

the *Scutellaria* genus. distribution, structure, and properties [J]. *Chem Nat Compd*, 2002, 38(5): 473-519.

[11] 马兆堂, 杨秀伟. 黄连解毒汤醋酸乙酯溶性化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2080-2086.

[12] 文景兵, 张庆文, 殷志琦, 等. 木蝴蝶种子中黄酮类化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(3): 170-173.

[13] Wang Y, Zhang Z, Yang L, *et al.* A new dihydrochalcone glucoside from Longdan Xiegan Decoction[J]. *Chin J Nat Med*, 2008, 6(4): 259-261.

[14] 赵素容, 卢充伟, 吴文雅, 等. 广金钱草总黄酮胶囊对照品的研究 (英文) [J]. 中成药, 2007, 29(6): 845-849.

[15] Gobbo-Neto L, Santos M D, Kanashiro A, *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of di-C-glu-

cosylflavones from *Lychnophora ericoides* (Asteraceae) [J]. *Planta Med*, 2005, 71(1): 3-6.

[16] Tran T V A, Malainer C, Schwaiger S, *et al.* Screening of vietnamese medicinal plants for NF-κB signaling inhibitors: Assessing the activity of flavonoids from the stem bark of *Oroxylum indicum*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 159: 36-42.

[17] Cox P J, Durham D G, Liu I X, *et al.* Extraction of baicalin and characterization of derivatives. X-ray structure of 7-hydroxy-5, 6-dimethoxyflavone 7-glucuronide methyl ester dehydrate[J]. *J Chem Res*, 2000, 2000(12): 548-550.

[18] Tomimori T, Miyaichi Y, Kizu H. On the flavonoid constituents from the roots of *Scutellaria baicalensis* GEORGI. I [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1982, 102(4): 388-391.

UPLC-QTOF-MS 法分析沙棘果实、叶和枝的成分

郑文惠, 白海英, 王丽瑶, 包芳, 杨志刚*
(兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 UPLC-QTOF-MS 法分析沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 果实、叶和枝的成分。方法 沙棘果实 80% 乙醇提取物的分析采用硅胶、大孔树脂、Sephadex LH-20、半制备液相色谱进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。通过 UPLC-QTOF-MS 对沙棘果实、叶和枝不同部位化学成分进行分析。**结果** 从中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为桉柳黄素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (1)、异鼠李素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (2)、1-甲基-1, 2, 3, 4-四氢吡啶-3-羧酸 (3)、异鼠李素-3-*O*-β-*D*-槐二糖-7-*O*-α-*L*-鼠李糖苷 (4)、芦丁 (5)、异鼠李素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (6)。共鉴定 30 个化合物, 包括 8 个鞣质类和 22 个黄酮类, 其中 25 个化合物为 3 种部位的共有成分。**结论** 化合物 3 为首次从沙棘属植物中分离得到。该方法准确稳定, 重复性好, 可用于沙棘的质量控制。**关键词:** 沙棘; 果实; 叶; 枝; 化学成分; 分离鉴定; UPLC-QTOF-MS
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)11-2940-08
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.022

Analysis of constituents in the fruit, leaf and twig of *Hippophae rhamnoides* by UHPL-QTOF-MS

ZHENG Wen-hui, BAI Hai-ying, WANG Li-yao, BAO Fang, YANG Zhi-gang*
(School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: AIM To analyze constituents in the fruit, leaf and twig of *Hippophae rhamnoides* L. by UHPL-QTOF-MS. **METHODS** The 80% ethanol extract from the fruit of *H. rhamnoides* was isolated and purified by silica,

收稿日期: 2019-11-09
基金项目: 国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项 (2016YFE0129000); 甘肃省中医药管理局科研课题 (GZK-2015-21); 兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金资助 (lzujbky-2017-k26, lzujbky-2017-sp40)
作者简介: 郑文惠 (1995—), 女, 硕士生, 从事药物分析、代谢组学研究。E-mail: zhengwh17@lzu.edu.cn
* 通信作者: 杨志刚 (1979—), 男, 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础及代谢组学研究。Tel: (0931) 8915202, E-mail: yangzg@lzu.edu.cn
网络出版日期: 2020-06-19
网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20200619.1316.004.html>

macroporous resin, Sephadex LH-20 and semi-prep HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. Qualitative analysis of chemical constituents in the fruit, leaf and twig of *H. rhamnoides* was detected by UPLC-QTOF-MS. **RESULTS** Six compounds were isolated and identified as tamarixetin-3-*O*- β -*D*-glucoside-7-*O*- α -*L*-rhamnoside (**1**), isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-glucoside-7-*O*- α -*L*-rhamnoside (**2**), 1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro carboline-3-carboxylic acid (**3**), isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-sophoroside-7-*O*- α -*L*-rhamnoside (**4**), rutin (**5**), isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-glucoside (**6**). Thirty compounds were identified, including eight tannins and twenty-two flavonoids. Twenty-five compounds were common compounds for the three parts of *H. rhamnoides*. **CONCLUSION** Compound **3** is isolated from genus *Hippophae* for the first time. This accurate, stable and reproducible method can be used for the quality control of *H. rhamnoides*. **KEY WORDS:** *Hippophae rhamnoides* L.; fruit; leaf; twig; chemical constituents; isolation and identification; UPLC-QTOF-MS

