



### 基于LCMS的樟叶越桔愈伤组织次生代谢成分分析

王玮 李楚然 武波晓 刘云 杨晓琴 朱国磊 赵平

#### LC-MS Analysis of Secondary Metabolites in the Callus of *Vaccinium dunalianum*

Wang Wei, Li Churan, Wu Boxiao, Liu Yun, Yang Xiaoqin, Zhu Guolei, Zhao Ping

引用本文:

王玮, 李楚然, 武波晓, 刘云, 杨晓琴, 朱国磊, 赵平. 基于LCMS的樟叶越桔愈伤组织次生代谢成分分析[J]. 西南林业大学学报, 2024, 44(6):194–199. doi: 10.11929/j.swfu.202308004

Wang Wei, Li Churan, Wu Boxiao, Liu Yun, Yang Xiaoqin, Zhu Guolei, Zhao Ping. LCMS Analysis of Secondary Metabolites in the Callus of *Vaccinium dunalianum*[J]. *Journal of Southwest Forestry University(Natural Science)*, 2024, 44(6):194–199. doi: 10.11929/j.swfu.202308004

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202308004>

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

#### 樟叶越桔悬浮培养细胞次生代谢产物的LCMS分析

LCMS Analysis of Secondary Metabolites in Suspension Culture Cells of *Vaccinium dunalianum*

西南林业大学学报. 2022, 42(3): 100–107 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202103017>

#### 樟叶越桔叶2个新6-O咖啡酰葡萄糖苷的分离鉴定

Isolation and Identification of 2 New 6-Ocaffeoylglucosides from the Leaves of *Vaccinium dunalianum*

西南林业大学学报. 2022, 42(4): 141–146 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202012053>

#### 2种干燥方式对樟叶越桔3种主效成分含量的影响

Effects of 2 Drying Methods on 3 Effective Ingredients Contents in *Vaccinium dunalianum*

西南林业大学学报. 2021, 41(5): 72–79 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202006030>

#### 樟叶越桔嫩枝扦插技术研究

A Twig Cutting Propagation Technique of *Vaccinium dunalianum*

西南林业大学学报. 2019, 39(6): 178–183 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201812029>

#### 不同植物生长调节剂对樟叶越桔组培苗6'-O-咖啡酰熊果苷生产的影响

Effects of Different Plant Growth Regulators on the Production of 6'-O-Caffeoylarbutin in Tissue Culture Seedlings of *Vaccinium dunalianum*

西南林业大学学报. 2020, 40(4): 157–162 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201906048>

#### 桦褶孔菌中麦角甾醇类化学成分及其抗氧化活性研究

Studies on the Chemical Constituents and Antioxidant Activities of Ergosterol from *Lenzites betulinus*

西南林业大学学报. 2023, 43(6): 173–178 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202211001>

DOI: 10.11929/j.swfu.202308004

引文格式: 王玮, 李楚然, 武波晓, 等. 基于 LC-MS 的樟叶越桔愈伤组织次生代谢成分分析 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2024, 44(6): 194-199.

## 基于 LC-MS 的樟叶越桔愈伤组织次生代谢成分分析

王 玮<sup>1</sup> 李楚然<sup>1</sup> 武波晓<sup>1</sup> 刘 云<sup>2</sup> 杨晓琴<sup>1</sup> 朱国磊<sup>1</sup> 赵 平<sup>1,2</sup>

(1. 西南林业大学西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室, 云南昆明 650233; 2. 西南林业大学西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650233)

**摘要:** 以樟叶越桔健康愈伤组织为研究对象, 采用 LC-MS 联用技术, 对樟叶越桔愈伤组织的甲醇提取物进行分析。结果表明: 正离子模式下共检测出 14 类共 281 个化合物, 以萜类、生物碱类、有机酸、杂环化合物、糖苷类和醇类为主, 化合物数量分别为 58、41、28、24、22 个和 13 个, 相对含量分别为 16.866%、13.711%、6.108%、10.138%、12.488% 和 17.513%; 负离子模式下检测出 13 类共 71 个化合物, 以生物碱类、有机酸、糖苷类、萜类和酯类为主, 化合物数量分别为 14、9、9、7 个和 7 个, 相对含量分别为 5.839%、72.653%、3.423%、2.062% 和 2.735%, 其中丙酮酸的相对含量高达 47.474%。研究结果可为进一步开展樟叶越桔愈伤组织中主要化学成分的生产调控等研究提供参考。

