

超高效液相色谱-串联高分辨质谱对刺梨槲皮素及其糖苷类化合物的鉴定分析

王 翼¹ 顾苑婷² 丁筑红^{*1} 陈思奇¹ 肖仕芸¹
余奕宏¹ 杜勃峰¹ 宋煜婷¹

¹(贵州大学酿酒与食品工程学院, 国家林业原局刺梨工程技术研究中心,
贵州省农畜产品贮藏加工重点实验室, 贵阳 550025)
²(毕节职业技术学院, 毕节 551700)

摘 要 为探明刺梨中的槲皮素组分及其结合态糖苷类化合物构成,采用超高效液相色谱-串联高分辨质谱法,通过标准品保留时间对照、相对分子质量、二级质谱碎片等信息对刺梨槲皮素及其糖苷类化合物进行了解析。从刺梨中共鉴定出 1 种槲皮素与 9 种含有槲皮素母核结构物质,可确定化学组成的化合物为槲皮素、槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-[6"-*O*-(3-羟基-3-甲基戊二酰)- β -*D*-半乳糖苷]、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷,其中,槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-[6"-*O*-(3-羟基-3-甲基戊二酰)- β -*D*-半乳糖苷]首次在刺梨中发现。根据离子碎片推断槲皮素糖苷裂解途径,丰富了刺梨资源的基础研究成果,为槲皮素结构鉴定以及后续开发刺梨槲皮素糖苷的药食利用价值提供了参考。

关键词 刺梨; 槲皮素; 槲皮素糖苷; 超高效液相色谱-串联高分辨质谱

1 引言

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt.)系蔷薇科蔷薇属落叶灌木,原产我国西南部^[1],刺梨中的功能活性成分包括维生素 C、超氧化物歧化酶、刺梨黄酮、刺梨多糖,以及多种人体必需氨基酸,黄酮为其主要活性成分。槲皮素及糖苷化合物属于黄酮醇(Flavonol),是典型的黄酮类化合物。槲皮素结构带有多个羟基,易结合糖基形成糖苷,糖基连接的类型与位置不同,所形成的槲皮素糖苷也不同。槲皮素及其糖苷具有抗肿瘤、抗病毒、治疗糖尿病和保护心血管的作用^[2],具有良好的药用价值。

槲皮素苷元及其糖苷分析鉴定的常用方法有薄层扫描法、荧光光度法、示波极谱滴定法、高效毛细管电泳法(HPCE)、高效液相色谱法(HPLC)及液相色谱法-质谱联用法(LC-MS)等。其中,HPLC 检测快速准确、操作简便、重现性好^[3];质谱技术具有快速、精确、灵敏^[4]等优点,可以提供被测物的分子量、分子式与丰富的结构信息^[5],在糖苷类天然产物结构鉴定中发挥了重要作用^[6];超高效液相色谱-串联高分辨质谱法具有高分辨率、精确分子质量、多种扫描和碎裂组合的特点^[7],可同时实现母核、子离子的高分辨采集及质谱碎裂信息获取,除了可鉴定已知化合物,还可以通过不同化合物的裂解规律及特征碎片离子信息推断未知化合物^[8]。丁丽娜等^[9]采用超高效液相色谱-质谱联用技术对沙棘果中的黄酮类化合物进行鉴定,在沙棘果的超临界 CO₂ 萃取物中鉴定出 18 种黄酮类化合物。张伽妹等^[10]利用超高效液相色谱-线性离子阱静电轨道场高分辨质谱联用技术对柘木提取物中的化学成分进行分析鉴定,根据高分辨质谱提供的准分子离子和碎片离子的精确质量信息,结合相关文献数据,鉴定出 28 种黄酮类化合物,并分析了槲皮素、染料木素、环桂木黄素、槲皮素-7-葡萄糖苷等物质的裂解规律。刺梨果实中已经被报道的黄酮苷及苷元有槲皮素、山奈酚^[11]、杨梅素^[7]、槲皮-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷、儿茶素、表儿茶素、原花青素 B₁、没食子儿茶素-(4 α ->8)-儿茶素、山奈酚-3-*O*- β -*D*-(6''-(E)-*p*-酰基)-吡喃葡萄糖苷^[12]。目前,对刺梨槲皮素及糖苷的报道仅限于槲皮-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷及槲皮素的提取方法与含量测定研究^[13],未见对刺梨槲皮素糖苷的鉴定及裂解途径分析的报道。

2019-06-17 收稿; 2020-03-23 接受

本文系国家自然科学基金项目(No. 31860446)、贵州省科学技术基金项目(黔科合基础【2019】1104)和贵州省科技计划项目(黔科合平台人才【2018】5781 号)资助

* E-mail: 457950584@qq.com

本研究采用超高效液相色谱-串联高分辨质谱法(UPLC-HRMS)解析刺梨槲皮素及其糖苷类化合物,根据标准品保留时间对照、相对分子质量、二级质谱碎片等信息对其进行定性研究,探究刺梨黄酮中可能存在的槲皮素糖苷组分及分布。黄酮是刺梨中重要功能成分,其中,游离态槲皮素和键合态槲皮素是主要成分。分析刺梨中槲皮素及其糖苷类物质的组成及结构特点,可为刺梨槲皮素糖苷结构鉴定提供参考,对提高刺梨利用率以及药用功效具有重要意义。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Ultimate 3000 超高效液相色谱仪-Q Exactive Series 高分辨质谱仪(UPLC-HRMS,赛默飞世尔科技有限公司); Milli-Q Integral 5 型超纯水仪(美国 Merck Millipore 公司); KQ2200B 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); BP211D 型电子天平(德国 Satorius 集团); DBS-100 部份收集器(上海琪特分析仪器有限公司); RE52-86A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

无水乙醇、石油醚(分析纯,济南明星化工有限公司); HCl、NaOH(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司)。标准品:槲皮素(98.0%)、槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷(98.0%)、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷(98.0%)(上海源叶生物科技有限公司); 槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷(98.0%,贵州迪大生物科技有限责任公司)。HPD600 大孔树脂(南开大学化工厂)。刺梨(贵龙 5 号品种)采摘于贵州省龙里县,新鲜洁净,大小均匀,无霉烂,清洗沥干后,去蒂、去籽,密封装袋,于-20℃保存备用。

