



# 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的枸骨叶和果实化学成分的比较研究

刘洁<sup>1a,2</sup>, 翁佳琦<sup>1b,2</sup>, 祝滕轲<sup>1a,2</sup>, 郭建军<sup>1a,2</sup>, 俞梅兰<sup>1a,2</sup>

(1. 浙江理工大学, a. 生命科学与医药学院; b. 化学与化工学院, 杭州 310018; 2. 浙江理工大学绍兴生物医药研究院有限公司, 浙江绍兴 312090)

**摘要:** 为探索枸骨不同部位的化学成分及其差异, 采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(Ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术快速鉴定枸骨叶和果实中的化学成分, 进一步运用正交偏最小二乘法-判别分析(Orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)和聚类热图分析两者的成分差异, 并初步探索枸骨叶中三萜类化合物的质谱裂解规律。结果表明: 从枸骨叶中鉴定出 54 种化合物, 包括 29 个萜类、7 个黄酮类和 18 个其他类化合物; 从枸骨果实中鉴定出 52 种化合物, 包括 27 个萜类、7 个黄酮类和 18 个其他类化合物。枸骨叶和果实存在 12 种差异性成分, 其中枸骨叶中的活性成分种类更为丰富且含量更高, 较枸骨果实含有较丰富的三萜类化合物; 枸骨果实中有机酸类化合物较多。枸骨叶中三萜类化合物在质谱裂解过程中易发生 C 环的断裂和逆狄尔斯-阿德尔(Retro Diels-Alder reaction, RDA)裂解反应, 且常出现重排。该研究探索了枸骨叶和果实发挥药效的物质基础, 并揭示了它们不同部位间化学成分的差异, 为相关研究提供了科学依据, 也为进一步开发和综合利用不同部位的枸骨提供了理论基础。

**关键词:** 枸骨; 超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱; 化学成分; 差异成分; 裂解规律

**中图分类号:** O657.63; R282.6

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-3851(2025)05-0403-13

**引文格式:** 刘洁, 翁佳琦, 祝滕轲, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的枸骨叶和果实化学成分的比较研究[J]. 浙江理工大学学报(自然科学), 2025, 53(3): 403-415.

**Reference Format:** LIU Jie, WENG Jiaqi, ZHU Chengke, et al. A comparative study on the chemical constituents of *Ilex cornuta* leaves and fruits based on UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2025, 53(3): 403-415.

## A comparative study on the chemical constituents of *Ilex cornuta* leaves and fruits based on UPLC-Q-TOF-MS/MS

LIU Jie<sup>1a,2</sup>, WENG Jiaqi<sup>1b,2</sup>, ZHU Chengke<sup>1a,2</sup>, GUO Jianjun<sup>1a,2</sup>, YU Meilan<sup>1a,2</sup>

(1a. College of Life Sciences and Medicine; 1b. School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Zhejiang Sci-Tech University Shaoxing Academy of Biomedicine, Shaoxing 312090, China)

**Abstract:** To explore the chemical components and their differences in different parts of *Ilex cornuta*, the ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) technology was employed for the rapid identification of these constituents. The orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and cluster thermograms were utilized to analyze the differences between them, and the mass spectrometry fragmentation patterns of triterpenoids in *Ilex cornuta* leaves were preliminarily examined. The findings indicated that 54 chemicals were discovered from *Ilex cornuta* leaves, comprising 29 terpenoids, 7 flavonoids, and 18 other compounds. A total of 52 chemicals were discovered from the fruit of *Ilex cornuta*, comprising 27

收稿日期: 2024-10-21 网络出版日期: 2025-01-23

基金项目: 浙江省“领雁”科技攻关计划项目(2023C02017); 绍兴市“三位一体”科技项目(2024B3002)

作者简介: 刘洁(2000—), 女, 安徽宣城人, 硕士研究生, 主要从事中药活性成分方面的研究。

通信作者: 俞梅兰, E-mail: meilanyu@zstu.edu.cn

terpenoids, 7 flavonoids, and 18 other compounds. Altogether, there were 12 different components in *Ilex cornuta* leaves and fruits. Specifically, the active constituents of *Ilex cornuta* leaves were more prevalent and of greater concentration. The leaves of *Ilex cornuta* possessed a higher concentration of triterpenoids compared to its fruits, although the fruits exhibited a greater abundance of organic acids. During mass spectrometry fragmentation, triterpenoids in *Ilex cornuta* leaves underwent C-ring cleavages and Retro Diels-Alder reactions (RDA), and rearrangement occurred frequently. This study clarified the pharmacodynamic material basis of *Ilex cornuta* leaves and fruits and revealed the differences in chemical components among different parts, thus forming a scientific basis for future research and a theoretical framework for the comprehensive use of different parts of *Ilex cornuta*.

**Key words:** *Ilex cornuta*; UPLC-Q-TOF-MS/MS; chemical constituents; differential ingredients; fragmentation rules

## 0 引言

枸骨(*Ilex cornuta* Lindl. et. Paxt)是一种冬青科冬青属药用植物,广泛生长于长江中下游地区。其根、茎、叶、果均具有药理活性<sup>[1]</sup>,《中华本草》记载,枸骨叶具有养阴清热、祛风除湿和平肝益肾等药学功效<sup>[2]</sup>;《中国药典》记载,枸骨叶是枸骨的主要用药部位,可用于治疗肺癆咯血、骨蒸潮热、头晕目眩和高血压等症状<sup>[3]</sup>。现代药理研究表明,枸骨叶具有保护心肌细胞、抑菌抗炎、护肝、保护神经、抗生育等药理作用<sup>[4-5]</sup>,而枸骨根也具有清风热、活血化痰<sup>[6]</sup>以及治疗关节疼痛和牙痛<sup>[7]</sup>的功效。

枸骨中含有三萜类、黄酮类和多糖类化合物等多种活性成分<sup>[8]</sup>。三萜类化合物是枸骨中最主要的药理活性物质,主要结构类型为熊果烷型、齐墩果烷型和羽扇豆烷型,以游离态、苷或酯的形式存在,具有抗癌、抗肿瘤、抗炎、抗菌、降血脂、改善糖尿病和增强免疫功能等功效<sup>[9]</sup>。目前对枸骨的研究和应用主要集中在枸骨叶上,有关枸骨果实的研究主要围绕其观赏价值<sup>[10]</sup>和活性成分提取工艺<sup>[11-12]</sup>展开,关于枸骨果实中的化学成分研究较少,有关枸骨叶和果实 2 个不同部位成分差异的系统性研究尚未见报道。

液质联用分析技术(Liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)是中草药天然活性成分分析和鉴定的常用手段,同时兼具高效液相色谱的高效分离能力和质谱的高灵敏度。其原理是利用液相色谱对待测物质初次分离,通过质荷比完成二次分离,收集不同化合物保留时间、分子量及特征碎片等信息,并根据被测组分在质量分析器中的响应曲线关系进行定性分析和定量计算对中草药中复杂组分混合物的分离鉴定<sup>[13]</sup>。超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(Ultra-high performance

liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术属于液质联用分析技术中的一种,该技术将超高效液相色谱和四极杆-飞行时间质谱结合,不仅能对中药材中的微量成分进行更准确的定量,还能对复杂物质进行全成分分析,从而得到样品的整体化合物信息,广泛应用于中药的质量鉴别、含量测定及代谢组学研究等<sup>[14-15]</sup>。

本文利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分别对枸骨叶和果实中的活性成分鉴定分析,进而明确枸骨叶和果实中的活性成分,揭示其发挥药效的物质基础;通过正交偏最小二乘法判别分析(Orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)和聚类热图进一步分析枸骨叶和果实的成分差异,筛选出差异性成分并将分析结果可视化;基于质谱信息,本文进一步对枸骨叶中三萜类化合物的裂解途径进行了初步解析。为枸骨叶和果实的药理活性提供了研究思路,也为枸骨的全面应用提供了科学依据。

## 1 实验部分

### 1.1 材料、试剂与仪器

#### 1.1.1 植物材料

枸骨由宁波吉道贝叶植物有限公司提供,产地为中国浙江省宁波市象山县丁塘镇下营村药材生产基地(北纬 29°14',东经 121°52')。

#### 1.1.2 试剂

质谱纯试剂甲醇、乙腈和甲酸均为上海麦克林生化科技股份有限公司提供,实验用水为娃哈哈纯净水。

#### 1.1.3 仪器

DF-35 中药粉碎机(大德中药机械有限公司)、旋转蒸发仪(德国艾卡仪器有限公司)、超高效液相色

谱/高分辨四极杆飞行时间串联液质联用仪(美国沃特世科技有限公司)、XS205 型电子分析天平(美国梅特勒托利多国际公司)、Icen-24R 台式微量冷冻离心机(杭州奥盛仪器有限公司)和 DS-5510DT 超声仪(上海方需科技有限公司)。

