

# 柑橘中多甲氧基黄酮生物活性及应用研究进展

王磊<sup>1,3</sup>, 苏学素<sup>2</sup>, 付陈梅<sup>1,3</sup>, 焦必宁<sup>3,\*</sup>

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2.西南大学化学化工学院, 重庆 400716;

3.中国农业科学院柑橘研究所, 重庆 400712)

**摘 要:** 芸香科柑橘属中的多甲氧基黄酮(PMFs), 由于具有抗炎、抗氧化、抗诱变、抗癌等生物活性而备受青睐。而且 PMFs 的提取使得柑橘果汁加工中的果皮得到充分利用, 对其深入研究具有重大的经济效益和社会效益。本文对 PMFs 的结构及其生物活性, 在柑橘分类学研究、柑橘果汁掺假和保健食品中的应用进行了综述。

**关键词:** 多甲氧基黄酮; 结构; 生物活性; 分类; 掺假

## Research Progress on Biological Activities and Applications of Polymethoxyflavonoids from Citrus

WANG Lei<sup>1,3</sup>, SU Xue-su<sup>2</sup>, FU Chen-mei<sup>1,3</sup>, JIAO Bi-ning<sup>3,\*</sup>

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2.College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400716, China ;

3.Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China)

**Abstract :** Recently polymethoxyflavonoids (PMFs) from citrus of rutaceae genus have been given extra attention because of their broad biological activities, including anti-oxidant, anti- inflammatory, anti-mutagenesis, anti-cancer (gastric cancer, liver cancer, and lung cancer and so on) properties. The extraction of PMFs makes full use of citrus peel from the process of orange juice and has huge economic and social benefits. This paper mainly reviewed their molecular structure, biological activities and applications in taxonomic study of citrus, adulteration identification of orange juice and production of health food.

**Key words:** polymethoxyflavonoids (PMFs); structure; biological activity; taxonomy; adulteration

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)07-0285-06

陈皮为芸香科植物柑橘(*Citrus reticulata* Blanco)及其栽培变种的干燥成熟果皮, 又名橘皮。具有健脾理气, 燥湿化痰的功效。其功能活性化学成分研究较多, 其中黄酮类以其广泛的药理活性正在引起人们越来越多的关注, 目前报道的柑橘属中黄酮类化合物(flavonoids)主要分为三类<sup>[1]</sup>: 黄烷酮类(flavanones); 黄酮醇类(flavonols)和黄酮类(flavones)。尤其是柑桔属中所特有的低极性的多甲氧基黄酮, 有研究表明, 它们有明显的抗肿瘤活性, 而受国内外的广泛关注。自从 Nelson<sup>[2]</sup>从橘皮精油(tangerine oil)中结晶分离出桔黄酮(tangeretin, TAN)、Tseng 首次从橙皮中分离出川陈皮素(nobiletin, NOB)和 Swift<sup>[3-4]</sup>报道在橙皮精油中分离鉴定出 5,7,8,4'-四甲氧基黄酮和 3,5,6,7,8,3',4',-六甲氧基黄酮(HEP), 国内外

学者对 PMFs 越来越感兴趣, 近年来在 PMFs 的研究也取得很大进展。我国柑橘品种多、产量大。立足于国内柑橘品种, 深度开发柑橘中极其丰富的 PMFs 资源, 研究其生物学功效及药理学活性, 对于柑橘的深加工及其在医药保健食品领域的应用, 具有重大的经济效益和社会效益。

## 1 PMFs

PMFs 是芸香科柑橘属所特有的、高度甲氧化的黄酮黄酮类化合物的总称<sup>[5]</sup>, 1991 年欧洲标准委员会(Comite Europeen de Normalisation, CEN)对 PMFs 的定义是多甲氧基数大于或等于 4 的一类黄酮<sup>[6]</sup>。如图 1 和表 1 所示, R<sub>3</sub> 到 R<sub>8</sub> 和 R<sub>2</sub> 到 R<sub>6</sub> 的取代基中为 -OCH<sub>3</sub> 或者

收稿日期: 2008-06-10

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2007BAD47B07; 2006BAD22B03-B4);

科技部科研院所公益基金项目(2004DIB4J147);

作者简介: 王磊 (1982- ), 男, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及质量安全检测。E-mail: wangstone820801@sina.com