**关键词:** 樟叶越桔; 愈伤组织; 化学成分; 次生代谢; LC-MS

中图分类号: TQ041

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2024)06-0194-06

## LC-MS Analysis of Secondary Metabolites in the Callus of *Vaccinium dunalianum*

Wang Wei<sup>1</sup>, Li Churan<sup>1</sup>, Wu Boxiao<sup>1</sup>, Liu Yun<sup>2</sup>, Yang Xiaoqin<sup>1</sup>, Zhu Guolei<sup>1</sup>, Zhao Ping<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Highly-efficient Utilization of Forestry Biomass Resources in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Education for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Kunming Yunnan 650233, China)

**Abstract:** The investigation focused on the healthy callus of *Vaccinium dunalianum*, and the methanol content was analyzed using LC-MS technology. The results showed that a total of 281 compounds divided into 14 categories were detected in the positive ion mode, which mainly including 58 terpenoids, 41 alkaloids, 28 organic acids, 24 heterocyclic compounds, 22 glycosides and 13 alcohols, with a relative content of 16.866%, 13.711%, 6.108%, 10.138%, 12.488% and 17.513%, respectively. A total of 71 compounds divided into 13 categories were detected in the negative ion mode, among which 14 alkaloids, 9 organic acids, 9 glycosides, 7 terpenoids and 7 esters were the main components with a relative content of 5.839%, 72.653%, 3.423%, 2.062% and 2.735%, respectively. Especially, the relative content of pyruvic acid was the highest at 47.474%. The results will provide a basis for the further regulation of the major chemical constituents in the callus of *V. dunalianum*.

**Key words:** *Vaccinium dunalianum*; callus; chemical constituent; secondary metabolism; LC-MS

收稿日期: 2023-08-03; 修回日期: 2023-09-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32060107, 32060327) 资助。

第 1 作者: 王玮 (1997—), 女, 硕士研究生。研究方向: 天然产物化学。Email: swfu\_wangwei@163.com。

通信作者: 赵平 (1965—), 男, 研究员, 博士。研究方向: 天然产物化学。Email: hypzhao2022@163.com。

樟叶越桔 (*Vaccinium dunalianum*) 为杜鹃花科 (Ericaceae) 越桔属 (*Vaccinium*) 常绿野生灌木<sup>[1]</sup>, 其全株可药用, 具有祛风除湿、舒筋活络等功效<sup>[2]</sup>, 在我国主要分布于云南、四川、贵州和西藏等地<sup>[3-4]</sup>。Zhao 等<sup>[5]</sup> 在 2008 年首次对樟叶越桔叶芽开展了化学成分的分析研究, 发现 6'-O-咖啡酰熊果苷 (CA)、绿原酸和熊果苷为其主要化学成分, 且 CA 的得率高达 22%。熊果苷是美白产品中主要活性成分, 具有抑制黑色素生成、抗炎、抗氧化等功效, 被广泛应用于化妆品行业<sup>[6-10]</sup>。斑马鱼试验研究表明, CA 的抗黑色素生成能力为熊果苷的 2 倍, 毒性仅为熊果苷的一半, 表明 CA 有望能够作为更加安全有效的皮肤增白剂成分, 具有良好的开发及应用前景<sup>[11]</sup>。近年来, 由于市场需求日益增加, 樟叶越桔不断遭受破坏性采摘, 导致其现存资源逐年递减, 开展离体组织培养的相关研究, 将有利于其野生资源保护及其主效活性物质的进一步开发和利用。

植物离体组织培养技术作为现代生物技术手段, 具有繁殖周期短、优良性状保存良好、成本低、不受季节限制等优势, 对于野生植物资源的保护和栽培利用等具有重要意义<sup>[12]</sup>。本课题组先后建立了樟叶越桔组织苗的快繁体系<sup>[13]</sup>、不定根<sup>[14]</sup>、愈伤组织诱导及悬浮培养体系<sup>[15]</sup>, 并对悬浮细胞培养条件与组培苗移栽技术进行了优化<sup>[16-17]</sup>, 但对各组织培养系次生代谢产物的研究较少, 仅尚俊可等<sup>[18]</sup> 探讨了不同植物生长调节剂对樟叶越桔组培苗 CA 生长的影响, 武波晓等<sup>[19]</sup> 分析发现原花青素 A2、儿茶素、马斯里酸、2-羟基齐墩果酸和樟叶越桔苷 B 为悬浮培养细胞中的主要次生代谢产物, 对樟叶越桔愈伤组织次生代谢产物的研究尚未见报道。因此, 本研究以樟叶越桔健康愈伤组织为研究对象, 采用 LC-MS 联用技术, 对樟叶越桔愈伤组织的甲醇提取物进行分析, 以期阐明该培养体系中的主要化学成分, 为进一步开展其主要成分的生产调控等提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、仪器及试剂

