

doi: 10.19969/j.fxcsxb.22031502

# 基于UPLC-Q-TOF MS技术结合化学计量学数据自动化解析的不同花期沙枣花成分分析

张佳妮<sup>1</sup>, 都青钰<sup>1</sup>, 汪兴财<sup>2</sup>, 刘嘉楠<sup>1</sup>, 马梦晗<sup>1</sup>, 马兴玲<sup>1</sup>, 赵娟娟<sup>1</sup>,  
郭晓萌<sup>1</sup>, 张阳<sup>1</sup>, 于永杰<sup>1\*</sup>

(1. 宁夏医科大学 药学院, 宁夏 银川 750004; 2. 浙江工业大学 化学工程学院, 浙江 杭州 310032)

**摘要:** 基于超高效液相色谱-串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)的非靶向代谢组学技术, 结合课题组发展的化学计量学数据自动化解析方法(AntDAS), 对沙枣花初花期、盛花始期、盛花期和盛花末期4个花期中的化合物进行了分析。沙枣花样品经70%甲醇-水超声提取30 min后, 离心取上清液进行UPLC-Q-TOF MS分析采集化合物信息, 经AntDAS解析后, 共鉴定出19个差异性代谢物, 其中12个化合物经对照品验证, 可确定分别为L-赖氨酸、L-组氨酸、谷氨酰胺、L-蛋氨酸、L-酪氨酸、苯丙氨酸、L-色氨酸、N-甲基-L-脯氨酸、对羟基肉桂酸、水仙苷、反式阿魏酸、苦豆碱。利用主成分分析和层次聚类分析对不同花期的样本进行分析, 结果均显示同花期的沙枣花样本聚集在一起, 不同花期的沙枣花样本显示出明显区分。热图分析结果进一步表明不同花期沙枣花样本中的化合物含量存在较大差异, 如沙枣花样本中多数氨基酸(如L-色氨酸、L-赖氨酸、L-组氨酸、L-酪氨酸、L-蛋氨酸)在盛花期和盛花末期中的含量高于初花期和盛花始期。该研究可为不同花期沙枣花的品质稳定性评估及后期开发应用提供依据, 也为其他植物中复杂化学成分的分析提供了新的研究思路。

**关键词:** 沙枣花; AntDAS软件; 代谢组学; 化学计量学; 超高效液相色谱-串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS); 成分分析

中图分类号: O657.63; O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2022)08-1178-07

## Component Analysis of *Elaeagnus Angustifolia* L. Flowers on Different Flowering Stages Based on UPLC-Q-TOF MS Technology Combined with Chemometric Data Analysis Strategy

ZHANG Jia-ni<sup>1</sup>, DU Qing-yu<sup>1</sup>, WANG Xing-cai<sup>2</sup>, LIU Jia-nan<sup>1</sup>, MA Meng-han<sup>1</sup>, MA Xing-ling<sup>1</sup>,  
ZHAO Juan-juan<sup>1</sup>, GUO Xiao-meng<sup>1</sup>, ZHANG Yang<sup>1</sup>, YU Yong-jie<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. College of Chemical Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

**Abstract:** In this work, an ultrahigh performance liquid chromatography tandem time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) with chemometric method of automatic untargeted data analysis software (AntDAS) was developed to analyze the flower samples of *Elaeagnus angustifolia* L. Flowers from four periods, i. e. initial bloom stage (25% of flowers), pre-full bloom stage (70%–80% of flowers), full bloom stage (100% of flowers) and the ending of the bloom stage (flowers began to wither) were collected at the location of Yinchuan, China. All samples were immediately placed into liquid nitrogen after collection, and transformed into the laboratory. Then, each flower sample was grounded to powder with a grinder. About 20 mg samples were weighted and put into a 2 mL tube, then added with 1.5 mL extraction solution (a mixture of methanol and water with volume ratio of 7:3) to perform the metabolite extraction. A 30 min ultrasonic extraction was utilized, followed by a 15 min centrifugation at 13 000 r/min. Eventually, about 3  $\mu$ L was injected into an AB SCIEX Triple TOF 5600 + MS instrument, which was connected with a Waters ACQUITY UPLC I-Class PLUS UPLC. Metabolites were separated with a chromatographic column of Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.7  $\mu$ m). The mobile phase consisted of water and acetonitrile, both

收稿日期: 2022-03-15; 修回日期: 2022-05-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21868028); 宁夏回族自治区重点研发计划(2020BEG03039)

