

## 2 种枳椇属植物果梗的广泛靶向代谢组分析

应俊辉<sup>1</sup>, 潘温文<sup>1</sup>, 张 华<sup>2</sup>, 周生财<sup>1</sup>, 林 艳<sup>3</sup>, 张俊红<sup>2</sup>, 陈世通<sup>4</sup>

(1. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000; 2. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300; 3. 丽水市白云山生态林场, 浙江 丽水 323000; 4. 丽水市林业局, 浙江 丽水 323000)

**摘要:** 【目的】阐明枳椇 *Hovenia acerba* 和光叶毛果枳椇 *H. trichocarpa* var. *robusta* 果梗的代谢物差异, 为枳椇属 *Hovenia* 植物的开发利用奠定基础。【方法】通过高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 的广泛靶向代谢组学方法, 分析枳椇和光叶毛果枳椇果梗中代谢产物和代谢通路的差异。【结果】2 种枳椇属植物果梗中共检测到 1 810 种代谢物, 其中显著差异代谢物 782 种 ( $P < 0.05$ )。与枳椇果梗相比, 光叶毛果枳椇果梗中上调差异代谢物有 378 种, 下调差异代谢物有 404 种, 且单宁、醌类代谢物相对含量均显著下调 ( $P < 0.05$ )。2 种枳椇属植物果梗中差异代谢物主要富集在苯丙烷类化合物、黄酮类化合物和异喹啉生物碱的生物合成途径, 其中极显著差异代谢物包含乌药碱、N-甲基乌药碱和甲基衡州乌药碱等生物碱物质以及柚皮素、柚皮素查尔酮和 2', 3, 4, 4', 6'-五羟基查耳酮等黄酮类产物。【结论】同一生态条件下, 2 种枳椇果梗的代谢谱存在显著差异, 特别是具有药用价值和高甜度的生物碱和黄酮类代谢产物相对含量存在显著差异。图 7 表 1 参 41

**关键词:** 枳椇属; 广靶代谢组; 果梗; 生物碱; 黄酮化合物

中图分类号: S722 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2024)00-0001-09

## Comprehensive targeted metabolomic analysis of fruit stalks in two species of *Hovenia* plants

YING Junhui<sup>1</sup>, PAN Wenwen<sup>1</sup>, ZHANG Hua<sup>2</sup>, ZHOU Shengcai<sup>1</sup>, LIN Yan<sup>3</sup>, ZHANG Junhong<sup>2</sup>, CHEN Shitong<sup>4</sup>

(1. Lishui Vocational & Technical College, Lishui 323000, Zhejiang, China; 2. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. Baiyun Mountain Ecological Forest Farm in Lishui City, Lishui 323000, Zhejiang, China; 4. Lishui Forestry Bureau, Lishui 323000, Zhejiang, China)

**Abstract:** [Objective] This study aims to clarify the metabolite differences in the fruit stalks of *Hovenia acerba* and *H. trichocarpa* var. *robusta*, and lay a foundation for the development and utilization of *Hovenia* plants. [Method] Through a comprehensive targeted metabolomics approach of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), the differences in metabolites and metabolic pathways in the fruit stalks of *H. acerba* and *H. trichocarpa* var. *robusta* were analyzed. [Result] A total of 1 810 metabolites were detected in the fruit stalks of the two *Hovenia* species, of which 782 metabolites showed significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the fruit stalks of *H. acerba*, there were 378 up-regulated differential metabolites and 404 down-regulated differential metabolites in the fruit stalks of *H. trichocarpa* var. *robusta*, and the relative contents of tannin and quinone metabolites were significantly down-regulated. The differential metabolites in the fruit stalks of the two *Hovenia* species were primarily enriched in the biosynthetic pathways of phenylalanine compounds, flavonoids, and isoquinoline alkaloids. Among them, the extremely

收稿日期: 2024-07-05; 修回日期: 2024-10-02

基金项目: 2023 浙江省林业专项 (浙林规〔2023〕10 号)

作者简介: 应俊辉 (ORCID: 0009-0004-9891-1204), 副教授, 从事森林资源开发与利用研究。E-mail: 803006@lszjy.edu.cn。通信作者: 陈世通 (ORCID: 0009-0009-4257-951X), 高级工程师, 从事森林培育等研究。E-mail: qlcst@126.com

significant differential metabolites included alkaloid substances such as ligustroside, N-methyligustroside and methylcoclaurine, as well as flavonoids like naringin, naringin chalcone, and 2',3,4,4',6'-pentahydroxy chalcone. [Conclusion] There are significant differences in the metabolic profiles of the fruit stalks of the two *Hovenia* species under the same ecological conditions, especially the relative content of alkaloids and flavonoids with medicinal value and high sweetness. [Ch, 7 fig. 1 tab. 41 ref.]

**Key words:** *Hovenia*; comprehensive targeted metabolome; fruit stalk; alkaloid; flavonoid compound

枳椇 *Hovenia acerba* 是鼠李科 Rhamnaceae 枳椇属 *Hovenia* 高大落叶乔木, 俗称拐枣。枳椇果实利用价值高, 其果梗质量占果实总质量的 90%。枳椇果梗肥大、肉质多汁、营养丰富, 具有很高的食用价值<sup>[1-6]</sup>。光叶毛果枳椇 *H. trichocarpa* var. *robusta* 为枳椇属的变种<sup>[7]</sup>。叶下面无毛或沿脉被疏柔毛, 萼片和果实被锈色密绒毛。肥大果梗含丰富糖, 可生食、酿酒、制醋和熬糖等<sup>[2,8]</sup>。枳椇果梗是主要食用部位, 其滋味主要由非挥发性代谢物主导, 不同种枳椇果梗常呈不同风味<sup>[1]</sup>。卢孟飞等<sup>[1]</sup>通过比较主栽枳椇品种果梗的营养成分差异发现: 不同枳椇品种果梗营养成分和内在品质存在显著差异。因此, 为更好地利用枳椇不同种及品种, 需对其开展代谢物分析和评价。