#### 1.1.1 实验材料

以樟叶越桔幼嫩叶片诱导出的愈伤组织为实验材料, 经增殖培养 5~8 代稳定后供本研究使用, 樟叶越桔幼嫩叶片取自本课题组前期培养的樟叶越桔组培苗<sup>[13]</sup>, 其原始诱导外植体植物材料采自云南省武定县, 参照付玲等<sup>[15]</sup> 的方法进行愈伤组织的诱导及增殖培养。愈伤组织诱导培养基

配方为改良 WPM (3/5 有机) + 2.0 mg/L 6-苄氨基腺嘌呤 (6-BA) + 0.05 mg/L 萘乙酸 (NAA) + 2.0 mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D) + 40 g/L 蔗糖, 愈伤组织增殖培养基为改良 WPM (3/5 有机) + 2.0 mg/L 玉米素 (ZT) + 0.4 mg/L NAA + 40 g/L 蔗糖<sup>[15]</sup>。

#### 1.1.2 仪器与试剂

超高效液相色谱仪 (安捷伦科技公司, 美国), QTOF 6550 串联质谱仪 (安捷伦科技公司, 美国), D11961 超纯水机 (Thermo 公司, 美国), DW-HL678 超低温冰箱 (中科美菱低温科技股份有限公司, 中国), 10N/A 冷冻干燥机 (新芝生物科技股份有限公司, 中国), AR224CN 万分之一电子天平 (奥豪斯仪器有限公司, 中国), SG250HPT 超声仪 (上海冠特超声仪器有限公司, 中国), CF16RXII 台式高速冷冻离心机 (日立公司, 日本), 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜 (新恩源生物技术有限公司, 中国), 分析纯甲醇 (光华科技股份有限公司, 中国), 色谱纯乙腈 (默克集团, 德国), 分析纯硝酸铵、硫酸钾、硫酸镁、磷酸二氢钾、硝酸钙、硫酸锰、硫酸锌、硼酸、硫酸铜、钼酸钠、硫酸亚铁、乙二胺四乙酸、盐酸硫胺素、盐酸吡哆辛、烟酸、甘氨酸 (西陇化工有限公司, 中国), 优级纯肌醇、琼脂 (上海致化化学科技有限公司, 中国)、蔗糖 (广东光华科技股份有限公司, 中国), 分析纯 ZT、NAA (北京索莱宝科技有限公司, 中国)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 樟叶越桔愈伤组织甲醇提取物的制备

取生长状态良好的愈伤组织, 用超纯水清洗 2~3 次后吸干水分冷冻干燥后研磨成粉末, 准确称取 100 mg 于离心管中分 3 次加入 3 mL 80% 甲醇进行超声提取 30 min, 离心分离 3 次提取上清液合并定容至 10 mL, 用 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤后置于进样瓶中, 供 LC-MS 检测分析。

#### 1.2.2 UPLC-TOF-MS/MS 检测方法

色谱条件: 色谱柱为 Waters ACQUITY UP-LC HSS T3 C<sub>18</sub> (2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ); 流动相 A 为超纯水 (含 0.04% 乙酸), B 为乙腈 (含 0.04% 乙酸); 梯度洗脱程序为 5% B ~ 95% B (0~11 min), 95% B (11.1~12 min), 5% B (12.1~15 min); 流速为 0.4 mL/min。柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量为 5  $\mu\text{L}$ 。质谱条件: 正负离子电喷雾离子源 (ESI), 温度为 550  $^{\circ}\text{C}$ , 质谱电压为 5500 V, 帘气 (CUR) 为 25 psi, 扫描范围为 70~1000  $m/z$ 。

### 1.3 数据处理

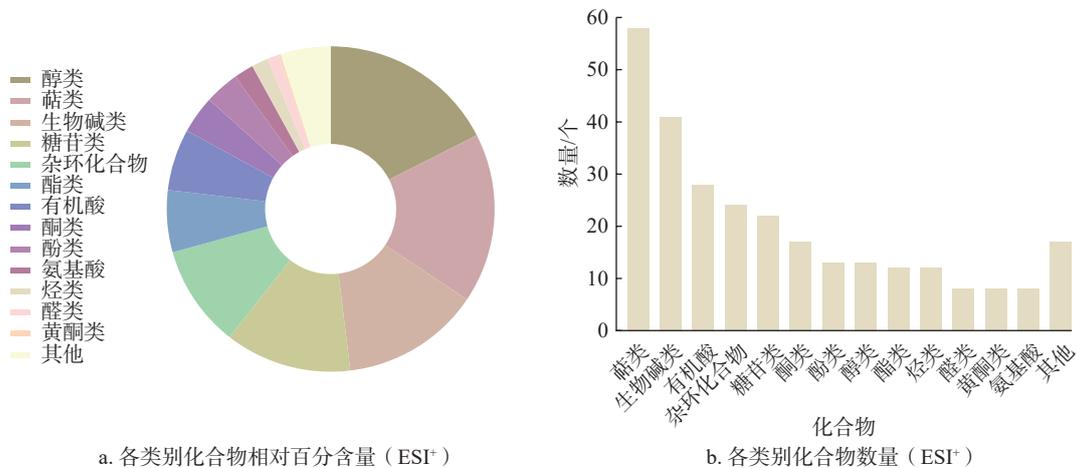
采用中药数据库对化合物进行谱图数据匹配鉴定<sup>[20]</sup>,使用面积归一法计算化合物的相对含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 正离子扫描模式下主要化合物分析