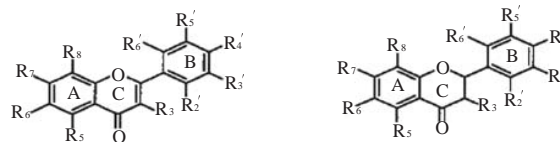
\* 通讯作者: 焦必宁(1964-), 男, 研究员, 本科, 研究方向为食品质量安全检测。E-mail: bljiao@tom.com

-H、-OH<sup>[7]</sup>。

PMFs 中 -OCH<sub>3</sub> 和 -OH 的数量和位置对其生物活性具有影响。Li 的研究表明, PMFs 中甲氧基数量越多, 其抗肿瘤增殖的活性也越强<sup>[8]</sup>。而且, NOB 和甜橙黄酮(sinensetin, SIN)的结构相似, 只是 SIN R<sub>8</sub> 位不具有 -OCH<sub>3</sub>, 研究发现只有 NOB 具有抗肿瘤活性, R<sub>8</sub> 位具有 -OCH<sub>3</sub> 的 PMFs 的活性普遍较强; NAT 的 R<sub>3</sub> 位是 -OH, 其 IC<sub>50</sub> 最小、活性最强, 若将柚皮黄素(NAT)中 R<sub>3</sub> 位置的 -OH 替换为 -H (变成 NOB) 或 -OCH<sub>3</sub> (变成 HEP), 活性都将降低, 由此可见 PMFs 结构中 R<sub>3</sub> 位和 R<sub>8</sub> 位为其活性部位<sup>[9]</sup>。羟基化 PMFs 的抗肿瘤增殖活性总体比全多甲氧基取代的 PMFs 要显著, 尤其是 R<sub>5</sub> 位是 -OH 的羟基化的 PMFs 上。如果是 B 环中 R<sub>3'</sub> 和 R<sub>4'</sub> 中甲氧基被 -OH 取代, 其抗肿瘤增殖活性非但没有增加, 反而有所降低<sup>[8]</sup>。

PMFs 与柑橘中富含的黄酮苷相比, 在分子极性上, PMFs 分子的极性比黄酮苷更小, 从而影响着它的生物学特性, 如 PMFs 通过生物膜时候的渗透性、代谢归宿和黏合性等; 在分子空间构型上, 由于多甲氧基的存在, 使分子更具平面性, 极性较小, 与苷类相比可

能更易于通过细胞膜, 进入细胞, 从而影响细胞的生长<sup>[7,10]</sup>。这些特性在影响分子的作用行为上都起着非常重要的作用<sup>[5,10]</sup>。



R<sub>3</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>3'</sub>、R<sub>4'</sub> 为 H、OH 或 OMe

图1 PMFs 的结构<sup>[7]</sup>

Fig.1 Structure frame of PMFs

## 2 PMFs 的生物活性

### 2.1 抗氧化活性

PMFs 能够体现出抗氧化活性, 主要因为: (1)PMFs 上的 -OH 和 -OCH<sub>3</sub> 都能提供电子; (2)R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> 和 C 环上的 C = O 负责电子离域。另外, 如果 R<sub>3</sub> 和 R<sub>5</sub> 位上有 -OH 与 C 环上的 C = O 一起作用更能体现强的氧化自由基清除能力<sup>[20-22]</sup>。

