果 树 学 报 2023,40(1):111-125
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20220363

刺梨与无籽刺梨果实中药化学成分及抗氧化物质的比较分析

蒋兰兰,鲁 敏,安华明*

(贵州大学农学院·贵州省果树工程技术研究中心,贵阳 550025)

摘 要:【目的】明确刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt.)与无籽刺梨(*R. sterilis* S. D. Shi)果实的次生代谢物中的中药化学成分及抗氧化物质并分析其间差异,促进刺梨与无籽刺梨的合理应用。**【方法】**采用超高效液相色谱串联质谱技术(UPLC-MS/MS)对刺梨2个基因型(Rr-3,Rr-5)及无籽刺梨(Rs)果实的次生代谢物进行定性定量分析,筛选鉴定并比较分析两类果实中的中药化学成分及抗氧化代谢物差异。**【结果】**2类果实中共检测到12类530种次生代谢物,31种仅在刺梨中检测到,4种仅在无籽刺梨中检测到;其中118种代谢物属于TCMSP登记的中药化学成分,而145种物质与抗氧化能力显著相关。差异代谢物比较分析发现,Rr-3与Rs间有272种差异代谢物,Rr-5与Rs间有242种差异代谢物;两个刺梨基因型与Rs有171种共有差异代谢物,其中111种物质在刺梨果实中含量更高,包括31种中药化学成分和8种抗氧化物质;无籽刺梨中有53种物质含量更高,其中包含10种中药化学成分。进一步的果实抗氧化能力分析发现,刺梨果实的DPPH、ABTS及FRAP等3种抗氧化能力均显著高于无籽刺梨。**【结论】**刺梨果实较无籽刺梨具更强的中药活性及抗氧化能力,从而具有更高的医药保健价值及功能食品开发潜力。

关键词:刺梨;无籽刺梨;次生代谢物;中药化学成分;抗氧化物质

中图分类号:S661.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2023)01-0111-15

Comparative analysis of chemical components of traditional Chinese medicine and antioxidants between *Rosa roxburghii* and *R. sterilis* fruits

JIANG Lanlan, LU Min, AN Huaming*

(Agricultural College, Guizhou University/Guizhou Engineering Research Center for Fruit Crops, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract:【Objective】*Rosa roxburghii* Tratt. (Rr) and *R. sterilis* S. D. Shi (Rs) are both deciduous fruit crops of Rosaceae, and they are rich in a variety of bioactive compounds, including *L*-ascorbic acid, phenlic acid, organic acid, amino acid, triterpenes and flavonoids, so that they have high nutritional and medicinal value as well as antioxidant capacity. There are significant differences in nutritional components, pharmacological activities and antioxidant capacity between Rr and Rs fruits. However, the chemical components of traditional Chinese medicine and antioxidants in two kinds of fruits and the differences between them are not clear. Therefore, this study will identify and analyze the secondary metabolites, chemical components of traditional Chinese medicine, antioxidants and their differences between Rr and Rs fruits, so as to promote the rational application of Rr and Rs.【Methods】Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to qualitatively and quantitatively analyze the secondary metabolites of two *R. roxburghii* genotypes (Rr-3; Rr-5) and *R. sterilis* (Rs) fruits. Searching and identifying the chemical components of traditional Chinese medicine in secondary metabolites were carried out on TCMSP platform (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform). The ultraviolet spectrophotometry was employed to detect the capacity of three antioxidants (DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FRAP, fluorescence recov-

收稿日期:2022-07-04 **接受日期:**2022-08-11

基金项目:国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府喀斯特科学研究中心项目(U1812401);国家自然科学基金(32060657);贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2021]一般242)

作者简介:蒋兰兰,女,在读硕士研究生,研究方向为果树代谢组学及分子标记。Tel:17385313153,E-mail:2945457718@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:13511943339,E-mail:hman@gzu.edu.cn

ery after photobleaching; ABTS, 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Identification of antioxidant substances was confirmed by correlation analysis between secondary metabolites and three antioxidant capacities (DPPH, FRAP, ABTS). The differences in the chemical components of traditional Chinese medicine and antioxidant metabolites between two types of fruits were screened, identified and compared.【Results】A total of 530 secondary metabolites belonging to 12 categories were detected (99 lipids, 90 phenolic acids, 64 amino acids and derivatives, 62 flavonoids, 57 tannins, 40 nucleotides and derivatives, 34 organic acids, 23 terpenoids, 14 alkaloids, 7 lignans and coumarins, 1 quinones and 39 other secondary metabolites), 31 metabolites were only detected in Rr and 4 metabolites (oleanolic acid-*O*-Hexoside-*O*-Hexoside, 4-aminobenzoic acid, pratensein 7-*O*-glucopyranoside, 4-*α*-*L*-rhamnopyranosyl-ellagic acid) were only detected in Rs. Among them, 118 metabolites belonged to TCMSP registered as chemical components of traditional Chinese medicine, 91 metabolites corresponded to 347 related targets and 359 related diseases, among them, methyleugenol, xanthine, benzoic acid, tellimagrandin Ⅰ, tercatain, glansrin C and gemin D were only detected in one or two Rr genotypes, and tercatain and salicin were key active components; 46 metabolites of anti-6 diseases corresponded to at least one disease, among which rosmarinic acid corresponded to 6 major diseases. More importantly, kaempferol-3-*O*-(6″-acetyl)-glucoside and kaempferol-3-*O*-(6″-malonyl)-galactoside were only detected in Rr, corresponding to 4 and 2 diseases, respectively. And 145 metabolites [including 38 tannins, 27 amino acids and derivatives, 23 phenolic acids, 18 nucleotides and derivatives, 13 flavonoids, 5 organic acids, 4 terpenoids, 3 lignans and coumarins, 3 lipids, 2 alkaloids, and 9 others (including vitamin C)] were significantly related to antioxidant capacity. In the difference analysis, 20 metabolites were detected only in Rr, and 1-*O*-galloyl-*α*-*L*-rhamnose, 2-*O*-Di-gallic acyl-*β*-*D*-glucopyranoside-*β*-*D*-glucopyranoside, glansrin C, 1′-*O*-*β*-*D*-(3, 4-dihydroxyphenethyl) -*O*-caffeoyl- glucoside, 3,5-Di-*O*- galloylshikimic acid, procyanidin trimeric monoester, tercatain, tellimagrandin I and di-p-coumaroyltartaric acid were significantly correlated with the three antioxidant capacities ($p<0.05$). Variance analysis showed that there were 272 different metabolites between Rr-3 and RS, and 242 different metabolites between Rr-5 and RS. The main differential metabolic pathways between the two comparison groups were purine metabolism, pyrimidine metabolism, zeatin biosynthesis, carbon metabolism and amino acid biosynthesis. There were 171 common differential metabolites between two Rr genotypes and Rs, of which the contents of 111 metabolites were higher in Rr fruits, including 31 chemical components of traditional Chinese medicine (including the eight key active ingredients: digallic acid, guanosine, cyclic AMP, ellagic acid, gemin D, tercatain, myrianthic acid and adenosine) and 87 antioxidant metabolites, and 23 metabolites (malonic acid, cytosine, histamine, fumaric acid, thymine, *L*-glutamic acid, xanthine, pyridoxine, gallic acid, methyl gallate, sinapyl alcohol, uridine, guanosine, ellagic acid, digallic acid, rosmarinic acid, gemin D, pedunculagin, tellimagrandin Ⅰ, glansrin C, pterocarinin A, glansrin A and platycaryanin A) were both antioxidants and chemical components of traditional Chinese medicine. The contents of 53 substances (including 16 phenolic acids, 11 flavonoids, 8 lipids, 6 amino acids, 3 tannins, 3 terpenoids, 3 organic acids, 1 lignans and coumarins, and 2 others) in Rs were higher, including 10 chemical components of traditional Chinese medicine. Further analysis of the antioxidant capacity of fruits showed that, the DPPH, ABTS and FRAP antioxidant capacities of Rr were significantly higher than those of Rs.【Conclusion】The above results showed that the Rr fruit had stronger traditional Chinese medicine activity and antioxidant capacity than Rs fruit. Thus, it had higher medical and health value and development potential as a functional food. It was clear that phenolic substances were the most important antioxidant substances and chemical components of traditional Chinese medicine in Rr and Rs fruits; The amount and content of phenolic compounds in Rr and Rs fruits were the main reasons for the

difference in antioxidant capacity and Chinese medicine activity.