在正离子模式下,从樟叶越桔愈伤组织甲醇提取物中共检测出281个匹配度>90%的化合物,可分为14类,其中以萜类、生物碱类、有机酸、杂环化合物、糖苷类和醇类为主,化合物数量分

别为58、41、28、24、22个和13个,相对含量分别为16.866%、13.711%、6.108%、10.138%、12.488%和17.513%。酮类、酚类、酯类、烃类、醛类、黄酮类、氨基酸及其他类化合物数量分别为17、13、12、12、8、8、8和17个,相对含量分别为3.736%、3.413%、6.155%、1.613%、1.161%、0.217%、1.945%和4.937%(图1)。其中相对含量大于1%的化合物有20个,包括醇类5个、糖苷4个、萜类3个、生物碱类3个、酯类2个、有机酸1个、杂环化合物1个,相对含量总和为45.852%(表1)。



a. 各类别化合物相对百分含量 (ESI<sup>+</sup>)

b. 各类别化合物数量 (ESI<sup>+</sup>)

图1 各类别化合物的相对含量及数量 (ESI<sup>+</sup>)

Fig. 1 The relative content and quantity of each category of compounds (ESI<sup>+</sup>)

表1 相对含量大于1%的化合物 (ESI<sup>+</sup>)

Table 1 Compounds with relative content more than 1% (ESI<sup>+</sup>)

序号	化合物名称	匹配度/%	分子式	类别	相对含量/%
1	亚麻酸甘油酯 II	92.44	C <sub>39</sub> H <sub>64</sub> O <sub>5</sub>	酯类	2.729
2	15-甲基十六烷酸甲酯	96.82	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	酯类	1.175
3	邻苯二甲酸酐	99.91	C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	杂环	4.169
4	$\beta$ -紫罗兰酮	99.17	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	萜类	1.889
5	番石榴香豆酸	97.72	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> O <sub>7</sub>	萜类	1.518
6	(24Z)-27-羟基-3-氧代-7,24-廿遂二烯-22-醛	98.87	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	萜类	1.226
7	二十二烷酸	97.18	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	有机酸	1.039
8	洋芹苷	92.94	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	糖苷	4.921
9	红霉素	93.39	C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub>	糖苷	1.551
10	7-O-乙酰基熊果苷	90.80	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	糖苷	1.454
11	1-O-十六烷基-2-O-(9Z,12Z-十八二烯基)-3-O- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖基-(1,7)-O- $\beta$ -D-半乳糖	98.55	C <sub>49</sub> H <sub>88</sub> O <sub>15</sub>	糖苷	1.261
12	N-甲基石斛季铵碱	90.78	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> NO <sub>2</sub>	生物碱	2.085
13	2-(3-羟丙基)-3H-咪唑啉-4-酮	96.25	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	生物碱	1.842
14	斯替宁碱	90.78	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	生物碱	1.816
15	3-甲氧基-8-甲基胡桃酮	99.14	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	醌类	1.198
16	24-甲基胆甾-5,7,22-三烯-4 $\beta$ -醇	98.92	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O	醇类	4.836
17	10-甲氧基十七烷-1-烯-4,6-二炔-3,10-二醇	91.76	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	醇类	4.120
18	4-戊烯-2-醇	97.25	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	醇类	2.892
19	10-羟基异苦豆素-12-烯	92.00	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	醇类	2.141
20	(8E)-十七烷-1,8-二烯-4,6-二炔-3,11-二醇	90.69	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	醇类	1.989
合计					45.852