## 1.2 实验方法及数据处理

### 1.2.1 枸骨醇提物的制备

分别取 20 g 烘干粉碎的枸骨叶片和枸骨果实粉末,按照 1:45 的料液比加入 900 mL 的体积浓度为 55% 乙醇,混合均匀后放入 72 °C 超声仪中超声 1.5 h,超声后抽滤保存滤液,剩余滤渣重复上述步骤 2 次后弃去,以充分提取滤渣中的有效成分。合并 3 次滤液后旋转蒸发至 1/3 体积,置于 4 °C 冰箱保存备用。

### 1.2.2 色谱条件

枸骨叶片和果实醇提物分别经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后,取 1  $\mu\text{L}$  直接进样分析。采用超高液相色谱/高分辨四极杆飞行时间串联液质联用仪进行分离鉴定,色谱柱为 BEH C18 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ),流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)—5 mmol/L 甲酸铵水(B),流速为 0.5 mL/min。梯度洗脱条件如下:在 0~15 min 内 90%~5% A, 10%~95% B;在 15~18 min 内 5% A, 95% B;在 18~19 min 内 5%~90% A, 95%~10% B;在 19~20 min 中,90% A, 10% B。

### 1.2.3 质谱条件

质谱离子化采用电喷雾离子源,正、负离子模式全扫描,采集质量数范围:50~1200 Da。质谱仪的流速为 0.5 mL/min,毛细管电压 2.5 kV,锥孔电压 30 V,离子源温度 135 °C,雾化气温度 500 °C,锥孔气流速为 50 L/h,雾化气流速为 800 L/h。

### 1.2.4 数据处理

采用 Waters 自带的 UNIFI 软件收集保留时间和碎片离子等数据,并对色谱峰进行自动识别、峰匹配、峰对齐、峰提取、峰积分和归一化等处理,根据得到的二级质谱结合本地冬青属化合物数据库、ChemSpider 在线数据库及相关文献对代谢物进行鉴定,以推测可能的化合物裂解规律。通过 OPLS-DA 对得到的数据进行分析,基于 OPLS-DA 模型的变量重要性投影(Variable importance in projection, VIP)值,本文初步筛选出了枸骨叶和果实中存在差异的化合物,并进一步通过聚类热图分析进行数据可视化。

## 2 结果与讨论

### 2.1 枸骨叶化合物的鉴定

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对枸骨叶醇提物进行分离鉴定,得到枸骨叶醇提物正、负离子模式下的总离子流图,如图 1 所示。图 1 显示:相较于 ESI<sup>-</sup> 模式,ESI<sup>+</sup> 模式下的质谱响应更强。对正离子模式下总离子流图中各色谱峰进行精确质量数识别,结合文献数据、冬青属植物数据库及裂解规律等信息,将对照品、精确准分子离子峰和二级谱图等进行比对,共鉴定得到 54 个化合物,包括 7 个黄酮类、29 个萜类、3 个多酚类、3 个生物碱类、3 个酯类、3 个有机酸、1 个脂肪酸类、1 个苯丙烷类、1 个芳香醇类、1 个酰胺类和 2 个甾醇类化合物,以上结果说明枸骨叶中的化合物以萜类为主(见表 1)。其中 29 个萜类包括 27 个三萜类、2 个倍半萜类化合物,三萜类以五环三萜类为主,主要包括熊果烷型、齐墩果烷型和羽扇豆烷型这三种类型,且熊果烷型三萜为主要结构类型。

### 2.2 枸骨果实化合物的鉴定

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对枸骨果实醇提物进行分离鉴定,得到枸骨果实醇提物正、负离子模式下的总离子流图,如图 2 所示。图 2 显示:相较于 ESI<sup>-</sup> 模式,ESI<sup>+</sup> 模式下质谱响应更强。

对正离子模式下总离子流图中各色谱峰进行了精确质量数识别,结合文献数据、冬青属植物数据库及裂解规律等信息,将对照品、精确准分子离子峰和二级谱图等进行比对,共鉴定得到 52 个化合物,包括 7 个黄酮类、27 个萜类、6 个有机酸类、3 个多酚类、2 个生物碱类、2 个脂肪酸类、1 个酯类、1 个苯丙烷类、1 个醌类、1 个酰胺类、1 个甾醇类化合物(见表 2)。枸骨果实中的化合物以萜类为主,其中 27 个萜类包括 24 个三萜类、2 个倍半萜类和 1 个二萜类化合物,枸骨果实中的三萜类化合物以五环三萜类为主,且五环三萜类化合物的结构类型以熊果烷型三萜为主。

### 2.3 枸骨叶和果实差异性成分对比分析

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对枸骨叶和果实中的活性成分进行分析与鉴定,正离子模式下在枸骨叶和果实中分别鉴定出 54 和 52 种活性成分,筛选出 12 种差异性成分,并对其药理活性进行整理归纳,发现其中有 7 种成分只存在于枸骨叶,有 5 种成分只存在于枸骨果实中(见表 3)。