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 为胡颓子科沙棘属的落叶灌木或小乔木, 含有鞣质类^[1]、黄酮类^[2]、萜类^[3]、甾体类^[4]、有机酸^[5]和挥发油^[5]等多种活性成分, 具有较高的药用价值。此外, 沙棘在治理水土流失、改善生态环境和促进农民增收等方面发挥积极作用。

2015 年版《中国药典》中沙棘以果实入药, 具有健脾消食、止咳祛痰、活血散瘀的功效。沙棘叶虽未被药典收载, 但具有抗氧化^[1,6-7]、抗菌^[7]、抗病毒^[8]、抗炎^[9]、抗癌^[8]、抗肥胖^[4]等生物活性, 也是提取沙棘黄酮的重要原料。沙棘枝中含有三萜类化合物, 具有抗炎和抗氧化活性^[10]。目前, 利用液质联用技术 (LC-MS) 对沙棘果实和叶中酚类成分的研究较多^[1,11-14], 课题组尚未发现采用 LC-MS 对沙棘枝进行化学成分研究的报道。为了促进沙棘不同部位的综合开发利用, 本研究对新疆产沙棘的果实中的化合物进行分离鉴定, 并对沙棘果实、叶和枝的化学成分进行 UPLC-QTOF-MS 对比分析。

1 材料

Prep EasySep-1050 半制备型高效液相色谱仪 (中国上海通微分析技术有限公司); 半制备型色谱柱 Cosmosil 5C₁₈-MS-II、Cosmosil 5C₁₈-PAQ、Cosmosil 5C₁₈ π NAP (10 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m, 日本 Nacalai tesque 公司); AVANCE III-400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); 薄层色谱用硅胶 G 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); D101 型大孔吸附树脂 (北京 Solarbio 公司); ODS (日本 Nacalai tesque 公司); MCI Gel CHP-20 (日本三菱公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (美国 Ge 公司); Agilent 1290 超高效液相色谱仪、Agilent 6560 离子淌度飞行时间质谱仪 (美国 Agilent 公

司); CORTECS UHPLC C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.6 μ m, 美国 Waters 公司); Ultrafree 离心管 (0.22 μ m, 美国 Millipore 公司); 质谱纯甲醇和乙腈 (美国 Merda 公司); 质谱纯甲酸和水 (德国 Merck 公司); 其余试剂均为分析纯。

对照品 pedunculagin、stachyurin、hippophaenin B、1, 2, 6-三-*O*-没食子酰基- β -*D*-吡喃型葡萄糖、木麻黄鞣亭、鞣花酸、槲皮素、异鼠李素、异鼠李素-3-*O*-槐糖-7-*O*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷由课题组从沙棘中分离得到; 异槲皮苷 (批号 RP170508, 纯度 $\geq$ 98%)、水仙苷 (批号 RP180814, 纯度 $\geq$ 98%) 均购于成都麦德生科技有限公司。

本实验所用沙棘于 2017 年 9 月采自新疆喀什, 经兰州大学杨志刚副教授鉴定为胡颓子科植物沙棘 *Hippophae rhamnoides* L., 标本保存于兰州大学药学院。

2 方法

2.1 提取与分离 新鲜沙棘果 2.0 kg 粉碎, 石油醚脱脂, 然后用 3 倍量 80% 乙醇浸泡提取, 反复 4 次, 每次 2 h。纱布滤过并合并提取液, 减压浓缩至无乙醇味, 得总浸膏 470 g。总浸膏通过 D101 型大孔树脂柱粗分, 以水-乙醇 (100 : 1~0 : 100) 梯度洗脱, 得到 9 个部分 (Fr. A~Fr. I)。

Fr. D (39.9 g) 经过硅胶柱分离, 以氯仿-甲醇-水 (100 : 1 : 1~0 : 100 : 10) 梯度洗脱, 得到 12 个组分 (Fr. D1~D12)。Fr. D9 (1.6 g) 经开放 ODS 柱和半制备 HPLC 进行分离纯化, 得化合物 **1** (10.0 mg)、**2** (5.2 mg)。Fr. D10 (2.9 g) 经开放 ODS 柱、硅胶柱、MCI 柱、Sephadex LH-20 柱和半制备 HPLC 进行分离纯化, 得化合物 **3**

(4.1 mg)、**4** (10.6 mg)、**5** (7.2 mg)。Fr. E (13.1 g) 经过硅胶柱分离, 用氯仿-甲醇(100 : 1~0 : 100) 梯度洗脱, 得化合物 **6** (23.3 mg)。

2.2 UPLC-QTOF-MS 分析

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取对照品 pedunculagin、stachyurin、hippochaenin B、**1**、**2**、**6**-三-*O*-没食子酰基- β -*D*-吡喃型葡萄糖、异鼠李素-3-*O*-槐糖-7-*O*-葡萄糖苷、木麻黄鞣亭、鞣花酸、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷、异槲皮苷、水仙苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素、异鼠李素各 1.00 mg, 用甲醇水溶液溶解配成 10 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液制备 将沙棘枝、叶和果实粉碎后过 50 目筛, 分别称取粉末 0.2 g, 置具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 70% 甲醇, 超声提取 60 min。提取液静置 30 min, 取上清液用离心过滤管 3 000 r/min 离心 2 min, 即得。