Key words: *Rosa roxburghii* Tratt. ; *R. sterilis* S. D. Shi; Secondary metabolites; Chemical components of traditional Chinese medicine; Antioxidant compounds

代谢组学于20世纪70年代由Devaux等[1]提出，主要研究生物体内源代谢物的种类、含量及其变化规律等。代谢物是生物体表型的基础，代谢水平可作为生物体对环境变化和遗传修饰的终端响应，通过其能更直观有效地了解生物学过程及其机制。植物代谢组学主要研究植物不同基因型及不同发育时期，或在受到某些刺激或胁迫前后代谢物的相应变化，包括其种类及含量，进而发现或验证一些基因及蛋白的功能，有助于进一步阐明多种植物天然产物的生物合成途径[2-3]。目前，代谢组学已应用于植物研究的多个方面，如不同芝麻品种间的营养差异[4]、四季豆的抗病性[5]、野生稻与栽培稻之间的代谢物差异[6]。

刺梨（*Rosa roxburghii* Tratt.）与无籽刺梨（*R. sterilis* S. D. Shi）均是蔷薇科蔷薇属多年生落叶果树，主要分布于中国西南地区，其中贵州省刺梨种质资源丰富。在笔者研究组收集的多个优异刺梨种质资源中，Rr-3与多个刺梨基因型间的代谢物差异较小，更具代表性，且单果质量较大，有望成为贵农5号的补充栽培资源，以促进刺梨产量的提高[7]。此外，研究表明刺梨与无籽刺梨果实均富含生物活性物质，包括酚酸[8]、黄酮[9]、有机酸[10]、氨基酸[11-12]和维生素C[13]等。据《本草纲目拾遗》《中药大辞典》等记载，刺梨花、果、叶、根、籽可入药，有健胃、消食、滋补作用，根皮有止泻的功效等。刺梨还具抗癌、预防动脉粥样硬化和抗氧化[14-17]等功效。时京珍等[18]研究发现，刺梨与无籽刺梨的药理作用相似，均具有抗炎及镇痛作用。但两者间的营养成分及活性物质含量均有差异[19]；刺梨的维生素C及必需氨基酸含量高于无籽刺梨，被认为具较高营养价值[11]；与刺梨相比，无籽刺梨具较高的总黄酮与总酚含量[20]。在刺梨与无籽刺梨代谢物研究中，刺梨具较高的儿茶素与杨梅素含量；而金刺梨酒石酸和槲皮素含量较高[21]。研究表明刺梨与无籽刺梨的主要香气物质也存在差异[22-23]。此前已有研究检测并鉴定了刺梨果实次生代谢物及中药化学成分[7]；而无籽刺梨的次生代谢物研究多集中在酚酸、黄酮、萜类、氨基酸与挥发性物质等方面，其中药化学成分暂不清楚；因此，笔者在本研究中采用广泛靶向代谢组学技术检测和鉴定无籽刺梨果实的次生代谢物及中药化学成分。此外，研究表明，相较无籽刺梨，刺梨具更高抗氧化能力[24]，但对刺梨及无籽刺梨中具抗氧化能力次生代谢物的研究主要集中在酚酸、黄酮、三萜及有机酸等分类方面[7,25-26]，而研究表明鞣质也具有较高的抗氧化能力[27]，因此笔者在本研究中以2个刺梨基因型（Rr-5，Rr-3）与Rs果实为试材进行代谢物分析，明确刺梨与无籽刺梨次生代谢物中的中药化学成分及抗氧化物质并分析其间的差异，为促进刺梨与无籽刺梨的合理应用提供理论参考。

1　材料和方法

1.1　材料

以无籽刺梨（*R. sterilis* S. D. Shi，简称Rs）与两个刺梨（*R. roxburghii* Tratt.）基因型[贵农3号（Guinong 3，简称Rr-3）和贵农5号（Guinong 5，简称Rr-5）]的成熟果实为试验材料。果实样品均采自贵州省贵阳市花溪区贵州大学刺梨种质资源圃（106°67.353′E，26°42.408′N），每个样本均来源于连续面积为3.35 hm^2的刺梨圃中生长良好且树龄均为4~5 a（年）的植株。从各基因型的3棵树的4个方向的树冠边缘采集3个果实作为生物学重复；每个生物学重复包括12个果实。采集后立即去籽在液氮中快速冷冻，并于−80 ℃下储存备用。

1.2　样品前处理

首先将供试样品放置于冻干机（Scientz-100F）中真空冷冻干燥；后使用研磨仪（MM 400, Retsch）以30 Hz研磨1.5 min；称取100 mg粉末，溶解于1.2 mL 70%（φ）甲醇提取液中；溶解后的样品于4 ℃冰箱过夜，期间涡旋6次；以12 000 r·min^{-1}离心10 min后，取上清，用微孔滤膜（0.22 μm pore size）过滤样品，保存于进样瓶中，用于UPLC-MS/MS分析。

1.3　UPLC-MS/MS分析

液相条件-色谱柱：Agilent SB-C18 1.8 μm，2.1 mm×100 mm；流动相：A相为超纯水（加入0.1%甲酸），B相为乙腈（加入0.1%甲酸）；洗脱梯度：0.00 min B相比例为5%，9.00 min内B相比例线性增加到95%并维持1 min，10.00~11.10 min，B相比例降为5%并平衡

至14 min；流速0.35 mL·min^{-1}；柱温40 ℃；进样量4 μL。

质谱条件：电喷雾离子源温度550 ℃，质谱电压5500 V（正模式）/−4500 V（负模式），帘气25 psi，碰撞诱导电离参数设置为高。在三重四级杆中，每个离子对根据优化的去簇电压和碰撞能进行扫描检测[28]。

1.4 中药化学成分及抗氧化能力

将刺梨与无籽刺梨果实中检测到的次生代谢物在中药系统药理学数据库分析平台（Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform，TCMSP）进行查询，筛选出中药化学成分并找出其对应的靶点及疾病。后根据生物口服利用度（OB≥5%）、药物相似性（DL≥0.14）进一步筛选关键活性成分[29]。将所有代谢物在系统药理学抗癌草药数据库中查询（CancerHSP，其中抗癌草药2439种，抗癌成分3575种），鉴定其中抗癌/肿瘤成分。在TCMSP数据库的疾病名称菜单中输入“糖尿病”“心血管疾病”“高血压”“动脉粥样硬化”和“血栓性疾病”。然后下载每种抗病物质的相关成分。最后，将UPLC-MS/MS中鉴定出的代谢物与获得的抗病相关成分进行比较，鉴定出试样中抗5种疾病相关的活性药物成分。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical，DPPH）自由基清除活性、2,2-联氮-二（3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸）二铵盐[2,2'-Azino-bis-（3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate），ABTS]阳离子自由基清除活性和铁离子还原活性（ferric ion reducing antioxidant power，FRAP）测定参考Moure等[30]、Martinez-Villaluenga等[31]和Benzie等[32]的方法且略有调整；其中Rr的3种抗氧化能力数据由Rr-3与Rr-5求和后取平均值而得。并将代谢物相对含量与三种抗氧化能力进行相关性分析，鉴定出刺梨与无籽刺梨中主要的抗氧化代谢物。