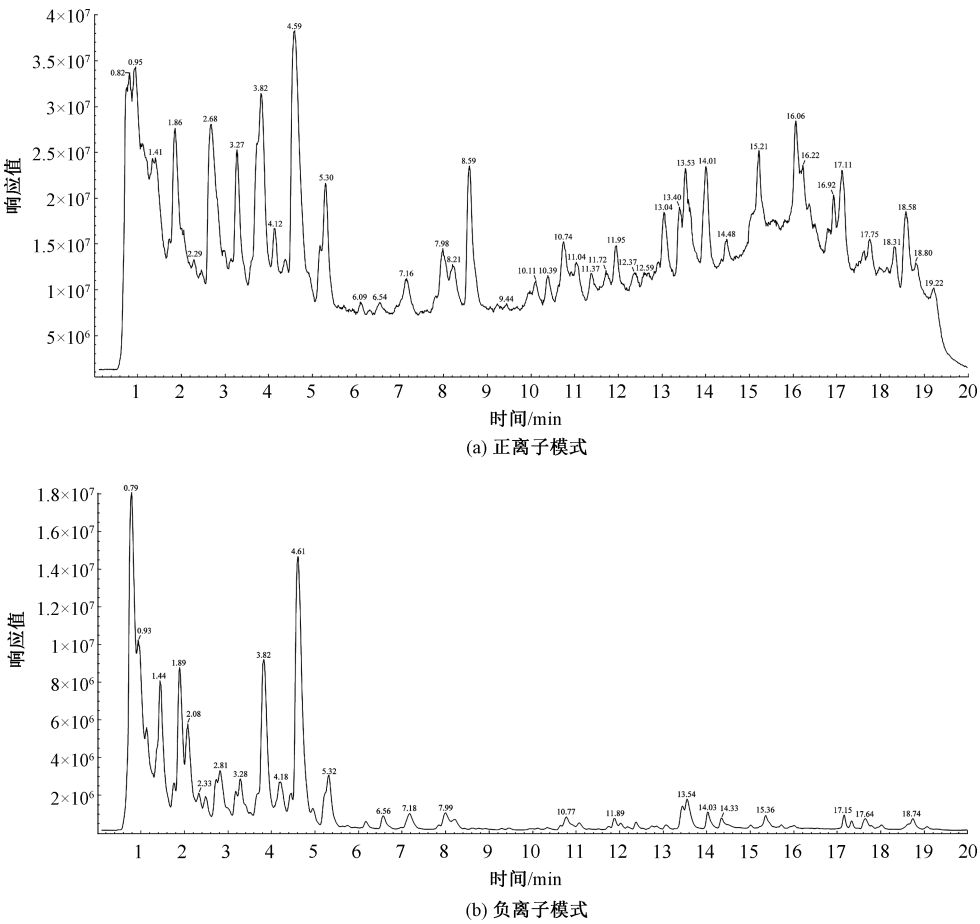


图 1 枸骨叶醇提物的总离子流图

表 1 枸骨叶醇提物正离子模式下的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定结果表

序号	化合物	化合物类型	保留时间/min	分子式	实测质荷比	理论质荷比	加合离子	误差×10 <sup>6</sup>
1	3-羟基去甲酰苯-2-酮	黄酮类	12.42	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	429.3722	428.3654	[M+H] <sup>+</sup>	-2.0
2	金丝桃苷	黄酮类	0.82	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.1008	464.0955	[M+H] <sup>+</sup>	-4.2
3	异鼠李素	黄酮类	0.85	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	317.0636	316.0583	[M+H] <sup>+</sup>	-6.2
4	异鼠李素-3-半乳糖苷	黄酮类	1.20	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	479.1171	478.1111	[M+H] <sup>+</sup>	-2.6
5	三叶豆苷	黄酮类	0.87	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.1056	448.1006	[M+H] <sup>+</sup>	-4.9
6	山柰酚	黄酮类	0.85	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.0530	286.0477	[M+H] <sup>+</sup>	-7.0
7	槲皮素	黄酮类	0.81	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.0478	302.0427	[M+H] <sup>+</sup>	-7.1
8	(1S,4αR,6αR,6As,6βR,8αR,10S,12Ar,14βS)-1-羟基-2,2,6α,6β,9,9,12α-七甲基-10-[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-三羟基氧嘧-2-基]氧基-1,3,4,5,6,6α,7,8,8α,10,11,12,13,14β-十四氢吡烯-4α-羧酸	三萜类	5.95	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	622.4312	604.3975	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.3
9	23-羟基熊果酸	三萜类	6.18	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	473.3628	472.3553	[M+H] <sup>+</sup>	0.5
10	(3β)-3-羟基羽扇-20(30)-烯-29-醛	三萜类	9.04	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	441.3722	440.3654	[M+H] <sup>+</sup>	-1.2
11	3-表齐墩果酸	三萜类	9.06	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	474.3930	456.3604	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.7
12	阿酚酸	三萜类	8.30	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3837	488.3502	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.6
13	积雪草酸	三萜类	8.30	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3837	488.3502	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.6
14	马尾柴酸	三萜类	8.30	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3837	488.3502	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-0.6
15	苦丁茶甙 A	三萜类	1.23	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	826.4937	808.4609	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	-1.2



续表1

序号	化合物	化合物类型	保留时间/min	分子式	实测质荷比	理论质荷比	加合离子	误差 ×10 <sup>6</sup>
16	苦丁茶甙 C	三萜类	4. 81	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	784. 4834	766. 4503	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 0
17	去糖基化苦丁茶甙 C	三萜类	6. 18	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490. 3885	472. 3553	[M+H] <sup>+</sup>	0. 5
18	长梗冬青苷	三萜类	6. 99	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub>	668. 4363	650. 4030	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−0. 8
19	去糖基化长梗冬青苷	三萜类	8. 30	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506. 3837	488. 3502	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−0. 6
20	科罗索酸	三萜类	6. 18	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	473. 3628	472. 3553	[M+H] <sup>+</sup>	0. 5
21	乌发醇	三萜类	8. 66	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	460. 4137	442. 3811	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−2. 6
22	表羽扇豆醇	三萜类	13. 75	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	444. 4192	426. 3862	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 8
23	α-香树脂醇	三萜类	13. 75	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	444. 4192	426. 3862	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 8
24	β-香树脂醇	三萜类	13. 75	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	444. 4192	426. 3862	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 8
25	冬青苷 II	三萜类	6. 18	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	946. 5391	928. 5032	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2. 3
26	去糖基化冬青苷 II	三萜类	8. 14	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	473. 3628	472. 3553	[M+H] <sup>+</sup>	0. 5
27	枸骨叶皂甙 II	三萜类	1. 15	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	946. 5391	928. 5032	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2. 3
28	去糖基化枸骨叶皂甙 II	三萜类	6. 18	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	473. 3628	472. 3553	[M+H] <sup>+</sup>	0. 5
29	坡模酸	三萜类	6. 18	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	473. 3628	472. 3553	[M+H] <sup>+</sup>	0. 5
30	坡模酸-3β-O-α-L-2-乙酰氧基阿拉伯吡喃糖基-28-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	三萜类	1. 23	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	826. 4937	808. 4609	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 2
31	铁冬青酸	三萜类	8. 30	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506. 3837	488. 3502	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−0. 6
32	泰国树脂酸	三萜类	8. 14	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490. 3885	472. 3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−1. 2
33	熊果酸	三萜类	4. 22	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	457. 3668	456. 3604	[M+H] <sup>+</sup>	−1. 8
34	地榆皂苷 I	三萜类	3. 75	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	784. 4849	766. 4503	[M+NH <sub>4</sub> ]	−1. 0
35	δ-卡丁醇	倍半萜类	5. 80	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	240. 2308	222. 1984	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−5. 6
36	补身醇	倍半萜类	5. 80	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	240. 2308	222. 1984	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−5. 6
37	绿原酸	多酚类	0. 78	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355. 1009	354. 0951	[M+H] <sup>+</sup>	−4. 0
38	异绿原酸	多酚类	1. 67	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355. 1009	354. 0951	[M+H] <sup>+</sup>	−4. 0
39	3,4-二咖啡酰奎宁酸	多酚类	0. 79	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	517. 1324	516. 1268	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−3. 3
40	光泽乌头碱	生物碱类	1. 09	C <sub>24</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>4</sub>	401. 2580	401. 2566	[M] <sup>−</sup>	4. 9
41	腺嘌呤核苷	生物碱类	0. 84	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	267. 0975	267. 0977	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	5. 7
42	腺苷	生物碱类	0. 84	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	267. 0975	267. 0977	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	5. 7
43	邻苯二甲酸二异丁酯	酯类	6. 74	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	279. 1580	278. 1518	[M+H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−3. 9
44	二氢猕猴桃内酯	酯类	3. 70	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	181. 1206	180. 1150	[M+H] <sup>+</sup>	−9. 5
45	间苯二甲酸二辛酯	酯类	3. 88	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	408. 3103	390. 2770	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1. 3
46	邻苯二甲酸二甲酯	有机酸类	0. 79	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	195. 0635	194. 0579	[M+H] <sup>+</sup>	−8. 6
47	油酰胺	有机酸类	8. 34	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO	282. 2781	281. 2719	[M+H] <sup>+</sup>	−3. 6
48	N-十六烷酸	有机酸类	5. 54	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	274. 2728	256. 2428	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−4. 6
49	油酸	脂肪酸类	5. 91	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	283. 2613	282. 2559	[M+H] <sup>+</sup>	−6. 4
50	芥子醇	苯丙烷类	0. 83	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	211. 0944	210. 0892	[M+H] <sup>+</sup>	−9. 8
51	2-苯乙醇	芳香醇类	0. 88	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	123. 0792	122. 0732	[M+H] <sup>+</sup>	−9. 7
52	肉豆蔻酰胺	酰胺类	14. 72	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> NO	228. 2307	227. 2249	[M+H] <sup>+</sup>	−6. 5
53	胡萝卜苷	甾醇类	10. 34	C <sub>35</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub>	594. 4734	576. 4390	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1. 0
54	叶酸-5,22-二烯-3-醇	甾醇类	13. 80	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	413. 3771	412. 3705	[M+H] <sup>+</sup>	−4. 0