\* 通讯作者: 于永杰, 博士, 教授, 研究方向: 化学计量学仪器分析新方法研究, E-mail: yongjie.yu@163.com

of which were added with 0.1% formic acid. The acquired data files were directly imported into AntDAS for automatically performing extracted ion chromatogram (EIC) construction, EIC peak detection, and peak registration to screen features that show significant differences among various flowering stages. At last, compound identification was performed by the AntDAS on the basis of the screened features. A total of 19 metabolites were identified based on the above-mentioned data analysis workflow, among which 12 metabolites were further confirmed by standards, including *L*-lysine, *L*-histidine, glutamine, *L*-methionine, *L*-tyrosine, phenylalanine, *L*-tryptophan, *N*-methyl-*L*-proline, *trans*-4-coumaric acid, isorhamnetin-3-*O*-rutinoside, *trans*-ferulic acid and ormosanine. Results from both principal component analysis and hierarchical cluster analysis indicated that flowers of *Elaeagnus angustifolia* L. from different flowering stages can be clearly separated. The heatmap analysis suggested that compounds from various flowering stages show significantly different expression levels. For example, majority of amino acids (*L*-tryptophan, *L*-lysine, *L*-histidine, *L*-tyrosine and *L*-methionine) were expressed at higher levels during the full bloom and the ending of the bloom stages when compared with the initial bloom and the pre-full bloom stages. The study may be helpful for the quality evaluation of flowers of *Elaeagnus angustifolia* L. Additionally, the developed strategy provides a new solution for current plant-related research works.

**Key words:** *Elaeagnus angustifolia* L. flowers; AntDAS software; metabolics; chemometrics; ultrahigh performance liquid chromatography tandem time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS); component analysis

沙枣花为胡颓子科胡颓子属植物沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)的花朵, 主要分布于我国西北地区如宁夏、甘肃、青海、新疆等地。沙枣花形似漏斗、银白色、小而香<sup>[1]</sup>, 开花时间随不同地区的海拔高度和气候条件而有所差异, 但多集中于5~6月份, 花期约20余天。沙枣花作为药食同源的植物, 具有广泛的生物活性和应用价值<sup>[2]</sup>。沙枣花味甘、涩, 性温, 止咳平喘。沙枣花蜜可供气虚畏寒、脾胃虚寒的病人食用。沙枣花精油可用于化妆品行业<sup>[3]</sup>, 也可作为原辅料添加在加工食品中, 如沙枣花茶、沙枣花调味酒等。不同花期沙枣花的化学成分含量分布有所不同, 并会影响沙枣花的品质, 因此研究沙枣花花期中的化学成分变化对于产品原料的保障具有实际价值。

目前, 国内外已针对沙枣花的化学成分开展了研究, 如王雅等<sup>[4]</sup>对沙枣花开花周期中精油的含量和质量进行评估, 发现沙枣花精油在不同开花周期中具有规律性, 精油含量在开花率为80%时达到峰值。乔海军等<sup>[3]</sup>对沙枣花的挥发油进行了气相色谱-质谱(GC-MS)分析, 分离出64个组分并鉴定了54个组分, 其中含量最高的化合物为反式肉桂酸乙酯。丁嘉文等<sup>[5]</sup>通过水蒸气蒸馏法、固相微萃取法、顶空采集法、气囊采集法4种方法对沙枣花中的挥发性成分进行提取, 采用GC-MS进行成分鉴定, 发现4种方法均可提取出反式肉桂酸乙酯和邻苯二甲酸二乙酯。Torbati等<sup>[6]</sup>应用GC-MS和气相色谱-火焰离子化检测器(GC-FID)联用技术, 对沙枣花中提取的挥发油进行化学成分分析, 最终鉴定出53个成分, 占精油总含量的96.59%。

当前针对沙枣花中化学成分的研究多集中于挥发性成分, 侧重于利用GC-MS开展沙枣花精油的相关研究, 而有关沙枣花的超高效液相色谱-串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)分析研究鲜有报道。液相色谱-质谱联用技术作为代谢组学研究的主要平台<sup>[7-8]</sup>, 能够实现沙枣花中难挥发性化合物更准确且稳定的检测。但当前高分辨质谱信息的解析存在多种难题, 如化合物提取困难、化合物鉴定错误和难以筛选差异性化合物等。为解决这一问题, 本课题组提出了超高效液相色谱-高分辨质谱(UPLC-HRMS)数据自动化分析处理软件AntDAS<sup>[9-10]</sup>, 根据化合物离子分布特点, 采用离子密度聚类方法实现数据中提取离子色谱(EIC)峰的构建。随后采用动态窗口拓展结合仪器噪声自动估计策略实现EIC峰的提取, 并标记精确 $m/z$ 值。待样本中所有EIC峰提取后, 根据EIC峰的高精度 $m/z$ 值进行注释, 识别 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M-H_2O+H]^+$ 等。AntDAS在多样本分析时能够根据色谱峰保留时间进行注册, 支持统计分析如方差分析(ANOVA)、化学计量学方法如主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、层次聚类分析(HCA)等, 并对筛选的差异性化合物进行鉴别, 可为不同花期沙枣花中化学成分的变化研究提供新的分析工具。