2.2 实验方法

2.2.1 样品液的制备 选择冻藏于-20℃刺梨鲜果肉,真空冷冻干燥后粉碎,过 60 目分样筛,称取适量刺梨粉于锥形瓶中,按料液比 1:20 (w/V) 加入 70% 乙醇,在功率为 300 W、温度 50℃条件下超声 40 min,按料液比 1:3 (w/V) 加入石油醚浸渍 30 min,去除脂溶性色素,4000 r/min 离心 5~10 min,收集上清液,加入到预处理好的 HPD600 树脂层析柱,进行纯化富集,用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 调节上样液至 pH 5.5,以 1 mL/min 速率上样,吸附 3.5 h 后,用 pH 4.5 的 70% 乙醇溶液以 1 mL/min 速率进行洗脱。收集洗脱液,得纯化样品液,旋转蒸发浓缩后,经 0.22 μm 有机微孔膜过滤,供 UPLC-HRMS 分析用。

2.2.2 标准溶液的制备 分别称取 4.5 mg 槲皮素、5.0 mg 槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷、5.0 mg 槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷和 5.0 mg 槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷固体标准品,用甲醇溶解并定容至 25 mL,得到浓度分别为 0.18、0.20、0.20 和 0.20 mg/mL 的标准品储备液,分别吸取 0、1.0、2.0、4.0、8.0 和 16.0 mL,定容至 20 mL,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤,备用。

2.2.3 UPLC-HRMS 测定条件 色谱条件: Hypersil GOLD aQ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9 μm); 柱温为 35℃; 自动进样器温度为 15℃; 流速为 0.2 mL/min; 进样体积为 2 μL ; 流动相 A 为甲醇,流动相 B 为水。梯度洗脱: 0~2 min, 80% B; 2~20 min, 80%~10% B; 20~22 min, 10% B; 22~23 min, 90% B。

质谱条件: 加热的电喷雾离子源(HESI),负离子模式进行检测; 喷雾电压 3.2 kV; 毛细管温度 320℃; 加热器温度 350℃; 鞘气(N_2)流速 35 arb; 辅助气(N_2)流速 10 arb; 扫描模式为一级质谱全扫描结合自动触发二级质谱扫描模式(Full scan/ddMS²); 扫描范围 m/z 100~1500; 一级质谱分辨率 70000,二级质谱分辨率为 17500; 归一化碰撞能量(NCE)为 20、40 和 60 eV。

3 结果与讨论

刺梨中黄酮类化合物含较多羟基,可形成稳定的氧负离子,在质谱负离子检测模式下有较好的信号响应^[14]。采用负离子检测模式,使总离子流色谱图有较低的背景值,可形成的母离子通常为 $[\text{M}-\text{H}]^-$,易于分辨^[15]。实验结果表明,在负离子模式下,化合物生成 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 准分子离子,可得到分离良好的 10 个化合物峰(图 1)。对刺梨样品液和标准品溶液中扫描得到的每一个分子离子进行二级质谱分析,根据待测物质的色谱分子离子、碎片离子峰的质核比,与标准品比较,并结合文献对刺梨槲皮素糖苷物

质进行定性分析。

质谱图中给出了化合物分子的离子峰,根据分子离子峰可获得化合物的分子量^[16]。天然槲皮素多以与糖基结合成糖苷的形式存在^[17],通常结合的糖基是葡萄糖(Glu)、半乳糖(Gal)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸、木糖、阿拉伯糖、芸香糖(6-*O*- α -*L*-鼠李糖基-*D*-葡萄糖)等,根据黄酮类化合物裂解规律,对母离子施加一定的电压,在负离子模式下容易丢失中性碎片或单(多)糖残基,产生相应的苷元,骨架上每减少一个取代基,质量数相应减少^[18~20],据此可确定糖的连接次序,进而对化合物进行定性分析。

对刺梨的槲皮素糖苷类物质进行质谱鉴定,结果见图 1 和表 1。在分离得到的 10 种化合物中,9 种含有 *m/z* 301 离子碎片,初步认定为含有槲皮素母核结构^[21],将提取离子 *m/z* 与系统理论值(见表 1)进行匹配,得到提取离子分子式。由图 1 可见,化合物 3、4、5、6、10 响应值较高,对其进行二级质谱分析。

表 1 刺梨乙醇提取物的槲皮素及其糖苷类成分

Table 1 Quercetin and its glycosides in ethanol extract of *Rosa roxburghii* Tratt

峰号 Peak number	保留时间 Retention time (min)	[M/H] ⁻ (<i>m/z</i>)		经验分子式 Empirical molecular formula	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	碎片离子质荷比 Fragment ion mass charge ratio (<i>m/z</i>)
		提取离子 Extracted ion	理论值 Theoretical value			
1	1.86	603.0754	603.2495	C ₂₄ H ₄₃ O ₁₇	-8.6423	451.3271,301.0339
2	3.42	615.0917	615.0981	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₆	-10.2831	463.0863,301.0337
3	3.60	607.1258	607.1294	C ₂₇ H ₂₇ O ₁₆	-5.8761	545.1279,505.0964,463.0861,301.0336
4	3.92	609.1413	609.1450	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	-6.0982	464.0834,379.1122,343.0431,301.0324,178.9967,151.0372
5	4.25	463.0838	463.0871	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	-7.1944	301.0315,300.0251,271.0226,178.9963,151.0014
6	4.51	447.0947	447.0558	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-6.3163	301.0345,271.0248,178.9978,151.0027
7	4.68	370.0666	370.0683	C ₁₉ H ₁₄ O ₈	-4.8383	302.0363,301.0315,300.0251
8	4.80	369.1527	369.1544	C ₁₈ H ₂₅ O ₈	-5.1410	301.0321,263.2930,211.0804
9	4.94	381.0446	381.0452	C ₁₆ H ₁₃ O ₁₁	-4.1122	301.0340,178.9970,151.0020
10	5.21	301.0333	301.0343	C ₁₅ H ₉ O ₇	-3.1687	178.9963,151.0014,121.0273