1.5 数据分析

基于自建数据库MWDB（metware database），根据二级谱信息进行物质定性，获得不同样本的代谢物质谱分析数据后，对所有物质质谱峰进行峰面积积分，并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰进行积分校正[33]。采用多元数据统计分析，对样本进行主成分分析（principal component analysis，PCA）、聚类分析和正交偏最小二乘判别分析（orthogonal PLS-DA，OPLS-DA）。结合差异倍数值和OPLS-DA模型的变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值筛选差异代谢物。筛选标准：选取fold change≥2和fold change≤0.5，且VIP≥1。对所测抗氧化能力利用SPSS进行单因素方差分析，并对抗氧化能力与代谢物相对定量进行皮尔逊相关性分析。

2 结果与分析

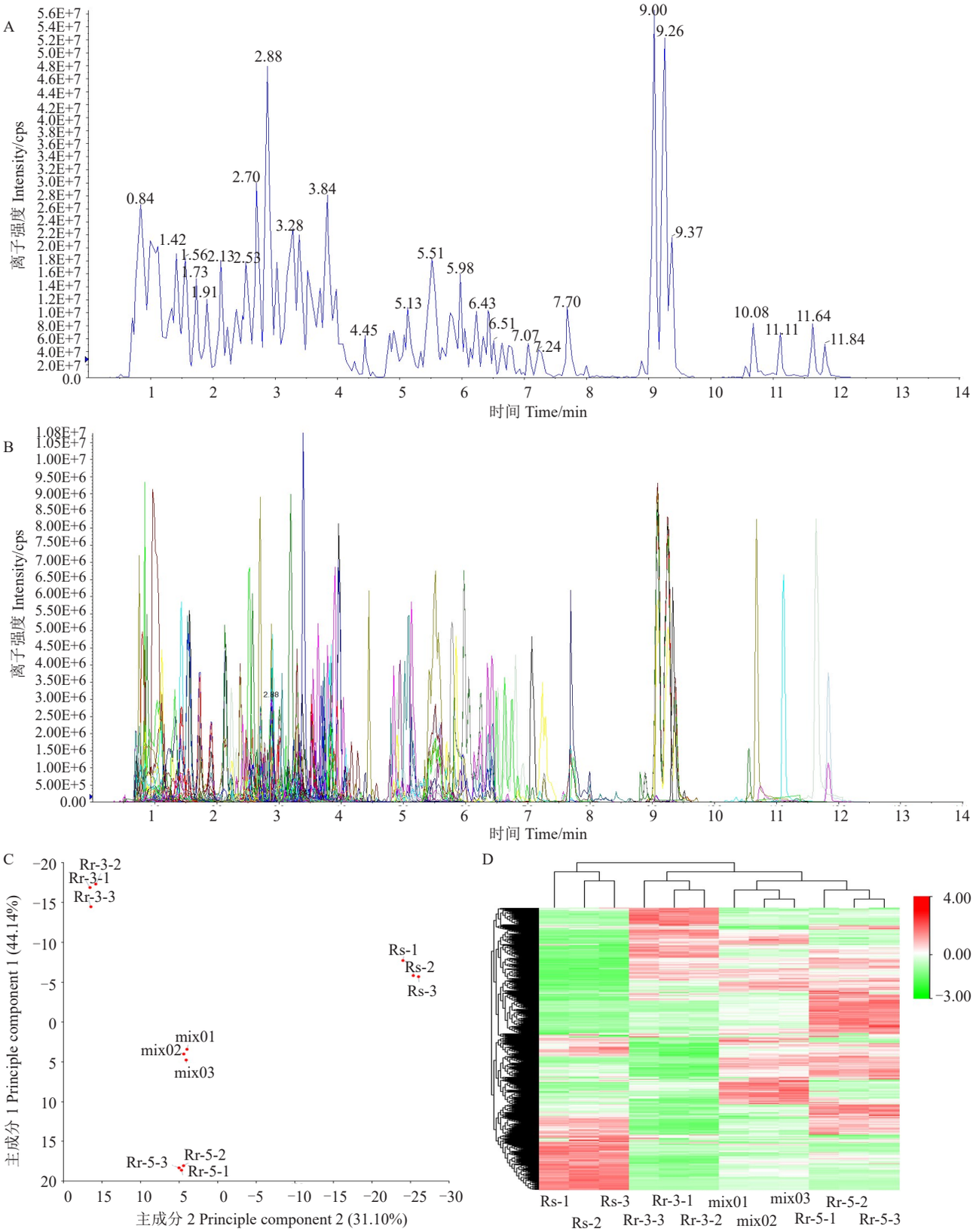
2.1 次生代谢物总体分析

通过对质控样本（quality control sample，QC）质谱检测分析的总离子流图（图1-A）及多反应监测模式的代谢物检测多峰图（图1-B）进行展示分析，可以判断代谢物提取和检测的结果稳定，数据可靠且重复性良好。笔者在本研究中共检测到12类530种次生代谢物，其中包括99种脂质，90种酚酸，64种氨基酸及其衍生物，62种黄酮，57种鞣质，40种核苷酸及其衍生物，34种有机酸，23种萜类，14种生物碱，7种木脂素和香豆素，1种醌类和39种其他物质（表1）。

所有样本的主成分分析结果如图1-C所示，每组的3个重复样本明显聚集，组间明显分离。与PCA结果一致，3个样本的相对定量热图也具有明显差异（图1-D）。结果表明，刺梨和无籽刺梨的代谢物存在明显差异。因此，进一步分析刺梨与无籽刺梨的特有代谢物。分析表明，刺梨与无籽刺梨间存在较大差异，31种代谢物仅在刺梨中检测到，包括10种单宁、8种酚酸、4种黄酮类化合物、4种核苷酸及其衍生物、1种有机酸、1种木脂素和香豆素以及3种其他代谢物（表1）。齐墩果酸-*O*-己糖-*O*-己糖、对氨基苯甲酸、红车轴草素-7-*O*-吡喃葡萄糖苷和4-*α*-*L*-鼠李糖苷-鞣花酸这4种物质仅在无籽刺梨中检测到。这些物质可被作为区分刺梨与无籽刺梨的生物标志物。

2.2 中药化学成分鉴定

由于两类果实中具健康促进作用的次生代谢物尚不清楚。因此，笔者在中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）中进一步查询，鉴定刺梨与无籽刺梨果实中药化学成分及关键活性成分。结果表明，530种次生代谢物中有118种是中药化学成分（包括25种酚酸，16种鞣质，12种核苷酸及其衍生物，12种氨基酸及其衍生物，12种黄酮，11种有机酸，9种其他，8种脂质，7种萜类，3种生物碱，3种木脂素与香豆素），其中91种成分对应347种靶点及359种疾病（表2）。在118种中药化学成分中，36种



A. QC 样本质谱检测分析的总离子流图；B. 多反应监测模式下代谢物检测多峰图谱；C. Rr-3，Rr-5 和 Rs 的主成分分析得分图；D. Rr-3，Rr-5 和 Rs 次生代谢物相对定量聚类分析热图。

A. Total ion flow diagram of mass spectrometry detection and analysis of QC samples; B. Multi peak map of metabolite detection in multi reaction monitoring mode; C. Principal component analysis scores of Rr-3, Rr-5 and Rs; D. Cluster analysis heat map of relative quantity of Rr-3, Rr-5 and Rs secondary metabolites.