本研究以宁夏地区不同花期沙枣花为研究对象, 通过液质联用与非靶向代谢组学技术结合课题组发展的AntDAS平台对不同花期沙枣花中的差异性代谢物进行分析, 并采用主成分分析和层次聚类分析

对不同花期的沙枣花样本进行了判别分析, 以为供应品质稳定的沙枣花工业原料提供科学依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC I-Class PLUS 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Triple TOF 5600 + 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司); 氮气发生仪(英国 PEAK 公司); 真空泵(德国 Leybold 公司); KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 涡旋仪(杭州旌斐仪器科技有限公司); 离心机、-40 °C 冰箱(赛默飞世尔科技(中国)有限公司); 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); 真空冷冻干燥机(上海叶拓科技有限公司); 高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

甲醇、乙腈、异丙醇(色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司); 甲酸(德国 Merck 公司); 蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司); 对照品: 苯丙氨酸、谷氨酰胺、L-蛋氨酸、L-赖氨酸、L-酪氨酸、L-色氨酸、L-组氨酸购自美国 Sigma 公司, N-甲基-L-脯氨酸、对羟基肉桂酸、水仙苷、反式阿魏酸、苦豆碱购自上海源叶生物科技有限公司。

### 1.2 样品采集

沙枣花样本采集于宁夏回族自治区银川市兴庆区小雁湖旁(北纬 38°24'40", 东经 106°16'24")。采摘时间为 2021 年 5 月 16 日至 6 月 2 日, 平均间隔 4 ~ 5 d 采集 1 次, 包括初花期 G1(少量花开放至全树 25% 花瓣开放)、盛花始期 G2(全树 70% ~ 80% 花瓣开放)、盛花期 G3(100% 花瓣开放)以及盛花末期 G4(花瓣萎凋脱落)的样本。每个花期采集 8 个平行样本, 共采集 32 个沙枣花样本。样本采摘后进行液氮速冻, 转移至 -40 °C 冰箱冷冻保存, 直至样本分析。

### 1.3 沙枣花中化合物的提取

将沙枣花样本置于真空冷冻干燥机中冻干 24 h 后取出粉碎。称取沙枣花样品 20 mg 于 2 mL 离心管中, 加入 1.5 mL 70% 甲醇-水提取溶剂, 涡旋 2 min, 超声提取 30 min, 13 000 r/min 下离心 15 min 后, 取上清液装入色谱瓶待分析。

质控(QC)样本由所有沙枣花冻干粉等量混匀制得, 其化合物提取与上述步骤相同。

### 1.4 UPLC-Q-TOF MS 仪器条件

液相色谱条件: 进样量: 3 μL; 流速: 0.2 mL/min; 柱温: 35 °C; 流动相 A 为 0.1% 甲酸-水, B 为 0.1% 甲酸-乙腈。梯度洗脱程序: 0 ~ 1 min, 95% ~ 85% A; 1 ~ 7 min, 85% ~ 80% A; 7 ~ 13 min, 80% ~ 75% A; 13 ~ 19 min, 75% ~ 65% A; 19 ~ 27 min, 65% ~ 42% A; 27 ~ 32 min, 42% ~ 25% A; 32 ~ 35 min, 25% ~ 15% A; 35 ~ 36 min, 15% ~ 0% A; 36 ~ 39 min, 0% A; 39 ~ 40 min, 0% ~ 95% A。后运行 5 min。

质谱条件: 使用数据采集软件(Analyst TF 1.8 Software)设置在信息依赖采集(IDA)模式下采集样品的高分辨质谱信息。离子源采用电喷雾电离源(ESI), 正离子模式下采集, 雾化气(GS1): 344 750 Pa (50 psi); 辅助加热气(GS2): 344 750 Pa (50 psi); 气帘气(CUR): 117 215 Pa (17 psi); 离子源温度: 500 °C; 雾化电压(ISVF): 5 500 V; 去簇电压(DP): 80 V。

正离子模式下设置一级质谱质量扫描范围为 100 ~ 1 000 Da, 碰撞能量(CE)为 10 eV, 一级采集频率(Accumulation time)为 0.2 s。IDA 模式下自动选取离子采集二级质谱信息, 二级质谱质量扫描范围为 50 ~ 1 000 Da, 碰撞能量扩展(CES): 15 eV, 质量允差(Mass tolerance)为 100 mDa, 采集频率为 0.03 s, 每个循环监测的候选离子最多选择 5 个母离子扫描二级质谱信息, 动态排除时间为 5 s。