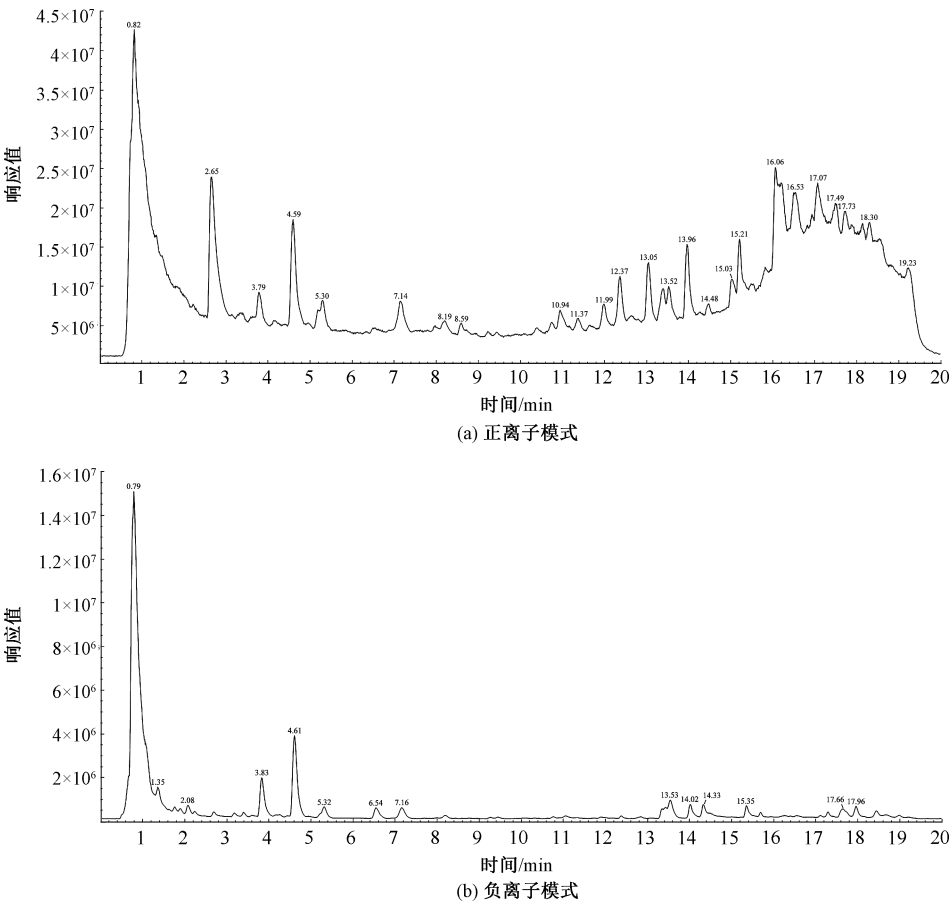


图 2 枸骨果实醇提物的总离子流图

表 2 枸骨果实醇提物正离子模式下的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定结果表

序号	化合物	化合物类型	保留时间/min	分子式	实测质荷比	理论质荷比	加合离子	误差 ×10 <sup>6</sup>
1	3-羟基去甲酰苯-2-酮	黄酮类	12.29	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	446.4008	428.3654	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	3.5
2	金丝桃苷	黄酮类	0.81	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.1010	464.0955	[M+H] <sup>+</sup>	−3.8
3	异鼠李素	黄酮类	0.85	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	317.0630	316.0583	[M+H] <sup>+</sup>	−8.1
4	异鼠李素-3-半乳糖苷	黄酮类	0.86	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	479.1171	478.1111	[M+H] <sup>+</sup>	−2.6
5	三叶豆苷	黄酮类	0.85	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.1057	448.1006	[M+H] <sup>+</sup>	−4.7
6	山柰酚	黄酮类	0.84	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.0524	286.0477	[M+H] <sup>+</sup>	−9.1
7	槲皮素	黄酮类	0.81	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.0482	302.0427	[M+H] <sup>+</sup>	−5.7
8	(1S,4αR,6αR,6As,6βR,8αR,10S,12Ar,14βS)-1-羟基-2,2,6α,6β,9,9,12α-七甲基-10-[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-三羟基氧嘧-2-基]氧基-1,3,4,5,6,6α,7,8,8α,10,11,12,13,14β-十四氢吡烯-4α-羧酸	三萜类	4.93	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	622.4314	604.3975	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	0.0
9	23-羟基熊果酸	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
10	(3β)-3-羟基羽扇-20(30)-烯-29-醛	三萜类	14.06	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	441.3715	440.3654	[M+H] <sup>+</sup>	−2.7
11	3-表齐墩果酸	三萜类	10.96	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	474.3936	456.3604	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−2.4
12	阿酚酸	三萜类	5.93	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3839	488.3502	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.2
13	积雪草酸	三萜类	5.93	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3839	488.3502	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.2
14	马尾柴酸	三萜类	5.93	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3839	488.3502	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.2
15	苦丁茶甙 A	三萜类	0.84	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	808.4636	808.4609	[M] <sup>−</sup>	4.0
16	苦丁茶甙 C	三萜类	4.84	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	784.4862	766.4503	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.5

续表2

序号	化合物	化合物类型	保留时间/min	分子式	实测质荷比	理论质荷比	加合离子	误差×10 <sup>6</sup>
17	去糖基化苦丁茶甙 C	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
18	长梗冬青苷	三萜类	4.00	C <sub>36</sub> H <sub>58</sub> O <sub>10</sub>	668.4357	650.4030	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1.6
19	去糖基化长梗冬青苷	三萜类	5.93	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3839	488.3502	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.2
20	科罗索酸	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
21	乌发醇	三萜类	10.94	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	443.3873	442.3811	[M+H] <sup>+</sup>	−2.4
22	冬青苷II	三萜类	3.56	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	946.5421	928.5032	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	5.4
23	去糖基化冬青苷II	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
24	枸骨叶皂甙II	三萜类	0.93	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	928.4978	928.5032	[M] <sup>−</sup>	−5.2
25	去糖基化枸骨叶皂甙II	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
26	坡模酸	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
27	坡模酸-3β-O-α-L-2-乙酰氧基阿拉伯吡喃糖基-28-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	三萜类	0.84	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	808.4636	808.4609	[M] <sup>−</sup>	4.0
28	铁冬青酸	三萜类	5.93	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	506.3839	488.3502	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.2
29	泰国树脂酸	三萜类	9.07	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	490.3887	472.3553	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−0.9
30	熊果酸	三萜类	10.96	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	474.3936	456.3604	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	−1.3
31	地榆皂苷 I	三萜类	4.84	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	784.4862	766.4503	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	2.5
32	卡山烷二萜 A	二萜类	0.82	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub>	420.1745	420.1784	[M]	−8.1
33	δ-卡丁醇	倍半萜类	5.80	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	240.2306	222.1984	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−6.6
34	补身醇	倍半萜类	5.80	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	240.2306	222.1984	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−6.6
35	绿原酸	多酚类	0.79	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355.1059	354.0951	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	9.8
36	异绿原酸	多酚类	0.79	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355.1059	354.0951	[M+H+NH <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup>	9.8
37	3,4-二咖啡酰奎宁酸	多酚类	0.78	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	517.1306	516.1268	[M+H] <sup>+</sup>	−6.6
38	腺嘌呤核苷	生物碱类	0.80	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	268.1016	267.0977	[M+H] <sup>+</sup>	−9.1
39	腺苷	生物碱类	0.84	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	267.0975	267.0977	[M+NH <sub>4</sub> ]	5.7
40	间苯二甲酸二辛酯	酯类	14.01	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	391.2832	390.2770	[M+H] <sup>+</sup>	−2.7
41	肉桂酸	有机酸类	0.82	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	166.0848	148.0524	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−8.9
42	邻苯二甲酸二异丁酯	有机酸类	6.56	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	279.1578	278.1518	[M+H] <sup>+</sup>	−4.6
43	邻苯二甲酸盐	有机酸类	0.78	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	184.0601	166.0266	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−1.6
44	油酰胺	有机酸类	12.07	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO	282.2779	281.2719	[M+H] <sup>+</sup>	−4.4
45	N-十六烷酸	有机酸类	5.54	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	274.2728	256.2402	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−4.5
46	邻苯二甲酸二甲酯	有机酸类	0.80	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	195.0634	194.0579	[M+H] <sup>+</sup>	−8.9
47	肉豆蔻酸	脂肪酸类	3.85	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	246.2412	228.2089	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−6.4
48	油酸	脂肪酸类	12.14	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	300.2888	282.2559	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	−3.0
49	芥子醇	苯丙烷类	0.84	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	211.0946	210.0892	[M+H] <sup>+</sup>	−9.1
50	肉豆蔻酰胺	酰胺类	8.98	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> NO	228.2308	227.2249	[M+H] <sup>+</sup>	−6.0
51	胡萝卜苷	甾醇类	15.73	C <sub>35</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub>	594.4738	576.4390	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	1.7
52	对苯醌	醌类	0.81	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	126.0573	108.0211	[M+NH <sub>4</sub> ]	−9.9

表 3 枸骨不同部位差异性成分筛选结果表

序号	化合物类型	化合物名称	部位	药理活性	参考文献
1	三萜类	表羽扇豆醇	叶	抗菌性,抗肿瘤	[16-18]
2	三萜类	α-香树脂醇	叶	降血糖,降血脂,抗氧化,抗络氨酸酶活性,抗黄嘌呤氧化酶活性	[19-21]
3	三萜类	β-香树脂醇	叶	降血糖,降血脂,抗菌性,抗氧化,抗炎性,抗癫痫,改善肝纤维化和阿尔兹海默病,抗络氨酸酶活性,抗黄嘌呤氧化酶活性	[22-25]
4	生物碱类	光泽乌头碱	叶	调节小鼠皮肤血流速度	[26]
5	酯类	二氢猕猴桃内酯	叶	抗氧化,改善阿尔兹海默病	[27-28]
6	芳香醇类	2-苯乙醇	叶	改善抑郁样行为	[29]
7	甾醇类	叶酸-5,22-二烯-3-醇	叶	抗氧化,降血糖	[30-32]