图 1　刺梨及无籽刺梨代谢概况分析

Fig. 1　Analysis on metabolism of *R. roxburghii* and *R. sterilis*

表1 Rr-3,Rr-5与Rs的次生代谢物数量统计

Table 1 Statistic of secondary metabolites of Rr-3, Rr-5 and Rs

物质分类 Metabolites classification	总数 Total	Rr-3,Rr-5与Rs检测到的代谢物数量及未检测到的代谢物 Number of metabolites detected by Rr-3, Rr-5 and Rs and metabolites not detected		
		Rr-3	Rr-5	Rs
脂质 Lipids	99	96[4-氧代-十八碳四烯酸,溶血磷脂酰乙醇胺 15:0(2*n* 异构),溶血磷脂酰胆碱 20:5 4-oxo-9Z, 11Z, 13E, 15E-octadecatetraenoic acid, LysoPE 15:0(2n isomer),LysoPC 20:5]	99	99
酚酸 Phenolic acids	90	86(对氨基苯甲酸,3-甲氧基-4-羟基-苯乙酮,芥子酸甲酯,肉桂酸 4-Aminobenzoic acid, 3-Methoxy-4-hydroxy-acetophenone, Methyl sinapate, Cinnamic acid)	85(对氨基苯甲酸 4-Aminobenzoic acid)	82[3-甲氧基-4-羟基-苯乙酮,芥子酸甲酯,丁香油酚甲醚,苯甲酸,对香豆酰酒石酸,2-*O*-二没食子酰基-*β*-*D*-葡萄糖-*β*-*D*-葡萄糖,3,5-二-*O*-没食子莽草酸,1'-*O*-*β*-*D*-(3,4-二羟基苯乙基)-*O*-咖啡酰基-葡萄糖苷 3-Methoxy-4-hydroxy-acetophenone, Methyl sinapate, Methyleugenol, Benzoic acid, *cis*-p-Coumaroyltartaric acid (*cis*-Coutaric acid), 2-O-Di-gallic acyl-β-D-Glucopyranoside-*β*-*D*-Glucopyranoside, 3,5-Di-*O*-galloylshikimic acid, 1'-*O*-*β*-*D*-(3,4-Dihydroxyphenethyl)-*O*-caffeoyl-glucoside]
氨基酸及其衍生物 Amino acids and derivatives	64	63(*N*-乙酰-*L*-亮氨酸 N-Acetyl-*L*-leucine)	64	64
黄酮 Flavonoids	62	56[金合欢素-7-*O*-半乳糖苷,煅树素,山奈酚葡萄糖醛酸,红车轴草素-7-*O*-吡喃葡萄糖苷,山奈酚-3-*O*-(6"-丙二酰)-半乳糖苷,鹰嘴豆素 7-*O*-葡萄糖苷 Acacetin-7-*O*-galactoside, Tilianin, Kaempferol glucuronic acid, Pratensein 7-*O*-glucopyranoside, Kaempferol-3-*O*-(6"-malonyl)-galactoside, Sissotrin]	61(红车轴草素-7-*O*-吡喃葡萄糖苷 Pratensein 7-*O*-glucopyranoside)	58[山奈酚-3-*O*-(6"-丙二酰)-半乳糖苷,异木犀草素,山奈酚-3-*O*-(6"-*O*-乙酰)-葡萄糖苷,山奈酚-3,7-*O*-二鼠李糖苷 Kaempferol-3-*O*-(6"-malonyl)-galactoside, Isoluteolin (Orobol), Kaempferol-3-*O*-(6"-acetyl)-glucoside, Kaempferol-3,7-*O*-dirhamnoside]
鞣质 Tannins	57	56(4-*α*-*L*-鼠李糖苷-鞣花酸 4-*α*-*L*-rhamnoside ellagic acid)	54(4-*α*-*L*-鼠李糖苷-鞣花酸,Praecoxin D,1-*O*-没食子酰-*α*-*L*-鼠李糖 4-*α*-*L*-Rhamnopyranosyl-ellagic acid, Praecoxin D, 1-*O*-galloyl-α-L-rhamnose)	47[Praecoxin D,1-*O*-没食子酰-*α*-*L*-鼠李糖,Glansrin C,鞣花酸戊糖苷二聚体,1,7-二-*O*-没食子酰-*D*-景天庚酮糖,原花青素三聚单酯,(EC→EC→EC)g(1),水杨梅丁素,Tercatain,特里马素 Ⅰ Praecoxin D, 1-*O*-gallic acid-*α*-*L*-rhamnose, Glansrin C, Ellagic acid pentoside dimer, 1,7-Di-*O*-galloyl-*D*-sedoheptulose, Procyanidin trimeric monoester, (EC→EC→EC)g(1), Gemin D, Tercatain, Tellimagrandin Ⅰ]
核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	40	40	40	36(别嘌呤醇,1,7-二甲基黄嘌呤,黄嘌呤,二磷酸腺苷 Allopurinol, 1,7-Dimethylxanthine, Xanthine, Adenosine 5'-Diphosphate)
有机酸 Organic acids	34	32(4-氧代戊酸,3-甲基-2-氧代-丁酸 4-Oxopentanoate, 3-Methyl-2-Oxobutanoic acid)	34	33(磷酸烯醇式丙酮酸 Phosphoenolpyruvic acid)
萜类 Terpenoids	23	21(齐墩果酸 2-*O*-*β*-*D*-吡喃葡萄糖酯苷,齐墩果酸-*O*-己糖-*O*-己糖 Oleanolic acid 2-*O*-*β*-*D*-glucopyranoside, Oleanolic acid-O-Hexoside-*O*-Hexoside)	22(齐墩果酸-*O*-己糖-*O*-己糖 Oleanolic acid-*O*-Hexoside-*O*-Hexoside)	23
生物碱 Alkaloids	14	14	14	14
木脂素和香豆素 Lignans and Coumarins	7	7	7	6{4-[3-羟基-2-[4-[(2s,3s)-3-(羟甲基)-5-(3-羟基丙基)-7-甲氧基-2,3-二氢-1-苯并呋喃-2-基]-2,6-二甲氧基苯氧基]丙基]-2-甲氧基苯酚 Euryalin A}
醌类 Quinones	1	1	1	1
其他 Others	39	38(1-糖氧基-2-羟基-4-甲氧基-氧杂蒽酮 1-Glycosyloxy-2-hydroxy-4-methoxy-xanthone)	39	36(1-糖氧基-2-羟基-4-甲氧基-氧杂蒽酮,吡哆醇 *O*-阿魏酰己糖苷,吡哆醇 *O*-二己糖苷 1-Glycosyloxy-2-hydroxy-4-methoxy-xanthone, Pyridoxine *O*-feruloyl hexoside, Pyridoxine di-*O*-hexoside)

注:括号内为未检测到物质。

Note: Substances not detected in brackets.