在正离子模式下, 萜类化合物共检出 58 个, 相对含量为 16.866%, 包括  $\beta$ -紫罗兰酮 (1.889%)、番石榴香豆酸 (1.518%) 和 (24Z)-27-羟基-3-氧代-7,24-甘遂二烯-22-醛 (1.226%) 等; 生物碱类化合物共有 41 个, 相对含量为 13.711%, 包括 *N*-甲基石斛季铵碱 (2.085%)、2-(3-羟丙基)-3*H*-喹唑啉-4-酮 (1.842%) 和斯替宁碱 (1.816%) 等; 有机酸共有 28 个, 相对含量占总和的 6.108%, 包括二十二烷酸 (1.039%)、9,11-二羟基硬脂酸 (0.799%) 和阿立普酸 (0.796%) 等; 杂环化合物共有 24 个, 相对含量为 10.138%, 包括邻苯二甲酸酐 (4.169%)、吡啶 (0.923%)、4-羟基-2,6-二甲基-6-(3,7-二甲基-2,6-辛二烯基)-8-(3-甲基-2-丁烯基)-2*H*-1-苯并吡喃 (0.906%) 等; 糖苷类共检测出 22 个, 相对含量为 12.488%, 包括洋芹苷 (4.921%)、红霉素 (1.551%)、7-*O*-乙酰基熊果苷 (1.454%) 和 1-*O*-十六烷基-2-*O*-(9*Z*,12*Z*-十八二烯基)-3-*O*- $\alpha$ -*D*-吡喃半乳糖基-(1,7)-*O*- $\beta$ -*D*-半乳糖 (1.261%) 等; 酮类、酚类、酯类、醇类、炔类和醛类的数量分别为 17、13、12、13、12 和 8 个, 相对含量分别为 3.736%、3.413%、6.155%、17.513%、1.613% 和 1.161%。酮类化合物包括环十二酮 (0.982%)、苜蓿素 B (0.761%) 和 3-羟基-2-丁酮 (0.394%) 等; 酚类化合物包括 1,3-萘二酚 (0.787%)、7-姜烯酚 (0.630%)、原花青素 A2 (0.450%) 和羊红膻素 F (0.431%) 等; 酯类化合物包括亚麻酸甘油酯 II (2.729%)、15-甲基十六烷酸甲酯 (1.175%) 和邻苯二甲酸二丁酯 (0.641%) 等; 醇类化合物包括 24-甲基胆甾-5,7,22-三烯-4 $\beta$ -醇 (4.836%)、10-甲氧基十七烷-1-烯-4,6-二炔-3,10-二醇 (4.120%) 和 4-戊烯-2-醇 (2.892%) 等; 炔类化合物包括异烯丙基苯 (0.720%) 和 1,1,4-三甲基环戊烷 (0.262%) 等; 醛类化合物包括 *E*-3-壬烯醛 (0.416%) 和松柏醛 (0.405%) 等。黄酮、氨基酸及其他类化合物的数量分别为 8、8 和 17 个, 相对含量分别为 0.217%、1.945% 和 4.937%。黄酮类化合物包括 3,6-乙酰基坦布林 (0.073%) 和台湾山豆根色酮 A (0.057%) 等; 氨基酸包括 *L*-苯丙氨酸 (0.650%) 和 *L*-高精氨酸 (0.457%) 等。其他类化合物包括苯丙素类 6 个、甾体类 4 个、醚类 2 个、核苷类 2 个、维生素类 2 个和醌类 1 个, 相对含量分别为 1.404%、1.754%、0.094%、0.179%、0.308% 和 1.198%。苯丙素类包括 3'-羟基肉桂醛 (0.667%)、4-羟基香豆素 (0.522%) 和肉桂醛 (0.154%) 等; 甾体包括酯蟾毒基-4-氢辛二酸酯 (0.370%) 和 14 $\alpha$ -甲基-5 $\alpha$ -麦角甾-9(11),24(28)-二烯-4 $\beta$ -醇 (0.560%)

等; 2 个醚类及 2 个核苷分别是 1-甲基-4-异丙氧基环己烷 (0.018%) 和木天蓼醚 (0.076%)、腺苷 (0.157%) 和鸟苷 (0.022%); 维生素和醌分别是维生素 B6 (0.299%)、维生素 B3 (0.009%) 和 3-甲氧基-8-甲基胡桃酮 (1.198%)。