2.2.3 LC-MS 条件 CORTECS UHPLC C_{18} 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.6 μ m); 流动相 0.1% 甲酸水 (A) -0.1% 甲酸乙腈溶液 (B); 梯度洗脱 (0~2 min, 7% B; 2~3 min, 7%~12% B; 3~8 min, 12%~18% B; 8~12 min, 18%~60% B; 12~13 min, 60%~100% B; 13~14 min, 100% B); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 36 $^{\circ}$ C; 进样量 2 μ L。

质谱系统采用电喷雾离子源 (ESI); 负离子检测模式; 扫描范围 m/z 100~1 700。ESI 源参数为干燥气 (N_2) 体积流量 5 mL/min; 干燥气温度 300 $^{\circ}$ C; 雾化气压力 35 psi (1 psi=6.895 kPa); 毛细管电压 3 500 V; 喷嘴电压 1 000 V; 毛细管出口电压 400 V; 碰撞能 20 eV。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 623.161 9 [M-H]⁻。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.57 (1H, s, 5-OH), 7.84 (1H, d, J =1.6 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J =8.4 Hz, H-5'), 7.51 (1H, dd, J =2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.19 (1H, d, J =2.0 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, J =2.0 Hz, H-8), 5.43 (1H, d, J =7.2 Hz, H-1''), 5.40 (1H, s, H-1'''), 0.97 (3H, d, J =6.4 Hz, H-6'''), 3.83 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.5 (C-2), 133.0 (C-3), 177.3 (C-4), 161.2 (C-5), 98.8 (C-6), 164.4 (C-7), 93.9 (C-8), 156.5 (C-9), 104.0

(C-10), 122.3 (C-1'), 115.3 (C-2'), 146.9 (C-3'), 56.2 (3'-OCH₃), 149.4 (C-4'), 113.3 (C-5'), 121.1 (C-6'), 100.9 (Glc-C-1''), 74.3 (C-2''), 76.4 (C-3''), 68.3 (C-4''), 76.0 (C-5''), 66.9 (C-6''), 101.2 (Rha-C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.6 (C-3'''), 71.8 (C-4'''), 70.1 (C-5'''), 17.7 (C-6''')。以上数据与文献 [15] 一致, 故鉴定为怪柳黄素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **2**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 623.162 2 [M-H]⁻。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.60 (1H, s, 5-OH), 7.95 (1H, d, J =2.0 Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, J =8.4 Hz, H-5'), 7.56 (1H, dd, J =2.0, 8.8 Hz, H-6'), 6.45 (1H, d, J =2.0 Hz, H-6), 6.84 (1H, d, J =2.0 Hz, H-8), 5.57 (1H, d, J =7.6 Hz, H-1''), 5.56 (1H, s, H-1'''), 1.11 (3H, d, J =6.0 Hz, H-6'''), 3.84 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.9 (C-2), 133.3 (C-3), 177.6 (C-4), 160.9 (C-5), 99.4 (C-6), 161.6 (C-7), 94.6 (C-8), 156.0 (C-9), 105.7 (C-10), 120.9 (C-1'), 113.5 (C-2'), 147.0 (C-3'), 55.7 (3'-OCH₃), 149.7 (C-4'), 115.3 (C-5'), 122.3 (C-6'), 100.7 (Glc-C-1''), 74.3 (C-2''), 77.5 (C-3''), 71.6 (C-4''), 76.4 (C-5''), 60.7 (C-6''), 98.3 (Rha-C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.1 (C-3'''), 71.6 (C-4'''), 69.9 (C-5'''), 17.9 (C-6''')。以上数据与文献 [16] 一致, 故鉴定为异鼠李素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **3**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 229.097 0 [M-H]⁻。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 11.04 (1H, s, 9-NH), 7.44 (1H, d, J =8.0 Hz, H-5), 7.33 (1H, d, J =8.0 Hz, H-8), 7.10 (1H, t, J =7.2, 7.6 Hz, H-7), 7.01 (1H, t, J =7.2, 7.6 Hz, H-6), 4.56 (1H, d, J =6.4 Hz, H-1), 3.24 (1H, dd, J =4.4, 16 Hz, H-4a), 3.15 (1H, s, H-3), 2.80 (1H, t, J =14 Hz, H-4b), 1.61 (3H, d, J =6.4 Hz, -CH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 50.0 (C-1), 58.4 (C-3), 23.5 (C-4), 118.9 (C-5), 120.0 (C-6), 122.6 (C-7), 112.1 (C-8), 131.8 (C-10), 107.2 (C-4a), 126.6 (C-5a), 137.2 (C-8a), 171.4 (-COOH), 17.34 (-CH₃)。以上数据与文献 [17] 一致, 故鉴定为 1-甲基-1, 2, 3, 4-四氢吡啶-3-羧酸。