表1 柑橘中的 PMFs  
Table 1 Confirmed PMFs in citrus

序号	名称	R <sub>3</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	甲氧基数	参考文献
1	3,5,6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮 (HEP)	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	7	[11]、[12]、[13]
2	5,6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮 (川陈皮素 nobiletin, NOB)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[11]
3	3,5,6,7,3',4'- 六甲氧基黄酮 (quercetogetin, QUE)	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[6]、[11]
4	5,6,7,8,4'- 五甲氧基黄酮 (桔黄酮 tangeretin, TAN)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	5	[14]
5	5,6,7, 3',4'- 五甲氧基黄酮 (甜橙黄酮 sinensetin, SIN)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[11]、[12]、[15]
6	5,7,8,3',4'- 五甲氧基黄酮	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[12]
7	3,5,6,7,4'- 五甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	5	[11]
8	5,7,8,4'- 四甲氧基黄酮 (tetra-O-methylisoscuteallarein)	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	4	[11]
9	5,6,7,4'- 四甲氧基黄酮 (黄芩素 scutellarein, SCU)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	4	[6]、[16]
10	5,7,3',4'- 四甲氧基黄酮	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4	[17]
11	3- 羟基-5,6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮 (柚皮黄素 natsudaikai, NAT)	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[18]
12	3- 羟基-5,6,7,8,4'- 五甲氧基黄酮 (3- 羟基- 桔黄酮)	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	5	[7]
13	3- 羟基-5,6,7,4'- 四甲氧基黄酮	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	4	[7]
14	5- 羟基-3,6,7,8,3',4'- 六甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[7]、[15]
15	5- 羟基-3,7,8,3',4'- 五甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[7]
16	5- 羟基-6,7,8,3',4'- 五甲氧基黄酮 (5- 去甲基川陈皮素)	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[11]
17	5- 羟基-6,7,8,4'- 四甲氧基黄酮 (5- 去甲基桔黄酮)	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	4	[7]
18	5- 羟基-3,7,3',4'- 四甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4	[7]
19	5- 羟基-7,8,3',4'- 四甲氧基黄酮	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4	[19]
20	5- 羟基-6,7,3',4'- 四甲氧基黄酮	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	4	[7]
21	7- 羟基-3,5,6,8,3',4'- 六甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[19]
22	7- 羟基-3,5,6,3',4'- 五甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[12]
23	5,7- 羟基-3,6,8,3',4'- 五甲氧基黄酮	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	[19]
24	5- 羟基-6,7,8,3',4'- 五甲氧基环黄酮	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5	[7]
25	5,6,7,4'- 四甲氧基黄酮	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	4	[7]
26	3'- 羟基-5,6,7,8,4'- 五甲氧基黄酮 (3'- 去甲基川陈皮素)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	5	[8]、[14]
27	4'- 羟基-5,6,7,8,3'- 五甲氧基黄酮 (4'- 去甲基川陈皮素)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	5	[8]、[14]
28	3',4'- 羟基-5,6,7,8- 四甲氧基黄酮 (3',4'- 去甲基川陈皮素)	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	4	[8]、[14]

单杨等<sup>[23]</sup>对 HEP、TAN、NAT、NOB 这 4 种 PMFs 单体和橙皮苷的抗氧化功能进行研究。结果表明,在抗亚油酸氧化能力、抑制脂质体氧化能力以及清除  $\cdot\text{OH}$  能力上,PMFs 抗氧化活性从强到弱为: NOB > NAT > TAN > HEP,且都强于橙皮苷和芦丁;抑制脂质体氧化能力的  $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )分别为 0.35、0.96、2.65、3.11。Yi 等<sup>[24]</sup>2008 年通过检测发现,NOB 和 TAN 清除 DPPH $\cdot$  的  $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )分别为 40.97 和 39.20,证明它们具有一定的抗氧化能力,且因结构相似,所以活性也相当。但是 NOB 和 TAN 在清除  $\cdot\text{OH}$  上,单杨和 Yi 测得的  $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )分别为 5.26、96.97 和 3.2、9.6,这主要是因为它们所用测定方法不同。

## 2.2 抗炎症活性

PMFs 的重要生物活性之一就是抗炎症,这主要与其自由基清除相关,羟基化的 PMFs 具有清除自由基的活性,而全部甲基化的 PMFs 主要是通过抑制产生 NO 和超氧阴离子自由基的酶(如诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和 NADPH 氧化酶)。NOB、TAN 等 PMFs 能够抑制老鼠巨噬细胞中 IL- $\alpha$ 、IL- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等致炎细胞因子的基因表达。在人体内滑膜细胞中,NOB 能够减量调节环氧合酶-2(COX-2)的活性而有效抑制基质金属蛋白酶(MMP-1、MMP-3、MMP-9)和前列腺素 E2(PGE2)的合成,从而抑制关节软骨的降解、风湿性关节炎等炎症的出现。后来的研究表明,NOB 一方面减量调节人体内滑膜细胞中 IL-1 诱导合成胶原酶原-1(proMMP-1)和胶原酶原-3(proMMP-3)的基因表达;另一方面也会增加内源 MMP 的抑制剂 TIMP-1 的合成<sup>[14,22,25]</sup>。

