学内涵尚不明确。

随着科学技术的迅速发展, 质谱分析在中药领域发挥着重要作用^[12]。中药材化学成分的分析主要有高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法^[13-15]、气相色谱-质谱(GC-MS)法^[16-17]等, 它们具有良好的特异性、灵敏度等优势。但是, 在使用这些方法对样品进行分析前, 都需要繁杂冗长的预处理过程^[18], 如浸泡、提取、离心、稀释等, 不仅费时费力, 而且可能会导致药材中关键化学成分的丢失^[19-20]。

常压质谱是在大气压下进行离子生成和检测的技术^[21], 在中药研究领域发挥着积极作用^[22-24]。内部萃取电喷雾电离质谱(iEESI-MS)属于一种常压质谱, 具有原位分析、高速度和高灵敏度等优点, 无需样品预处理即可获得大量复杂基质样

品的信息^[25-27]。本研究拟采用 iEESI-MS 对炮制前后及不同产地的枳壳进行实时在线萃取、快速准确分析, 旨在研究枳壳炮制前后的化学成分变化提供技术手段, 同时为阐明枳壳炮制后减燥增效作用机制提供理论依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

内部萃取电喷雾电离源: 实验室自制, 示于图 1; LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪: 美国 Thermo Scientific 公司产品, 配有 Xcalibur 数据处理系统; 微量注射泵: 英国保定兰格恒流泵有限公司产品; FA1004B 型电子天平: 上海精密科学仪器有限公司产品; FW135 型中药粉碎机: 天津市泰斯特仪器有限公司产品。

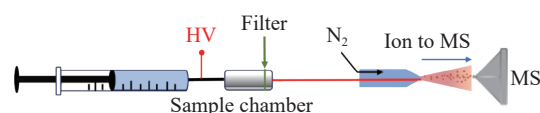


图 1 内部萃取电喷雾电离源示意图

Fig. 1 Schematic of internal extraction electrospray ionization source

1.2 主要材料与试剂

枳壳: 购自当地正规中药材市场, 经江西中医药大学中药炮制学科组钟凌云教授鉴定为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 干燥未成熟的

果实; 甲醇(色谱纯): 德国默克公司产品; 高纯氮气(99.999%): 南昌国滕气体有限公司产品; 超纯水(电阻率 18.2 MΩ·cm): 北京费尔德科学仪器有限公司产品。

1.3 实验过程

精确称取 5.0 mg 枳壳粉末(粉碎后过 3 号筛), 置于样品仓中, 将带有一定高电压的萃取溶剂经石英毛细管以一定流速导入样品仓中, 对样品进行选择萃取。在电场及气流的作用下, 含有待测物的微小带电液滴朝着质谱口定向移动, 并在毛细管末端形成电喷雾, 所形成的微小带电液滴随后去溶剂化, 获得的气态待测物离子进入质谱仪分析。

1.4 实验条件

正离子检测模式, 质量扫描范围 m/z 50~1 000, 电离电压 4.5 kV, 离子传输管温度 300 °C, 毛细管电压 35 V, 透镜电压 110 V, 电喷雾溶剂流速 4 μL/min, 雾化气(N₂)压强 0.5 MPa, 母离子

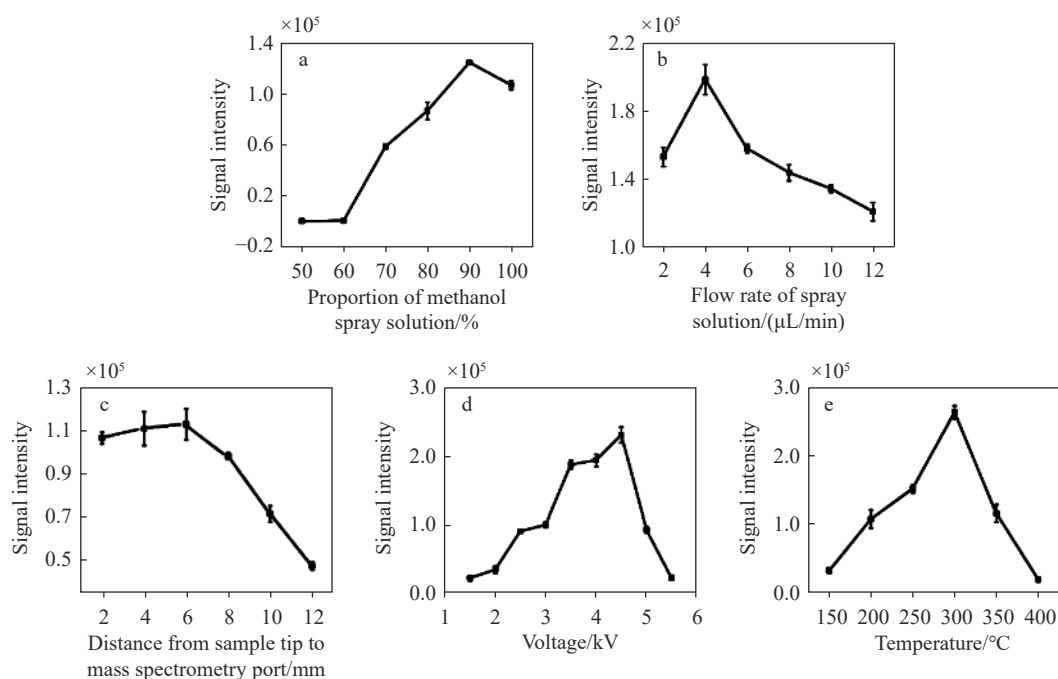
隔离宽度 1.5 u, 碰撞能量 6%, 活化值 Q 为 0.25, 碰撞时间 30 ms, 其他检测参数由 LTQ-Tune 系统自动优化。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件的优化