化合物 4: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 785.216 5 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.62 (1H, s, 5-OH), 7.81 (1H, s, H-2'), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.68 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 6.44 (1H, s, H-6), 6.85 (1H, s, H-8), 5.74 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-1''), 4.62 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), 5.56 (1H, s, H-1'''), 1.11 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'''), 3.85 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.6 (C-2), 133.3 (C-3), 177.7 (C-4), 161.0 (C-5), 99.5 (C-6), 161.7 (C-7), 94.7 (C-8), 156.0 (C-9), 105.7 (C-10), 120.8 (C-1'), 113.1 (C-2'), 147.3 (C-3'), 55.9 (3'-OCH₃), 150.2 (C-4'), 115.5 (C-5'), 123.2 (C-6'), 98.4 (Glc-C-1''), 82.1 (C-2''), 76.6 (C-3''), 69.6 (C-4''), 76.7 (C-5''), 60.6 (C-6''), 103.6 (Glc-C-1'''), 74.4 (C-2'''), 76.9 (C-3'''), 70.2 (C-4'''), 77.5 (C-5'''), 60.9 (C-6'''), 98.3 (Rha-C-1'''), 69.9 (C-2'''), 70.4 (C-3'''), 71.7 (C-4'''), 69.9 (C-5'''), 18.0 (C-6''')。以上数据与文献 [16] 一致, 故鉴定为异鼠李素-3-*O*- β -*D*-槐二糖-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 5: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 609.146 8 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.59 (1H, s, 5-OH), 7.53 (1H, s, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.55 (1H, m, H-6'), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.38 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 5.34 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1''), 4.38 (1H, s, H-1'''), 0.99 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.4 (C-2), 133.3 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.1 (C-7), 93.6 (C-8), 156.6 (C-9), 104.0 (C-10), 121.6 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.8 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.3 (C-5'), 121.2 (C-6'), 100.8 (Rha-C-1''), 74.1 (C-2''), 76.5 (C-3''), 70.6 (C-4''), 75.9 (C-5''), 68.3 (C-6''), 101.2 (Glc-C-1'''), 70.0 (C-2'''), 70.4 (C-3'''), 71.9 (C-4'''), 67.0 (C-5'''), 17.8 (C-6''')。以上数据与文献 [18] 一致, 故鉴定为芦丁。

化合物 6: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 477.104 3 $[M-H]^-$ 。¹H-NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.95 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.49 (1H, dd, $J = 2.0, 8.8$ Hz, H-6'), 6.92 (1H,

d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.45 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.58 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 3.84 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 156.4 (C-2), 133.0 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.2 (C-7), 93.7 (C-8), 156.3 (C-9), 104.0 (C-10), 121.1 (C-1'), 113.5 (C-2'), 146.9 (C-3'), 55.7 (3'-OCH₃), 149.4 (C-4'), 115.2 (C-5'), 122.0 (C-6'), 100.8 (Glc-C-1''), 74.3 (C-2''), 77.5 (C-3''), 69.8 (C-4''), 76.4 (C-5''), 60.6 (C-6'')。以上数据与文献 [19] 一致, 故鉴定为异鼠李素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

3.2 沙棘不同部位成分分析 利用 UPLC-QTOF-MS 对新疆产沙棘枝、叶和果实进行化学成分分析, 通过与对照品以及相关文献报道的质谱数据进行分析对比, 得到 38 个峰的保留时间和质谱信息, 鉴定出 30 个化合物, 见表 1。新疆产沙棘枝、叶和果实提取物的总离子流图, 见图 1。

峰 1、6、9、14、17、18、21、22、24、26、28、29、32、35, 与对照品的保留时间和离子碎片信息相同, 分别被鉴定为 pedunculagin、stachyurin、hippophaein B、1, 2, 6-三-*O*-没食子酰基- β -*D*-吡喃型葡萄糖、异鼠李素-3-*O*-槐糖-7-*O*-鼠李糖苷、木麻黄鞣亭、鞣花酸、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷、异槲皮苷、水仙苷、异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素、异鼠李素。

峰 2 为 B 型二聚体原花青素。由准分子离子峰 m/z 577.137 4 $[M-H]^-$, 推断其分子式为 C₃₀H₂₆O₁₂, MS/MS 谱图中有明显的 Retro-Diels-Alder (RDA) 重排产生的 m/z 289 $[M-H-289]^-$, 407 $[M-H-170]^-$, 425 $[M-H-152]^-$ 碎片离子信息, 与文献 [19-20] 报道的 B 型二聚体原花青素的特征性离子碎片一致。

峰 3 为儿茶酸。由准分子离子峰 m/z 289.072 3 $[M-H]^-$, 推断其分子式为 C₁₅H₁₄O₆, 以 m/z 289.072 3 作为母离子进行二级质谱分析, 谱图中有明显的 m/z 125, 179, 203, 245 碎片离子信息, 故鉴定为儿茶酸^[20-21]。

峰 5 是没食子酰基-六羟基联苯甲酰基-葡萄糖。由准分子离子峰 m/z 633.074 8 $[M-H]^-$, 推断其分子式为 C₂₇H₂₂O₁₈。MS/MS 谱图中有明显的 m/z 275, 301, 463 碎片离子信息, 与文献所报道

表 1 沙棘不同部位化合物 UPLC-QTOF-MS 检测结果

Tab. 1 Detection results of compounds in different parts of *H. rhamnoides* by UPLC-QTOF-MS