Chen 等<sup>[26]</sup>研究了 TAN 和 NOB 这两种结构相似的 PMFs 的抗炎活性,浓度为 60  $\mu\text{mol/L}$  的时候能够抑制细胞的增殖( $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$ ),40  $\mu\text{mol/L}$  的 TAN 能够显著抑制 H1299 和 A549 细胞内源性 COX-2 mRNA 的表达,而且 TAN 在抑制 IL-1 $\beta$  诱导合成 COX-2 蛋白上要强于 NOB。Wu 对老鼠腹腔分别注射 0.5、1.5 和 5.0mg/kg 的 NOB 后,肺组织中的炎症应答反应显著降低,初次证实了 NOB 对哮喘老鼠的抗嗜酸性呼吸道炎症具有显著的抑制功效,可以做为新的抗哮喘药物<sup>[27]</sup>。Li 等<sup>[14]</sup>研究发现,在 RAW264.7 巨噬细胞中,NOB 的中间代谢产物(3'-去甲基川陈皮素、4'-去甲基川陈皮素、3',4'-去甲基川陈皮素)在抑制 iNOS 和 COX-2 蛋白表达上强于 NOB,具有明显的抗炎症作用。

## 2.3 抗癌抗肿瘤活性

PMFs 具有良好的抗肿瘤抗癌活性。Manthey<sup>[28]</sup>研究发现 HEP、NOB、TAN 等 PMFs 能有效抑制人体中包括肺癌在内的 6 种癌细胞的增殖。Rodriguez<sup>[29]</sup>在研究类黄酮对 B16F10 和 SK-MEL-1 黑色素瘤细胞的体外抑制效果中发现 TAN 是最有效的抑制剂。王伯先等<sup>[30]</sup>研究

发现 NOB 浓度为 10  $\mu\text{g/ml}$  的时候对人肾癌、直肠癌和肺癌的杀伤率分别为 54.31%、31.92% 和 48.66%,具有抗癌和促进癌细胞凋亡的作用。管晓琳等<sup>[31]</sup>用 MTT 法研究了 4~128mg/L 浓度的 NOB 对 A549 细胞的增殖抑制作用,结果 48、72h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 25.7、16.7mg/L,抑制率 15%~85%,对非小细胞肺癌 A549 细胞具有增殖抑制作用。

PMFs 的抗癌机制主要是抑制肿瘤和癌细胞增殖以及诱导癌细胞凋亡。TAN 可以通过调节肝脏中的酶来提高肝脏的解毒作用,将癌症抑制在初期<sup>[9]</sup>;它可以抑制人体直肠结肠癌细胞中周期素依赖性蛋白激酶 2(Cdk2)和 Cdk4 的活性同时提高 Cdk 抑制剂-p21 和 p27 含量,从而抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[32]</sup>;还可以通过抑制人体肺癌细胞中的组成的和诱导的 COX-2 的表达而发挥抗癌抗肿瘤活性<sup>[26]</sup>。对于 NOB,成美英等<sup>[33]</sup>研究,Hepls 细胞经 NOB 作用后,发现细胞核呈固缩状,或边集在核膜内侧呈新月体形排列,或呈碎裂状,部分细胞出芽形成凋亡小体,形态学上的这些变化证明细胞发生了凋亡,所以推测诱导肿瘤细胞凋亡可能是 NOB 抗肿瘤的机制之一。后来 Ohnishi 等<sup>[34]</sup>研究发现 NOB 阻滞肝癌细胞周期于 G2/M 期,并通过上调 Bax 的表达诱导肿瘤细胞凋亡。国内学者研究也得出了相同结论<sup>[30-31]</sup>。Sergeev<sup>[15]</sup>进一步研究发现 HEP 和 SIN 等 PMFs 能够诱导 MCF-7 乳腺癌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度持续增加,活化  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的  $\mu$ -calpain 和 caspase-12,从而诱导癌细胞的凋亡。

## 2.4 抗动脉粥样硬化活性

PMFs 的抗动脉粥样硬化是通过降低胆固醇水平来达到的。降胆固醇又是通过以下两个途径:(1)PMFs 抑制脱辅基蛋白 B(apo B)的分泌,apo B 是合成 LDL 胆固醇所必需的,所以通过降低 apo B 可以影响 LDL 胆固醇的合成;(2)PMFs 能降低乙酰甘油二酯转移酶(DSAT)的活性,DSAT 是合成甘油三酯所必需的,而甘油三酯是形成 apo B 的一个重要元素,从而也达到抑制 LDL 胆固醇的合成<sup>[35-36]</sup>。