黄酮苷元所接糖基种类及位置不同,其质谱碎片有明显差异,糖基化位置的变化对黄酮类化合物的裂解特征有重要影响^[19]。在黄酮 O-苷类化合物[M-H]⁻的 ESI-MS² 谱中,可同时观察到苷元离子(Yo⁻)和自由基苷元离子([Yo-H]⁻),且苷元结构和糖基化位置影响[Y_o-H]⁻离子的相对强度^[22]。黄酮醇常形成 3-、7-、3'-、4'-单糖苷或 3,7-、3,4'-和 7,4'-双糖苷^[20]。黄酮醇 O-糖苷类化合物苷元含有多 个酚羟基,在(-) ESI-MS 条件下,很容易失去一个质子,产生 [M-H]⁻^[23]。根据图 2,因苷元酚羟基酸性存在一定差异,一般酸性强弱顺序为 7-OH>4'-OH>3'-OH>5-OH、3-OH; 其中,5-OH 与 C-4 位糖基有氢键作用,不易脱离该质子^[19,24]。

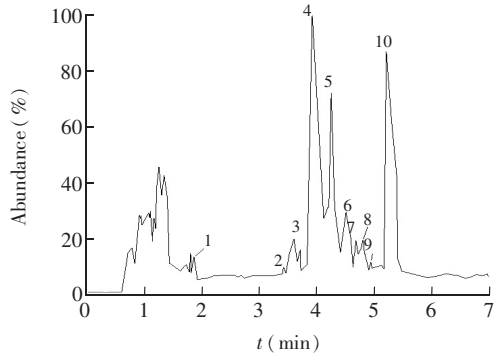


图 1 负离子模式下,刺梨乙醇提取物的总离子流图
Fig. 1 Total ion current chromatography of ethanol extract of *Rosa roxburghii* Tratt in negative ion mode

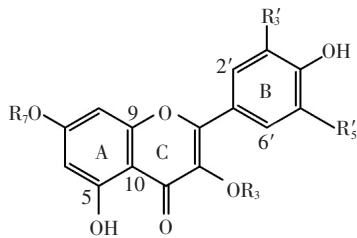


图 2 黄酮醇结构图
Fig. 2 Structure diagram of flavonol

槲皮素分子量为 302, 在负离子扫描模式下很容易丢失一个 H, 得到 m/z 301.0333 的分子离子峰 $[M-H]^-$, C 环发生逆-狄尔斯-阿德 (RAD) 裂解^[21], 检索槲皮素的二级质谱 (图 3), 碎片 m/z 179、151、139 和 121 的元素组成依次为 $C_8H_3O_5$ 、 $C_7H_3O_4$ 、 $C_7H_7O_3$ 和 $C_7H_5O_2$ 。分析其碎片情况, 结合槲皮素结构特征, 发现黄酮醇的裂解在 C 环 2 位与 1 位和 3 位之间^[25], m/z 121 为槲皮素 B 环连 2 位碳碎片, m/z 179 为 A 环与 C 环部分, m/z 179 失去 CO 得到 m/z 151。槲皮素裂解途径见图 4。

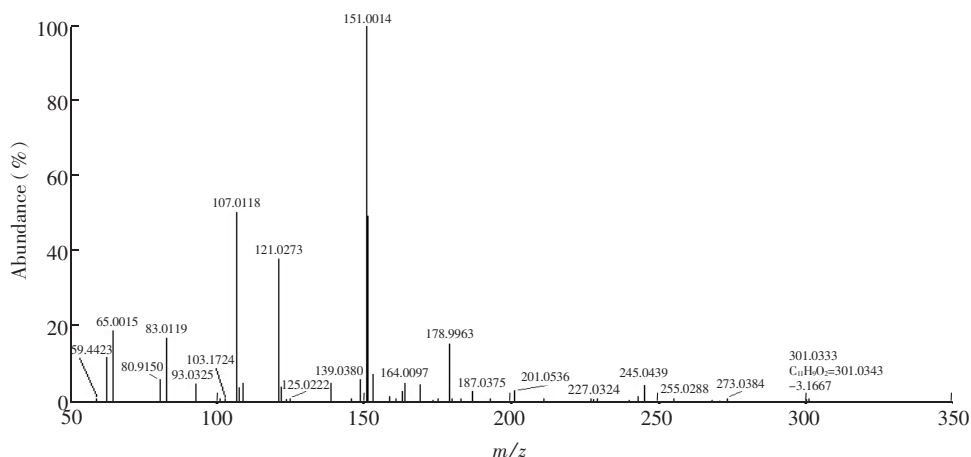


图 3 槲皮素裂解质谱图

Fig. 3 Mass spectrum for quercetin cleavage

化合物 3 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 607.1258, 含有二级碎片离子 m/z 301.0336 (槲皮素), 由碎片信息推测为槲皮素的衍生物。其在 HESI(-) 模式下获得的二级质谱图见电子版文后支持信息图 S1, 根据其二级质谱特征 (m/z 545.1279、505.0964、463.0862), 观察到交叉环切除离子^{0,2} X_o^- (m/z 343), 与文献[26]的结果对照, 初步鉴定为槲皮素-3-O-[6"-O-(3-羟基-3-甲基酰)- β -D-半乳糖苷], m/z 463.0862 离子碎片推测为槲皮素-3-O- β -D-半乳糖苷, 其丢失一分子半乳糖 (分子质量 180) 得到 m/z 301.0336 (槲皮素), 裂解途径见电子版文后支持信息图 S2。槲皮素-3-O-[6"-O-(3-羟基-3-甲基酰)- β -D-半乳糖苷] 属于槲皮素的羟基位的糖基基团取代产物。槲皮素属于亲脂性化合物, 而羟基位的糖基基团可以增加槲皮素-3-O-[6"-O-(3-羟基-3-甲基酰)- β -D-半乳糖苷] 的亲水性^[27]。

化合物 4 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 609.1413, 说明该化合物的分子量为 610.1413。在负离子模式下, 对 m/z 609.1413 的 $[M-H]^-$ 进行二级质谱分析, 得到 m/z 464.0834、379.1122、343.0431 和 301.0324 的碎片离子, 其二级质谱图见电子版文后支持信息图 S3, m/z 301.0324 是苷元槲皮素的离子峰, 从分子量 610.1413 推测此化合物为槲皮素双糖苷。目前, 报道较多的为 3-O-糖苷或者 7-O-糖苷^[28], 与苷元相连的多为葡萄糖或鼠李糖^[18]。3-O-糖苷类化合物在负离子模式下的主要裂解方式为糖苷键断裂, 丢失末端 Rha 糖分子的 m/z 463 离子^[20]。根据苷元离子碎片 m/z 464.0834, 判定此化合物的糖连接在 3-位。从负离子模式下的二级质谱信息可以推断出糖与苷元的连接情况, m/z 464.0834 为