为了使 iEESI-MS 对枳壳的分析效果最佳, 优化了萃取剂甲醇配比、喷雾电压、离子传输管温度、电喷雾萃取剂流速、喷雾口到质谱口的距离。在正离子模式下, 选择川陈皮素($[M+H]^+ m/z$ 403)的信号强度进行条件优化。

2.1.1 萃取剂甲醇配比 萃取剂甲醇不同的对比对样品的提取效果不同, 进而影响目标信号的强度, 结果示于图 2a。可见, 随着甲醇比例的增加, 目标信号强度呈先上升后下降的趋势; 当甲醇/水配比为 90% 时, 目标信号强度最高, 对样品的萃取效果最好。因此, 选择萃取剂甲醇的配比为 90%。



注: a. 萃取剂甲醇的配比; b. 萃取剂流速; c. 喷雾口到质谱口的距离; d. 喷雾电压; e. 离子传输管温度

图 2 不同实验条件对信号强度的影响

Fig. 2 Effect of different experimental conditions on the signal intensity

2.1.2 萃取剂流速 萃取剂流速会影响目标离子的离子化效率, 本实验考察了萃取剂流速在 2~12 μL/min 范围内对目标信号强度的影响, 结果示于图 2b。可见, 目标离子的响应强度呈先

升高后降低的趋势, 当萃取剂流速大于 4 μL/min 时, 信号下降明显, 表明萃取剂流速过高会导致离子化效果降低。因此, 选择萃取剂流速为 4 μL/min。

2.1.3 喷雾口到质谱口的距离 本实验考察了喷雾口到质谱口的距离为2~12 mm对目标信号强度的影响,结果示于图2c。可见,目标离子的质谱响应强度呈先升高后降低的趋势,当喷雾口到质谱口的距离大于6 mm时,进入质谱口中的喷雾减少,信号强度降低。因此,选择喷雾口到质谱口的距离为6 mm。

2.1.4 喷雾电压 本实验考察了喷雾电压在1.5~5.5 kV范围内对信号响应强度的影响,结果示于图2d。当喷雾电压大于4.5 kV时,质谱响应强度急剧下降,可能是因为喷雾电压过高导致喷雾口发生电晕放电,降低了离子形成效率,使目标信号强度降低。因此,选择喷雾电压为4.5 kV。

2.1.5 离子传输管温度 离子传输管温度决定了离子去溶剂化效果,本实验考察了离子传输管温度在150~400 °C范围内对质谱响应强度的影响,结果示于图2e。可见,目标离子的质谱响应强度呈先升高后降低的趋势,当离子传输管温度大于300 °C时,目标离子在高温下可能发生了分解,导致响应强度下降,且较高的温度会使仪器线圈受损。因此,选择离子传输管温度为300 °C。

2.2 枳壳中化学成分的鉴定

采用iEESI-MS技术在正离子模式下共鉴定出枳壳中35种化学成分,结果列于表1。其中,黄酮类、香豆素类、生物碱类、挥发油类以及氨基酸类物质是枳壳中主要的化学成分,表明该方法可对枳壳中的化学组分进行有效区分。