Whitman 等<sup>[37]</sup>研究发现,由于 PMFs 的亲脂性,更易通过小肠被吸收而进入到血液中,所以 NOB 能够降低血液循环中的极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL)的含量,所以 NOB 可能可以预防动脉粥样硬化。Kurowska 等<sup>[38]</sup>的研究表明,用 1% TAN 或者 1% 的 PMFs 混合物(主要是 TAN 和 NOB)的饲料来喂养高血胆固醇的大鼠,结果其血液中总的 VLDL 和 LDL 胆固醇都有所降低,减少了动脉粥样硬化等心血管疾病发生的可能性。

## 2.5 其他生物活性

此外,PMFs 还存在一些其他生物活性。Kobayashi 等<sup>[39]</sup>研究 NOB 和橙皮素的抗过敏活性,结果发现 500  $\mu\text{mol/L}$  的 NOB 能通过抑制磷脂酰肌醇激酶,抑制 RBL-

2H3 细胞中组胺和  $\beta$ -己糖胺酶的释放, 体现出抗过敏活性。Toyoda 等<sup>[40]</sup>研究发现, SCU 也是 PMFs 中一种低毒而有效的抗过敏剂。在抑菌上, Ortuó 等<sup>[41]</sup>的体外研究表明, 从 *C.sinensis* 和 *C.paradisi* 提取出的类黄酮类化合物, 对指状青霉菌的生长具有抑制效果, 结果显示, 浓度仅 8mmol/L 的 NOB 对指状青霉菌的抑制率为 75%, 远高于黄烷酮中的橙皮苷(38%)和柚皮苷(25%)。此外, PMFs 因为能够吸收紫外线, 而具有抗突变的功能; 还有研究表明 PMFs 具有抑制血小板凝聚等生物活性。

### 3 PMFs 的应用

#### 3.1 PMFs 在果汁掺假检测中的应用

柑橘果汁生产中, 总有不法商贩为了牟取暴利而掺假, 橙汁掺假是个长期存在的问题, NOB、TAN、HEP、SIN 等 PMFs 是柑橘中所特有的植物次生代谢产物, 利用它们能对柑橘果汁的掺假进行有效的检测。

Ooghe 等<sup>[6]</sup>通过向甜橙果汁中添加 10%~30% 默科特或 tangerine 果汁, F 检测值会增加 40%~100%, 如果掺入这两种柑橘果汁会导致果汁中 SIN 浓度降低而 TAN 浓度升高, 所以 SIN/TAN 是检测柑橘果汁掺假的重要指标。同时 SIN/QUE、SIN/HEP、SIN/TAN、NOB/SIN、NOB/HEP、NOB/SCU、NOB/TAN、HEP/SCU、HEP/TAN、TAN/QUE 这些 PMFs 比值也是快速检测果汁掺假的依据, 如果这些比值中超过 3 个不在限定范围内, 再用 F 检测来确认果汁的掺假可能性, 如果计算所得的 F 值越高, 那么果汁掺假的可能性就越大。Pan 等<sup>[42]</sup>测定了橙汁中 PMFs 的含量, 并通过多元分析法确定了 SIN/HEP、SIN/TAN、NOB/SIN、SCU/HEP 和 SCU/NOB 指标建立的判别函数, 利用函数值来判别橙汁中是否添加 tangelo 汁(tangelo 汁 < 5; 橙汁 > 28; 函数值 5~28: 橙汁掺假)。最低检测限是 1kg 橙汁中添加 100g tangelo 汁。

#### 3.2 PMFs 在保健食品上的应用

PMFs 的特殊生物活性能对改善人体健康, 且具有脂溶性好生物利用率高等特点, 使其成为保健食品的重要成分。Douglas 实验室经过多年来对 PMFs (NOB+TAN) 和植物甾醇等在心血管疾病效果的研究, 研制出一种功能保健品——Sytrinol™。PMFs 是来自柑橘果皮的天然成分, 没有他汀类药物的副作用。离体、活体和临床实验均证明, Sytrinol™ 对人体总胆固醇、LDL 胆固醇和甘油三酯都有显著降低, 而 HDL 胆固醇水平没有变化, 动物毒性研究证明它不具有任何副作用或毒性<sup>[35]</sup>。Delaney 等<sup>[43]</sup>对 NOB 和 TAN 等 PMFs 混合物进行体外的遗传变异特性实验, 表明 PMFs 混合物并非培养细菌的诱导剂, 没有遗传毒性, 经过数据分析对