广泛靶向代谢组学是一种高通量、高精度和广覆盖的代谢产物检测方法, 在茶树 *Camellia sinensis*<sup>[9]</sup>、草莓 *Fragaria × ananassa*<sup>[10]</sup>、玉米 *Zea mays*<sup>[11]</sup> 和黄纹早竹 *Phyllostachys violascens* var. *flavistriatus*<sup>[12]</sup> 等植物的化学成分和品质特征研究中应用广泛<sup>[13-15]</sup>。例如 PENG 等<sup>[16]</sup>采用 LC-ESI-QTOF-MS/MS 技术对枳椇果梗进行测定, 发现枳椇果梗的抗氧化活性与酚类、单宁酸总质量分数呈正相关, 表明酚类物质可能是枳椇果梗抗氧化活性的主要成分, 且首次鉴定出枳椇果梗提取物中含有低聚糖、有机酸、脂肪酸和黄酮类等影响风味的化合物。YANG 等<sup>[17]</sup>通过定量分析发现: 枳椇果肉的主要营养成分包括糖类、蛋白质、脂质和黄酮等化合物, 且糖类十分丰富。

目前, 对枳椇研究主要集中于枳椇果梗的代谢物提取和功能食品的开发利用等<sup>[17-18]</sup>, 对不同枳椇种的全面分析报道较少。诸多研究表明: 代谢组学可对植物各器官内含物质进行准确解析, 并筛选不同种或品种的特征化合物。因此, 本研究以枳椇和光叶毛果枳椇果梗为试验材料, 通过广泛靶向代谢组学鉴定 2 种枳椇果梗的代谢物差异, 为枳椇种特征化合物的提取与利用及优良品种的选育提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料选自浙江省丽水市白云山的枳椇和光叶毛果枳椇。枳椇浆果状核果, 近球形, 无毛 (图 1 左); 光叶毛果枳椇浆果状核果, 近球形, 密被锈色或棕色绒毛 (图 1 右)。2023 年 11 月 13 日, 在 2 种枳椇树的东、西、南、北 4 个方位, 分别采集完全成熟的果梗, 均匀混合后液氮速冻,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。在液氮环境下用植物粉碎机粉碎, 真空冷冻干燥后用于广泛靶向代谢组学测定。



枳椇(左); 光叶毛果枳椇(右)。

图 1 2 种枳椇属植物的果实表型  
Figure 1 Fruit phenotypes of two *Hovenia* species

### 1.2 代谢组测定

称取 50 mg 样品粉末, 溶解于 1200  $\mu\text{L}$  提取液 ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  预冷的体积分数为 70% 甲醇水内标提取液); 涡旋 6 次, 每次间隔 30 min, 每次 30 s; 离心 3 min ( $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), 吸取上清液, 用

0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤样品，保存于进样瓶，进行超高效液相色谱 (UPLC, ExionLC™ AD) 和串联质谱 (MS/MS, QTRAP® 6500+) 分析。

色谱条件：Agilent SB-C18 1.8  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm $\times$ 100 mm, 流速 0.35 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量 2  $\mu\text{L}$ 。流动相条件：流动相 A 为超纯水 (加入体积分数为 0.1% 的甲酸), 流动相 B 为乙腈 (加入体积分数为 0.1% 的甲酸)。

### 1.3 统计分析

使用 Analyst 1.6.3 软件分析质谱数据中的代谢物，得到代谢物列表，包括代谢物名称和丰度。利用 KEGG 数据库 (<https://www.metaboanalyst.ca>) 对鉴定到的代谢物进行功能和分类注释。通过使用 SIMCA 14.1 软件对代谢物进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)。其中 OPLS-DA 的 S-plot 图用于识别和解释模型中重要变量的关系，位于右上角和左下角的变量表示其差异显著，红色点通常表示分组贡献值 ( $V_{\text{IP}} \geq 1$ ) 的变量，而绿色点表示  $V_{\text{IP}}$  值  $< 1$  的变量。根据  $V_{\text{IP}}$  和组间变化的显著性筛选得到差异代谢物。再应用排列检验 (permutation test) 验证 OPLS-DA 模型可靠性，通过随机打乱样本的分组标签，重新建立和评估模型，以此来确定模型可靠性， $R^2$  为模型的解释率，代表了模型的可解释性，即模型中有多少信息能被解释。其中： $R^2X$  表示模型对预测变量 ( $X$  矩阵) 的解释程度； $R^2Y$  表示模型对响应变量 ( $Y$  矩阵) 的解释程度； $Q^2$  表示模型的预测能力， $Q^2 > 0.5$  被认为是好模型。通过使用 Excel 2019 软件对数据进行标准化处理和  $T$ -检验。接着通过  $T$ -检验计算得 2 组样品间的  $P$  值，筛选显著性差异代谢物。使用 KEGG 对差异代谢物进行通路分析，得到差异代谢通路的富集结果。在本研究中， $V_{\text{IP}}$  表示代谢物对分组的贡献值。 $\log_2 F_C$  表征差异倍数，为每个代谢物在样本组与对照组中 3 个重复均值的比值，正值表示样本组中代谢物相对含量高于对照组，负值则相反。 $P$  值用于判断实验结果的显著性。

数据标准化计算公式为：

$$z = \frac{(x - \mu)}{\sigma}$$

其中： $x$  是原始数据， $\mu$  是数据的均值， $\sigma$  是数据的标准差。

## 2 结果与分析

### 2.1 2 种枳椇果梗的代谢组成分总体分析

对 2 种枳椇果梗样品进行 UPLC-MS/MS 分析，共鉴定出 13 类 1 810 种代谢物 (图 2)，包括黄酮类 307 种 (16.96%)、生物碱 195 种 (10.77%)、脂类 221 种 (12.21%)、有机酸 65 种 (3.59%)、萜类 191 种 (10.55%)、单宁 13 种 (0.72%)、甾体 1 种 (0.06%)、醌类 18 种 (0.99%)、酚酸类 207 种 (11.44%)、氨基酸及其衍生物 146 种 (8.07%)、核苷酸及其衍生物 54 种 (2.98%)、木脂素和香豆素 130 种 (7.18%) 以及其他代谢物 262 种 (14.48%)。与枳椇果梗相比，867 种代谢物在光叶毛果枳椇果梗中上调，943 代谢物下调。