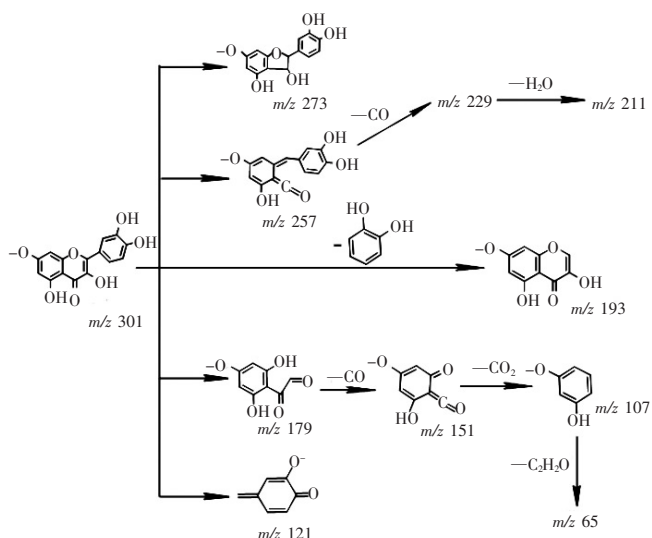


图 4 槲皮素裂解途径

Fig. 4 Cleavage pathway of quercetin

分子离子 m/z 609.1413 丢失一分子鼠李糖产生的碎片, m/z 464.0834 再丢失一分子葡萄糖得到苷元离子 m/z 301.0324。根据上述信息,并与槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷标准品出峰时间比对,可以推断此化合物为槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷,即芦丁,化合物一级质谱离子及分子量与 Sulaiman 等^[29]的研究结果一致。从裂解图谱 m/z 464.0334 与 301.0324 离子响应程度可知, m/z 464 离子强度较低,说明槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷单独丢失一分子末端糖(鼠李糖)的裂解响应较弱,主要裂解方式是丢失芸香糖整体糖链,产生苷元离子,槲皮-3-*O*-糖苷的特征裂解方式不受糖基种类与糖链长短影响^[18],裂解途径见电子版文后支持信息图 S4。

化合物 5 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 463.0838,说明该化合物的分子量为 464.0838。在负离子模式下,对 m/z 463.0838 的 $[M-H]^-$ 进行二级质谱分析,其二级质谱图见电子版文后支持信息图 S5,其中含有二级离子碎片 m/z 301.0315,是苷元槲皮素的离子峰,从分子量 464.0838 可推断出此化合物为槲皮素单糖苷。根据质谱图,化合物均碎裂产生 $[Y_0-H]^\bullet$ (m/z 300) 离子强度大于 Y_0^- (m/z 301),在低质量区发现 m/z 271、179 和 151 离子片断,可以作为确定槲皮素 3-*O*-苷类化合物苷元与糖基化位置相关的特征诊断离子^[19]。而根据文献^[20],7-*O* 苷键裂解更容易产生 Y_0^- (m/z 301) (即 $Y_0^- > [Y_0-H]^\bullet$),而且未出现 m/z 271 离子,因而初步判定此化合物为槲皮素 3-*O*-单糖苷类化合物,由于葡萄糖和半乳糖的分子量相同,质谱很难鉴定两者之间的差异。将槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷与槲皮素-3-*O*-半乳糖苷标准品 UPLC 出峰时间与样品出峰时间比对,结合质谱信息,可推断出 m/z 463.0838 丢失一分子葡萄糖得到苷元离子 m/z 301.0315,裂解途径见电子版文后支持信息图 S6,确定此物质为槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷,即异槲皮苷,化合物分子量及二级质谱碎片离子峰与文献^[30]一致。

化合物 6 的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 m/z 447.0947,说明此化合物的分子量为 448.0947。在负离子模式下,对 m/z 447.0947 的 $[M-H]^-$ 进行二级质谱分析,得到 m/z 301.0345 的槲皮素苷元离子峰,其二级质谱图见电子版文后支持信息图 S7,根据分子量 448.0947 可以推出此化合物为槲皮素单糖苷,根据负离子模式下的二级质谱信息,结合鼠李糖分子量 164,可以推断出槲皮素与一分子鼠李糖结合,失去一分子 H_2O ,得到 m/z 447.0947 化合物,裂解途径见电子版文后支持信息图 S8。与槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷标准品出峰时间比对,确定此化合物为槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷,即槲皮苷,化合物分子量及二级质谱碎片离子峰与文献^[31]一致。

上述分析所鉴定出的槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-[6"-*O*-(3-羟基-3-甲基戊二酰)- β -*D*-半乳糖苷]及槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷母离子,均采用离子峰 $[M-H]^-$,子离子均为脱糖苷的槲皮素苷元离子,槲皮素作为苷元相较于其糖苷裂解需要更大的能量。

4 结论

利用超高效液相色谱-串联高分辨质谱法对刺梨中槲皮素及其糖苷类化合物样品解析,共鉴定出 1 种槲皮素与 9 种含有槲皮素母核结构物质,其中可确定化学组成的物质有槲皮素、槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-[6"-*O*-(3-羟基-3-甲基戊二酰)- β -*D*-半乳糖苷]和槲皮素-3-*O*-葡萄糖-鼠李糖苷,根据离子碎片推断槲皮素糖苷裂解途径。本研究全面分析了刺梨黄酮种类,补充了刺梨原料基础信息,为刺梨功能的挖掘及其黄酮类化合物功效的深入研究和开发利用提供了理论参考。