哺乳动物也得出了同样的结论。

众所周知, 动脉粥样硬化等心血管疾病(CVD)已经成为人类的最大“敌人”。高胆固醇和炎症是其中的两个主要原因。而 PMFs 具有降低胆固醇和抗炎症的特殊活性, 是生产保健功能品的不二选择。

#### 3.3 PMFs 可为柑橘种属区分提供信息

PMFs 是柑橘植物中特有的次生代谢产物, 柑橘不同种属间 PMFs 的类型组成和含量各不相同, 因此 PMFs 的类型组成和含量可以为植物科学和农业科学中柑橘分类学提供信息。

PMFs 主要存在于柑橘皮的精油中, 特别是橙(*Citrus sinensis*)和宽皮柑橘(*Citrus reticulata*)。Gaydou 等<sup>[44]</sup>用 HPLC 检测橘皮精油中 6 种 PMFs 的浓度。用标准主组分分析(standardized principal-component analysis, PCA)得出, 第一主组分(the first principal component, PC1)是 TAN 和 SIN, PC2 是 NOB 和总 PMFs, PC3 是 HEP。通过 PC1 能够将实验样品中的橙子和宽皮柑橘分开, 通过 PC2 能够将宽皮柑橘中的 Kara、Murcot、Malvasio 和 Ortanique 分开。吴桂苹<sup>[45]</sup>对重庆等 7 个柑橘主产区中果皮的 SIN、NOB、TAN 测定, 发现甜橙果皮中 PMFs/TAN 和 SIN/TAN 均高于宽皮柑橘, 而温州蜜柑和椪柑的差异不显著, 结果证实 PMFs 可为柑橘种类的区分提供依据。

在柑橘种植中, 由于经过多年的单性生殖和不断的杂交, 使得对柑橘的分类比较复杂。研究收集和整理柑橘及近缘属的 PMFs 的信息, 不仅有利于寻找柑橘属和近缘属的亲缘关系, 而且对园艺育种计划中选育出富含多种抗癌活性 PMFs 的柑橘植株具有重要意义。Kawaii 等<sup>[46-47]</sup>研究报道了柑橘及其近缘属中不同品种中可食部分和叶片的类黄酮信息, PCA 分析表明, 可食部分和叶片中的 NOB、SIN、TAN 和 DNOB 可为柑橘种属分类提供信息。且高 NOB/TAN 品种和高 HEP/NAT 品种的杂交品种的 PMFs 组成, 也为柑橘及其近缘属的遗传提供了重要的信息。

### 4 结 语

综上所述, 近来对 PMFs 的研究有了很大的进展, 以后还可以从以下几个方面继续深入研究:

(1) 在研究的广度上, PMFs 中的研究多集中于 NOB 和 TAN, 对其他 PMFs 的研究较少。最近的研究中也发现 HEP 具有抗癌活性<sup>[8]</sup>, 所以加大对柑橘中其他 PMFs 的生物活性研究, 具有很大的发展空间。

(2) 在研究的深度上, PMFs 的脂溶性好, 离体和活体实验都表明 PMFs 无毒, 从数据分析上也得出对哺乳动物没有遗传毒性<sup>[43]</sup>, 要将其运用到医药食品领域还



缺乏充足的临床实验的数据支持。

(3)研究表明, PMFs、柠檬苦素、甾醇等次生代谢产物均有降低胆固醇的生物活性, 从化学或生物化学上强活性物质的协同增效作用研究, 尤其是化学或生物化学作用方式对其抗肿瘤等生物活性之间的构效关系、生物利用率提高的研究还很少报道。这对新型保健产品的开发具有重要意义。