### 1.5 数据处理

数据分析由课题组研发的 AntDAS 数据处理软件完成。该软件能直接对仪器采集的原始数据进行分析, 包括自动实现 EIC 峰构建、EIC 峰提取、峰注释、样本时间漂移校正、峰注册和峰填充等, 可获得样本 × EIC 峰的化合物信息列表。基于该列表进行化学计量学分析, 如方差分析、层次聚类分析和主成分分析, 最终将筛查出的化合物质谱谱图与第三方数据库(<http://prime.psc.riken.jp/compsms/msdial/main.html>)进行匹配鉴定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 AntDAS实现沙枣花中化合物信息的提取

AntDAS能够直接读取UPLC-HRMS的原始数据,图1为沙枣花QC样本的总离子流色谱(TIC)图,由图可见TIC峰在整个流出段内基本得到良好分离。利用AntDAS能够自动实现仪器采集的原始数据分析,图2A给出了AntDAS中 $m/z$  133.101 2 Da下色谱峰的提取结果,共提出17个EIC峰,多数EIC峰实现了基线分离。图2B和图2C给出了峰提取结果的局部放大图,表明即使借助于高分辨质谱技术,仍存在部分化合物信号重叠的情况。针对化合物的重叠信号, AntDAS能够实现较为合理的分割。从图2C可以看出, AntDAS能够从仪器背景噪声中准确识别化合物的EIC峰,并准确估计化合物的流出范围。利用AntDAS对39个样本进行分析,最终得到 $19\ 478 \times 39$ 的化合物信息列表,其中19 478为EIC峰数量,39为样本数量(包括32个不同花期的沙枣花样本与7个QC样本)。

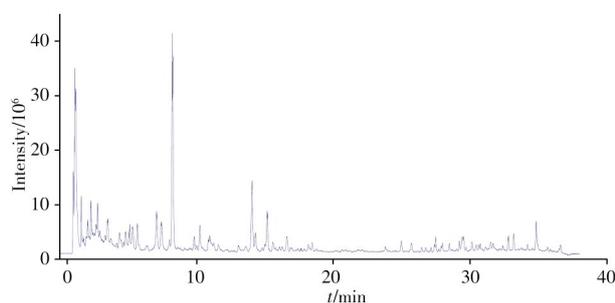


图1 沙枣花QC样本的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of QC sample of *Elaeagnus angustifolia* L. flowers

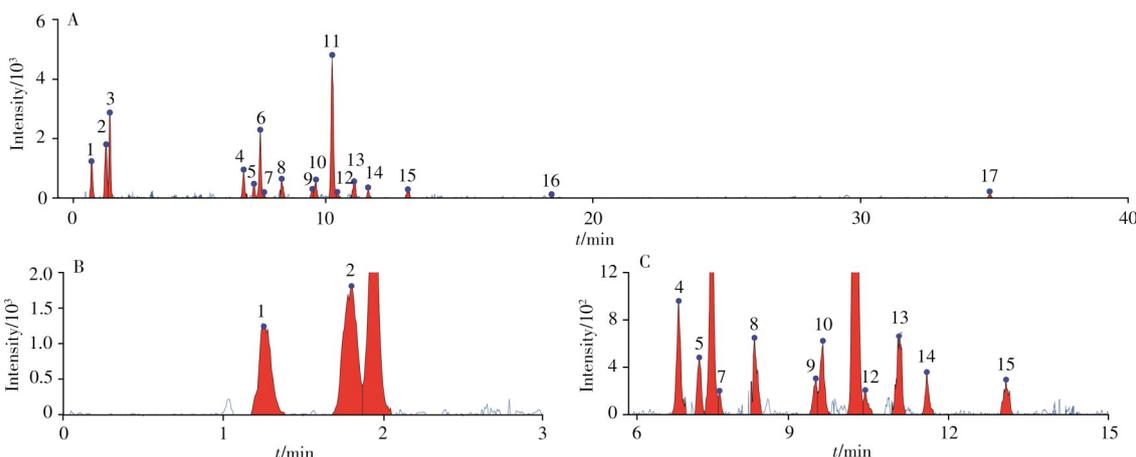


图2 AntDAS进行EIC峰提取(A)及其细节图示例(B、C)

Fig. 2 EIC peak extraction with AntDAS(A) and its detail diagram(B, C)

对样本中7个QC样本进行评估,计算各EIC峰面积的相对标准偏差(RSD),结果如图3所示。由图可知,RSD  $\leq$  20%的色谱峰数量为11 267个,占总峰数量的57.8%。RSD  $\leq$  30%的色谱峰数量为12 998个,占总峰数量的66.7%。即使在RSD  $\leq$  10%的水平下,峰数量仍达到总峰数量的33.1%,说明该方法在批量进样过程中稳定,所采集的数据质量可靠,可以进行后续研究。

### 2.2 不同花期沙枣花样本分析

利用ANOVA对注册的化合物EIC峰进行分析,在 $P$ 值为0.01置信水平下,筛选出13 664个在不同组别间存在差异的EIC峰。随后基于差异性EIC峰进行PCA和HCA分析,结果如图4A和图4B所示。PCA分析结果表明,前两个主成分解释了样本中约60%的信息(图4A)。样本在前两个主成分上的分布清晰地显示出不同花期的沙枣花样本分别聚成一类。不同花期的样本在前两个主成分上的分布距离存在