References

- 1 LUO Deng-Yi. *Guizhou Agri. Coll. Seri.* (Vol. 3), **1984**: 43-45
罗登义. 贵州农学院丛刊(第三集), **1984**: 43-45
- 2 Li C, Feng J, Huang W, An X T. *J. Agr. Food Chem.*, **2013**, 61(3): 523-531
- 3 Li F G, Zhou H, Sun D L, Wang R W, Zeng S. *J. Chin. Pharm. Sci.*, **2009**, 18(1): 55-60
- 4 Xiang Y, Li L J, Abliz Z. *Acta Pharm. Sin. B*, **2002**, 37(5): 389-395
- 5 Li B, Abliz Z, Fu G, Tang M, Yu S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2005**, 19(3): 381-390

- 6 ZHANG Wei-Bing, WANG Zhi-Cong, ZHANG Ling-Yi. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(3): 415–422
张维冰, 王智聪, 张凌怡. 分析化学, **2014**, 42(3): 415–422
- 7 WANG Hui, HUANG Cong, LIU Si-Yuan, DU Wei. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, **2013**, 19(1): 109–111
王慧, 黄聪, 刘思源, 杜薇. 中国实验方剂学杂志, **2013**, 19(1): 109–111
- 8 PAN Zhi-Ran, WANG Teng-Hua, ZHU Shou-Lun, REN Zhi-Yao, ZHANG Jing. *Journal of Guangdong Institute of Pharmacy*, **2016**, 32(3): 300–306
潘智然, 王腾华, 朱首伦, 任之尧, 张靖. 广东药学院学报, **2016**, 32(3): 300–306
- 9 DING Li-Na, QIU Yi-Yi, SHU Tong, RUAN Hui. *Food Science*, **2019**, 40(18): 273–280
丁丽娜, 邱亦亦, 束彤, 阮晖. 食品科学, **2019**, 40(18): 273–280
- 10 ZHANG Jia-Mei, GUO Xiao-Yu, QUAN Qing-Hua, JI Rui-Fang, SUN Qian-Qian, TIAN Jing-Yi, TAN Peng, LIU Yong-Gang. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, **2018**, 39(5): 599–606
张伽妹, 郭晓宇, 全庆华, 姬瑞芳, 孙倩倩, 田婧望, 谭鹏, 刘永刚. 质谱学报, **2018**, 39(5): 599–606
- 11 ZHANG Hui-Hui, LIU Long-Yun, WU Cai-E, LI Ting-Ting, FAN Gong-Jian, YING Rui-Feng. *Journal of Nanjing Forestry University Natural Science Edition*, **2017**, 41(6): 47–53
张汇慧, 刘龙云, 吴彩娥, 李婷婷, 范龚健, 应瑞峰. 南京林业大学学报(自然科学版), **2017**, 41(6): 47–53
- 12 ZENG Fang-Fang, LUO Zi-Sheng. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, **2015**, 56(11): 1753–1757
曾芳芳, 罗自生. 浙江农业科学, **2015**, 56(11): 1753–1757
- 13 WANG Zhen-Wei, SHEN Sen, HU Xiao-Bing. *Hubei Agricultural Sciences*, **2014**, 53(19): 4684–4687
王振伟, 申森, 胡晓冰. 湖北农业科学, **2014**, 53(19): 4684–4687
- 14 Miksatkova P, Ancheeva E, Hejtmankova K, Teslov L, Lapcik O. *Anal. Lett.*, **2014**, 47(14): 2317–2331
- 15 JIANG Ya-Lan, HUANG Fang, WU Fu-Hai, WU Hui-Qin, HUANG Xiao-Lan, DENG Xin. *Chinese Journal of Chromatography*, **2015**, 33(10): 1032–1039
蒋娅兰, 黄芳, 毋福海, 吴惠勤, 黄晓兰, 邓欣. 色谱, **2015**, 33(10): 1032–1039
- 16 SHI Huai-Sheng, BI Xiao-Feng, SHI Xian-Hai. *World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, **2018**, (3): 357–361, 365
施怀生, 毕小凤, 史宪海. 世界中西医结合杂志, **2018**, (3): 357–361, 365
- 17 WEN Zhong-Xing, HU Zhan-Xing, YUAN Jie, CHEN Hong-Ju, ZHANG Li-Mei, LIANG Guang-Yi, XU Bi-Xue. *Journal of Mountain Agricultural Biology*, **2016**, 35(3): 18–24
文中行, 胡占兴, 袁洁, 陈洪菊, 张利梅, 梁光义, 徐必学. 山地农业生物学报, **2016**, 35(3): 18–24
- 18 LI Zhe, SONG Rui, XU Feng-Guo, XU Lei, TIAN Yuan, ZHANG Zun-Jian. *Journal of China Pharmaceutical University*, **2010**, 41(6): 539–547
李哲, 宋瑞, 许风国, 许磊, 田媛, 张尊建. 中国药科大学学报, **2010**, 41(6): 539–547
- 19 ZENG Hao-Yang, KEYUME Ablajan, LIU Yan, YAN Zhu-Wei, PENG Yang. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **2013**, 44(9): 1096–1100
曾浩洋, 阿布拉江·克依木, 刘艳, 闫祝炜, 彭秧. 中草药, **2013**, 44(9): 1096–1100
- 20 LI Bin, ZHOU Wei. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, **2011**, 32(4): 241–245
李斌, 周围. 质谱学报, **2011**, 32(4): 241–245
- 21 CHI Yu-Mei, ZHU Hua-Yun, JU Ling, ZHANG Yu, SHEN Xiao-Ning, HUA Xiao-Yi, NIE Fen. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2009**, 37(2): 227–231
池玉梅, 朱华云, 居羚, 张瑜, 沈小宁, 华小懿, 聂芬. 分析化学, **2009**, 37(2): 227–231
- 22 Cuyckens F, Claeys M. *J. Mass Spectrom.*, **2005**, 40(3): 364–372
- 23 Kite G C, Veitch N C. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2011**, 25(18): 2579–2590
- 24 Borges C, Martinho P, Martins A, Rauter A P, Ferreira M A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2001**, 15(18): 1760–1767
- 25 Geng P, Sun J, Zhang R, He J, Abliz Z. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2009**, 23(10): 1519–1524
- 26 Wald B, Galensa R, Herrmann K, Grotjahn L, Wray V. *Phytochemistry*, **1986**, 25(12): 2904–2905