编号	t_{R}/min	$[\text{M}-\text{H}]^{-}$	MS/MS	分子式	化合物	枝	叶	果
1	2.216	783.071 5	249.039 8,275.019 5,300.999 5,302.002 5,481.062 2	$\text{C}_{34}\text{H}_{24}\text{O}_{22}$	pedunculagin	√	√	√
2	2.896	577.137 4	125.024 0,289.072 2,407.078 5,425.087 4	$\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$	B 型二聚体原花青素	√	√	√
3	3.578	289.072 3	125.024 3,179.037 0,203.071 2,245.081 6	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	儿茶酸	√	√	√
4	3.941	325.093 9	119.050 2,145.029 8,163.039 5	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$	未知	√	√	√
5	4.305	633.074 8	275.018 9,300.999 3,463.052 6	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{18}$	没食子酰基-六羟基联苯甲酰基-葡萄糖	√	√	×
6	5.078	935.083 3	275.019 7,633.074 9,917.068 5	$\text{C}_{41}\text{H}_{28}\text{O}_{26}$	stachyurin	√	√	√
7	5.179	625.143 7	301.034 5,463.089 6	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{17}$	槲皮素-3,7-二- <i>O</i> -葡萄糖苷	√	√	×
8	5.360	447.152 5	101.024 4,113.025 2,161.044 9,269.104 1,401.146 6	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	未知	√	√	√
9	5.397	1 103.086 2	275.019 4,633.075 5,783.073 4,935.082 6,1 059.099 4	$\text{C}_{48}\text{H}_{32}\text{O}_{31}$	hippohaenin B	×	√	×
10	5.769	771.201 5	178.997 9,301.036 7,447.091 3,625.142 6	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{21}$	槲皮素-3- <i>O</i> -槐糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
11	5.814	431.193 5	113.024 2,153.092 5,205.124 4	$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_8$	未知	√	√	√
12	5.930	289.072 1	125.024 3,179.034 5,203.071 6,245.082 0	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	表儿茶酸	√	×	√
13	6.035	427.184 4	101.024 5, 113.023 5, 161.044 5, 223.062 4, 249.135 3, 250.138 0,381.178 4	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$	未知	√	√	×
14	6.127	635.091 2	313.056 8,465.068 5,466.071 3,467.074 4,483.079 3	$\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$	1,2,6-三- <i>O</i> -没食子酰基-β- <i>D</i> -吡喃型葡萄糖	√	√	√
15	6.316	755.207 6	285.038 3,431.100 2,609.149 4	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{20}$	山柰酚-3- <i>O</i> -槐糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
16	6.352	463.053 8	300.998 7	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	槲皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	√	√	√
17	6.634	785.217 7	315.051 1,639.159 2	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	异鼠李素-3- <i>O</i> -槐糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
18	7.041	935.082 2	301.998 9,481.063 7,633.074 2,783.074 2	$\text{C}_{41}\text{H}_{28}\text{O}_{26}$	木麻黄鞣亭	√	√	×
19	7.395	609.149 6	151.039 8,301.034 6,447.093 0,463.089 4	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
20	7.851	433.043 0	300.999 4	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_{12}$	鞣花酸-戊糖苷	√	√	√
21	8.396	300.999 5	185.024 9,229.014 3,257.010 2,283.997 0	$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$	鞣花酸	√	√	√
22	8.496	623.164 3	300.999 9,315.049 0,461.108 7,477.105 4	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
23	8.532	769.222 6	315.049 3,623.156 5	$\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$	异鼠李素-芸香糖-鼠李糖苷	√	√	√
24	8.759	609.148 3	151.003 1,300.028 8	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	槲皮素-3- <i>O</i> -芸香糖苷	√	√	√
25	9.124	463.090 1	151.004 9,178.999 2,301.035 4	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	异槲皮苷	√	√	√
26	10.270	593.153 7	285.040 5	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	√	√	√
27	10.497	623.164 3	300.026 9,315.051 7	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	水仙苷	√	√	√
28	10.806	477.105 2	151.002 9,271.025 1,300.028 2,315.049 3	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	异鼠李素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	√	√	√
29	11.407	447.095 3	151.003 4,301.035 5	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	槲皮素-7- <i>O</i> -鼠李糖苷	√	√	√
30	11.951	593.131 7	151.004 8,285.040 3,447.093 1	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖鼠李糖苷	√	√	√
31	11.988	301.036 4	107.012 7,151.003 2,178.997 7	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	槲皮素	√	√	√
32	12.032	461.110 7	107.015 0,150.999 2,300.026 4,315.051 5	$\text{C}_{33}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	异鼠李素-鼠李糖苷	√	√	√
33	12.452	280.983 1	130.996 1,141.909 2,161.093 8,236.956 6	-	未知	√	√	√
34	12.760	315.052 0	107.013 6, 151.003 1, 272.033 3, 283.020 9, 300.027 8, 301.032 1	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	异鼠李素	√	√	√
35	13.169	330.979 2	118.991 8	-	未知	√	√	√
36	13.443	426.966 8	386.956 0,406.962 2	-	未知	√	√	√
37	13.670	1 005.012 5	245.917 7,357.930 6,469.948 0,693.976 2	-	未知	√	√	√
38	14.088	293.177 5	221.153 0	-	未知	√	√	√