(4)要实现 PMFs 作为功能保健食品的重要成分, 还应该加强对 PMFs 的工业化、高通量的分离提取及纯化研究。

随着科学技术的进步, PMFs 在医药保健和食品领域必将有着广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] WANG D D, WANG J, HUANG X H, et al. Identification of polymethoxylated flavones from green tangerine peel (*Pericarpium Citri Reticulatae Viride*) by chromatographic and spectroscopic techniques[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 44: 63-69.
- [2] NELSON E K. The occurrence of a pentamethyl flavonol in tangerine peel[J]. Journal of the American Chemical Society, 1934, 56: 1392-1393.
- [3] SWIFT L J. Tetra-O-methylscutellarein in orange peel[J]. The Journal of Organic Chemistry, 1965, 30: 2079-2080.
- [4] SWIFT L J. Thin layer chromatographic-spectrophotometric analysis for neutral fraction flavones in orange peel juice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1967, 15(1): 99.
- [5] 吴宏伟. 陈皮多甲氧基黄酮有效部位研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- [6] OOGHE W C, OOGHE S J, DETAVERNIER C M, et al. Characterization of orange juice (*Citrus sinensis*) by polymethoxylated flavones[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1994, 42: 2191-2195.
- [7] LI S. Isolation, metabolism and bioavailability study of polymethoxyflavonoids [D]. New Jersey: The State University of New Jersey, 2005.
- [8] LI S, PAN M H, LAI C S, et al. Isolation and syntheses of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones as inhibitors of HL-60 cell lines[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2007, 15(10): 3381-3389.
- [9] KAWAI S, TOMONO Y, KATASE E, et al. Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines[J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1999, 63(5): 896-899.
- [10] PUPIN A M, DENNIS M J, TOLEDO M C F. Polymethoxylated flavones in Brazilian orange juice[J]. Food Chemistry, 1998, 63(4): 513-518.
- [11] YU H. Anti-inflammatory constitute in noni (*Morinda citrifolia*) fruits, sweet orange (*Citrus sinensis*) peel, and biotransformation pathway of nobiletin[D]. New Jersey: The State University of New Jersey, 2004.
- [12] CHEN J, MONTANARI A M, WIDMER W W. Two new polymethoxylated flavones, a class of compounds with potential anticancer activity, isolated from cold pressed dancy tangerine peel oil solids[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1997, 45 (2): 364 -368.
- [13] CALOMME M, PITEERS L, VLIETINCK A, et al. Inhibition of bacterial mutagenesis by citrus flavonoids[J]. Planta Medica, 1996, 62: 222-226.
- [14] LI S, SANG S, PAN M H, et al. Anti-inflammatory property of the urinary metabolites of nobiletin in mouse[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17: 5177-5181.
- [15] SERGEEV I N, LI S M, COLBY J, et al. Polymethoxylated flavones induce  $Ca^{2+}$ -mediated apoptosis in breast cancer cells[J]. Life Sciences, 2006, 80(3): 245-253.
- [16] CALOMME M, PIETERS L, VLIETINCK A, et al. Inhibition of bacterial mutagenesis by citrus flavonoids[J]. Planta Medica, 1996, 62: 222-226.
- [17] MANTHEY J A, MANTHEY C L, MONTANARI A. Inhibition of cytokine production by polymethoxylated flavones: USA, 6184246[P]. 2001-03-06.
- [18] 钱士辉, 陈廉. 陈皮中黄酮类成分的研究[J]. 中药材, 1998, 21(6): 301-302.
- [19] GHAI G, ROSEN R, HO C T, et al. Extracts of orange peel for prevention and treatment of cancer: USA, WO/2001/021137[P]. 2001-03-29.
- [20] EDENHARDER R, GRUNHAGE D. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102[J]. Mutation Research, 2003, 540(1): 1-18.
- [21] RICE-EVANS C A, MILLER N J, PAGANGA G. Structural-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20(7): 933-956.
- [22] TRIPOLIE, GUARDIA M L, GIAMMANCO S, et al. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review[J]. Food Chemistry, 2007, 104(2): 466-479.
- [23] 单杨, 李高阳, 李忠海. 柑橘皮中多甲氧基黄酮的体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 100-103.
- [24] YI Z B, YU Y, LIANG Y Z, et al. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids[J]. LWT-Food Science and Technology, 2008, 41(4): 597-603.
- [25] LIN N, SATO T, TAKAYAMA Y, et al. Novel anti-inflammatory actions of nobiletin, a citrus polymethoxy flavonoid, on human synovial fibroblasts and mouse macrophages[J]. Biochemical Pharmacology, 2003, 65(12): 2065-2071.
- [26] CHEN K H, WENG M S, LIN J K. Tangeretin suppresses IL-1  $\beta$ -induced cyclooxygenase (COX-2) expression through inhibition of p38 MAPK, JNK, and AKT activation in human lung carcinoma cells[J]. Biochemical Pharmacology, 2007, 73(2): 215-227.
- [27] WU Y Q, ZHOU C H, TAO J, et al. Antagonistic effects of nobiletin, a polymethoxyflavonoid, on eosinophilic airway inflammation of asthmatic rats and relevant mechanisms[J]. Life Sciences, 2006, 78(23): 2689-2696.
- [28] MANTHEY J A, GUTHRIE N. Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(21): 5837-5843.
- [29] RODRIGUEZ J, YANEZ J, VICENTE V, et al. Effects of several flavonoids on the growth of B16F10 and SK-MEL-1 melanoma cell lines: Relationship between structure and activity[J]. Melanoma Research, 2002, 12(2): 99-107.
- [30] 王伯先, 孟旭晖, 亢寿海, 等. 川陈皮素的抗癌作用及机理研究[J]. 中华临床医学实践杂志, 2004, 3(3): 261-263.
- [31] 管晓琳. 川陈皮素对非小细胞肺癌 A549 细胞株的抑制作用及作用机理的研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.
- [32] PAN M H, CHEN W J, LIN-SHIAU S Y, et al. Tangeretin induces cell-cycle G1 arrest though inhibiting cyclin-dependent kinases 2 and 4 activities as well as elevating CdK inhibitors p21 and p27 in human colorectal carcinoma cells[J]. Carcinogenesis, 2002, 23(10): 1677-1684.
- [33] 成美英, 葛慧, 张洪泉. 柑橘提取物诺必播抑制肝癌增殖的免疫