表1 枳壳中鉴定出的物质

Table 1 Identified substances in Aurantii Fructus

序号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	母离子 Precursor ion (<i>m/z</i>)	特征碎片离子 Characteristic fragment ion (<i>m/z</i>)
1	佛手酚 ^[10]	C ₁₁ H ₆ O ₄	203	147, 131
2	甜橙黄酮 ^[28]	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	373	343, 358
3	川陈皮素 ^[28]	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	403	373, 388
4	3',4',3,5,6,7,8-七甲氧基黄酮 ^[28]	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	433	403, 433
5	柠檬苦素 ^[28]	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	471	425, 367
6	腺苷 ^[28]	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	268	136, 57
7	泼朗弗林 ^[28]	C ₁₇ H ₂₀ O ₅	319	301, 177
8	柚皮素 ^[28]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273	153, 119
9	异樱花亭 ^[28]	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	287	161, 153
10	橙皮素 ^[28]	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	303	177, 153
11	5-去甲川陈皮素 ^[29]	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	389	359, 374
12	香叶木素7-O-葡萄糖苷 ^[29]	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	463	301, 286
13	5,6,7,4'-四甲氧基黄酮 ^[29]	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	343	313, 343
14	精氨酸 ^[30]	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	175	116, 175
15	脯氨酸 ^[30]	C ₅ H ₉ NO ₂	116	116, 70
16	缬氨酸 ^[30]	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118	58, 72
17	异亮氨酸 ^[30]	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132	86, 69
18	苯丙氨酸 ^[30]	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166	120, 166
19	对氨基苯甲酸 ^[30]	C ₇ H ₇ NO ₂	138	93, 121
20	木犀草素 ^[30]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287	257, 153
21	圣草酚-7-O-葡萄糖苷 ^[30]	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	451	289, 433
22	蛇床子素 ^[30]	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	245	189, 131
23	花椒毒酚 ^[30]	C ₁₁ H ₆ O ₄	203	131, 119
24	橙皮内酯 ^[31]	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	261	189, 261

续表

序号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	母离子 Precursor ion (m/z)	特征碎片离子 Characteristic fragment ion (m/z)
25	辛弗林 ^[32]	C ₉ H ₁₃ NO ₂	168	150, 136
26	N-甲基酪胺 ^[33]	C ₉ H ₁₃ NO	152	121, 152
27	4,5-二氢补骨酯素 ^[34]	C ₁₁ H ₈ O ₃	189	131, 103
28	柚皮黄素 ^[34]	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	419	389, 371
29	异紫花前胡内酯 ^[35]	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	247	175, 229
30	大麦芽碱 ^[36]	C ₁₀ H ₁₅ NO	166	121, 91
31	奥克巴胺 ^[37]	C ₈ H ₁₁ NO ₂	154	136, 126
32	柠檬烯 ^[38]	C ₁₀ H ₁₆	137	80, 94
33	α -蒎烯 ^[38]	C ₁₀ H ₁₆	137	95, 137
34	4-萜烯醇 ^[38]	C ₁₀ H ₁₈ O	155	71, 95
35	胡萝卜苷 ^[39]	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	578	397, 415

2.3 枳壳炮制前后的质谱图

枳壳炮制前后的 iEESI-MS 指纹谱图示于图 3。可知, iEESI-MS 技术能够有效分析枳壳炮制前后的有效物质信号, 如脯氨酸 (m/z 116 [M+H]⁺)、辛弗林 (m/z 168 [M+H]⁺)、甜橙黄酮 (m/z 373 [M+H]⁺)、川陈皮素 (m/z 403 [M+H]⁺)等; 同时, 由于枳壳样品中含有丰富的无机离子, 如 Na⁺、K⁺等, 在 iEESI 离子化过程中会参与电离反应, 使枳壳样品中的物质电离得到多种形态的离子化产物, 如甜橙黄酮的 m/z 373 [M+H]⁺、 m/z 395 [M+Na]⁺和 m/z 411 [M+K]⁺等。进一步对比炮制

前后的谱图发现, 虽然主要的物质信号相似, 如 m/z 144、168、261、299、317、373、403 等, 但相同物质在炮制前后的含量存在明显变化, 如辛弗林 (m/z 168 [M+H]⁺)、川陈皮素 (m/z 403 [M+H]⁺) 在炮制后的信号明显增强, 而苯丙氨酸 (m/z 166 [M+H]⁺)、橙皮内酯 (m/z 261 [M+H]⁺)、甜橙黄酮 (m/z 373 [M+H]⁺) 在炮制后的信号明显减弱。此外, 在 m/z 300~600 区间内, 炮制后枳壳样本的指纹谱图比炮制前明显增加了更丰富的小分子化合物信号, 表明枳壳炮制前后的化学成分发生了显著变化。