注:√ 表示检测到该成分;× 表示未检测到该成分。

的没食子酰基-六羟基联苯甲酰基-葡萄糖的特征性离子碎片一致^[22]。

峰 7 为槲皮素-3, 7-二-*O*-葡萄糖苷。由准分子离子峰 m/z 625.143 7 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 推断其分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{17}$ 。在其二级质谱谱图中, 发现进一步产生的 m/z 301, 463 碎片离子, 其中碎片 463 $[\text{M}-\text{H}-162]^{-}$ 是母离子丢失 1 分子葡萄糖, 丢失 2 分子葡萄糖得到碎片 301 $[\text{M}-\text{H}-162-162]^{-}$, 故鉴定为槲皮素-3, 7-二-*O*-葡萄糖苷^[23]。

峰 10 为槲皮素-3-*O*-槐糖-7-*O*-鼠李糖苷。由准

2944

分子离子峰 m/z 771.201 5 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 推断其分子式为 $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{21}$ 。在 MS/MS 谱图中, 有明显的 m/z 179, 301, 447, 625 碎片离子。由母离子丢失 1 分子鼠李糖产生碎片离子 625 $[\text{M}-\text{H}-146]^{-}$, 母离子丢失 1 分子槐糖产生碎片离子 447 $[\text{M}-\text{H}-324]^{-}$, 苷元槲皮素的碎片离子 301 $[\text{M}-\text{H}-146-324]^{-}$ 经过 RDA 重排产生碎片 179, 故推测其为槲皮素-3-*O*-槐糖-7-*O*-鼠李糖苷^[24]。

峰 12 是表儿茶酸。由准分子离子峰 m/z 289.072 1 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$, 推断其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$,

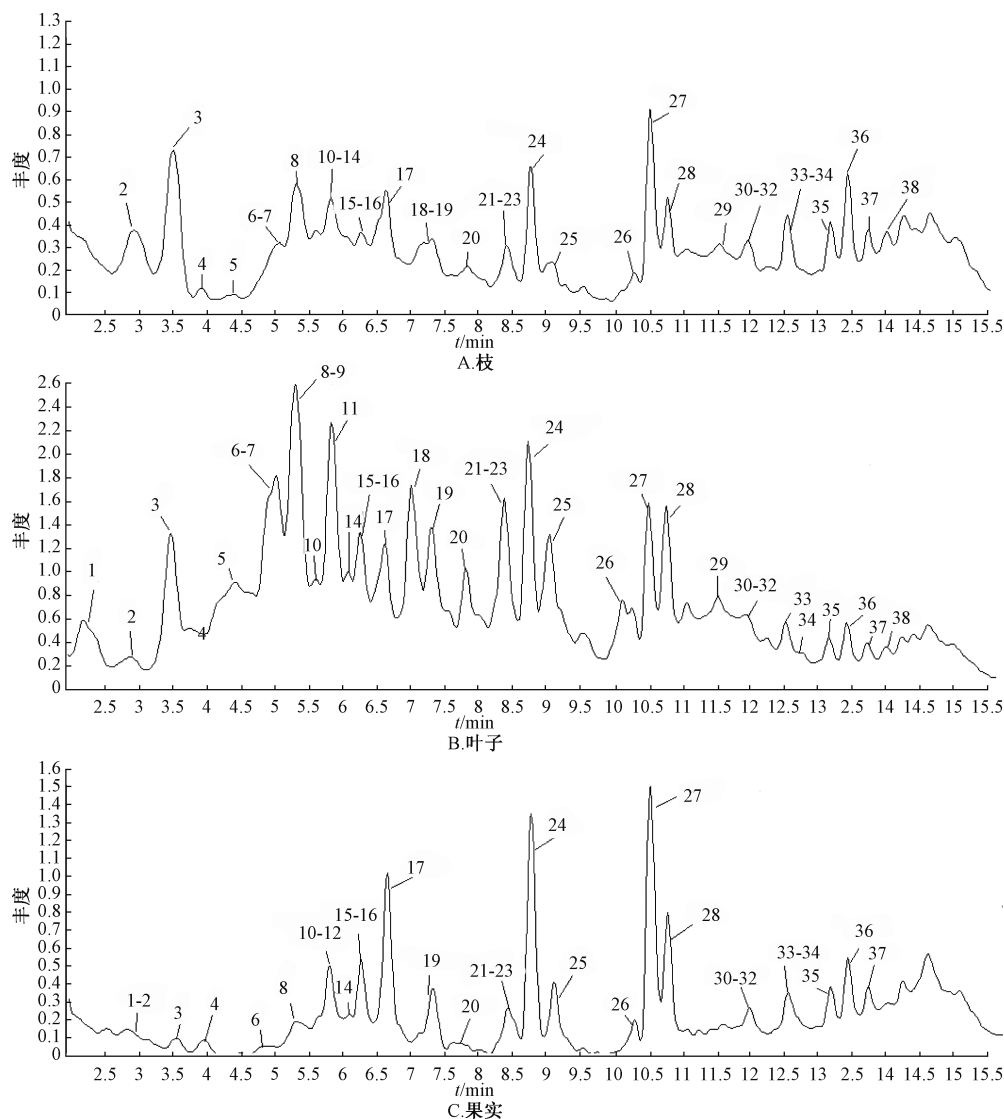


图 1 图 1 沙棘不同部位总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of different parts of *H. rhamnoides*