续表3

序号	化合物类型	化合物名称	部位	药理活性	参考文献
8	二萜类	卡山烷二萜 A	果实	抗肿瘤	[33]
9	有机酸类	肉桂酸	果实	改善血脂异常、心血管疾病和肝脏糖脂代谢,缓解内毒素中毒,抗氧化,抗炎性,抗肿瘤,抗菌性,抗蛋白质水解性	[34-42]
10	有机酸类	邻苯二甲酸盐	果实	作为耐胃酸薄膜包衣	[43]
11	脂肪酸类	肉豆蔻酸	果实	抗衰老,降血糖,抗炎性,抗菌性	[44-47]
12	醌类	对苯醌	果实	抗菌性,抗肿瘤	[48-49]

将采集后的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 数据导入 MetaboAnalyst 软件,绘制 OPLS-DA 的得分图,并对枸骨叶和果实两组数据中的组内重复性和组间差异性进行分析。通过 OPLS-DA 得分图的横坐标可

以得到组间差距,纵坐标可以得到组内差距,结果发现,枸骨叶和果实的化学成分存在一定差异,且枸骨果实的化学成分组间差异相对较小(见图 3(a))。根据枸骨不同部位的 OPLS-DA 模型分析得到的

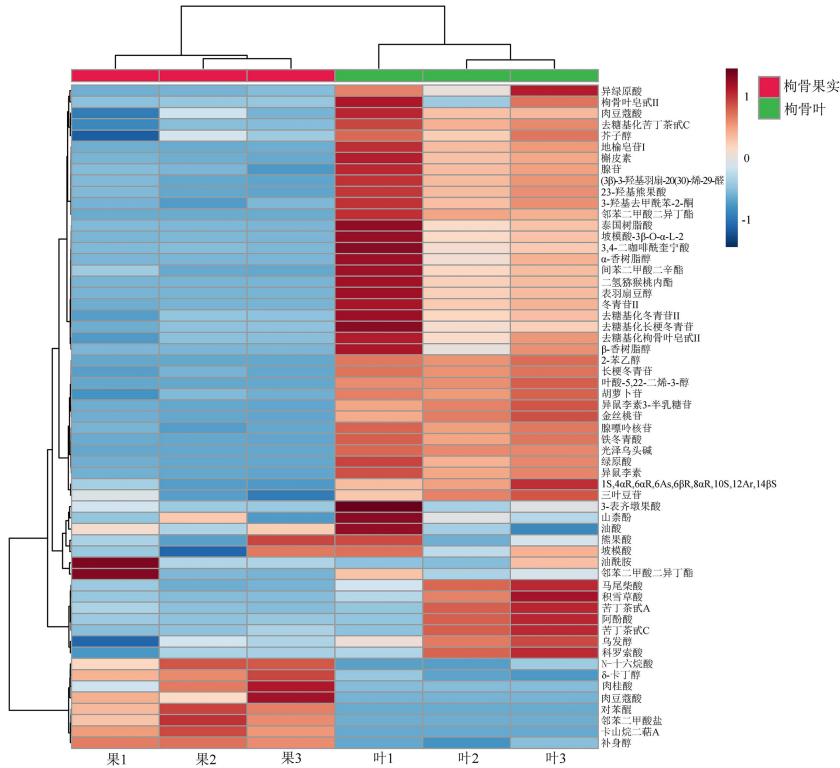
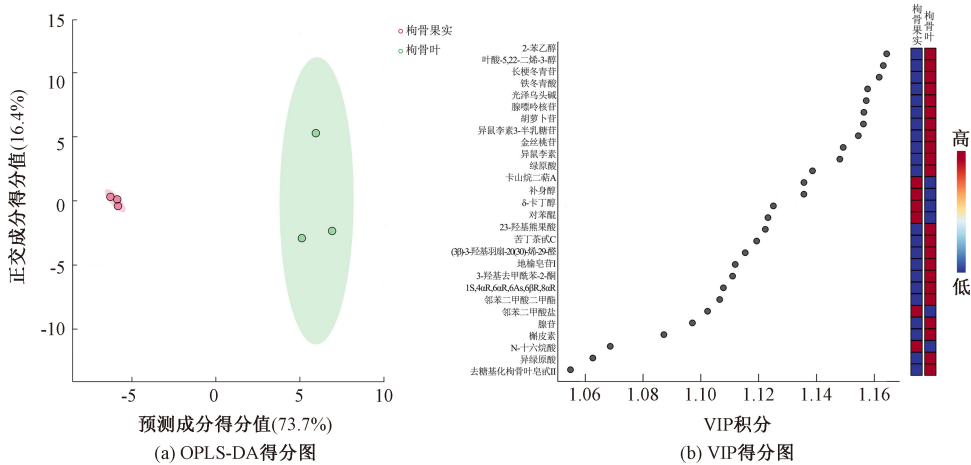


图 3 枸骨不同部位差异性成分统计学分析图



VIP 值进行筛选,以  $VIP>1.0$  为筛选标准对数据进行处理分析,共得到 28 个差异相对较大的活性物质。VIP 值越大,表示该差异活性成分在 OPLS-DA 模型中的重要性越高,其贡献率也越大,结果如图 3(b)所示。图 3(b)表明:VIP 值最高的化合物是 2-苯乙醇和叶酸-5,22-二烯-3-醇,在枸骨果实中并未检测出该成分,这证明这两种化合物为枸骨不同部位的差异标志物,可用来区分枸骨不同部位。以 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术鉴定出的活性成分为依据,对枸骨不同部位进行聚类热图分析,分析结果如图 3(c)所示,图中越接近红色表示该指标数值越大,越接近蓝色表示该指标数值越小。从图 3(c)可以看出,枸骨不同部位在热图中可被区分,且不同部

位的整体化学成分存在一定的差异,枸骨叶中的活性成分种类更为丰富且主要活性成分含量更高。

2.4 枸骨叶中三萜类化合物质谱裂解机理

萜类化合物是枸骨叶的主要药效成分,常以游离态、苷或酯的形式存在<sup>[50-56]</sup>,其中以五环三萜类化合物为主。五环三萜类化合物结构较为丰富,根据其苷元结构的不同,可以分为齐墩果烷型、羽扇豆烷型、熊果烷型和木栓烷型 4 大类(见图 4),枸骨叶中的主要萜类化合物是熊果烷型三萜类化合物。相关文献表明,在质谱裂解过程中,萜类化合物常发生 C 环的断裂和逆狄尔斯-阿德尔(Retro Diels-Alder reaction, RDA)裂解反应,且裂解过程中常出现重排,其中麦氏重排为主要类型<sup>[57]</sup>。