表 2　530 种次生代谢物中的 36 种关键活性成分

Table 2　36 key active components in 530 secondary metabolites

ID	物质名称 Metabolites name	物质分类 Metabolites classification	生物口服利用度 Oral Bioavailability（OB）/%	药物相似性 Drug-likeness（DL）	对应靶点 Related targets numbers	相应疾病 Related diseases numbers
Zmpn006881	委陵菜酸 Tormentic acid	萜类 Terpenoids	11.40	0.71	1	1
pmp000269	阿江榄仁酸 Arjunic acid	萜类 Terpenoids	26.73	0.72	N/A	N/A
pmn001606	二十碳烯酸 Eicosenoic acid	脂质 Lipids	28.64	0.20	N/A	N/A
pmn001514	双没食子酸 Digallic acid	酚酸类 Phenolic acids	61.85	0.26	3	47
pmn001426	蔷薇酸 Rosamultic acid	萜类 Terpenoids	11.40	0.71	1	1
pmf0359	茵芋苷 Skimmin	木脂素和香豆素 Lignans and coumarins	38.35	0.32	4	47
pme3400	鹰嘴豆素 7-*O*-葡萄糖苷 Sissotrin	黄酮 Flavonoids	19.63	0.79	N/A	N/A
pme3007	尿苷 5’-二磷酸 Uridine 5’-diphosphate	核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	7.94	0.32	N/A	N/A
pme2246	鞣花酸 Ellagic acid	鞣质 Tannins	43.06	0.43	20	64
pme2125	棉籽糖 Raffinose	其他类 Others	11.79	0.66	4	7
pme1178	鸟苷 Guanosine	核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	21.43	0.21	N/A	N/A
pme0460	表儿茶素 Epicatechin	黄酮 Flavonoids	48.96	0.24	6	55
pme0458	儿茶素没食子酸 Catechin gallate	酚酸类 Phenolic acids	53.57	0.75	1	1
pme0230	腺苷 Adenosine	核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	15.98	0.18	7	62
pmb0889	石榴酸 Punicic acid	脂质 Lipids	44.90	0.15	3	34
mws1521	水杨苷 Salicin	酚酸类 Phenolic acids	7.15	0.16	1	32
mws1491	亚油酸 Linoleic acid	脂质 Lipids	41.90	0.14	15	53
mws1397	表儿茶素没食子酸酯 Epicatechin gallate	黄酮 Flavonoids	17.89	0.75	1	12
mws1179	樱桃苷 Naringenin-7-*O*-glucoside	黄酮 Flavonoids	9.33	0.74	2	32
mws1077	东莨菪苷 Scopolin	木脂素和香豆素 Lignans and coumarins	22.91	0.39	2	34
mws0884	腺苷-3’-5’-环单磷酸水合物 Cyclic AMP	核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	19.47	0.35	2	35
mws0836	原花青素 B1 Procyanidin B1	鞣质 Tannins	67.87	0.66	11	61
mws0396	反油酸 Elaidic acid	脂质 Lipids	33.13	0.14	24	85
mws0232	核黄素 Riboflavin	其他类 Others	6.79	0.50	2	39
mws0191	甜菜碱 Betaine	生物碱 Alkaloids	24.80	0.55	4	37
mws0178	绿原酸 Chlorogenic acid	酚酸类 Phenolic acids	11.93	0.33	N/A	N/A
mws0055	橘皮素 Tangeretin	黄酮 Flavonoids	21.38	0.43	29	118
mws0054	儿茶素 Catechin	黄酮 Flavonoids	54.83	0.24	11	57
mws0042	表没食子酸儿茶素 Epigallocatechin	黄酮 Flavonoids	24.18	0.27	8	60
Lmzn006284	2*α*-羟基熊果酸 2*α*-hydroxyursolic acid	萜类 Terpenoids	18.56	0.74	N/A	N/A
Lmhn002379	Strictinin	鞣质 Tannins	12.93	0.44	N/A	N/A
Lmdp003286	异金丝桃苷 isohyperoside	黄酮 Flavonoids	8.31	0.77	2	11
Hmln003605	Myrianthic acid	萜类 Terpenoids	14.85	0.76	N/A	N/A
HmdP001587	Tercatain	鞣质 Tannins	26.67	0.21	N/A	N/A
HJN109	齐墩果酸 oleanolic acid	萜类 Terpenoids	29.02	0.76	6	4
Cmhn001271	水杨梅丁素 Gemin D	鞣质 Tannins	27.39	0.56	N/A	N/A

注：N/A 表示无。

Note: N/A means none.

是关键活性成分，其中11种代谢物（罗布麻酸、二十碳烯酸、西索林、尿苷5’-二磷酸、鸟苷、绿原酸、2*α*-羟基熊果酸、狭窄素、肉豆蔻酸、特卡坦、双子D）没有相应的靶点和疾病（表2）。因此，可对这些物质进行深入研究，探索其药用价值，以用于新药研发。更重要的是，丁香油酚甲醚、黄嘌呤、苯甲酸、特里马素Ⅰ、Tercatain、Glansrin C和水杨梅丁素仅在一个或两个刺梨基因型中检测到，且Tercatain和水杨梅丁素是关键活性成分。因此，这些物质可被认为是刺梨与无籽刺梨间药用价值差异的主要成分。以上结果表明，刺梨比无籽刺梨具更高的药用价值。

目前，世界范围内威胁人类健康的主要疾病包括癌症/肿瘤、糖尿病、高血压、心血管疾病、动脉粥样硬化和血栓性疾病。为鉴定刺梨与无籽刺梨果实中抗六大疾病的活性成分，笔者对检测的代谢物进行CancerHSP及TCMSP数据库查询。结果表明，刺梨及无籽刺梨果实中共有46种代谢物（包括15种黄酮，11种酚酸，8种鞣质，4种萜类，2种氨基酸及其衍生物，2种核苷酸及其衍生物，2种生物碱，2种有机酸）至少对应一种疾病，其中迷迭香酸对应六大疾病，还有多种代谢物对应3~4种疾病（表3）。更重要的是，山奈酚-3-*O*-（6”-*O*-乙酰）-葡萄糖苷、山奈酚-3-*O*-（6”-丙二酰）-半乳糖苷仅在刺梨中检测到，且分别对应4种与2种疾病。

2.3 抗氧化能力分析及抗氧化物质鉴定

由图2-A可知，Rr的3种抗氧化能力均显著高于Rs（$p<0.05$）。但其中主要的抗氧化物质并不清楚。分析表明，笔者在本研究中检测到的530种次生代谢物中，145种物质与抗氧化能力显著相关，包括38种鞣质、27种氨基酸及其衍生物、23种酚酸、18种核苷酸及其衍生物、13种黄酮、5种有机酸、4种三萜、3种木脂素与香豆素、3种脂质、2种生物碱和9种其他物质（包括维生素C）（图2-B）。仅在刺梨中检测到的物质有20种，而1-*O*-没食子酰-*α*-*L*-鼠李糖、2-*O*-二没食子酰基-*β*-*D*-葡萄糖-*β*-*D*-葡萄糖、Glansrin C、1’-*O*-*β*-*D*-（3,4-二羟基苯乙基）-*O*-咖啡酰基-葡萄糖苷、3,5-二-*O*-没食子莽草酸和原花青素三聚单酯、Tercatain，特里马素Ⅰ和对香豆酰酒石酸这9种代谢物与3种抗氧化能力均显著相关（$p<0.05$）。而仅在无籽刺梨中检测到的4种代谢物均与抗氧化能力呈负相关。这一结果与测得的两类果实的抗氧化能力结果一致。因此，笔者认为刺梨具有更高的抗氧化能力，且富含更多具有抗氧化能力的次生代谢物。

2.4 差异代谢物筛选及差异代谢通路分析

通过对代谢物数据进行多元统计分析，基于OPLS-DA结果（图3-A，C）及获得的多变量分析OPLS-DA模型的VIP，同时结合差异倍数值来筛选差异代谢物。由火山图可见，Rr-3与Rs间有272种差异代谢物（图3-B），Rr-5与Rs间有242种差异代谢物（图3-D），而两个比较组间筛选出171种共有的差异代谢物，包括37种鞣质、34种酚酸、21种核苷酸及其衍生物、20种黄酮、18种氨基酸及其衍生物、13种脂质、8种有机酸、7种萜类、4种木脂素和香豆素、1种生物碱与8种其他物质（图3-E）。其中111种代谢物在刺梨中的相对定量相较于Rs来说是上调的，其中有87种抗氧化物质及31种中药化学成分（分类如下：12种鞣质，7种核苷酸，4种有机酸，4种酚酸，2种氨基酸，1种其他，1种萜类），且其中8种差异代谢物是关键活性成分，分别是双没食子酸、腺苷、鸟苷、腺苷-3’-5’-环单磷酸水合物、鞣花酸、水杨梅丁素、Tercatain和Myrianthic acid；其中23种物质既是抗氧化物质也是中药化学成分（丙二酸，胞嘧啶，组胺，延胡索酸，胸腺嘧啶，*L*-谷氨酸，黄嘌呤，吡哆素，没食子酸，没食子酸甲酯，芥子醇，尿嘧啶核苷，鸟苷，鞣花酸，双没食子酸，迷迭香酸，水杨梅丁素，英国栎鞣花酸，特里马素Ⅰ，Glansrin C，Pterocarinin A，Glansrin A，Platycaryanin A）。而Rs中上调的差异代谢物有53种，其中仅10种差异代谢物（3种酚酸，2种黄酮，2种有机酸，1种脂质，1种木脂素与香豆素，1种其他物质）是中药化学成分，仅3个关键活性成分，分别是石榴酸、绿原酸和樱桃苷。