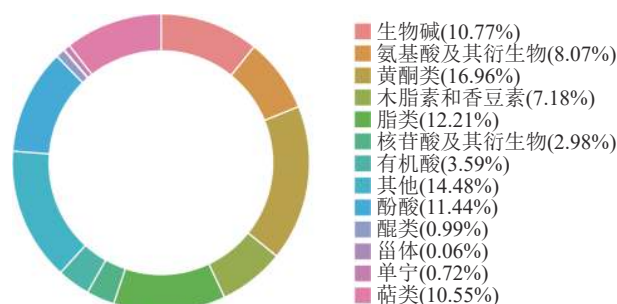
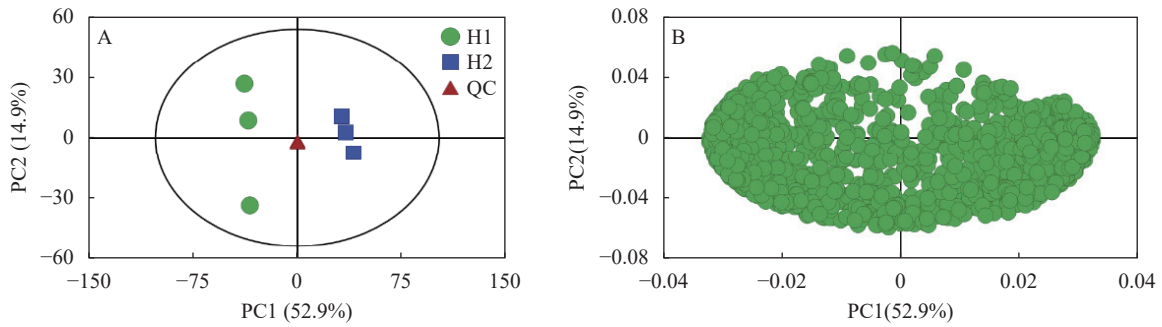


图 2 2 种枳椇属植物果梗代谢物分类

Figure 2 Metabolite classification of fruit pedicels in two *Hovenia* species

### 2.2 2 种枳椇果梗代谢组的主成分分析

为揭示 2 种枳椇果梗的代谢物组成差异，采用多维模式识别方法对代谢组数据进行多元统计分析。主成分分析得分表明：2 组样品的 3 个重复良好，代谢组学数据质量可靠 (图 3A)。PC1 和 PC2 分别解释了总变量的 52.9% 和 14.9%，累计贡献率达 67.8%。来自 2 组的样品表现出明显分层，并在第一主成分上分离显著，表明 2 组样品的代谢物在组间差异显著。载荷分析确定各代谢物与 2 个种之间存在相关性 (图 3B)。

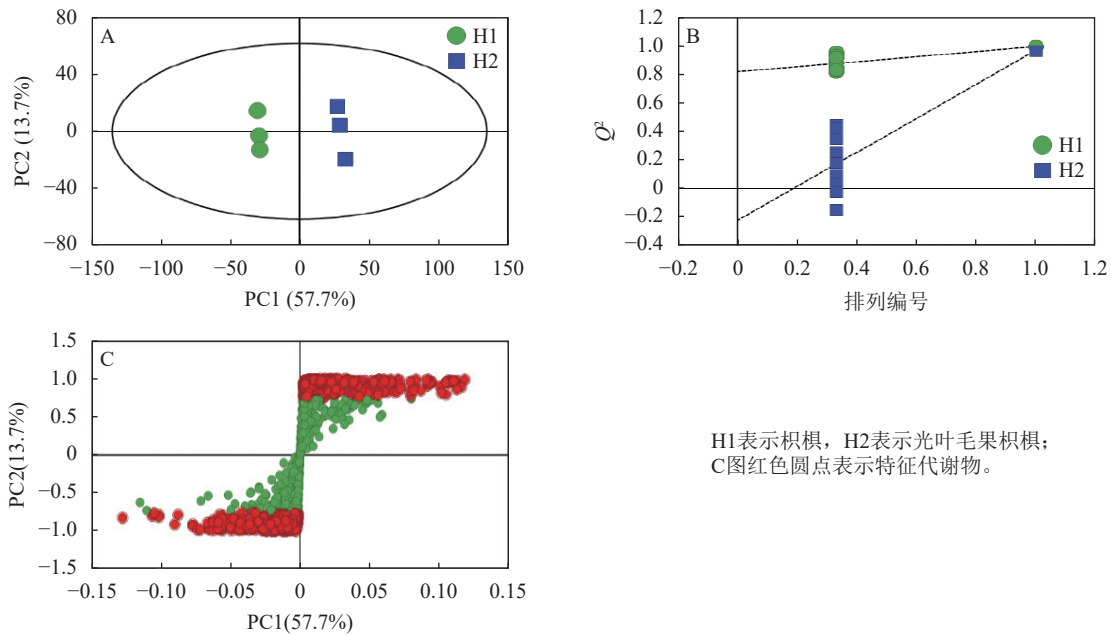


H1枳椇, H2光叶毛果枳椇。QC表示监控实验过程中数据质量的控制样本。B图中圆点表示不同代谢物。

图3 2种枳椇属植物果梗PCA得分图(A)和载荷图(B)

Figure 3 PCA score diagram (A) and loading diagram (B) of fruit pedicels in two *Hovenia* species