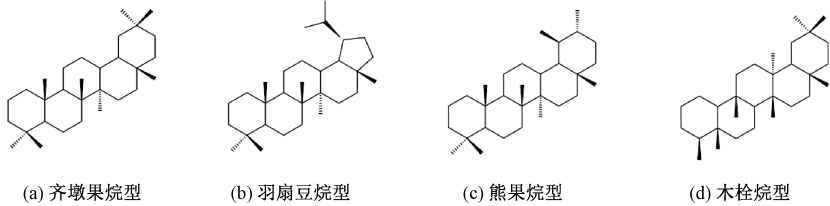


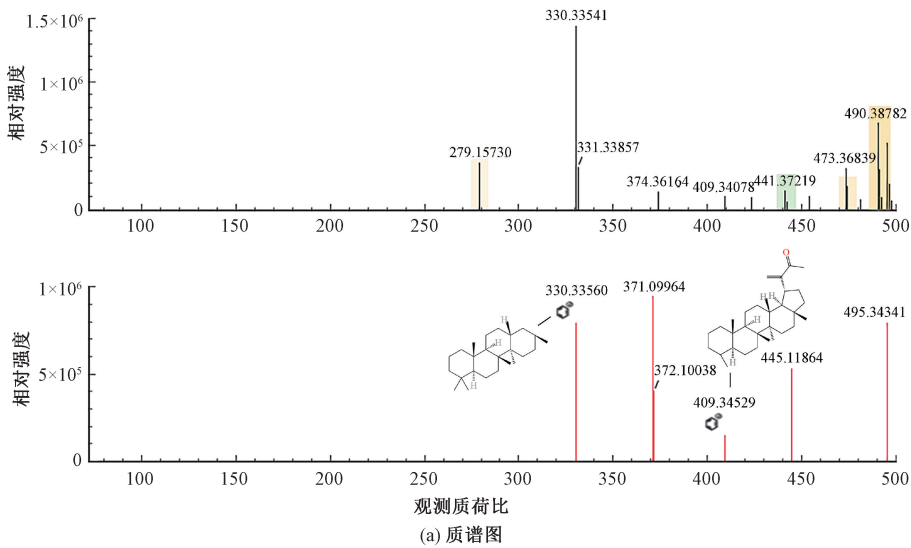
图 4 五环三萜类化合物的结构类型示意图

2.4.1 羽扇豆烷型三萜类化合物

羽扇豆烷型三萜在质谱裂解过程中易发生  $\alpha$ -裂解失去异丙基碎片离子峰<sup>[58]</sup>,枸骨叶中的羽扇豆烷型三萜有(3 $\beta$ )-3-羟基羽扇-20(30)-烯-29-醛和表羽扇豆醇等,在二级质谱图中出现准分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$  441.37,推测其分子式是  $C_{30}H_{48}O_2$ (见图 5(a))。该羽扇豆烷型三萜类化合物一部分在正离子条件下丢失一分子  $H_2O$  和一分子  $CH_3$  得到  $m/z$  409.34,另一部分的五元环发生断裂得到  $m/z$  330.33(见图 5(b)),因此推测该化合物可能为(3 $\beta$ )-3-羟基羽扇-20(30)-烯-29-醛<sup>[59]</sup>。

2.4.2 熊果烷型三萜类化合物

枸骨中的熊果烷型三萜类化合物含量丰富,主要类型包括熊果酸、23-羟基熊果酸、马尾柴酸、长梗冬青苷、科罗素酸、乌发醇和坡模酸等。在二级质谱图中出现了准分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$  456.28,推测其分子式是  $C_{30}H_{48}O_3$ (见图 6(a))。该熊果烷型三萜类化合物在正离子条件下丢失一分子  $H_2O$  得到  $m/z$  为 439.35 的碎片,在此基础上进一步发生裂解得到  $m/z$  191.17 和  $m/z$  141.11 碎片(见图 6(b)),因此推测该化合物可能为熊果酸<sup>[60]</sup>。



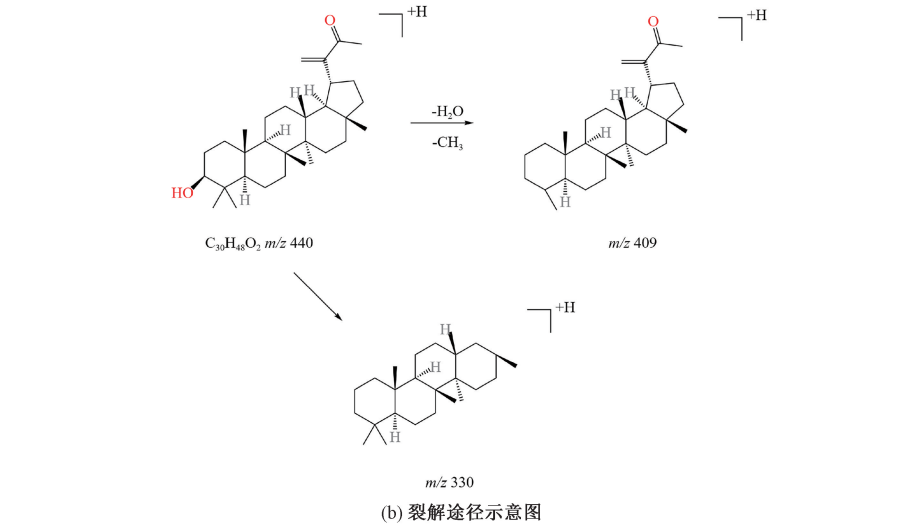


图 5 (3β)-3-羟基羽扇-20(30)-烯-29-醛的质谱图及裂解途径示意图

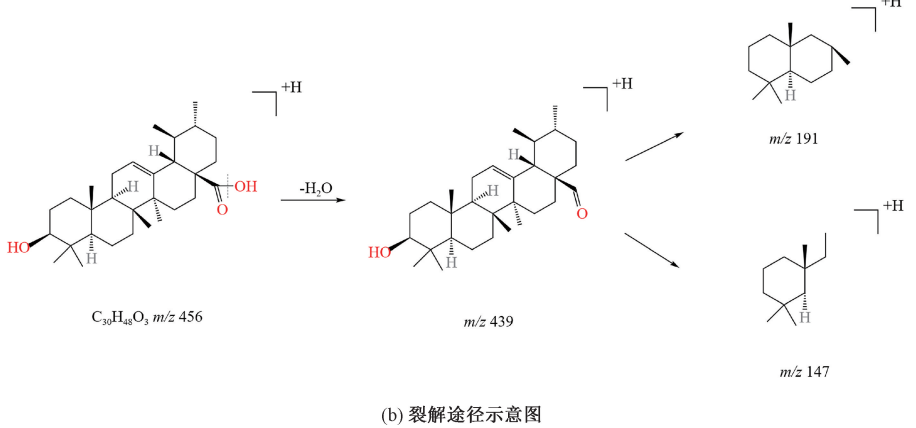
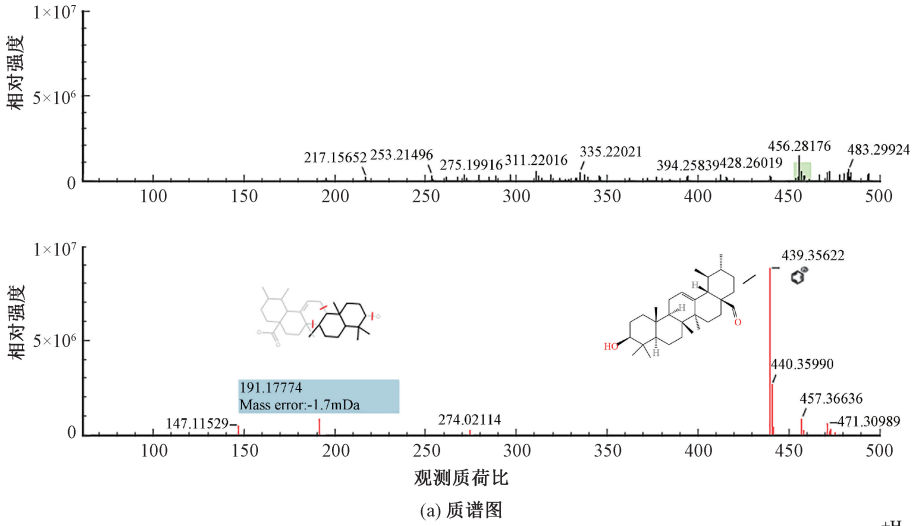


图 6 熊果酸的质谱图及裂解途径示意图

2.4.3 齐墩果烷型三萜类化合物

枸骨中的齐墩果烷型三萜类化合物主要有 3-表齐墩果酸和泰国树脂酸等。在二级质谱图中出现准分子离子峰 $[M+H+NH_4]^{2+}$   $m/z$  490.38, 推测其分子式是  $C_{30}H_{48}O_4$  (见图 7(a))。该齐墩果烷型三萜类

化合物在正离子条件下丢失一分子  $H_2O$  得到  $m/z$  455.35 或丢失两分子  $H_2O$  得到  $m/z$  437.34, 在此基础上进一步丢失羧基的同时发生 RDA 裂解反应得到  $m/z$  409.35、363.31 和 207.17 等碎片 (见图 7(b)), 因此推测该化合物可能为泰国树脂酸<sup>[61]</sup>。