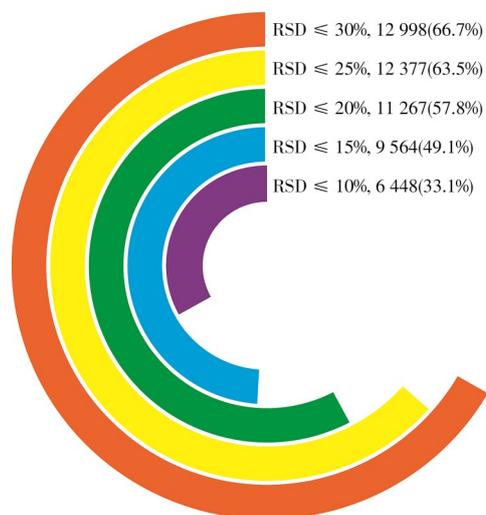


图3 基于QC样本的色谱峰面积RSD分布图  
Fig. 3 RSD distribution map of chromatographic peak area based on QC samples

明显不同,沿第一主成分轴逐步变化,体现了不同花期沙枣花中的化合物不断变化。从PCA图中还可看出QC样本位于前两个主成分轴的原点,表明样本混合均匀。且QC样本聚集较为紧密,表明本方法的精密度较好。HCA分析表明,不同花期的沙枣花样本聚为4类(图4B)。其中初花期和盛花始期较为接近,而盛花期和盛花末期较为接近,与PCA分析结果相一致。

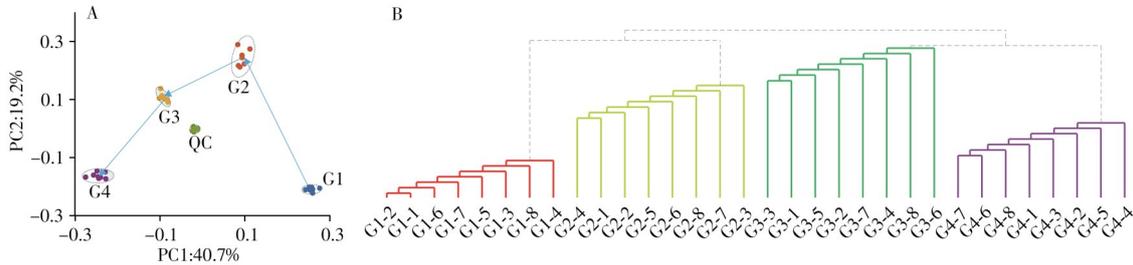


图4 不同花期沙枣花样本的PCA(A)和HCA(B)分析结果

Fig. 4 PCA(A) and HCA(B) analysis results of flower samples of *Elaeagnus angustifolia* L. in different flowering stages  
G1: initial bloom stage(初花期); G2: pre-full bloom stage(盛花始期); G3: full bloom stage(盛花期);  
G4: ending of the bloom stage(盛花末期)

### 2.3 化合物鉴定

AntDAS能够自动根据EIC峰的峰形和MS/MS结果将同一化合物的峰划分到一起,同时整合多样本的信息构建化合物离子源内裂解形成的MS及MS/MS谱图,用于化合物的识别。以槲皮素-3,4'-二-O- $\beta$ -葡萄糖苷为例,图5展示了基于AntDAS的化合物识别流程。图5A为AntDAS构建的化合物MS谱图,由化合物源内裂解形成的碎片离子构成。图5B为对应各碎片离子的EIC图,流出曲线的形状高度一致。图5C为 $m/z$  627.15的MS/MS谱图,该离子断裂后主要形成 $m/z$  465.1125和303.0489的碎片离子,与图5A中MS的离子一致,表明AntDAS能够从复杂数据中准确构建化合物的MS和MS/MS谱图。图5D为化合物最终的鉴定结果,该物质的MS和MS/MS谱图匹配较好。利用AntDAS构建的MS和MS/MS谱图对化合物进行识别,最终鉴定出沙枣花中19个化合物(见表1)。同时对鉴定的化合物进行对照品验证,最终能明确12个化合物。