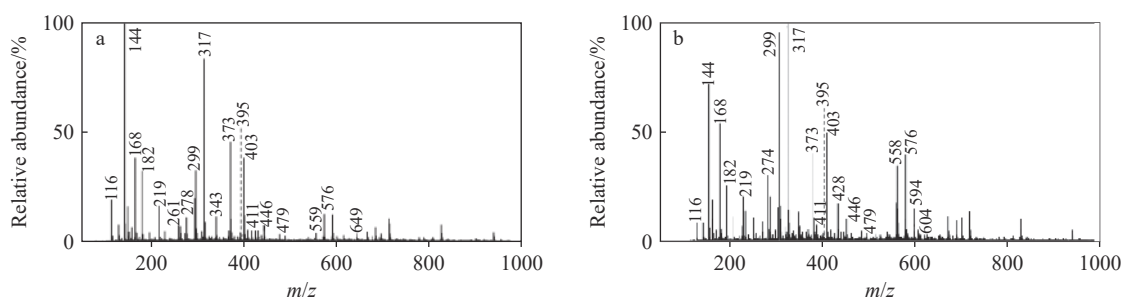


图 3 枳壳炮制前(a)后(b)的质谱图

Fig. 3 Mass spectra of Aurantii Fructus before (a) and after (b) processing

iEESI 是一种在不破坏样品的前提下直接获取样品内部化学信息的技术, 将目标物萃取、物质分离、电喷雾电离这 3 个过程在时间与空间上紧密相连。随着分析时间 (0~5.6 min) 的延长, 炮制前后枳壳样品的总离子流图和选择离子流图的信号强度 (甜橙黄酮 m/z 373、橙皮内酯 m/z 261、苯丙氨酸 m/z 166) 逐渐降低, 表明枳壳

内部的化学物质被有效萃取、分离、检测; 此外, 通过观察选择离子流图信号的变化可实时监测炮制前后枳壳样品中目标物质随时间 (在线内部萃取) 的不同而动态变化的过程, 示于图 4。例如, 炮制后枳壳样品中辛弗林 (m/z 168) 含量明显增加, 而苯丙氨酸 (m/z 166) 含量明显降低, 可能是因为在炮制过程中, 苯丙氨酸通过酶促反应

脱羧生成对羟基苯乙胺(*p*-hydroxyphenethylamine), 然后进一步甲基化生成辛弗林所致^[40]。

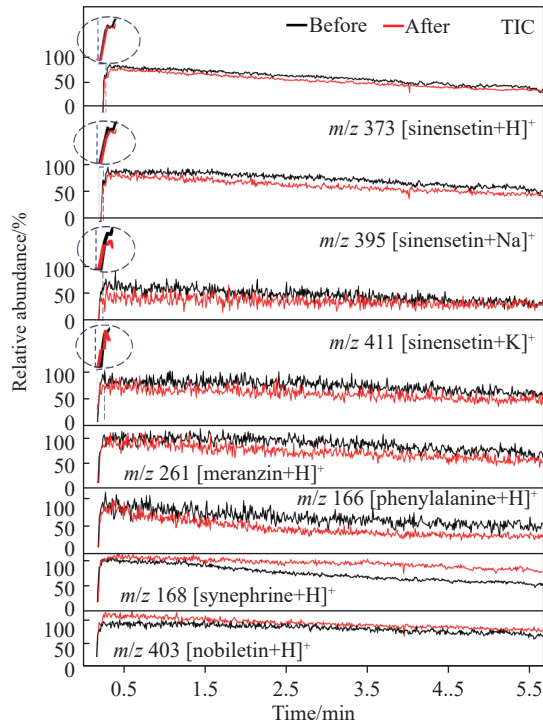


图4 枳壳炮制前后的离子流图

Fig. 4 Ion current diagrams of *Aurantii Fructus* before and after processing

同时,炮制后枳壳甜橙黄酮(sinensetin)的3种形态离子 m/z 373[M+H]⁺、 m/z 395 [M+Na]⁺和 m/z 411[M+K]⁺的含量明显降低,进一步对比图4中0~0.2 min内的3种形态离子的出峰时间与斜率,发现炮制前后枳壳样品中 m/z 395 [M+Na]⁺和 m/z 411[M+K]⁺离子明显比 m/z 373[M+H]⁺的溶出效率高,而且炮制后枳壳样品中 m/z 395

[M+Na]⁺和 m/z 411[M+K]⁺的溶出效率明显比炮制前枳壳样品中 m/z 395 [M+Na]⁺和 m/z 411[M+K]⁺的更大,表明炮制后枳壳中的无机离子变化可能提高枳壳中药效成分的溶出效率,从而提高药效作用。