与峰 3 互为同分异构体。以 m/z 289.072 1 作为母离子进行二级质谱分析, 谱图中有明显的 m/z 125, 179, 203, 245 碎片离子信息, 与文献 [20] 报道的表儿茶酸的特征性离子碎片一致。

峰 15 为山柰酚-3-*O*-槐糖-7-*O*-鼠李糖苷。由准分子离子峰 m/z 755.207 6 $[M-H]^-$, 推断其分子式为 $C_{33}H_{40}O_{20}$ 。在二级质谱谱图中, 其进一步产生 m/z 285, 431, 609 碎片离子。碎片离子 609 $[M-H-146]^-$ 由母离子丢失 1 分子鼠李糖, 碎片离子 431 $[M-H-324]^-$ 由母离子丢失 1 分子槐糖, 碎片离子 285 $[M-H-146-324]^-$ 为母离子丢失 1 分子鼠李糖和 1 分子槐糖, 与文献 [24] 报道的山柰酚-3-*O*-槐糖-7-*O*-鼠李糖的特征性离子碎片一致。

峰 16 为槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷。由准分子离子峰 m/z 463.053 8 $[M-H]^-$, 推断其分子式为

$C_{21}H_{20}O_{12}$, MS/MS 谱图中有明显的由母离子丢失 1 分子葡萄糖形成 m/z 301 $[M-H-162]^-$ 碎片离子, 故推测其为槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷^[24]。

峰 19 为槲皮素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷。由准分子离子峰 m/z 609.149 6 $[M-H]^-$, 推断其分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$, 在随后的二级质谱裂解过程中, 发现其进一步产生 m/z 151, 301, 447, 463 碎片离子。 m/z 463 $[M-H-146]^-$ 是母离子丢失 1 分子鼠李糖, m/z 447 $[M-H-162]^-$ 为母离子丢失 1 分子葡萄糖, m/z 301 $[M-H-146-162]^-$ 经过经 RDA 重排产生碎片离子 151, 与文献 [23] 报道的槲皮素-3-*O*-葡萄糖-7-*O*-鼠李糖苷的特征性离子碎片一致。

峰 20 为鞣花酸-戊糖苷。由准分子离子峰 m/z

433.043 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₁₉H₁₄O₁₂, MS/MS 谱图中 *m/z* 301 [M-H-132]⁻ 由母离子丢失 1 分子戊糖形成, 推测为鞣花酸-戊糖苷^[22]。

峰 23 是异鼠李素-芸香糖-鼠李糖苷。由准分子离子峰 *m/z* 769.222 6 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₃₄H₄₂O₂₀, 以 *m/z* 769.222 6 作为母离子进行二级质谱分析, 发现母离子丢失 1 分子鼠李糖的碎片离子 623 [M-H-146]⁻, 以及继而丢失 1 分子芸香糖得碎片离子 315 [M-H-146-308]⁻。

峰 26 为山柰酚-3-*O*-芸香糖苷。由准分子离子峰 *m/z* 593.153 7 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₂₇H₃₀O₁₅, 在二级质谱谱图中可见由母离子丢失 1 分子芸香糖形成的 *m/z* 285 [M-H-308]⁻, 故推测为山柰酚-3-*O*-芸香糖苷^[2]。

峰 29 为槲皮素-7-*O*-鼠李糖苷。由准分子离子峰 *m/z* 447.095 3 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₂₁H₂₀O₁₁, 以 *m/z* 447.095 3 作为母离子进行二级质谱分析, 谱图中有明显的 *m/z* 151, 301 碎片离子信息。碎片离子 301 [M-H-146]⁻ 为母离子丢失 1 分子鼠李糖, 再经过 RDA 重排后产生碎片 151。与文献 [24] 所报道的槲皮素-7-*O*-鼠李糖苷的特征性离子碎片一致。

峰 30 是山柰酚-3-*O*-葡萄糖鼠李糖苷。由准分子离子峰 *m/z* 593.131 7 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₂₇H₃₀O₁₅, 在二级质谱谱图中有明显的 *m/z* 151, 285, 447 碎片离子信息。碎片离子 447 [M-H-146]⁻ 由母离子丢失 1 分子鼠李糖得到, 继而丢失 1 分子葡萄糖得到 285 [M-H-146-162]⁻, 碎片离子 285 经过 RDA 重排产生 *m/z* 151。与文献 [24] 所报道的山柰酚-3-*O*-葡萄糖鼠李糖苷的特征性离子碎片一致。

峰 32 为异鼠李素-鼠李糖苷。由准分子离子峰 *m/z* 461.110 7 [M-H]⁻, 推断其分子式为 C₃₃H₂₂O₁₁, 以 *m/z* 461.110 7 作为母离子进行二级质谱分析, 谱图中有明显的 *m/z* 107, 151, 300, 315 碎片离子信息。母离子丢失 1 分子鼠李糖得到碎片离子 315 [M-H-146]⁻, 继而丢失-CH₃ 得到碎片离子 300, 碎片离子 151 和 107 为苷元异鼠李素 *m/z* 315 经过 RDA 重排产生。

4 讨论

本研究从新疆产沙棘果实中分离鉴定了 6 个化合物, 其中化合物 3 为首次从沙棘属植物中分离得到。此外, 采用 UPLC-QTOF-MS 对新疆产沙棘枝、叶和果实的化学成分进行快速分析, 共鉴定或推断