OPLS-DA分析表明:第一主成分和第二主成分的贡献率分别为57.7%和13.7%,累计贡献率为71.4%,可更好地解释总体变量(图4A)。 $R^2X=0.775$ ,  $R^2Y=0.998$ ,  $Q^2=0.972$ , 其中 $Q^2>0.9$ 表明模型可靠(图4B)。S-plot图表示主成分与代谢物的相关系数,可通过变量重要性投影( $V_{IP}$ )值筛选差异代谢物(图4C)。



H1表示枳椇, H2表示光叶毛果枳椇;  
C图红色圆点表示特征代谢物。

图4 2种枳椇属植物果梗OPLS-DA图(A)、排序检验图(B)和S-plot图(C)

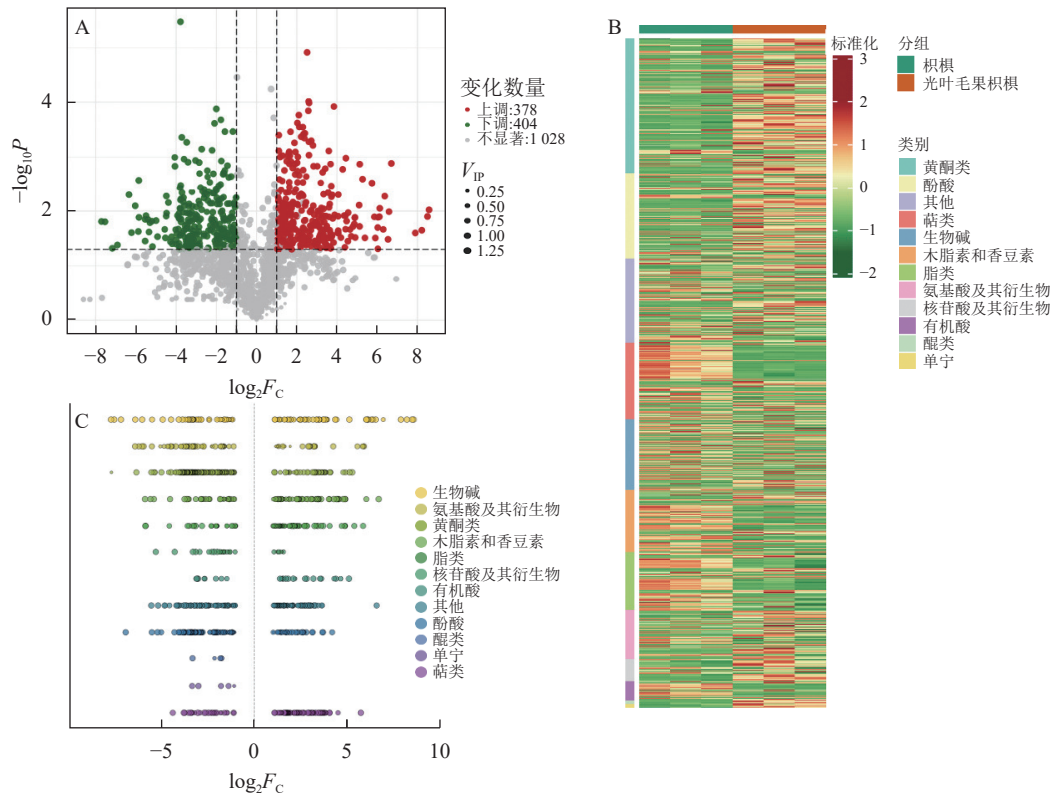
Figure 4 OPLS-DA score plot (A), ranked test plot (B) and S-plot (C) of fruit pedicels in two *Hovenia* species

### 2.3 2种枳椇果梗代谢物的鉴定与分析

为研究枳椇和光叶毛果枳椇果梗的代谢物差异,以 $V_{IP}>1$ 、 $|\log_2 F_C|>1$ 和 $P<0.05$ 为筛选标准筛选出782种差异代谢物。与枳椇果梗相比,378种代谢物在光叶毛果枳椇果梗中上调,404种代谢物下调(图5A)。为更好地了解差异代谢物种类,对筛选的差异代谢物进行标准化处理,并根据代谢物种类进行聚类分析(图5B)。结果表明:782种差异代谢物中,黄酮和酚酸类种类最多,分别为140和102种,其次为萜类95种、生物碱89种、木脂素和香豆素75种、脂类70种、氨基酸及其衍生物56种、核苷酸及其衍生物27种、有机酸22种、单宁4种、醌类4种和其他类98种。与枳椇果梗相比,单宁、醌类代谢物相对含量在光叶无果枳椇果梗中显著下调( $P<0.05$ ,图5C)。

### 2.4 2种枳椇果梗差异代谢物通路分析

为进一步预测差异代谢物的主要生物学功能,将枳椇和光叶毛果枳椇果梗的差异代谢物注释到KEGG数据库,差异代谢物的代谢通路富集分析筛选到3条差异显著的代谢通路(图6),每条通路中富



A. 横坐标与枳椇相比光叶毛果枳椇果梗代谢物的相对含量差异倍数的对数值( $\log_2 F_c$ ), 纵坐标表示差异显著性水平( $-\log_{10} P$ )。每个点代表1种代谢物, 红色表示显著上调, 绿色表示显著下调。B. 差异代谢物聚类热图。C. 每个点表示1种代谢物, 不同颜色表示不同分类, 横坐标表示某物质在2组样品中相对含量差异倍数的对数值( $\log_2 F_c$ )。

图 5 2 种枳椇属植物果梗差异代谢物火山图 (A)、差异代谢物聚类热图 (B) 和差异代谢物散点图 (C)

Figure 5 Differential metabolite volcano plot (A), differential metabolite clustering heat map (B) and differential metabolite scatter plot (C) of fruit pedicels in two *Hovenia* species