- 27 Wiczowski W, Romaszko J, Bucinski A, Szawara-Nowak D, Honke J, Zielinski H, Piskula M K. *J. Nutr.*, **2008**, 138(5): 885–888
- 28 YAN Shu-Xia, LI Xian, SUN Chong-De, CHEN Kun-Song. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **2015**, 40(23): 4560–4567
闫淑霞, 李 鲜, 孙崇德, 陈昆松. *中国中药杂志*, **2015**, 40(23): 4560–4567
- 29 Sulaiman C T, Gopalakrishnan V K, Balachandran I. *J. Biol. Active Prod. Nat.*, **2014**, 4(4): 316–324
- 30 Guo Y, Chen X, Qi J, Yu B. *J. Sep. Sci.*, **2016**, 39(13): 2499–2507
- 31 XIA Wei, ABIS Gulijiamary, PAN Chen, ZHANG Wen-Qing, JU Sheng, DU Yong-Qin. *Chinese Traditional Patent Medicine*, **2014**, 36(11): 2345–2349
夏 玮, 古丽加玛丽·阿比斯, 潘 晨, 张文清, 居 胜, 杜永芹. *中成药*, **2014**, 36(11): 2345–2349

Identification and Analysis of Quercetin and Its Glycosides in *Rosa Roxburghii* by Ultra High Performance Liquid Chromatography-Tandem High Resolution Mass Spectrometry

WANG Yi¹, GU Yuan-Ting², DING Zhu-Hong^{*1}, CHEN Si-Qi¹, XIAO Shi-Yun¹,
YU Yi-Hong¹, DU Bo-Feng¹, SONG Yu-Ting¹

¹(School of Wine and Food Engineering, Guizhou University, Rosa Roxburghii Engineering Technology Research Center,
National Forestry Bureau, Key Laboratory of Storage and Processing of Agricultural and Animal Products
in Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

²(Bijie Vocational and Technical College, Bijie 551700, China)

Abstract The ultra high preformance liquid chromatography-tandem high resolution mass spectrometry was used to find out the possible composition of quercetin and its bound glycosides in *Rosa roxburghii*. The quercetin and its glycosides of *Rosa roxburghii* were analyzed by standard chromatographic time control, relative molecular weight, second order mass spectrometry fragments, and so on. The results showed that one quercetin and nine nuclear structural substances containing quercetin were identified from *Rosa roxburghii*. The chemical composition of quercetin, quercetin-3-rhamnoside, quercetin-3-*O*-glucopyranoside, quercetin-3-*O*-rhamnoside, quercetin-3-*O*-rhamnoside, Quercetin-3-*O*-[6"-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -*D*-galactoside], quercetin-3-*O*-glucose-rhamnoside, Amongthem, quercetin-3-rhamnoside, quercetin-3-*O*-glucopyranoside, quercetin-3-*O*-[6"-*O*-(3-hydroxy-3-methylglutaryl)- β -*D*-galactoside] were found in *Rosa roxburghii* for the first time. According to the ion fragments, the pyrolysis pathway of quercetin glycosides was inferred, which enriched the basic research results of *Rosa roxburghii* resources, and provided a theoretical reference for the structure identification of quercetin and the subsequent rational development of the drug and food utilization value of quercetin glycosides of *Rosa roxburghii*.

Keywords *Rosa roxburghii* Tratt; Quercetin; Quercetin glycosides; Ultra-high performance liquid chromatography-tandem high resolution mass spectrometry

(Received 17 June 2019; accepted 23 March 2020)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31860446), the Guizhou Science and Technology Foundation (Guizhou Science and Technology Foundation [2019] 1104) and the Guizhou Science and Technology Plan Project (Guizhou Science and Technology Platform Talents [2018] 5781).

支持信息

Supporting information

超高效液相色谱-串联高分辨质谱对刺梨槲皮素及其糖苷类化合物的鉴定分析

王 翼¹ 顾苑婷² 丁筑红*¹ 陈思奇¹ 肖仕芸¹ 余奕宏¹ 杜勃峰¹ 宋煜婷¹

¹ 贵州大学酿酒与食品工程学院, 国家林业原局刺梨工程技术研究中心, 贵州省农畜产品贮藏加工重点实验室, 贵阳 550025

² 毕节职业技术学院, 毕节 551700

Identification and Analysis of Quercetin and Its Glycosides in *Rosa roxburghii* by Ultra High pressure liquid Chromatography-Tandem High Resolution Mass Spectrometry

Wang Yi¹, GU Yuan-Ting², DING Zhu-Hong*¹, CHEN Si-Qi¹, XIAO Shi-Yun¹, YU Yi-Hong¹, DU Bo-Feng¹, SONG Yu-Ting¹

¹ School of Wine and Food Engineering, Guizhou University, Rosa Roxburghii Engineering Technology Research Center, National Forestry Bureau; Key Laboratory of Storage and Processing of Agricultural and Animal Products in Guizhou Province, Guiyang 550025, China