## 2.2 负离子扫描模式下主要化合物分析

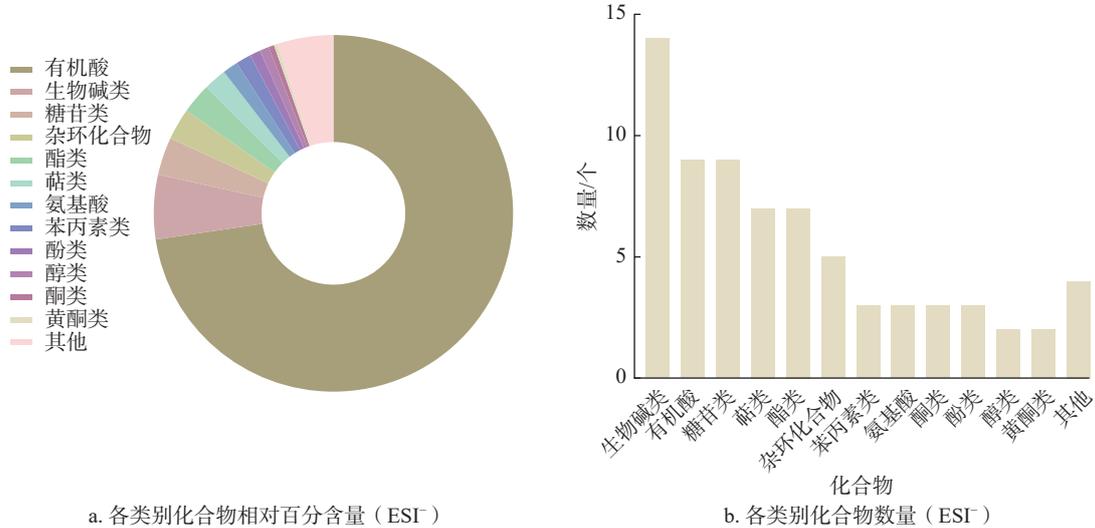
在负离子扫描模式下共检测出 71 个匹配度 > 90% 的化合物, 可分为 13 类, 以生物碱、有机酸、糖苷、萜类和酯类为主, 化合物数量分别为 14、9、9、7 个和 7 个, 相对含量分别为 5.839%、72.653%、3.423%、2.062% 和 2.735%。杂环化合物、苯丙素、氨基酸、酮类、酚类、醇类、黄酮类及其他类化合物数量分别为 5、3、3、3、3、2、2 个和 4 个, 相对含量分别为 2.860%、1.379%、1.385%、0.503%、0.954%、0.833%、0.327% 和 5.046% (图 2)。相对含量大于 1% 的化合物有 12 个, 包括有机酸 6 个、生物碱 2 个、糖苷 1 个、萜类 1 个、杂环化合物 1 个和醌类 1 个, 相对含量总和为 81.801% (表 2)。

在负离子检测模式下, 14 个生物碱类化合物的总相对含量为 5.839%, 其中含量较高的有 *D*-卡西酮 (1.197%)、咖啡因 (1.200%) 和山麻杆碱 (0.593%) 等; 9 个有机酸的相对含量合计为 72.653%, 其中丙酮酸 (47.474%)、柠檬酸 (12.000%) 和富马酸 (6.039%) 等含量较高; 糖苷类化合物共 9 个, 相对含量为 3.423%, 其中香豆酸- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (1.016%)、芹菜糖 (0.520%) 和草夹竹桃苷 (0.470%) 等的含量较高; 7 个萜类化合物的相对含量为 2.062%, 其中微莱平 (1.282%)、西米苷 E (0.308%) 和紫杉碱 K (0.187%) 等含量较高; 杂环化合物共 5 个, 相对含量为 2.860%, 其中含量较高的化合物有焦聚糖酸 (1.227%)、当归素 (0.714%) 和二氢山芹醇 (0.458%) 等。

酯类化合物共有 7 个, 相对含量为 2.735%, 含量较高的有杜衡素 B (0.721%)、3-(4-羟基苯基)-反式丙烯酸-2,3-二羟丙酯 (0.483%) 和 1 $\beta$ -去氢浆果赤霉素 VI (0.438%) 等; 酮类和酚类化合物各 3 个, 相对含量分别为 0.503% 和 0.954%, 酮类化合物为 2-三十一烷基-5-羟基-7-甲氧基色酮 (0.384%)、21-羟基-30-去甲何帕-22-酮 (0.069%) 和 3 $\alpha$ -羟基丹参酮 II A (0.050%), 酚类化合物为 4,4'-二羟基二苯甲烷 (0.398%)、没食子酰-*L*-表没食子儿茶酚 (0.331%) 和桑橙素 (0.225%); 醇类化合物共 2 个, 相对含量为 0.954%, 分别为 3,5-二羟基-6,6-二甲基环己-2,4-二烯-1-酮 (0.424%) 和肌醇 (0.409%); 苯丙素类化合物有 2-甲氧基-4-(3-甲氧基-1-丙烯

基)苯酚(0.705%)、1-甲氧基-4-(1-丙烯基)苯(0.631%)和肉桂酸肉桂酯(0.043%);氨基酸为L-天冬酰胺(0.626%)、L-组氨酸(0.449%)和L-合欢氨酸(0.310%);黄酮类有苈草素