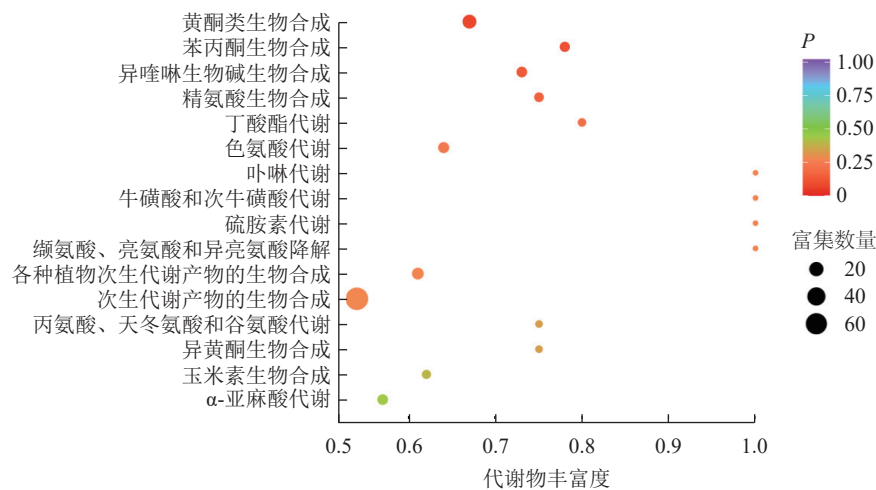


图 6 2 种枳椇属植物果梗差异代谢物的富集通路气泡图

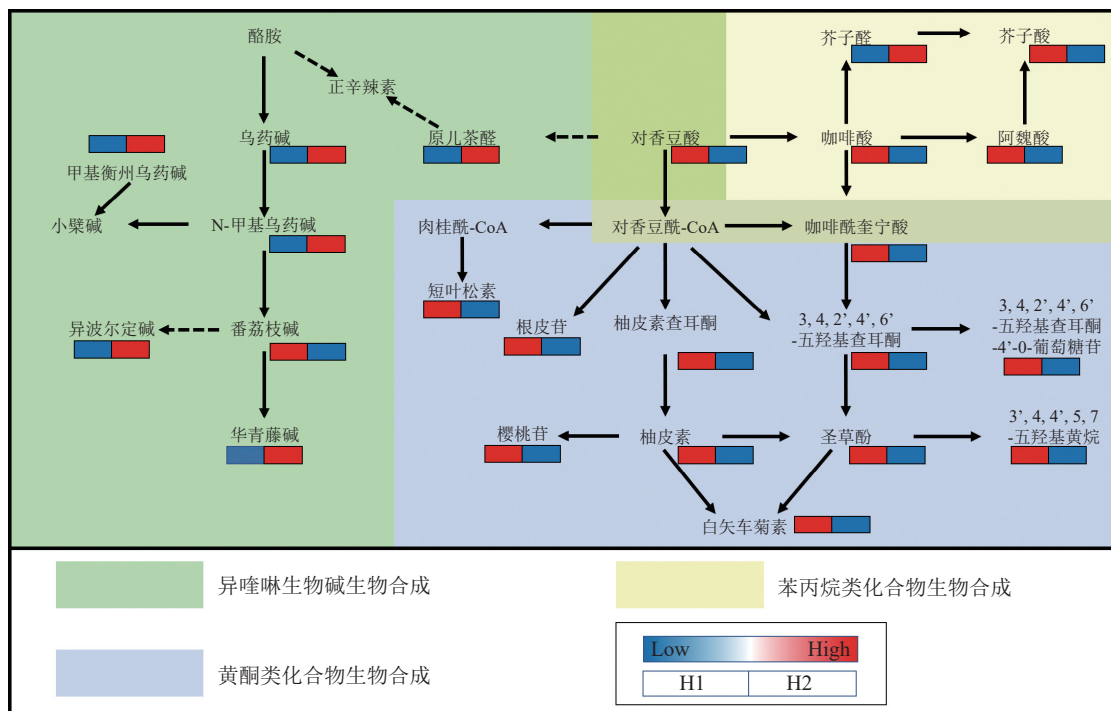
Figure 6 Enrichment pathway bubble diagram of fruit pedicels in two *Hovenia* species

集的代谢物如表 1 所示。差异显著的代谢物主要富集在苯丙烷类化合物、黄酮类化合物和异喹啉生物碱的生物合成途径(图 7)。在这 3 条代谢通路中, 黄酮类化合物生物合成途径富集的差异代谢物在枳椇果梗中的相对含量显著高于光叶毛果枳椇果梗 ( $P < 0.05$ ); 在苯丙烷类化合物生物合成途径中, 除了芥子醛外, 其他富集的差异代谢物在光叶毛果枳椇果梗中的相对含量均显著高于枳椇果梗 ( $P < 0.05$ ); 在异喹啉生物碱生物合成途径中, 除了番荔枝碱外, 其他富集的差异代谢物在光叶毛果枳椇果梗中的相对含量均显著高于枳椇果梗 ( $P < 0.05$ )。

表 1 2种枳椇属植物果梗差异代谢物显著富集通路

Table 1 Metabolites significantly enriched pathways of fruit pedicels in two *Hovenia* species

通路	通路名称	富集的代谢物名称
Map00940	苯丙烷类化合物生物合成	咖啡酰奎宁酸、对香豆酸、芥子醛、芥子酸、咖啡酸、阿魏酸
Map00941	黄酮类化合物生物合成	咖啡酰奎宁酸、柚皮素查耳酮、柚皮素、2',3,4,4',6'-五羟基查耳酮-4'-O-葡萄糖苷、樱桃苷、2',3,4,4',6'-五羟基查耳酮、3',4,4',5,7-五羟基黄酮、短叶松素、圣草酚、根皮苷、白矢车菊素
Map00950	异喹啉生物碱生物合成	甲基衡州乌药碱、N-甲基乌药碱、异波尔定碱、华青藤碱、乌药碱、原儿茶醛、对香豆酸、番荔枝碱