² Bijie Vocational and Technical College, Bijie 551700, China

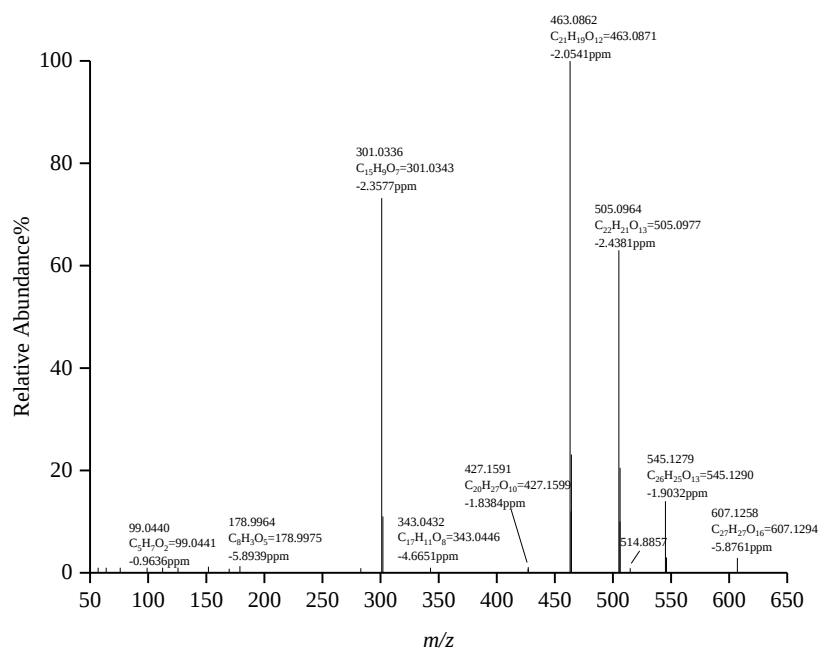


图 S1 化合物 3 的裂解质谱图
Fig. S1 Pyrolysis mass spectrum of compound 3

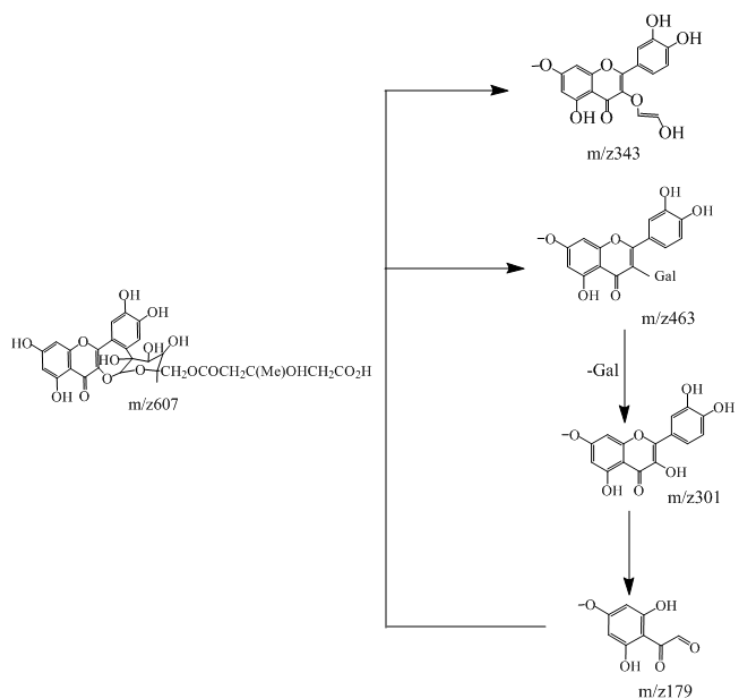


图 S2 化合物 3 的裂解途径
Fig. S2 Cleavage pathway of compound 3

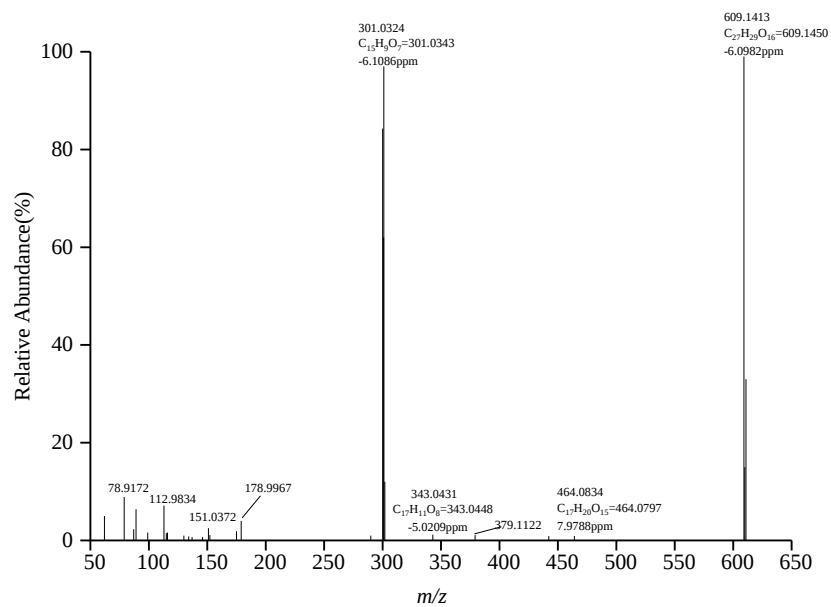


图 S3 化合物 4 的裂解质谱图
Fig. S3 Pyrolysis mass spectrum of compound 4

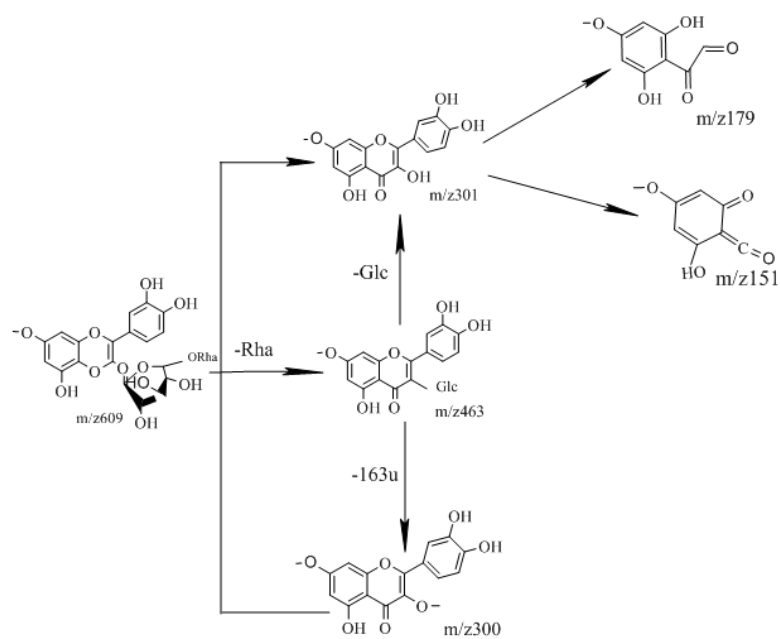


图 S4 化合物 4 的裂解途径