(0.232%)和苦参醇G(0.095%);其他化合物分别是 $\beta$ -谷甾醇- $\alpha$ -葡萄糖苷(0.433%)、维生素B5(0.060%)、乙醛(0.247%)和5-O-甲基信筒子醌(4.306%)。



a. 各类别化合物相对百分含量 (ESI)

b. 各类别化合物数量 (ESI)

图2 各类别化合物的相对含量及数量 (ESI)

Fig. 2 The relative content and quantity of each category of compounds (ESI)

表2 相对含量大于1%的化合物 (ESI)

Table 2 Compounds with relative content more than 1% (ESI)

序号	化合物名称	匹配度/%	分子式	类别	相对含量/%
1	5-O-甲基信筒子醌	96.46	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	醌类	4.306
2	咖啡因	97.21	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	生物碱	1.200
3	D-卡西酮	93.82	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO	生物碱	1.197
4	香豆酸- $\beta$ -D-葡萄糖苷	97.02	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	糖苷	1.016
5	微菜平	93.19	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O <sub>8</sub>	萜类	1.282
6	丙酮酸	95.45	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	有机酸	47.474
7	柠檬酸	98.17	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	有机酸	12.000
8	富马酸	97.68	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	有机酸	6.039
9	苹果酸	95.62	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	有机酸	3.001
10	灵芝-8-烯酸W	98.07	C <sub>34</sub> H <sub>52</sub> O <sub>7</sub>	有机酸	1.732
11	大马士革宁	93.82	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	有机酸	1.327
12	焦聚糖酸	95.45	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	杂环	1.227
合计					81.801

### 3 结论与讨论

本研究采用LC-MS技术在正离子模式下共分析鉴定出281个化合物,其中以萜类(58个)、生物碱类(41个)、有机酸类(28个)、杂环化合物类(24个)、糖苷类(22个)和醇类(13个)为主,相对含量分别为16.866%、13.711%、6.108%、10.138%、12.488%和17.513%。在负离子模式下共鉴定出71个化合物,以生物碱(14个)、有机酸(9个)、糖苷(9个)、萜类(7个)和酯类(7个)为主,相对含量分别为5.839%、72.653%、3.423%、2.062%和2.735%。

正离子模式下相对含量大于1%的化合物共有20个,相对含量总计为45.852%,负离子模式下共有12个相对含量大于1%的化合物,相对含量总计为81.801%,为樟叶越桔愈伤组织的主要代谢产物,其中相对含量最高的化合物为丙酮酸(47.474%),其次为柠檬酸(12.000%)、富马酸(6.039%)、洋芹苷(4.921%)、24-甲基胆甾-5,7,22-三烯-4 $\beta$ -醇(4.836%)、5-O-甲基信筒子醌(4.306%)、邻苯二甲酸酐(4.169%)、10-甲氧基十七烷-1-烯-4,6-二烯-3,10-二醇(4.120%)和苹果酸(3.001%)等。

值得注意的是樟叶越桔愈伤组织富含丙酮酸

等有机酸类衍生物, 研究发现, 该类衍生物具有显著的抗氧化、抗菌、防腐、抗炎、抗病毒等多种生理活性, 如柠檬酸具有抗菌、防腐等特性<sup>[21]</sup>, 富马酸具有抗炎、抗肿瘤等生物活性<sup>[22]</sup>, 丙酮酸作为次生代谢产物的前体物质, 能够参与生物体内蛋白质、脂肪和糖的代谢, 在生物体的代谢过程中发挥着重要作用<sup>[23-26]</sup>。丙酮酸及其盐还具有抗氧化、抗病毒等功效, 在食品添加剂、生物制药行业得到广泛应用, 如丙酮酸钙能够加速脂肪消耗达到减轻体重的功效, 可用作膳食补充剂<sup>[27]</sup>, 丙酮酸钠能够通过促进有氧代谢改善高强度耐力性运动所诱导的代谢性酸中毒, 可作为一种有效的运动补剂使用<sup>[28]</sup>。因此, 进一步阐明丙酮酸在樟叶越桔离体愈伤组织中的高产机制, 可望为丙酮酸的绿色生产提供新的途径<sup>[29]</sup>。