H1. 枳椇; H2. 光叶毛果枳椇。根据KEGG代谢通路数据库绘制, 实线代表直接的代谢转化过程, 虚线代表间接的代谢转化过程。红色方框代表相对含量高, 蓝色方框代表相对含量低。绿色背景表示异喹啉生物碱的生物合成途径, 黄色背景表示苯丙烷类化合物生物合成途径, 蓝色背景表示黄酮类化合物的生物合成途径。颜色重合区域表示代谢途径共有的代谢物。

图 7 2种枳椇属植物果梗代谢差异中苯丙烷类化合物、黄酮类化合物和异喹啉生物碱的生物合成通路及相对含量差异

Figure 7 The biosynthesis pathways and contents of phenylpropanoid, flavonoid and isoquinoline alkaloid in fruit pedicels from two *Hovenia* species

### 3 讨论

本研究对枳椇果梗和光叶毛果枳椇果梗进行广泛靶向代谢组学分析, 以探究2种枳椇属植物果梗的代谢物差异, 共鉴定出1810种代谢物, 其中枳椇果梗中单宁、醌类和生物碱类化合物相对含量较高。KEGG代谢通路分析发现: 2种枳椇果梗差异代谢物苯丙烷类化合物、黄酮类化合物和异喹啉生物碱的生物合成通路富集程度最高。前人研究表明: 乌药碱、甲基衡州乌药碱和N-甲基乌药碱等生物碱化合物具有显著镇痛效果<sup>[19-20]</sup>, 在临床上被用于缓解疼痛, 且具有抗炎、抗高血脂和抗肿瘤等多种药理作用<sup>[21]</sup>。柚皮素、查尔酮等黄酮类化合物亦具有多种生物活性和药理作用, 如较强抗氧化性和抗菌性<sup>[22-25]</sup>, 且查尔酮等黄酮类化合物还具有高甜度和低热量<sup>[26]</sup>, 可作为食品甜味剂。本研究发现: 乌药碱、甲基衡州乌药碱和N-甲基乌药碱等生物碱化合物在光叶毛果枳椇果梗中显著上调, 而查耳酮、柚皮素和2',3,4,4',6'-五羟基查耳酮等黄酮化合物在枳椇果梗中显著上调。因此, 2种枳椇属植物果梗在潜在应用领域可能存在差异, 需进行分类加工利用。

目前, 枳椇的应用不再局限于果汁、果酒类产品<sup>[27]</sup>, 更多聚焦于对果梗中多糖、黄酮和酚酸类化合物的提取和功能性研究<sup>[28-31]</sup>。例如, 黄酮类化合物具有抗菌性<sup>[27]</sup>, 枳椇花粉提取物和茎、叶提取物可抑

制粪肠球菌 *Enterococcus faecalis* 介导的炎症和丙酸杆菌 *Cutibacterium acnes* 引起的痤疮<sup>[32-33]</sup>。本研究发现：枳椇果梗比光叶毛果枳椇果梗黄酮类化合物相对含量更高，更适合用于提取黄酮类化合物。然而，目前对于枳椇果梗黄酮类化合物抗菌性的研究及其提取物在抗菌上的应用尚欠缺。单宁、醌类具多样生物活性，可用于抗菌和抗病毒作用<sup>[34-36]</sup>，但也存在潜在危害，例如，较高水平的单宁可与消化酶结合，影响消化功能<sup>[37]</sup>，且可与蛋白质形成不溶性复合物，可能会干扰蛋白质和其他营养元素的吸收<sup>[38]</sup>。部分醌类物质可能对肾脏、肝脏有损害<sup>[39]</sup>，还被认为具有致癌作用<sup>[40-41]</sup>。因此，在进行枳椇产品的开发利用时，需进行充分的安全性评价。

研究表明，苯丙烷类化合物、黄酮类化合物和异喹啉生物碱的生物合成途径是 2 种枳椇果梗中差异最显著的 3 条代谢通路，且多种中间产物也存在显著差异。这些差异代谢物与果梗感官差异的关系还需更多试验解析。

## 4 结论

同一生态条件下，2 种枳椇果梗的代谢谱存在显著差异，特别是具有药用价值和高甜度的生物碱和黄酮类代谢产物相对含量。这可能与 2 种枳椇果梗感官质量差异的形成有一定关系。本研究结果可为 2 种枳椇属植物的特征化合物提取与利用及优良品种的选育提供理论支撑。