- 学机制[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(3): 161-164.
- [34] OHNISHI H, ASAMOTO M, TUJIMURA K, et al. Inhibition of cell proliferation by nobiletin, a dietary phytochemical, associated with apoptosis and characteristic gene expression, but lack of effect on early rat hepatocarcinogenesis *in vivo*[J]. Cancer Science, 2004, 95(12): 936-942.
- [35] LIU Z X. Sytrinol a novel heart health breakthrough[J]. Total Health, 2006, 28(1): 41-42.
- [36] FLORES A. Cholesterol-reducing flavonoids found in citrus peels[J]. Agricultural Research, 2005, 53( 9): 161.
- [37] WHITMAN S C, KUROWSKA E M, MANTHEY J A, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages[J]. Atherosclerosis, 2005, 178 (1): 25-32.
- [38] KUROWSKA E M, MANTHEY J A. Hypolipidemic effects and absorption of citrus polymethoxylated flavones in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(10): 2879-2886.
- [39] KOBAYASHI S, TANABE S. Evaluation of the anti-allergic activity of citrus unshiu using rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells as well as basophils of patients with seasonal allergic rhinitis to pollen[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2006, 17(3): 511-515.
- [40] TOYODA M, TANAKA K, HOSHINO K, et al. Profiles of potentially antiallergic flavonoids in 27 kinds of health tea and green tea infusions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(7): 2561-2564.
- [41] ORTUNO A, BAIDEZ A, GOMEZ P, et al. Citrus paradisi and *Citrus sinensis* flavonoids: their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*[J]. Food Chemistry, 2006, 98(2): 351-358.
- [42] PAN G G, KILMARTIN P A, SMITH B G, et al. Detection of orange juice adulteration by tangelo juice using multivariate analysis of polymethoxylated flavones and carotenoids[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(4): 421-427.
- [43] DELANEY B, PHILLIPS K, VASQUEZ C, et al. Genetic toxicity of a standardized mixture of citrus polymethoxylated flavones[J]. Food and Chemical Toxicology, 2002, 40(5): 617-624.
- [44] GAYDOU E M, BIACHININ J P, RANDRIAMIHARISOA R P. Orange and mandarine peel oils differentiation using polymethoxylated flavone composition[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1987, 35(4): 525-529.
- [45] 吴桂苹. 柑桔类黄酮的检测及含量分布研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- [46] KAWAII S, TOMONO Y, KATASE E, et al. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(9): 3565-3571.
- [47] KAWAII S, TOMONO Y, KATASE E, et al. Quantitative study of flavonoids in leaves of citrus plants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 3865-3871.