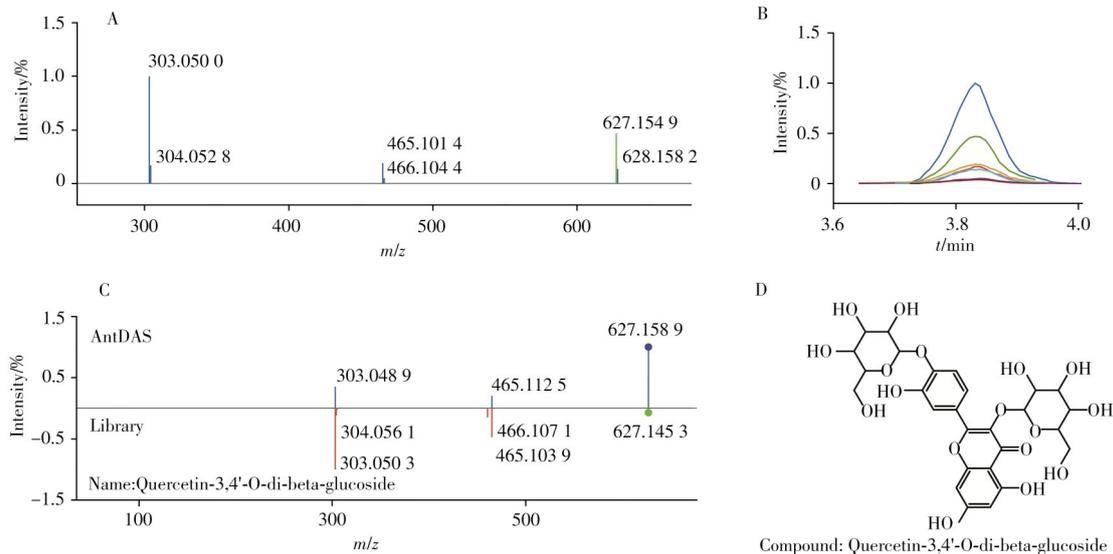


图5 AntDAS的化合物鉴定过程示例

Fig. 5 An example of the compound identification process by AntDAS

A: MS spectrum of compound constructed by AntDAS; B: EICs corresponding to each fragment ions; C: MS/MS spectrum of  $m/z$  627.15; D: final result of compound identification

图6给出了19个化合物的热图分析结果。由图可知,不同花期沙枣花中化合物的含量分布有明显差异,初花期中氨来咕诺、对羟基肉桂酸、苯丙氨酸、4-羟基肉桂醛的含量相对较高。盛花始期中,氨来咕诺、5-羟基色胺、谷氨酰胺、山奈酚-3-O-葡萄糖苷-6"- $p$ -香豆酰、 $L$ -蛋氨酸、 $L$ -酪氨酸6个化合物的含量较高。盛花期中,N-甲基- $L$ -脯氨酸、水仙苷、反式阿魏酸、5-羟基色胺、谷氨酰胺、 $L$ -蛋氨酸

酸、*L*-酪氨酸、*L*-组氨酸、*L*-赖氨酸、*L*-色氨酸等化合物的含量相对较高。盛花末期中, 槲皮素-3, 4'-二-*O*- $\beta$ -葡萄糖苷、5-羟基色胺、矮牵牛素-3-*O*- $\beta$ -葡萄糖苷、*L*-蛋氨酸、*L*-酪氨酸、*L*-组氨酸、*L*-赖氨酸、*L*-色氨酸、香橙素9个化合物的含量较高。

表1 利用AntDAS构建的MS和MS/MS化合物识别结果

Table 1 The results of compound identified through MS and MS/MS constructed by AntDAS