根据2个刺梨基因型与无籽刺梨比较筛选出的差异代谢物进一步进行差异富集通路分析。结果表明，Rr-3与Rs间272种差异代谢物共注释到73条代谢通路；Rr-5与Rs间242种差异代谢物共注释到66条代谢通路；在两个刺梨与无籽刺梨的差异代谢物富集的差异代谢通路中，前5条高富集程度的代谢通路是嘌呤代谢、嘧啶代谢、玉米素生物合成、碳代谢和氨基酸生物合成（图4）。这一结果表明上述5条差异代谢通路可能被认为是刺梨与无籽间主要的差异代谢通路。

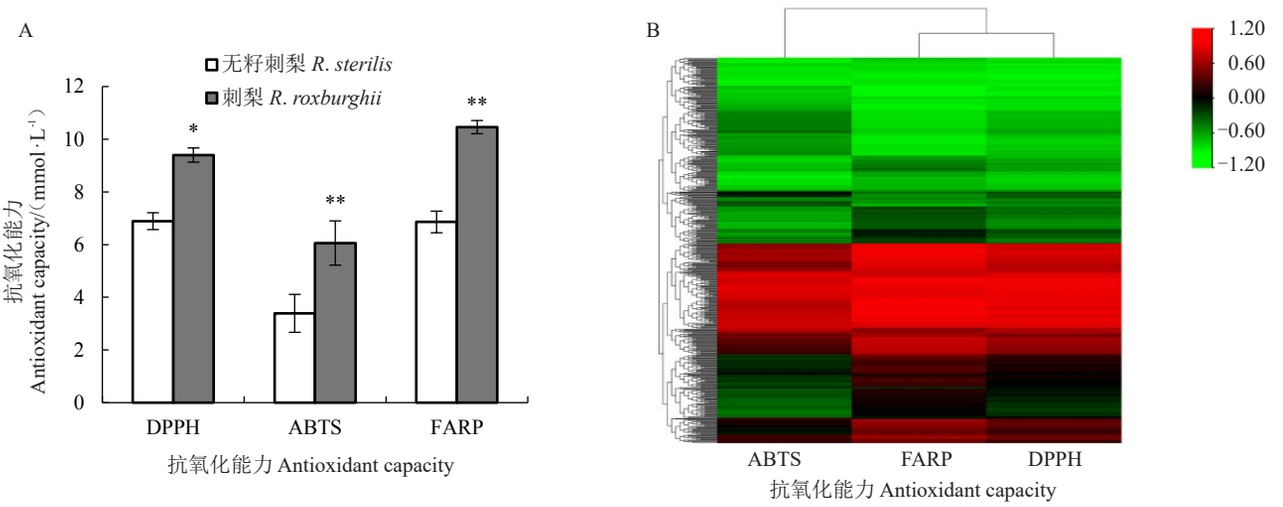
表 3　在 530 种次生代谢物中鉴定的 46 种抗 6 大疾病代谢物

Table 3　46 metabolites of anti-6 diseases that identified in in 530 secondary metabolites

物质分类 Metabolites classification	抗各疾病物质 Anti-disease Metabolites					
	抗癌症/肿瘤代谢物 Anti-cancer/tumor Metabolites	抗动脉粥样硬化 Anti-atherosclerotic Metabolites	抗糖尿病 Anti-diabetic Metabolites	抗高血压 Anti-hypertensive Metabolites	抗心血管疾病 Anti-cardiovascular Metabolites	抗血栓性疾病 Anti-thrombotic Metabolites
黄酮 Flavonoids	槲皮素 3-*O*-芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-rutinoside	槲皮素 3-*O*-芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-rutinoside	槲皮素 3-*O*-芸香糖苷 Quercetin-3-*O*-rutinoside			
		山奈酚-3-*O*-（6”-*O*-乙酰）-葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-（6”-acetyl）-glucoside	山奈酚-3-*O*-（6”-*O*-乙酰）-葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-（6”-acetyl）-glucoside		山奈酚-3-*O*-（6”-*O*-乙酰）-葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-（6”-acetyl）-glucoside	山奈酚-3-*O*-（6”-*O*-乙酰）-葡萄糖苷 Kaempferol-3-*O*-（6”-acetyl）-glucoside
			槲皮素-7-*O*-（6”-*O*-丙二酰基）-*β*-*D*-葡萄糖苷 Quercetin-7-*O*-（6’-*O*-malonyl）-*β*-*D*-glucoside			
	槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷 Quercetin-3-*O*-*α*-*L*-rhamnoside		槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷 Quercetin-3-*O*-*α*-*L*-rhamnoside			槲皮素-3-*O*-鼠李糖苷 Quercetin-3-*O*-*α*-*L*-rhamnoside
			山奈酚-3-*O*-半乳糖苷 Kaempferol-3-*O*-galactoside			山奈酚-3-*O*-半乳糖苷 Kaempferol-3-*O*-galactoside
	橘皮素 Tangeretin		橘皮素 Tangeretin	橘皮素 Tangeretin		橘皮素 Tangeretin
					表没食子酸儿茶素 Epigallocatechin	
					表儿茶素没食子酸酯 Epicatechin gallate	
					没食子儿茶素 Gallocatechin	
						槲皮素-3-*O*-（2”,3”-二没食子酰）-*β*-*D*-葡萄糖苷 Quercetin-3-*O*-（2”,3”-digalloyl）-*β*-*D*-glucopyranoside
						根皮苷 Phlorizin
						山奈酚-3-*O*-（6”-丙二酰）-半乳糖苷 Kaempferol-3-*O*-（6”-malonyl）-galactoside
						山奈酚 3-*O*-*β*-*d*-（6”-*O*-（*E*）-*p*-香豆酰）葡萄糖苷 Kaempferol 3-*O*-*β*-*d*-（6”-*O*-（*E*）-*p*-coumaroyl）glucopyranoside
						山柰酚-3-*O*-（6”-没食子酰基）-*β*-*D*-半乳糖苷 Kampferol 3-*O*-（”-galloyl）-*β*-*D*-galactopyranoside
	异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-glucoside					异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-*O*-glucoside

续表 **Continued Table**

物质分类 Metabolites classification	抗各疾病物质 Anti-disease Metabolites					
	抗癌症/肿瘤代谢物 Anti-cancer/tumor Metabolites	抗动脉粥样硬化 Anti-atherosclerotic Metabolites	抗糖尿病 Anti-diabetic Metabolites	抗高血压 Anti-hypertensive Metabolites	抗心血管疾病 Anti-cardiovascular Metabolites	抗血栓性疾病 Anti-thrombotic Metabolites
酚酸 Phenolic acids	迷迭香酸 Rosmarinic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid	迷迭香酸 Rosmarinic acid
		肉桂酸 Cinnamic acid	肉桂酸 Cinnamic acid			肉桂酸 Cinnamic acid
			原儿茶酸 Protocatechuic acid			
	水杨酸 Salicylic acid			水杨酸 Salicylic acid		
				丁香油酚甲醚 Methyleugenol		
	阿魏酸 Ferulic acid			阿魏酸 Ferulic acid		
	咖啡酸 Caffeic acid			咖啡酸 Caffeic acid		
				芥子醇 Sinapyl alcohol		
	香兰素 Vanillin					
	对香豆酸 p-Coumaric acid					
	阿魏酸甲酯 Methyl ferulate					
氨基酸及其衍生物 Amino acids and derivatives		组胺 Histamine				
	L-天冬酰胺 *L*-Asparagine					
核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives		尿嘧啶核苷 Uridine				
	腺嘌呤 Adenine					
萜类 Terpenoids				齐墩果酸 Oleanolic acid		
	委陵菜酸 Tormentic acid					
	蔷薇酸 Euscaphic acid					
	科罗索酸 Corosolic acid					
生物碱 Alkaloids	烟碱 Nicotine	烟碱 Nicotine		烟碱 Nicotine		烟碱 Nicotine
	甜菜碱 Betaine					
鞣质 Tannins	鞣花酸 Ellagic acid				鞣花酸 Ellagic acid	
	Strictinin					
	英国栎鞣花酸 Pedunculagin					
	Stenophyllanin A					
	原花青素 B2 Procyanidin B2					
	原花青素 C1 Procyanidin C1					
	没食子酸甲酯 Methyl gallate					
	没食子酸 Gallic acid					
有机酸 Organic acids	延胡索酸 Fumaric acid					柠檬酸 Citric acid