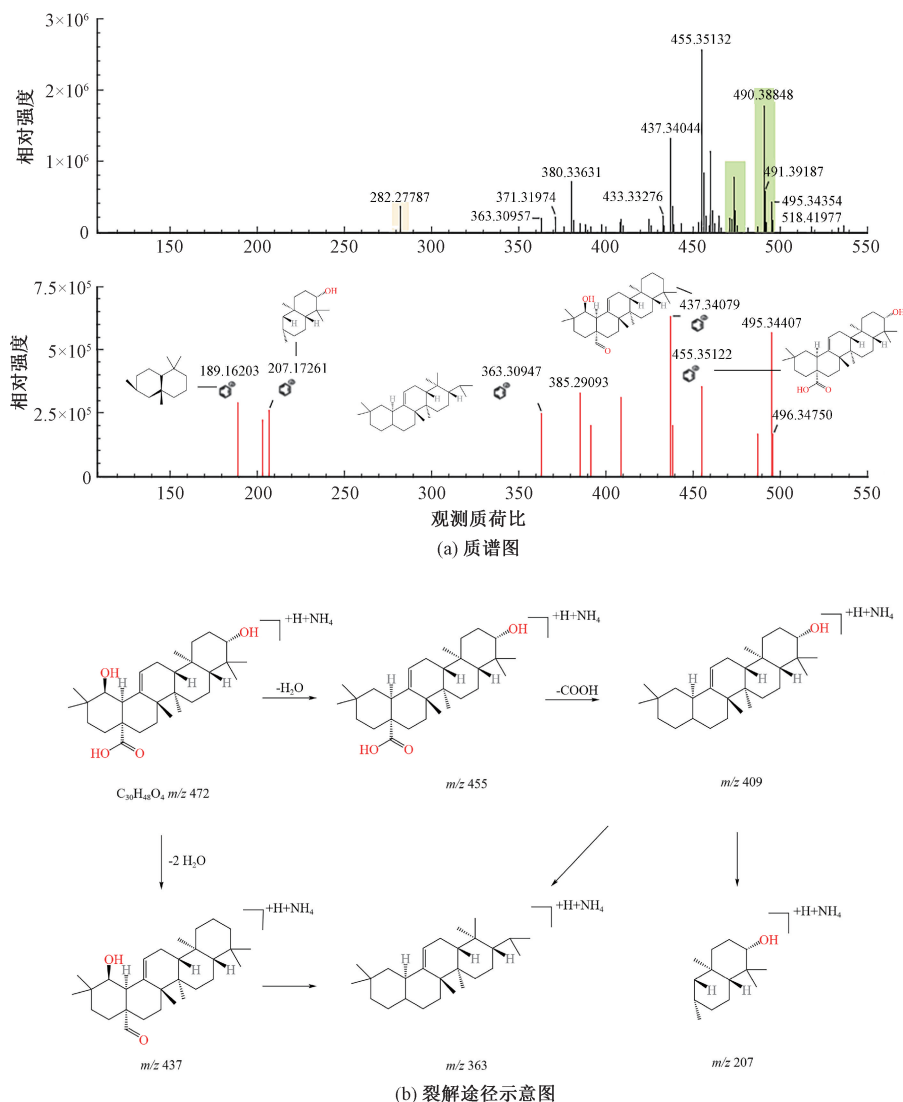


图 7 泰国树脂酸的质谱图及裂解途径示意图

### 3 结 论

本文采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术,对枸骨不同部位化学成分进行了鉴定,筛选出枸骨叶和果实两个部位间的差异性成分,在此基础上针对共有及差异性成分进行了统计学分析,对枸骨叶中含量最丰富的三萜类化合物的质谱数据进行了分析。主要结论如下:

a)通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术在枸骨叶和果实提取物中分别鉴定出 54 和 52 个化学成分,枸骨叶和枸骨果实中均含有丰富的活性成分,主要包括黄酮类、三萜类、多酚类、生物碱类和有机酸类化合物等,其中三萜类化合物是枸骨叶和果实中最主要的活性成分。

b)枸骨叶和果实间共存在 12 种差异性成分,其中有 7 种成分只存在于枸骨叶,有 5 种成分只存在

于枸骨果实中,枸骨不同部位的化学成分存在差异,枸骨叶中的活性成分种类更为丰富且含量更高。

c)根据枸骨叶中三萜类化合物(齐墩果烷型、羽扇豆烷型、熊果烷型)的准分子离子峰、裂解情况等质谱特征来推测其结构类型及相关分子式等信息,并初步推断其裂解规律,可为后续鉴定和分析枸骨中的三萜类化合物提供参考依据。

本文对枸骨不同部位的化学成分进行了鉴定、比较和分析,初步探究了枸骨叶中三萜类化合物质谱裂解规律,为阐明枸骨不同部位的活性成分的差异性提供了科学依据,也为枸骨不同部位的开发及综合利用提供了理论基础。

### 参考文献:

- [1] 张旭东,王杰宁,季旻晔,等. 枸骨叶水提物对高脂血症大鼠血脂水平及抗氧化活性的影响[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(5):

- 769-774.
- [2] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999: 149.
- [3] 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: 233.
- [4] Hao D C, Gu X J, Xiao P G, et al. Research progress in the phytochemistry and biology of *Ilex* pharmaceutical resources [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2013, 3(1): 8-19.
- [5] Li L, Xu L J, Peng Y, et al. Simultaneous determination of five phenylethanoid glycosides in small-leaved Kudingcha from the *Ligustrum* genus by UPLC/PDA[J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1583-1588.
- [6] Zhan H X, Li J, Ruan H L, et al. Two new ursane-type triterpenoid glycosides from *Ilex cornuta* [J]. Current Medical Science, 2018, 38(6): 976-981.
- [7] Ro L K, Young L S, Se S W, et al. Triterpene saponins from the aerial parts of *Ilex cornuta* and their cytotoxic activity[J]. Heterocycles, 2015, 91(6): 1187.
- [8] 李维林, 吴菊兰, 任冰如, 等. 枸骨的化学成分[J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12(2): 1-5.
- [9] 宋钰, 纪丽莲, 刘艳丽, 等. 枸骨的化学成分及其药理活性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(6): 1082-1099.
- [10] 周财金. 优良的观叶赏果树种: 无刺枸骨[J]. 中国花卉盆景, 2007(11): 33.
- [11] 李艳芝, 付英杰, 于婷. 正交试验优选枸骨果实中总黄酮的提取工艺[J]. 中国药房, 2014, 25(3): 238-240.
- [12] 王清, 刘涛, 夏新奎, 等. 响应曲面法优化枸骨果实多糖提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(14): 45-49.
- [13] 刘文. 液质联用技术在药物分析领域的应用进展[J]. 山东化工, 2017, 46(22): 46.
- [14] 车爽. UPLC-Q-TOF-MS 联合 UNIFI 技术在中药分析领域的应用进展[J]. 天津药学, 2022, 34(3): 67-74.
- [15] Zhang J Y, Wang Z J, Li Y, et al. A strategy for comprehensive identification of sequential constituents using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap-orbitrap mass spectrometer, application study on chlorogenic acids in Flos Lonicerae Japonicae[J]. Talanta, 2016, 147: 16-27.
- [16] Puapairoj P, Naengchomnong W, Kijjoa A, et al. Cytotoxic activity of lupane-type triterpenes from *Glochidion sphaerogynum* and *glochidion eriocarpum* two of which induce apoptosis[J]. Planta Medica, 2005, 71(3): 208-213.
- [17] Ferdous F, Hossain M K, Rahman M S, et al. Chemical and biological investigations of *samanea saman* (jacq.) merr[J]. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, 1970, 9(2): 69-73.
- [18] Jahan I, Rahman M S, Rahman M Z, et al. Chemical and biological investigations of *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf[J]. Acta Pharmaceutica, 2010, 60(2): 207-215.
- [19] Narender T, Khaliq T, Singh A B, et al. Synthesis of  $\alpha$ -amyrin derivatives and their in vivo antihyperglycemic activity [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 44(3): 1215-1222.
- [20] Santos F A, Frota J T, Arruda B R, et al. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyrin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice [J]. Lipids in Health and Disease, 2012, 11: 98.
- [21] Viet T D, Xuan T D, Anh L H.  $\alpha$ -Amyrin and  $\beta$ -Amyrin isolated from *Celastrus hindsii* leaves and their antioxidant, anti-xanthine oxidase, and anti-tyrosinase potentials [J]. Molecules, 2021, 26(23): 7248.
- [22] Cardoso B K, de Oliveira H L M, Melo U Z, et al. Antioxidant activity of  $\alpha$  and  $\beta$ -amyrin isolated from *Myrcianthes pungens* leaves [J]. Natural Product Research, 2020, 34(12): 1777-1781.
- [23] Han G, Lee D G. Antibacterial mode of action of  $\beta$ -amyrin promotes apoptosis-like death in *Escherichia coli* by producing reactive oxygen species [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(12): 1547-1552.
- [24] Henneh I, Biney R, Acheampong S, et al. Anti-epileptogenic activity of ziziphus abyssinica root bark extract and its isolated bioactive compound,  $\beta$ -amyrin [J]. IBRO Neuroscience Reports, 2023, 15: S578.
- [25] Xu W, Zhang H W, Zhang Q F, et al.  $\beta$ -Amyrin ameliorates diabetic nephropathy in mice and regulates the miR-181b-5p/HMGB2 axis in high glucose-stimulated HK-2 cells [J]. Environmental Toxicology, 2022, 37(3): 637-649.
- [26] Wada K, Ishizuki S, Mori T, et al. Effects of alkaloids from *Aconitum yesoense* var. *macroyesoense* on cutaneous blood flow in mice [J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1997, 20(9): 978-982.
- [27] Das M, Prakash S, Nayak C, et al. Dihydroactinidiolide, a natural product against A $\beta_{25-35}$  induced toxicity in Neuro2a cells: synthesis, in silico and in vitro studies [J]. Bioorganic Chemistry, 2018, 81: 340-349.
- [28] Seghatoleslam A, Khoshdel Z, Ghafouri R, et al. Composition and anti-toxicity effects of *Cichorium intybus* distillate on serum antioxidant status in carbon tetrachloride-treated rats [J]. Archives of Razi Institute, 2021, 76(1): 107-117.
- [29] Ueno H, Shimada A, Suemitsu S, et al. Anti-depressive-like effect of 2-phenylethanol inhalation in mice [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 111: 1499-1506.
- [30] Wagh A, Butle S, Raut D. Isolation, identification, and cytotoxicity evaluation of phytochemicals from chloroform extract of *Spathodea campanulata* [J]. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 2021, 7(1): 58.
- [31] Zahid M, Arif M, Rahman M A, et al. Solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry analysis of *Annona squamosa* L. seeds for determination of bioactives, fatty acid/fatty oil composition, and antioxidant activity [J]. Journal of Dietary Supplements, 2018, 15(5): 613-623.
- [32] Chang X, Kang W. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory compounds from *Pimpinella candolleana* Wight et Arn [J]. Medicinal Chemistry Research, 2012, 21(12): 4324-4329.
- [33] Li Q, He Y N, Niu B, et al. Caesalmins N-Q, new cassane diterpenes from the seeds of *Caesalpinia minax* [J].