2.4 枳壳炮制前后的化学成分差异

为了分析枳壳炮制前后的化学成分差异,将得到的 iEESI-MS 一级质谱数据按要求用 MATLABR2016a 软件处理后,再导入 SIMCA14.1 软件进行主成分分析(PCA),结果示于图5。可以发现,枳壳炮制前后被明显分成2组,表明其化学成分发生了显著变化。为找到枳壳炮制前后化学成分的主要差别,采用偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)考察变量重要性投影(VIP)值, VIP 值越大表明该变量对模型越重要,通常将 $VIP > 1$ 的变量视为该模型的重要标志物。通过构建枳壳炮制前的 PLS-DA ($R^2=0.999\ 2$, $Q^2=0.997\ 9$, $R^2 > Q^2 > 0.5$)模型,筛选出12个 $VIP > 1$ 的化合物,分别为 *N*-甲基酪胺、辛弗林、泼朗弗林、橙皮内酯、柚皮素、5-去甲川陈皮素、川陈皮素、七甲氧基黄酮、木犀草素、异樱花亭、甜橙黄酮、5,6,7,4'-四甲氧基黄酮,结果列于表2。在这12个化合物中,有8个是黄酮类化合物,表明其是区分枳壳炮制前后的重要标志性化合物。

2.5 不同产地枳壳的热图分析

研究发现,江西枳壳炮制前后有12种物质的差异较大,为了进一步说明这12种物质在不同产地之间的变化,选用湖南、四川、江西这3个不同产地的枳壳进行分析,通过软件 TTools

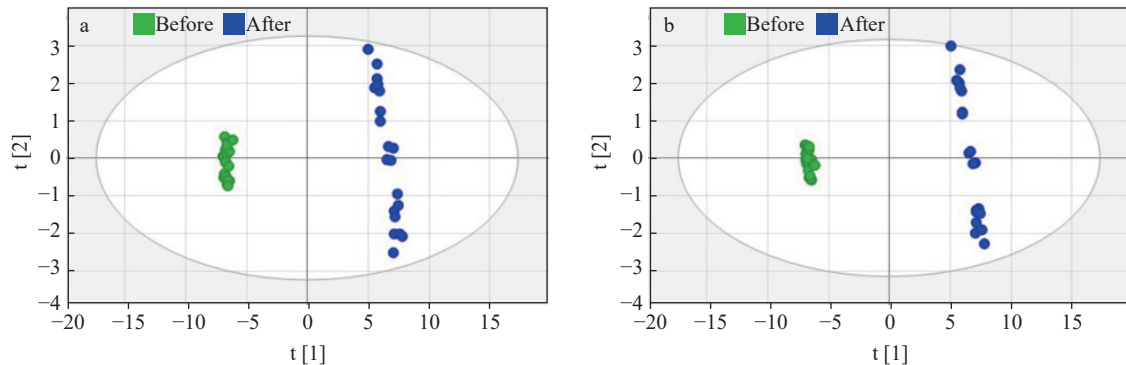


图5 枳壳炮制前后的PCA(a)和PLS-DA(b)图

Fig. 5 PCA (a) and PLS-DA (b) diagrams of *Aurantii Fructus* before and after processing

表2 枳壳炮制前后 VIP>1 的物质

Table 2 Substances of VIP>1 of Aurantii Fructus before and after processing

序号 No.	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	母离子 Precursor ion (m/z)	特征碎片离子 Characteristic fragment ion (m/z)
1	甜橙黄酮 ^[28]	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	373	343, 358
2	川陈皮素 ^[28]	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	403	373, 388
3	3',4',3,5,6,7,8-七甲氧基黄酮 ^[28]	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	433	403, 433
4	柚皮素 ^[28]	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273	153, 119
5	异樱花亭 ^[28]	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	287	161, 153
6	泼朗弗林 ^[28]	C ₁₇ H ₂₀ O ₅	319	301, 177
7	5-去甲川陈皮素 ^[29]	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	389	359, 374
8	5,6,7,4'-四甲氧基黄酮 ^[29]	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	343	313, 343
9	木犀草素 ^[30]	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287	257, 153
10	橙皮内酯 ^[31]	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	261	189, 261
11	辛弗林 ^[32]	C ₉ H ₁₃ NO ₂	168	150, 136
12	N-甲基酪胺 ^[33]	C ₉ H ₁₃ NO	152	121, 152

描绘热图, 结果示于图6。可见, 不同产地枳壳中12种差异物质的变化显著, 表明不同产地的12种物质的含量不一致, 这与不同产地枳壳的药效品质不同存在一定的关联性。

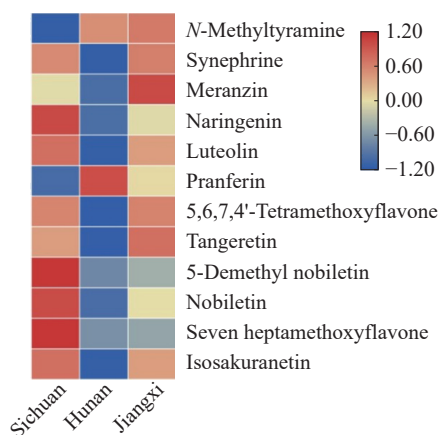


图6 不同产地枳壳的热图

Fig. 6 Heat maps of Aurantii Fructus shells from different origins

3 结论

本研究基于 iEESI-MS 技术直接、快速分析枳壳炮制前后的化学成分, 并优化了离子传输管温度、喷雾电压、萃取剂流速、萃取剂甲醇的配比、喷雾口到质谱口的距离等实验条件。结果表明, 本方法可以在无需样品预处理的条件下直接对炮制前后的枳壳样品进行质谱分析, 获得指