## 5 参考文献

- [1] 卢孟飞, 陈瞳晖, 莫双凤, 等. 拐枣主栽品种果实的经济性状和营养成分分析及综合评价[J]. 经济林研究, 2024, 42(2): 1 - 10.  
LU Mengfei, CHEN Tonghui, MO Shuangfeng, *et al.* Comprehensive evaluation and analysis on fruit economic characteristics and nutrient composition of *Hovenia* varieties [J]. *Non-wood Forest Research*, 2024, 42(2): 112 - 121.
- [2] 向进乐, 杜琳, 朱文学, 等. 枳椇果梗营养功能与加工利用[J]. 中国林副特产, 2015(1): 98 - 101.  
XIANG Jinle, DU Lin, ZHU Wenxue, *et al.* Research progress in nutrition and utilization of *Hovenia* peduncles [J]. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2015(1): 98 - 101.
- [3] 谢志民. 枳椇和枳椇子的本草考证[J]. 中药材, 1994, 17(6): 44 - 45, 56.  
XIE Zhimin. Herbolological study of "Zhiju" and "Zhijuzi" [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 1994, 17(6): 44 - 45, 56.
- [4] 陆石英, 覃志高. 药食两用枳椇的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1865 - 1870.  
LU Shiyong, QIN Zhigao. Research progress on *Hovenia dulcis* Lindl. for medicine and food [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(6): 1865 - 1870.
- [5] 徐方方, 刘博, 张晓琦. 枳椇属化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4827 - 4835.  
XU Fangfang, LIU Bo, ZHANG Xiaoqi. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Hovenia* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(20): 4827 - 4835.
- [6] WANG Mingchun, ZHU Peilei, JIANG Changxing, *et al.* Preliminary characterization, antioxidant activity in vitro and hepatoprotective effect on acute alcohol-induced liver injury in mice of polysaccharides from the peduncles of *Hovenia dulcis* [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(9): 2964 - 2970.
- [7] 嵇扬, 陆红. 枳椇子研究进展[J]. 中草药, 2002, 33(9): 102 - 104.  
JI Yang, LU Hong. Research progress on *Hovenia dulcis* Thunb. [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2002, 33(9): 102 - 104.
- [8] 时涛, 王晓玲, 陈振德, 等. 枳椇子化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中药材, 2006, 29(5): 510 - 513.  
SHI Tao, WANG Xiaoling, CHEN Zhende, *et al.* Research progress of chemical constituents and pharmacological activities of *Hovenia dulcis* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2006, 29(5): 510 - 513.
- [9] ZHU Mingzhi, LI Na, ZHAO Ming, *et al.* Metabolomic profiling delineate taste qualities of tea leaf pubescence [J]. *Food Research International*, 2017, 94: 36 - 44.
- [10] AKHATOU I, SAYAGO A, GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ R, *et al.* Application of targeted metabolomics to investigate optimum growing conditions to enhance bioactive content of strawberry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

- 2017, **65**(43): 9559 – 9567.
- [11] YANG Ruichun, LI Yunfeng, ZHANG Yuanyuan, *et al.* Widely targeted metabolomics analysis reveals key quality-related metabolites in kernels of sweet corn [J/OL]. *International Journal of Genomics*, 2021, **2021**(1): 2654546[2024-06-05]. doi: [10.1155/2021/2654546](https://doi.org/10.1155/2021/2654546).
- [12] QIAN Qixia, ZHANG Huicong, ZHANG Pengwei, *et al.* Integrated transcriptomics and metabolomics provide new insights into the leaf coloration of a bamboo variant *Phyllostachys violascens* var. *flavistriatus* [J/OL]. *Scientia Horticulturae*, 2024, **334**: 113330[2024-06-05]. doi: [10.1016/j.scienta.2024.113330](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113330).
- [13] WEI Kailing, LIU Meiya, SHI Yifan, *et al.* Metabolomics reveal that the high application of phosphorus and potassium in tea plantation inhibited amino-acid accumulation but promoted metabolism of flavonoid [J/OL]. *Agronomy*, 2022, **12**(5): 1086[2024-06-05]. doi: [10.3390/agronomy12051086](https://doi.org/10.3390/agronomy12051086).
- [14] ZHANG Hua, SONG Yakang, FAN Zhenlei, *et al.* Aluminum supplementation mediates the changes in tea plant growth and metabolism in response to calcium stress [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, **25**(1): 530[2024-06-05]. doi: [10.3390/ijms25010530](https://doi.org/10.3390/ijms25010530).
- [15] ZHANG Hua, LI Chunlei, WEI Kailing, *et al.* The reduction of tea quality caused by irrational phosphate application is associated with anthocyanin metabolism [J/OL]. *Beverage Plant Research*, 2023, **3**: 10[2024-06-05]. doi: [10.48130/BPR-2023-0010](https://doi.org/10.48130/BPR-2023-0010).
- [16] PENG Han, DENG Zeyuan, CHEN Xuan, *et al.* Major chemical constituents and antioxidant activities of different extracts from the peduncles of *Hovenia acerba* Lindl. [J]. *International Journal of Food Properties*, 2018, **21**(1): 2135 – 2155.
- [17] YANG Zhijian, CHEN Hui, LIN Chaimei, *et al.* Comprehensive evaluation of quality traits of *Hovenia acerba* germplasm resources in Fujian Province [J/OL]. *Forests*, 2023, **14**(2): 204[2024-06-05]. doi: [10.3390/f14020204](https://doi.org/10.3390/f14020204).
- [18] NIIYA M, SHIMATO Y, OHNO T, *et al.* Effects of *Hovenia dulcis* fruit and peduncle extract on alcohol metabolism [J/OL]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, **321**: 117541[2024-06-05]. doi: [10.1016/j.jep.2023.117541](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117541).
- [19] 杨舜伊, 袁纯红, 蒋高华, 等. 乌头属植物生物碱研究新进展[J]. 湖北农业科学, 2020, **59**(23): 5 – 10.  
YANG Shunyi, YUAN Chunhong, JIANG Gaohua, *et al.* Recent advance of alkaloids in genus *Aconitum* [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2020, **59**(23): 5 – 10.
- [20] 黄茜, 孙明丽, 李腾飞, 等. 乌头生物碱镇痛作用及机制研究进展[J]. 神经药理学报, 2017, **7**(3): 21 – 32.  
HUANG Qian, SUN Mingli, LI Tengfei, *et al.* Research progress on mechanisms underlying aconitines analgesia [J]. *Journal of Neuropharmacology*, 2017, **7**(3): 21 – 32.
- [21] 邢梦雨, 田崇梅, 夏道宗. 乌药化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017, **29**(12): 2147 – 2151.  
XING Mengyu, TIAN Chongmei, XIA Daozong. Review on chemical constituents and pharmacological effects of *Lindera aggregata* Kosterm [J]. *Natural Product Research and Development*, 2017, **29**(12): 2147 – 2151.
- [22] DUDA-MADEJ A, STECKO J, SOBIERAJ J, *et al.* Naringenin and its derivatives: health-promoting phytochemical against resistant bacteria and fungi in humans [J/OL]. *Antibiotics*, 2022, **11**(11): 1628[2023-06-05]. doi: [10.3390/antibiotics11111628](https://doi.org/10.3390/antibiotics11111628).
- [23] PEREIRA R, SILVA A M S, RIBEIRO D, *et al.* Bis-chalcones: a review of synthetic methodologies and anti-inflammatory effects [J/OL]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, **252**: 115280[2024-06-05]. doi: [10.1016/j.ejmech.2023.115280](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115280).
- [24] RAMMOHAN A, REDDY J S, SRAVYA G, *et al.* Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2020, **18**(2): 433 – 458.
- [25] UÇAR K, GÖKTAŞ Z. Biological activities of naringenin: a narrative review based on in vitro and in vivo studies [J]. *Nutrition Research*, 2023, **119**: 43 – 55.
- [26] 彭颖, 潘思轶, 张德新. 柚皮苷二氢查尔酮的制备及其呈甜机理研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, **48**(1): 21 – 28.  
PENG Ying, PAN Siyi, ZHANG Dexin. Preparation and the mechanism of sweet taste of naringin dihydrochalcone [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, **48**(1): 21 – 28.
- [27] 黎继烈. 枳椇果酒的酿制工艺[J]. 食品与发酵工业, 2002(12): 71 – 73.  
LI Jilie. The brewing process of *Hovenia dulcis* fruit wine [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2002(12): 71 – 73.
- [28] 向进乐, 李志西, 甘峰, 等. 枳椇果梗不同类型酚酸含量及抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2011, **37**(8): 106 – 111.