Phytochemistry Letters, 2016, 17: 23-27.

[34] Safaeian L, Asghari-Varzaneh M, Alavi S S, et al. Cardiovascular protective effects of cinnamic acid as a natural phenolic acid: A review [J]. Archives of Physiology and Biochemistry, 2024; 1-11.

[35] Wu Y, Wang M H, Yang T, et al. Mechanisms for improving hepatic glucolipid metabolism by cinnamic acid and cinnamic aldehyde: An insight provided by multi-omics[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 794841.

[36] Xu F, Wang F, Wen T, et al. Protective effect of cinnamic acid in endotoxin-poisoned mice[J]. Phytotherapy Research: PTR, 2017, 31(12): 1946-1953.

[37] Peperidou A, Pontiki E, Hadjipavlou L D, et al. Multifunctional cinnamic acid derivatives[J]. Molecules, 2017, 22(8): 1247.

[38] Ruwizhi N, Aderibigbe B A. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(16): 5712.

[39] Fotopoulos I, Hadjipavlou L D. Approaches for the discovery of cinnamic acid derivatives with anticancer potential [J]. Expert Opinion on Drug Discovery, 2024, 19(10): 1281-1291.

[40] Liu H R, Cai C L, Zhang X J, et al. Discovery of novel cinnamic acid derivatives as fungicide candidates[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(5): 2492-2500.

[41] Freitas M, Ribeiro D, Janela J S, et al. Plant-derived and dietary phenolic cinnamic acid derivatives; Anti-inflammatory properties[J]. Food Chemistry, 2024, 459: 140080.

[42] Nouni C, Theodosis N P, Rekka E A. Antioxidant and hypolipidemic activities of cinnamic acid derivatives [J]. Molecules, 2023, 28(18): 6732.

[43] Sungur Ş, Ciran M, Köroğlu M, et al. Phthalates in commonly used pharmaceuticals[J]. Toxin Reviews, 2023, 42(1): 257-263.

[44] Shang Q, Chen G, Zhang P, et al. Myristic acid alleviates hippocampal aging correlated with GABAergic signaling[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 907526.

[45] Alonso C A J, Serrano V R, Pérez G S, et al. Myristic acid reduces skin inflammation and nociception[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(1): e14013.

[46] Prasath K G, Alexpandi R, Parasuraman R, et al. Anti-inflammatory potential of myristic acid and palmitic acid synergism against systemic candidiasis in danio rerio (zebrafish) [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 133: 111043.

[47] Hu M X, Wu P F, Guo A W, et al. Myristic acid regulates triglyceride production in bovine mammary epithelial cells through the ubiquitination pathway[J]. Agriculture, 2023, 13(10): 1870.

[48] Carcamo N E N, Sathyamoorthi S, Banerjee S, et al. 1, 4-Benzoquinone antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium tuberculosis* derived from scorpion venom[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2019, 116(26): 12642-12647.

[49] Kadela T M, Bebenek E, Chrobak E, et al. Alkoxy and enediyne derivatives containing 1, 4-benzoquinone subunits-synthesis and antitumor activity[J]. Molecules, 2017, 22(3): 447.

[50] 李一豪, 杨彬. 枸骨叶化学成分及其抗骨髓炎活性[J]. 中成药, 2022, 44(4): 1161-1166.

[51] 刘梅芳, 孙悦, 李丽. 枸骨叶水提物对小鼠肥胖的预防作用及对脂肪分化的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(5): 899-905.

[52] 曾庆锋, 谭军. 枸骨叶提取物对高脂血症模型大鼠脂代谢及血液流变学的影响[J]. 中国药师, 2016, 19(4): 631-633.

[53] 刘衬, 杨志刚. 枸骨叶提取物对酪氨酸酶的抑制与抗氧化作用[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 114-119.

[54] 李路军, 虞丽娟, 李燕慈, 等. 华中枸骨黄烷类成分体外抗炎与自由基清除活性[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(8): 1523-1528.

[55] 曾超珍, 刘志祥. 枸骨叶抑菌物质的提取及抑菌作用研究[J]. 北方园艺, 2009(8): 129-131.

[56] 余新松, 翟大才, 胡宗浩, 等. 无刺枸骨果实化学成分及其抗氧化和抑菌活性研究[J]. 林业科学研究, 2020, 33(4): 135-142.

[57] 张加余, 姚志容, 张凡, 等. 枸骨叶中 3 类三萜皂苷类成分的 ESI-MS 裂解规律及其快速识别[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1578-1582.

[58] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 711-713.

[59] 刘向前, 邹亲朋, 陆昌洙. 天然产物中羽扇豆烷型三萜波谱特征[J]. 湖南中医药大学学报, 2013, 33(9): 10-32.

[60] Chen Q H, Zhang Y L, Zhang W P, et al. Identification and quantification of oleanolic acid and ursolic acid in Chinese herbs by liquid chromatography-ion trap mass spectrometry: oleanolic acid and ursolic acid LC-ESI-MS [J]. Biomedical Chromatography: BMC, 2011, 25(12): 1381-1388.

[61] Hoang M H, Nguyen T A T, Pham N K T, et al. A new oleanane-skeleton triterpene isolated from *Coffea canephora* [J]. Natural Product Research, 2022, 36(20): 5161-5167.

## 团队介绍

俞梅兰, 博士, 教授, 硕士生导师。其团队致力于糖脂代谢的机理及其产品开发, 主要研究方向包括富勒烯纳米材料在生物医学领域的应用, 中草药活性成分的液质联用分析、体外活性评价及其调节糖脂代谢的能力等。俞梅兰教授于 2016 年至 2017 年任美国波士顿大学医学院质谱研究中心访问学者, 2017 年至 2018 年任中科院化学所分子纳米重点实验室高级访问学者, 曾主持国家自然科学基金 1 项, 主持浙江省科技攻关计划等省级科研项目 4 项和横向科技成果转化项目十余项, 在 JACS 等 TOP 期刊发表学术论文 40 余篇, 申报专利 3 项, 在糖脂代谢的治疗和中草药的成分分析等方面做出了一定贡献, 为中药治疗糖尿病提供了创新思路和数据支撑。

(责任编辑: 张会巍)