No.	Experimental mass (实测值)	RT/min (保留时间)	MF(MS <sup>1</sup> + MS <sup>2</sup> , 匹配度)	Formula (分子式)	Compound(化合物)	MS/MS compound fragments (二级质谱特征碎片)	Confirmed by reference substance (经对照品验证)
1	147.112 0	1.034	1.044 7	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>L</i> -Lysine( <i>L</i> -赖氨酸)	147.113 1, 130.084 2, 84.080 7	Yes
2	156.076 2	1.041	1.706 8	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	<i>L</i> -Histidine ( <i>L</i> -组氨酸)	156.077 4, 110.073 5	Yes
3	147.075 8	1.120	1.724 8	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Glutamine(谷氨酰胺)	147.075 5, 130.050 0, 101.071 8, 84.044 2	Yes
4	130.085 6	1.189	1.510 6	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	N-Methyl- <i>L</i> -proline (N-甲基- <i>L</i> -脯氨酸)	130.085 8, 84.079 8, 56.050 2	Yes
5	150.057 6	1.575	1.771 1	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	<i>L</i> -Methionine ( <i>L</i> -蛋氨酸)	150.059 5, 133.029 8, 104.050 4	Yes
6	182.081 2	1.599	1.510 3	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	<i>L</i> -Tyrosine( <i>L</i> -酪氨酸)	182.081 9, 165.056 5, 136.074 2	Yes
7	177.101 7	2.061	1.511 3	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	Serotonin(5-羟基色胺)	177.102 1, 160.075 1, 159.577 4, 132.074 7, 115.054 7	No
8	166.086 0	2.292	1.575 1	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Phenylalanine (苯丙氨酸)	166.085 2, 149.059 6, 131.047 2, 120.080 2, 103.051 4	Yes
9	205.096 9	2.771	1.195 6	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>L</i> -Tryptophan ( <i>L</i> -色氨酸)	205.096 8, 188.069 4, 170.055 5, 159.094 4, 146.060 0, 132.079 1, 118.065 8	Yes
10	299.112 2	2.825	1.573 0	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Amlexanox(氨来咕诺)	299.111 5, 281.098 9	No
11	165.054 1	3.089	1.440 6	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	<i>trans</i> -4-Coumaric acid (对羟基肉桂酸)	165.056 7, 147.042 0	Yes
12	627.155 3	3.849	0.995 1	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>17</sub>	Quercetin-3, 4'- <i>O</i> -di-beta-glucoside(槲皮素-3, 4'-二- <i>O</i> - $\beta$ -葡萄糖苷)	627.158 9, 627.127 0, 465.112 5, 303.063 6, 303.048 9	No
13	289.070 5	3.825	1.535 1	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Dihydrokaempferol (香橙素)	289.068 5, 271.057 5, 243.063 1	No
14	625.176 3	5.305	1.304 5	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	Isorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinoside(水仙苷)	625.198 7, 625.173 3, 479.152 1, 479.118 1, 479.101 2, 463.111 5, 317.083 6, 317.065 3	Yes
15	195.064 8	5.882	1.351 6	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	<i>trans</i> -Ferulic acid (反式阿魏酸)	195.079 0, 195.063 7, 177.047 6	Yes
16	479.117 8	7.455	1.634 0	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>12</sub>	Petunidin-3- <i>O</i> -beta-glucoside(矮牵牛素-3- <i>O</i> - $\beta$ -葡萄糖苷)	479.127 1, 317.058 1	No
17	595.144 6	14.094	1.474 8	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucoside-6''- <i>p</i> -coumaroyl (山奈酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷-6''- <i>p</i> -香豆酰)	595.142 6, 309.115 6, 309.095 8, 291.083 6, 287.055 4, 165.055 5, 147.041 2	No
18	149.059 2	25.726	1.324 1	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	<i>p</i> -Coumaraldehyde (4-羟基肉桂醛)	149.060 4, 131.048 9, 121.030 9, 103.053 8	No
19	318.290 3	26.434	0.619 6	C <sub>20</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub>	Ormosanine(苦豆碱)	318.303 8, 318.278 6	Yes

热图分析结果显示, 沙枣花中多数氨基酸在盛花期和盛花末期中含量较高。现有研究表明, 氨基酸与植物进行光合作用、抗病虫害、调节植物生长有关。同时氨基酸还可作为衡量植物品质的重要指标<sup>[11]</sup>, 其组成和含量影响植物的化学成分, 例如茶叶中的氨基酸调控其香气和滋味<sup>[12]</sup>, 烟草中的氨基酸对其香气有重要贡献, 影响卷烟品质<sup>[13]</sup>, 由此推测沙枣花的特殊香味也与其种类丰富的氨基酸有关。此外, 沙枣花中鉴定出以下化合物, 如香橙素具有清除氧自由基、抗病毒等作用<sup>[14]</sup>; 反式阿魏酸具有抗炎、止痛、抗血栓、抗自由基和调节免疫功能等作用; 苦豆碱具有抗肿瘤、抗虫和抗炎等作用; 水仙苷具有抗炎和杀虫等作用<sup>[15]</sup>, 其在盛花期的沙枣花中含量相对较高。而初花期和盛花始期的沙枣花中氨来咕诺含量相对较高, 该化合物已在临床上用于治疗哮喘、过敏性鼻炎和复发性口腔溃疡<sup>[16]</sup>, 这与沙枣花的功能主治相似, 提示用于止咳平喘的沙枣花应在花期相对靠前的时间采集。