纹谱图, 并利用 PCA 和 PLS-DA 进行数据处理, 筛选出枳壳炮制前后的12个差异化合物, 其中8个是黄酮类物质, 进一步表明了枳壳中黄酮类化合物是区分枳壳产地和品质的重要质量标志性化合物。本研究可为 iEESI-MS 用于枳壳等药材的品质鉴定及枳壳炮制前后药效变化的物质基础提供技术保障。

参考文献:

- [1] JIANG Y, BAI X, ZHU X, LI J. The effects of *Fructus Aurantii* extract on the 5-hydroxytryptamine and vasoactive intestinal peptide contents of the rat gastrointestinal tract[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2014, 52(5): 581-585.
- [2] RAMÍREZ-REYES T I, AGUILAR-COLORADO Á S, MURRIETA-LEÓN D L, LICONA-VELÁZQUEZ L S, BONILLA-LANDA I, DURÁN-ESPINOSA C, AVENDAÑO-REYES S, MONRIBOT-VILLANUEVA J L, GUERRERO-ANALCO J A. Identification of antibacterial phenolics in selected plant species from Mexican cloud forest by mass spectrometry dereplication[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2019, 16(4): e1800603.
- [3] WU L, ZHANG T, CHEN K, LU C, LIU X F, ZHOU J L, HUANG Y K, YAN H, CHEN Y, ZHANG C J, LI J F, SHI S Q, REN P, HUANG X. Rapid antidepressant-like effect of *Fructus Aurantii* depends on cAMP-response element binding protein/Brain-derived neurotrophic factor by mediating synaptic transmission[J]. *Phytotherapy Research*, 2021, 35(1): 404-414.