出 30 个化合物, 包括 8 个鞣质类和 22 个黄酮类, 其中在枝中未检出 hippophaenin B, 表儿茶酸则在叶中未被检出, 没食子酰基-六羟基联苯甲酰基-葡萄糖、槲皮素-二葡萄糖苷、hippophaenin B、木麻黄鞣亭在果实中未被检出。以期本研究为进一步对新疆沙棘进行活性化学成分开发和利用提供参考。

参考文献:

- [1] Ma X Y, Moilanen J, Laaksonen O, *et al.* Phenolic compounds and antioxidant activities of tea-type infusions processed from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves [J]. *Food Chem*, 2019, 272: 1-11.
- [2] Pop R M, Socaciu C, Pintea A, *et al.* UHPLC/PDA-ESI/MS analysis of the main berry and leaf flavonol glycosides from different carpathian *Hippophae rhamnoides* L. varieties [J]. *Phytochem Anal*, 2013, 24(5): 484-492.
- [3] Giuffrida D, Pintea A, Dugo P, *et al.* Determination of carotenoids and their esters in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) by HPLC-DAD-APCI-MS [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(3): 267-273.
- [4] Yang Z G, Wen X F, Li Y H, *et al.* Inhibitory effects of the constituents of *Hippophae rhamnoides* on 3T3-L1 cell differentiation and nitric oxide production in RAW264.7 cells [J]. *Chem Pharm Bull*, 2013, 61(3): 279-285.
- [5] Zheng R X, Xu X D, Tian Z, *et al.* Chemical constituents from the fruits of *Hippophae rhamnoides* [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(15): 1451-1456.
- [6] Michel T, Destandau E, Floch G L, *et al.* Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed [J]. *Food Chem*, 2012, 131(3): 754-760.
- [7] Upadhyay N K, Kumar M S Y, Gupta A. Antioxidant, cytoprotective and antibacterial effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(12): 3443-3448.
- [8] Enkhtaivan G, Maria John K M, Pandurangan M, *et al.* Extreme effects of seabuckthorn extracts on influenza viruses and human cancer cells and correlation between flavonol glycosides and biological activities of extracts [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2017, 24(7): 1646-1656.
- [9] Ganju L, Padwad Y, Singh R, *et al.* Anti-inflammatory activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves [J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(12): 1675-1684.
- [10] Yang Z G, Li H R, Wang L Y, *et al.* Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical-scavenging activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(1): 15-18.
- [11] Tian Y, Liimatainen J, Alanne A L, *et al.* Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants [J]. *Food Chem*, 2017, 220: 266-281.

[12]

Ma X Y, Laaksonen O, Zheng J, *et al.* Flavonol glycosides in berries of two major subspecies of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and influence of growth sites[J]. *Food Chem*, 2016, 200: 189-198.

[13]

Dong R F, Su J, Nian H, *et al.* Chemical fingerprint and quantitative analysis of flavonoids for quality control of sea buckthorn leaves by HPLC and UHPLC-ESI-QTOF-MS [J]. *J Funct Foods*, 2017, 37: 513-522.

[14]

Yang B R, Halttunen T, Raimo O, *et al.* Flavonol glycosides in wild and cultivated berries of three major subspecies of *Hippophaë rhamnoides* and changes during harvesting period[J]. *Food Chem*, 2009, 115(2): 657-664.

[15]

付文婷, 胡 兰, 古丽米热·阿不都热依木,等. 新疆中亚沙棘化学成分的分离和纯化 [J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(5): 570-571; 574.

[16]

陈 雒, 张 浩, 顾 恒, 等. 中国沙棘果实中的黄酮苷类成分[J]. 华西药学杂志, 2007, 22(4): 367-370.

[17]

吴增宝, 李梦良, 常 敏, 等. 唐古特白刺水溶性化学成分研究 [J]. 石河子大学学报 (自然科学版), 2012, 30 (6): 728-730.

[18]

陈 雒, 张 浩, 肖 蔚. 中国沙棘果实的部分化学成分提取[J]. 水资源开发与管理, 2005, 3(4): 25-27.

[19]

洪道鑫, 张雨欣, 李轩豪, 等. 西藏沙棘叶黄酮类化学成分的研究 [J]. 中药材, 2017, 40(4): 861-864.

[20]

Sun J P, Liang F, Bin Y, *et al.* Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries [J]. *Molecules*, 2007, 12(3): 679-693.

[21]

Díaz-de-Cerio E, Gómez-Caravaca A M, Verardo V, *et al.* Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS [J]. *J Funct Foods*, 2016, 22: 376-388.

[22]

Sentandreu E, Cerdán-Calero M, Sendra J M. Phenolic profile characterization of pomegranate (*Punica granatum*) juice by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to an electrospray ion trap mass analyzer [J]. *J Food Compos Anal*, 2013, 30(1): 32-40.

[23]

Ibrahim R M, El-Halawany A M, Saleh D O, *et al.* HPLC-DAD-MS/MS profiling of phenolics from *Securigera securidaca* flowers and its anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic activities [J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2015, 25(2): 134-141.

[24]

秦振娟, 张 瑜, 齐梦蝶, 等. 中国沙棘和西藏沙棘叶中化学成分的 UPLC/Q-TOF-MS 快速分析 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1461-1468.