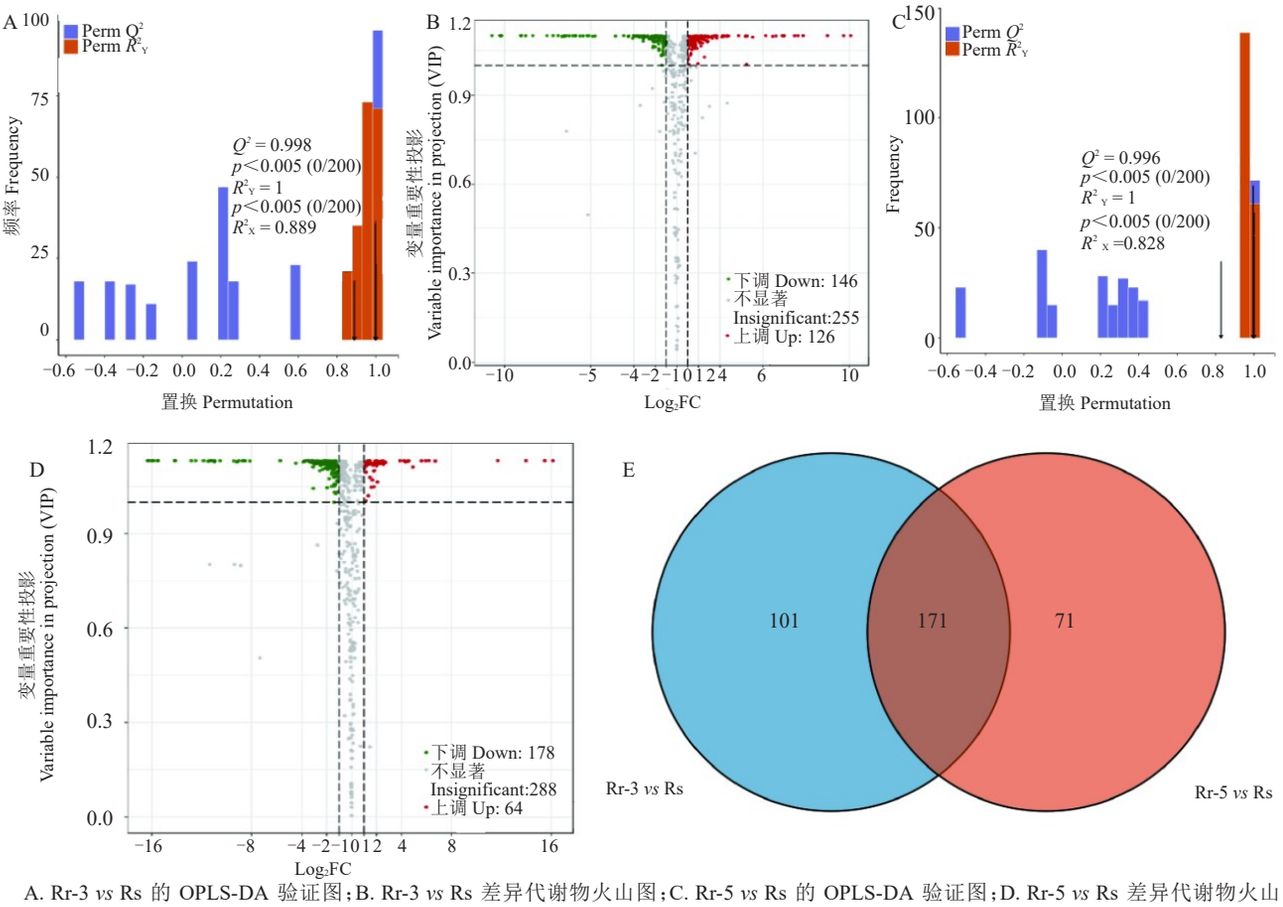


A. Rr 与 Rs 三种抗氧化能力；B. 三种抗氧化能力与 530 种次生代谢物相关性分析热图。*表示显著差异（$p<0.05$）；**表示极显著差异（$p<0.01$）；Rr 数据由 Rr-3 与 Rr-5 求和后取平均值。

A. Three antioxidant abilities of Rr and Rs; B. Heat map of correlation analysis between three antioxidant capacities and 530 secondary metabolites.* indicates significant difference ($p<0.05$); ** indicates extremely significant difference ($p<0.01$); The Rr data is averaged after the sum of Rr-3 and Rr-5.