- [4] YANG J, YANG Y, WANG L, JIN Q, PAN M. Nobiletin selectively inhibits oral cancer cell growth by promoting apoptosis and DNA damage *in vitro*[J]. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 2020, 130(4): 419-427.
- [5] SUN Y, HAN Y, SONG M, CHAROENSINPHON N, ZHENG J, QIU P, WU X, XIAO H. Inhibitory effects of nobiletin and its major metabolites on lung tumorigenesis[J]. *Food & Function*, 2019, 10(11): 7 444-7 452.
- [6] MASOUD M, AKRAM A, LEILA Z, AZIN S, SAEID A, AMIN D M, SOHEILA A. Protective effect of naringin on bisphenol a-induced cognitive dysfunction and oxidative damage in rats[J]. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 2019, 8(2): 141-153.
- [7] TIAN M, HAN Y B, ZHAO C C, LIU L, ZHANG F L. Hesperidin alleviates insulin resistance by improving HG-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction by restoring miR-149[J]. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 2021, 13(1): 50.
- [8] YANG Y, DING Z, ZHONG R, XIA T, WANG W, ZHAO H, WANG Y, SHU Z. Cardioprotective effects of a *Fructus Aurantii* polysaccharide in isoproterenol-induced myocardial ischemic rats[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 995-1 002.
- [9] SHU Z, YANG Y, XING N, WANG Y, WANG Q, KUANG H. Structural characterization and immunomodulatory activity of a pectic polysaccharide (CALB-4) from *Fructus aurantii*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 831-839.
- [10] SANDOVAL-MONTEMAYOR N E, GARCÍA A, ELIZONDO-TREVIÑO E, GARZA-GONZÁLEZ E, ALVAREZ L, del RAYO CAMACHO-CORONA M. Chemical composition of hexane extract of *Citrus aurantifolia* and *Anti-Mycobacterium tuberculosis* activity of some of its constituents[J]. *Molecules*, 2012, 17(9): 11 173-11 184.
- [11] 王璐, 汪丽霞, 吴婷婷, 赵四清, 郑美瑜, 陆胜民. 不同炮制方法对枳壳药效指标成分含量及抗氧化活性的影响[J]. *中国药房*, 2022, 33(7): 830-835.
WANG Lu, WANG Lixia, WU Tingting, ZHAO Siqing, ZHENG Meiyu, LU Shengmin. Effects of different processing methods on the contents of the pharmacodynamic index components and antioxidant activity of *Citrus aurantium*[J]. *China Pharmacy*, 2022, 33(7): 830-835 (in Chinese).
- [12] 马聪玉, 生宁, 李元元, 王喆, 张金兰. 中药成分质谱分析新技术和新策略进展[J]. *质谱学报*, 2021, 42(5): 709-717.
MA Congyu, SHENG Ning, LI Yuanyuan, WANG Zhe, ZHANG Jinlan. Advances in mass spectrometric-based technologies and strategies for the analysis of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2021, 42(5): 709-717(in Chinese).
- [13] 张加余, 蔡伟, 李云, 刘荣荣, 王子健, 刘颖, 卢建秋, 乔延江. HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ 结合 MDF 数据挖掘技术快速鉴定藏白蒿绿原酸类似物[J]. *质谱学报*, 2015, 36(4): 321-327.
ZHANG Jiayu, CAI Wei, LI Yun, LIU Rongrong, WANG Zijian, LIU Ying, LU Jianqiu, QIAO Yanjiang. Rapid characterization of chlorogenic acids analogues in *artemisia younghusbandii* using HPLC/LTQ-Orbitrap MSⁿ coupled with MDF data mining technology[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2015, 36(4): 321-327(in Chinese).
- [14] 金墨竹, 刘琳琳, 窦德强. 基于 UPLC-QqQ-MS/MS 测定人参属中药对甲亢大鼠类固醇激素含量的影响[J]. *质谱学报*, 2024, 45(4): 540-551.
JIN Mozhu, LIU Linlin, DOU Deqiang. Determination of the effect of Chinese medicine of Panax Ginseng on steroid hormone content in rats with hyperthyroidism based on UPLC-QqQ-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2024, 45(4): 540-551(in Chinese).
- [15] CHEN H F, ZHANG W G, YUAN J B, LI Y G, YANG S L, YANG W L. Simultaneous quantification of polymethoxylated flavones and coumarins in *Fructus aurantii* and *Fructus aurantii immaturus* using HPLC-ESI-MS/MS[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 59: 90-95.
- [16] WU H, HUANG W, CHEN Z, CHEN Z, SHI J, KONG Q, SUN S, JIANG X, CHEN D, YAN S. GC-MS-based metabolomic study reveals dynamic changes of chemical compositions during black tea processing[J]. *Food Research International*, 2019, 120: 330-338.
- [17] 田暄, 陆曼. GC/MS 用于超临界萃取与水汽蒸馏中药百里香化学成分的研究[J]. *质谱学报*, 1999, 20(增刊): 149-150.
TIAN Xuan, LU Man. Study on the chemical composition of thyme in traditional Chinese medicine by GC/MS for supercritical extraction and water vapor distillation[J]. *Journal of Chinese Journal of Chinese Mass Spectrometry*, 1999, 20(Suppl 1): 149-150(in Chinese).
- [18] ZHANG H, CHINGIN K, ZHU L, CHEN H. Molecular characterization of ongoing enzymatic reactions in raw