- XIANG Jinle, LI Zhixi, GAN Feng, *et al.* Determination of four different phenolic acids of *Hovenia acerba* fruit and their antioxidant activities [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2011, **37**(8): 106 – 111.
- [29] 张玉超, 张智淮, 刘良禹, 等. 枳椇果梗黄酮的提取及其抗氧化性[J]. 食品科技, 2024, **49**(4): 251 – 260.
- ZHANG Yuchao, ZHANG Zhihuai, LIU Liangyu, *et al.* Extraction and antioxidant activity of flavone from *Hovenia dulcis* peduncle [J]. *Food Science and Technology*, 2024, **49**(4): 251 – 260
- [30] 刘旭东, 张玉超, 朱思洁, 等. 枳椇果梗多糖的提取工艺优化及其抗氧化性[J]. 食品工业科技, 2023, **44**(11): 230 – 237.
- LIU Xudong, ZHANG Yuchao, ZHU Sijie, *et al.* Optimization of extraction process of polysaccharides from *Hovenia dulcis* fruit pedicels and its antioxidant activity [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, **44**(11): 230 – 237.
- [31] 刘菁华, 骆洁雅, 郭鹏, 等. 枳椇子黄酮的含量测定及其抗氧化作用的分子机制[J]. 中国兽医杂志, 2024, **60**(2): 120 – 125.
- LIU Jinghua, LUO Jieya, GUO Peng, *et al.* Content determination of flavonoids in *Hovenia dulcis* and its molecular mechanism of antioxidant effect [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2024, **60**(2): 120 – 125.
- [32] CHOI H A, AHN S O, LIM H D, *et al.* Growth suppression of a gingivitis and skin pathogen *Cutibacterium* (*Propionibacterium*) acnes by medicinal plant extracts [J/OL]. *Antibiotics*, 2021, **10**(9): 1092[2024-06-05]. doi: [10.3390/antibiotics10091092](https://doi.org/10.3390/antibiotics10091092).
- [33] YOU R, KWON O Y, WOO H J, *et al.* *Hovenia* monofloral honey can attenuate *Enterococcus faecalis* mediated biofilm formation and inflammation [J]. *Food Science of Animal Resources*, 2022, **42**(1): 84 – 97.
- [34] 杜国成. 中药鞣质成分的药理作用探析[J]. 中国医药科学, 2011, **1**(16): 27, 33.
- DU Guocheng. Pharmacological effects analysis of tannins in traditional chinese medicine [J]. *China Medicine and Pharmacy*, 2011, **1**(16): 27, 33.
- [35] WANG Peng, WEI Jia, HUA Xin, *et al.* Plant anthraquinones: classification, distribution, biosynthesis, and regulation [J/OL]. *Journal of Cellular Physiology*, 2023[2024-06-05]. doi: [10.1002/jcp.31063](https://doi.org/10.1002/jcp.31063).
- [36] ZHAO Lihua, ZHENG Lin. A review on bioactive anthraquinone and derivatives as the regulators for ROS [J/OL]. *Molecules*, 2023, **28**(24): 8139[2024-06-05]. doi: [10.3390/molecules28248139](https://doi.org/10.3390/molecules28248139).
- [37] GRIFFITHS D W. *Nutritional and Toxicological Significance of Enzyme Inhibitors in Foods* [M]. Boston: Springer, 1986: 509 – 516
- [38] van BUREN J P, ROBINSON W B. Formation of complexes between protein and tannic acid [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1969, **17**(4): 772 – 777.
- [39] SONG Shiming, GAO Yanxia, FENG Shuai, *et al.* Widespread occurrence of two typical N, N'-substituted p-phenylenediamines and their quinones in humans: association with oxidative stress and liver damage [J/OL]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, **468**: 133835[2024-06-05]. doi: [10.1016/j.jhazmat.2024.133835](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133835).
- [40] CAVALIERI E, ROGAN E. The 3, 4-quinones of estrone and estradiol are the initiators of cancer whereas resveratrol and N-acetylcysteine are the preventers [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(15): 8238[2024-06-05]. doi: [10.3390/ijms22158238](https://doi.org/10.3390/ijms22158238).
- [41] ZAMORA R, HIDALGO F J. Formation of naphthoquinones and anthraquinones by carbonyl-hydroquinone/benzoquinone reactions: a potential route for the origin of 9, 10-anthraquinone in tea [J/OL]. *Food Chemistry*, 2021, **354**: 129530[2024-06-05]. doi: [10.1016/j.foodchem.2021.129530](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129530).