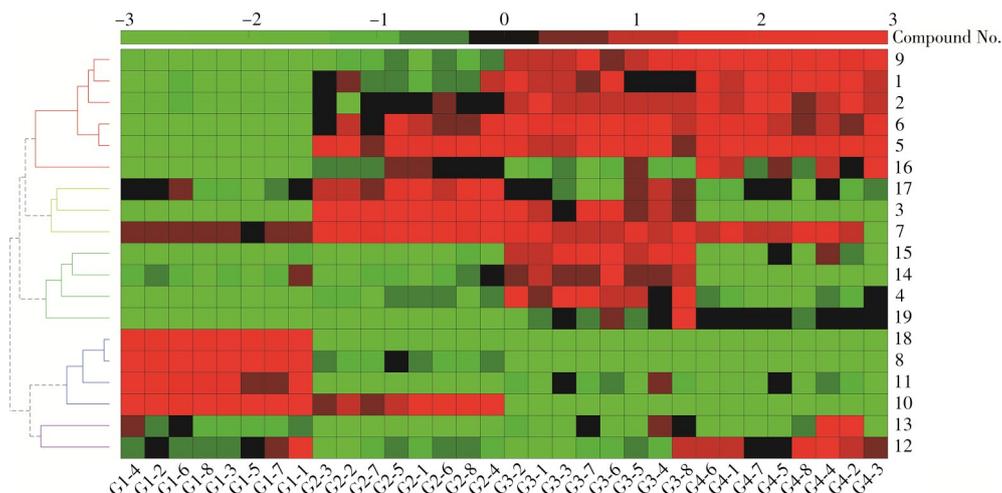


图6 AntDAS鉴定出的沙枣花中化合物的热图分析结果

Fig. 6 The heatmap analysis results of compounds in *Elaeagnus angustifolia* L. flowers identified by AntDAS  
compound numbers were the same as those in Table 1

以上分析表明, 基于本课题组自主开发的 AntDAS 结合 UPLC - Q - TOF MS 技术能实现不同花期沙枣花中差异性化合物的筛查和鉴定, 可用于沙枣花开花期间的化合物含量变化研究。本研究不仅对沙枣花的品质稳定性评估以及后期开发应用提供了理论支撑, 同时为复杂植物中化学成分分析提供了新的技术手段。

### 3 结 论

本文提出了将 AntDAS 与 UPLC - Q - TOF MS 非靶向代谢组学技术相结合的策略用于研究不同花期沙枣花中差异性代谢物的变化。借助该策略筛选出 19 个化合物, 其中 12 个化合物经对照品验证一致, 多数氨基酸在沙枣花的盛花期和盛花末期中含量更高, 槲皮素-3, 4'-二-O- $\beta$ -葡萄糖苷、香橙素等黄酮类化合物在盛花末期中含量更高, 在其它生长时期含量偏低。本研究不仅为不同花期沙枣花的化学成分分析以及开发应用提供依据, 同时表明 AntDAS 可为其他植物体系不同采收时期样本的评估提供新的手段。

#### 参考文献:

- [1] Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M, Sohraby M, Shahlari N, Hamidpour R. *J. Tradit. Complementary Med.*, **2017**, 7(1): 24 - 29.
- [2] Farzaei M H, Bahramsoltani R, Abbasabadi Z, Rahimi R. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2015**, 67(11): 1467 - 1480.
- [3] Qiao H J, Yang J T, Yang X, Zhao L B, Li T H. *Food Sci.* (乔海军, 杨继涛, 杨晰, 赵连彪, 李铁汉. 食品科学), **2011**, 32(16): 233 - 235.
- [4] Wang Y, Zhao K, Zhao P, Zhang Y, He Y J. *Sci. Technol. Food Ind.* (王雅, 赵坤, 赵萍, 张轶, 贺一君. 食品工业科技), **2008**, 29(5): 92 - 94.
- [5] Ding J W, Chen Y T, Xie X, Zhu G P, Liu X M, Liu Q. *Plant Sci. J.* (丁嘉文, 陈易彤, 谢晓, 朱耿平, 刘向明, 刘强. 植物科学学报), **2015**, 33(1): 116 - 125.
- [6] Torbati M, Asnaashari S, Afshar F H. *Adv. Pharm. Bull.*, **2016**, 6(2): 163 - 169.
- [7] Xu T R, Liu X Y, Xu G W. *J. Instrum. Anal.* (徐天润, 刘心昱, 许国旺. 分析测试学报), **2020**, 39(1): 10 - 18.
- [8] Li L L, Li Y, Lu H, Wang X. *J. Instrum. Anal.* (李丽丽, 李月, 卢恒, 王晓. 分析测试学报), **2020**, 39(12): 1501 - 1507.
- [9] Fu H Y, Guo X M, Zhang Y M, Song J J, Zheng Q X, Liu P P, Lu P, Chen Q S, Yu Y J, She Y B. *Anal. Chem.*, **2017**, 89(20): 11083 - 11090.
- [10] Zhao J J, Zhang Y, Wang X C, Wang X, Zhang Q, Lu P, Liu P P, Yu Y J, Han L, Zhou H N, Zheng Q X, Fu H Y. *Anal. Chim. Acta*, **2022**, 1193: 339393.
- [11] Ji H W, Zhang L, Wang F, Liu J, Huang X J, Liu Y P. *Phys. Test. Chem. Anal.; Chem. Anal.* (姬厚伟, 张丽, 王芳, 刘剑, 黄锡娟, 刘义萍. 理化检验 - 化学分册), **2016**, 52(1): 119 - 124.
- [12] Jing R, Feng L, Chen L M. *J. Anhui Agric. Sci.* (井然, 冯雷, 陈丽梅. 安徽农业科学), **2010**, 38(17): 9186 - 9187.