- garlic cloves using extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(5): 2 878-2 883.
- [19] DONG X, WANG R, ZHOU X, LI P, YANG H. Current mass spectrometry approaches and challenges for the bio-analysis of traditional Chinese medicines[J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1 026: 15-26.
- [20] LIU Y, SONG Q, LIU W, LI P, LI J, ZHAO Y, ZHANG L, TU P, WANG Y, SONG Y. Authentic compound-free strategy for simultaneous determination of primary coumarins in *Peucedani Radix* using offline high performance liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy-tandem mass spectrometry[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2018, 8(4): 645-654.
- [21] SUN J, YIN Y, LI W, JIN O, NA N. Chemical reaction monitoring by ambient mass spectrometry[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2022, 41(1): 70-99.
- [22] HUANG X, WANG R, WANG Y, CHEN C, LIU S Y. Investigation on property differences of ginseng and American ginseng by spatial metabolomics of neurochemicals with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 303: 116 006.
- [23] 刘鑫, 侯玉珠, 杨彤彤, 李娜, 刘淑莹, 张哲, 苏蕊. 实时直接分析质谱法分析中药有效成分的特征气相离子反应机理[J]. *质谱学报*, 2023, 44(5): 589-601.
LIU Xin, HOU Yuzhu, YANG Tongtong, LI Na, LIU Shuying, ZHANG Zhe, SU Rui. Analysis of characteristic ion reactions and mechanism exploration of active ingredients in traditional Chinese medicine by direct analysis in real-time mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2023, 44(5): 589-601 (in Chinese).
- [24] QIU Z, ZHANG X, WEI X, CHINGIN K, XU J, GAO W, YANG B, WANG S, TAN T, LIU E, XU H, GUI G, GUO J, WANG Y, SHEN Y, CHEN H, LAI C, HUANG L Q. Online discovery of the molecular mechanism for directionally detoxification of *Fuzi* using real-time extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 277: 114 216.
- [25] XU J, YU Z, LI T, SONG L, QIU Z D, HUANG L, CHEN H, LI H. Combination of internal extractive electrospray ionization mass spectrometry and statistical analysis for high-throughput molecular differentiation of *Rehmannia glutinosa* samples[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2023, 34(7): 1 342-1 348.
- [26] ZHANG H, ZHU L, LUO L, WANG N, CHINGIN K, GUO X, CHEN H. Direct assessment of phytochemicals inherent in plant tissues using extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(45): 10 691-10 698.
- [27] XU J, XU S, XIAO Y, CHINGIN K, LU H, YAN R, CHEN H. Quantitative determination of Bulk molecular concentrations of β -agonists in pork tissue samples by direct internal extractive electrospray ionization-mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89: 11 252-11 258.
- [28] LIN Z, WANG H, XU Y, DONG J, HASHI Y, CHEN S. Identification of antioxidants in *Aurantii Fructus* and its quality evaluation using a new on-line combination of analytical techniques[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 1 181-1 191.
- [29] 丁邑强, 熊英, 周斌, 邓敏芝, 邓可众. 枳壳中黄酮类成分的分离与鉴定[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(12): 2 352-2 356.
DING Yiqiang, XIONG Ying, ZHOU Bin, DENG Minzhi, DENG Kezhong. Isolation and structural identification of flavonoids from *Aurantii Fructus*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(12): 2 352-2 356(in Chinese).
- [30] HE Y, LI Z, WANG W, SOORANNA S R, SHI Y, CHEN Y, WU C, ZENG J, TANG Q, XIE H. 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): 2 189.
- [31] 杨武亮, 陈海芳, 余宝金, 张普照, 严志宏, 介磊, 徐欢. 枳壳活性化学成分研究[J]. *中药材*, 2008, 31(12): 1 812-1 815.
YANG Wuliang, CHEN Haifang, YU Baojin, ZHANG Puzhao, YAN Zhihong, JIE Lei, XU Huan. Study on the active constituents of *Aurantia Fructus* [J]. *Journal of Central University of Finance & Economics*, 2008, 31(12): 1 812-1 815(in Chinese).
- [32] 何英杰. 湘枳壳有效成分指纹图谱构建及活性分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018.
- [33] GUO J, LI G, MING Q, ZHANG J. Study on alkaloids in *Fructus hordei germinatus*[J]. *Medicinal Plant*, 2018, 9(6): 4.
- [34] 祝婧, 袁恩, 牟俊雍, 钟凌云, 张金莲, 杨明, 刘海平. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 分析江西特色炮制工艺对枳壳化学成分的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(16): 142-153.

- ZHU Jing, YUAN En, MU Junyong, ZHONG Lingyun, ZHANG Jinlian, YANG Ming, LIU Haiping. Analysis of the influence of Jiangxi characteristic processing technology on chemical compositions of *Aurantii Fructus* based on UPLC-Q/TOF-MS[J]. Chinese Journal of Experimental Pharmacology, 2020, 26(16): 142-153(in Chinese).
- [35] ZHANG J, GAO W, LIU Z, ZHANG Z, LIU C. Systematic analysis of main constituents in rat biological samples after oral administration of the methanol extract of *Fructus aurantii* by HPLC-ESI-MS/MS[J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2014, 13(2): 493-503.
- [36] LEBECQUE S, CROWET J M, LINS L, DELORY B M, du JARDIN P, FAUCONNIER M L, DELEU M. Interaction between the barley allelochemical compounds gramine and hordenine and artificial lipid bilayers mimicking the plant plasma membrane[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 9 784.
- [37] PUTZBACH K, RIMMER C A, SHARPLESS K E, SANDER L C. Determination of Bitter Orange alkaloids in dietary supplements standard reference materials by liquid chromatography with ultraviolet absorbance and fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1 156(1/2): 304-311.
- [38] 梁卉, 刘绍华, 欧阳坚, 闻婧, 刘昌福, 李运华. 枳壳挥发油化学成分及其抑菌活性分析[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(11): 111-113.
- LIANG Hui, LIU Shaohua, OUYANG Jian, WEN Jing, LIU Changfu, LI Yunhua. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Fructus aurantii*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(11): 111-113(in Chinese).
- [39] WU M, ZHANG H, ZHOU C, JIA H, MA Z, ZOU Z. Identification of the chemical constituents in aqueous extract of Zhi Qiao and evaluation of its antidepressant effect[J]. Molecules 2015, 20(4): 6 925-6 940.
- [40] ROBINS R J, BARRON D. Biosynthesis of the phenethylamine alkaloids[J]. Phytochemistry, 1987, 26(8): 2 317-2 321.
- (收稿日期: 2024-06-30; 修回日期: 2024-07-29)