Fig. S4 Cleavage pathway of compound 4

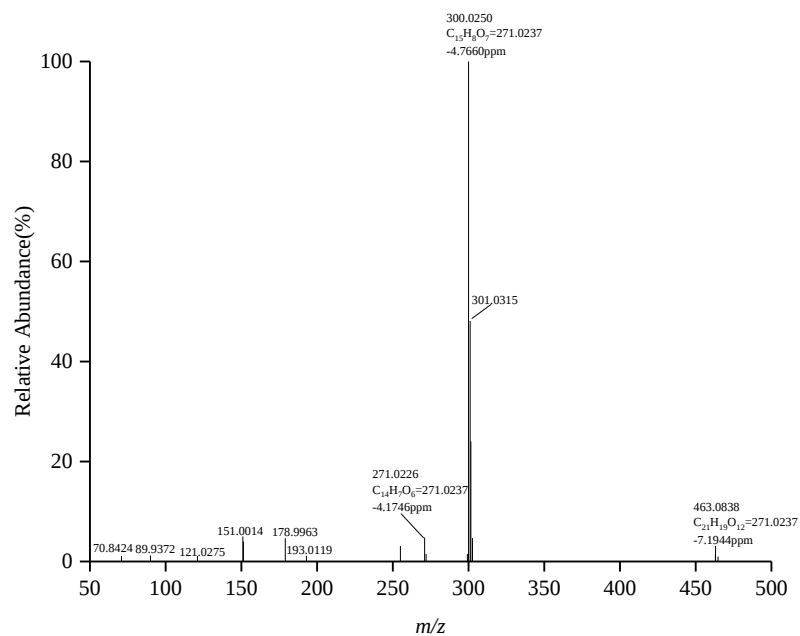


图 S5 化合物 5 的裂解质谱图
Fig. S5 Pyrolysis mass spectrum of compound 5

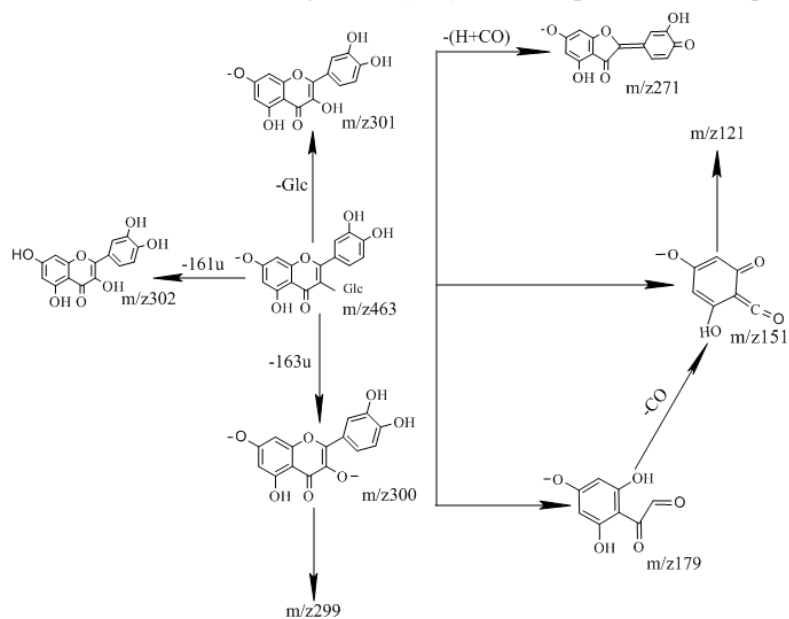


图 S6 化合物 5 的裂解途径
Fig. S6 Cleavage pathway of compound 5

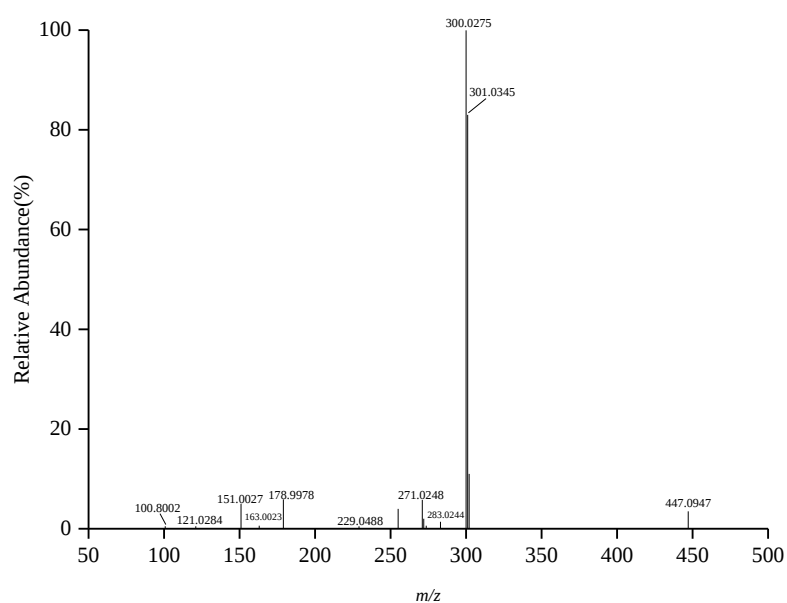


图 S7 化合物 6 的裂解质谱图

Fig. S7 Pyrolysis mass spectrum of compound 6

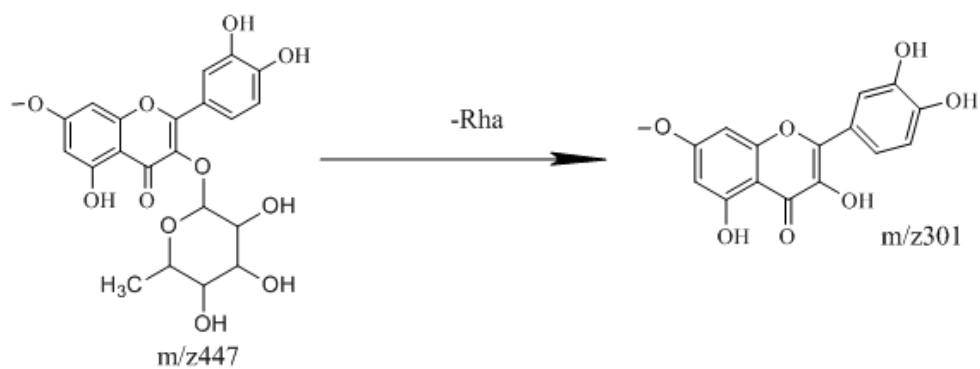


图 S8 化合物 6 的裂解途径

Fig. S8 Cleavage pathway of compound 6