#### [参 考 文 献]

- [1] 侯宽昭. 中国种子植物科属词典 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 杨芳, 邵金良, 杨斌, 等. 雀嘴茶营养成分的分析及评价 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(12): 1516-1519.
- [3] 中国科学院昆明植物研究所. 云南种子植物名录. 下册 [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1984.
- [4] 方瑞征. 中国越桔属的研究 [J]. 云南植物研究, 1986, 8(3): 239-258.
- [5] Zhao P, Tanaka T, Hirabayashi K, et al. Caffeoyl arbutin and related compounds from the buds of *Vaccinium dunalianum* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(18): 3087-3094.
- [6] Hu Z M, Zhou Q, Lei TC, et al. Effects of hydroquinone and its glucoside derivatives on melanogenesis and antioxidation: Biosafety as skin whitening agents [J]. *Journal of Dermatological Science*, 2009, 55(3): 179-184.
- [7] Halder R M, Richards G M. Topical agents used in the management of hyperpigmentation [J]. *Skin Therapy Letter*, 2004, 9(6): 1-3.
- [8] 王佩, 赖瑛, 吴锡铭. 熊果苷抗炎作用的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(9): 1933-1935.
- [9] 董钦, 张春晶, 周宏博, 等. 熊果苷拮抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤的研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2005, 39(2): 142-144.
- [10] Baumann L, Woolery-Lloyd H, Friedman A. "Natural" ingredients in cosmetic dermatology [J]. *Journal of Drugs in Dermatology*, 2009, 8(Suppl): 5-9.
- [11] Xu M, Lao Q C, Zhao P, et al. 6'-O-caffeoylarbutin inhibits melanogenesis in zebrafish [J]. *Natural Product Research*, 2014, 28(12): 932-934.
- [12] 周珊珊, 黄云峰. 芍药组织培养研究进展 [J]. 植物医生, 2018, 31(11): 37-40.
- [13] 罗旭璐, 唐军荣, 李娜, 等. 樟叶越桔的组织培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学报, 2014, 50(11): 1717-1720.
- [14] 卜程洪, 张詠, 罗旭璐, 等. 樟叶越桔不定根培养体系建立 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2018, 38(3): 200-205.
- [15] 付羚, 张詠, 罗旭璐, 等. 樟叶越桔愈伤组织诱导及其细胞悬浮培养体系建立 [J]. 西部林业科学, 2019, 48(5): 119-124, 130.
- [16] 赵展平, 何芳, 唐军荣, 等. 樟叶越桔组培苗生根和移栽技术研究 [J]. 广西植物, 2019, 39(7): 967-975.
- [17] 李楚然, 付羚, 刘云, 等. 樟叶越桔细胞悬浮培养条件的优化 [J]. 植物学报, 2022, 57(2): 227-235.
- [18] 尚俊可, 唐军荣, 罗旭璐, 等. 不同植物生长调节剂对樟叶越桔组培苗 6'-O-咖啡酰熊果苷生产的影响 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2020, 40(4): 157-162.
- [19] 武波晓, 付羚, 李楚然, 等. 樟叶越桔悬浮培养细胞次生代谢产物的 LC-MS 分析 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2022, 42(3): 100-107.
- [20] 陈几香, 李秋惠, 关晓明. 文献计量分析在中药指纹图谱研究中的应用 [J]. 图书情报工作, 2014, 58 (增刊 1): 199-203.
- [21] 张燕, 杨福馨, 蒋硕, 等. 柠檬酸/PVA 抗菌薄膜性能的研究 [J]. 包装工程, 2014, 35(21): 10-14.
- [22] 乔元, 黄剑林, 徐媛, 等. 沃诺拉赞富马酸盐与传统质子泵抑制剂临床疗效对比研究进展 [J]. 药物流行病学杂志, 2017, 26(11): 786-788.
- [23] 叶虹婷, 白光宇, 邹丽娜, 等. 丙酮酸钙对高脂饮食大鼠肥胖和高血脂症的预防作用 [J]. 预防医学论坛, 2020, 26(11): 870-872.
- [24] 瞿明仁. 肉牛热应激缓解与能量快速补充 [J]. 饲料工业, 2022, 43(8): 1-4.
- [25] 徐建中, 刘洁, 王颖好, 等. 丙酮酸和乙酰-CoA 协同促进 L-亮氨酸的合成 [J]. 微生物学报, 2021, 61(9): 2891-2906.
- [26] Qiao W J, Qiao Y, Liu F L, et al. Engineering *Lactococcus lactis* as a multi-stress tolerant biosynthetic chassis by deleting the prophage-related fragment [J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 1-20.
- [27] 毛康, 瞿明仁, 臧一天, 等. 丙酮酸、肌酸和丙酮酸肌酸的生物学功能及其在畜禽生产中的应用 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(1): 110-119.
- [28] 张君, 杨延平, 冯琳, 等. 丙酮酸钠对一次性力竭运动焦虑大鼠的神经保护作用 [J]. 神经解剖学杂志, 2022, 38(6): 634-640.
- [29] 方哲, 操文军, 刘娟, 等. 利用代谢工程改造谷氨酸棒杆菌产丙酮酸研究 [J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(3): 139-147.

(责任编辑 刘永梅)