图 2　刺梨与无籽刺梨抗氧化能力分析

Fig. 2　Analysis on antioxidant capacity of *R. roxburghii* and *R. sterilis*

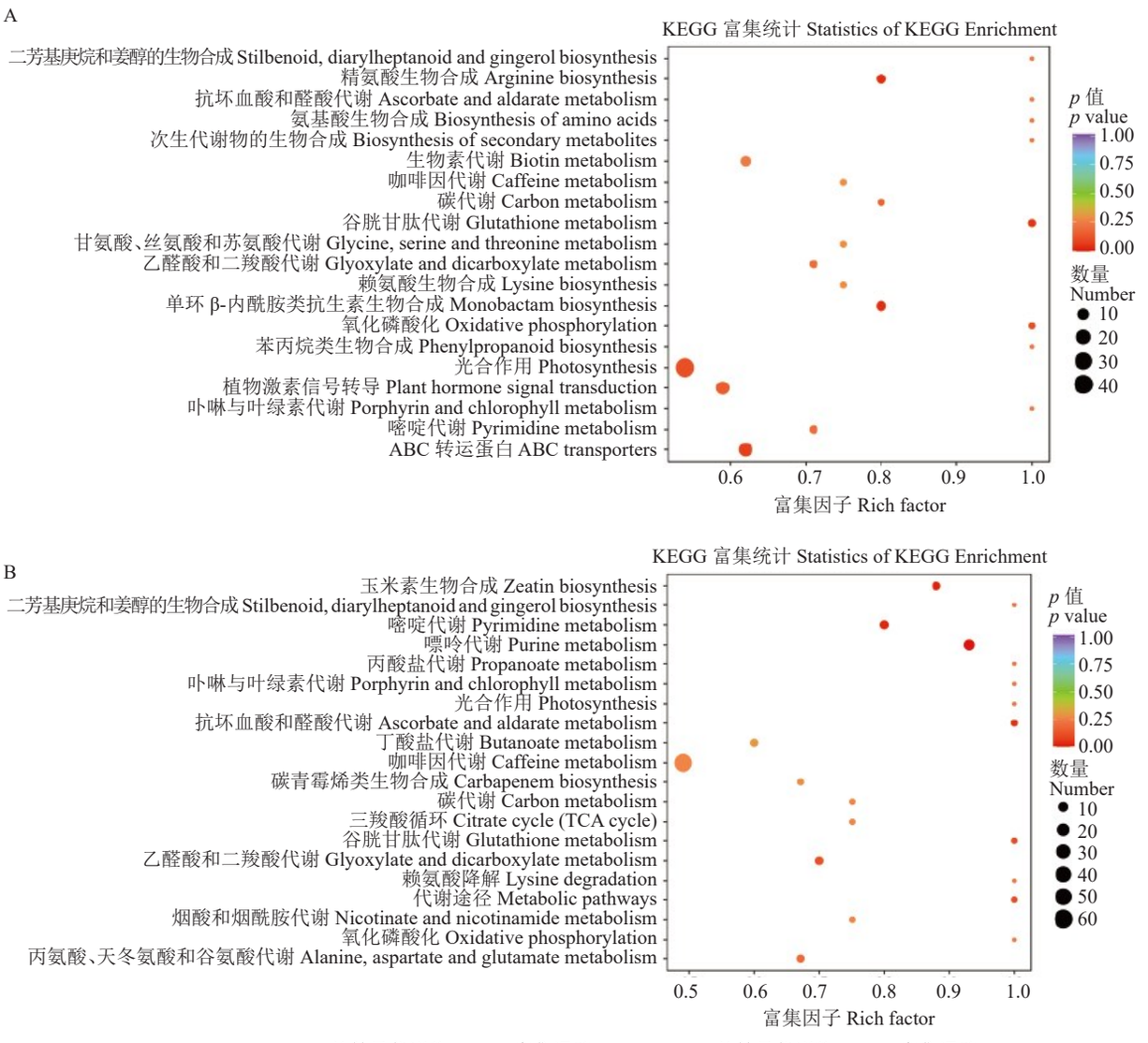


A. Rr-3 *vs* Rs 的 OPLS-DA 验证图；B. Rr-3 *vs* Rs 差异代谢物火山图；C. Rr-5 *vs* Rs 的 OPLS-DA 验证图；D. Rr-5 *vs* Rs 差异代谢物火山图；E. Rr-3 *vs* Rs 与 Rr-5 *vs* Rs 差异代谢物 venn 图。

A. OPLS-DA validation diagram of Rr-3 *vs* Rs; B. The volcano plot of differential metabolites between Rr-3 and Rs; C. OPLS-DA validation diagram of Rr-5 *vs* Rs; D. The volcano plot of differential metabolites between Rr-5 and Rs; E. Venn diagram of Rr-3 *vs* Rs and Rr-5 *vs* Rs differential metabolite.

图 3　两个刺梨基因型分别与无籽刺梨差异代谢物分析

Fig. 3　Analysis of differential metabolites in two *R. roxburghii* and *R. sterilis*



A. Rr-3 vs Rs 的差异代谢物 KEGG 富集通路；B. Rr-5 vs Rs 的差异代谢物 KEGG 富集通路。

A. KEGG enrichment map of the different metabolites in Rr-3 vs Rs; B. KEGG enrichment map of the different metabolites in Rr-5 vs Rs.

图 4 刺梨与无籽刺梨差异代谢通路分析

Fig. 4 Analysis on differential metabolic pathways of *R. roxburghii* and *R. sterilis*

3 讨 论

笔者首次鉴定并比较分析了两类果实的中药化学成分及抗氧化物质。前人研究主要集中在两类果实挥发性物质[20,23-25,34]、酚酸[7]、氨基酸[11-12]和黄酮[9]类代谢物中，但其中药化学成分及抗氧化物质尚不清楚。而刺梨与无籽刺梨在市场上常被混用，研究表明无籽刺梨与刺梨及不同刺梨基因型间的营养价值、药用价值及抗氧化能力存在显著差异[8,19,24]。因此，笔者基于广泛靶向代谢组学技术对刺梨及无籽刺梨果实的次生代谢物进行检测，鉴定并比较分析其中药化学成分及抗氧化物质差异。

在不同刺梨基因型代谢物研究中，检测到723种次生代谢物，鉴定出172种中药化学成分及41种抗氧化物质[7]。笔者在本研究中共检测到530种次生代谢物，31种物质仅在刺梨中检测到，4种仅在无籽刺梨中检测到；鉴定出118种中药化学成分（关键活性成分36种）及145种抗氧化物质，其中数量较多的均是鞣质与酚酸类代谢物，表明酚类物质在刺梨与无籽刺梨果实的中药活性及抗氧化能力中起重要作用。此外，笔者还发现91种中药化学成分对应347个靶点及359种疾病。进一步分析发现其中46种物质对6大疾病中的一种或多种疾病具抗性，而迷迭香酸对6种疾病均有抗性。由于其采样、送检时间的不同，迈维数据库有所更新，因此两次试验检测到的次生代谢物数量存在差异，而笔者检测到的

部分代谢物在上述研究中均未检测到，丰富了两类果实中次生代谢物的种类及数量。并深入挖掘了其中抗六大疾病的次生代谢物与中药化学成分及其靶点与疾病，首次鉴定了无籽刺梨果实的中药化学成分。

前人研究表明，刺梨果实中总酚、总黄酮及总三萜与抗氧化能力显著相关[35-36]，其中2种有机酸、5种鞣花酸及其衍生物、11种黄酮类化合物和1种三萜类化合物，是促进刺梨果实提取物抗氧化和酪氨酸酶抑制活性的主要化合物[25]。刺梨具较高抗氧化能力很大程度上归因于有机酸与酚类化合物，如没食子酸、儿茶素、表儿茶素和表没食子酸，由于羟基数量较多，它们可以作为良好的电子供体发挥自由基清除作用[26]。刺梨果实中主要的抗氧化物质的研究结果表明11种酚酸、9种黄酮及21种萜类物质与抗氧化能力显著相关[7]。上述研究表明酚酸类、类黄酮类及萜类物质是刺梨果实中主要的抗氧化物质。笔者在本研究中发现145种次生代谢物分别与至少一种抗氧化能力显著相关，其中鞣质类物质数量最多，其次是氨基酸及其衍生物与酚酸类物质。鞣质化学结构复杂，是具较高抗氧化能力的酚类物质，测定的总酚含量中包含鞣质[27]。此前的研究均表明刺梨总酚含量与抗氧化能力显著相关，与本研究结果一致。且笔者进一步挖掘出刺梨与无籽刺梨果实中主要的抗氧化物质。更重要的是，仅在刺梨果实中检测到的代谢物中有20种抗氧化物质{1-*O*-没食子酰-*α*-*L*-鼠李糖，异木犀草素，4-[3-羟基-2-[4-[(2s,3s)-3-(羟甲基)-5-(3-羟基丙基)-7-甲氧基-2,3-二氢-1-苯并呋喃-2-基]-2,6-二甲氧基苯氧基]丙基]-2-甲氧基苯酚，山奈酚-3-*O*-(6”-*O*-乙酰)-葡萄糖苷，Praecoxin D，2-*O*-二没食子酰基-*β*-*D*-葡萄糖-*β*-*D*-葡萄糖，Glansrin C，黄嘌呤，鞣花酸戊糖苷二聚体，吡哆醇 *O*-二己糖苷，1’-*O*-*β*-*D*-(3,4-二羟基苯乙基)-*O*-咖啡酰基-葡萄糖苷，3,5-二-*O*-没食子莽草酸，原花青素三聚单酯，二磷酸腺苷，(EC→EC→EC)g(1)，Tercatain，特里马素Ⅰ，水杨梅丁素，山奈酚-3,7-*O*-二鼠李糖苷，对香豆酰酒石酸}，7种中药化学成分(丁香油酚甲醚，黄嘌呤，苯甲酸，特里马素Ⅰ，Tercatain，Glansrin C，水杨梅丁素)及2种抗六大疾病物质(Tercatain，水杨梅丁素)。而仅在无籽刺梨中检测到的代谢物既没有中药化学成分也没有抗氧化物质。以上结果进一步说明刺梨具更高的药用价值及抗氧化能力。黄嘌呤、特里马素Ⅰ、Tercatain、Glansrin C、水杨梅丁素这5种物质是刺梨特有的抗氧化物质及中药化学成分，且Tercatain和水杨梅丁素也是抗六大疾病活性物质。因此，这5种物质在刺梨与无籽刺梨果实中药活性及抗氧化能力的差异中均起重要作用。

在两个刺梨基因型与无籽刺梨的差异代谢物分析中，Rr-3与Rs间有272种差异代谢物，Rr-5与Rs间有242种差异代谢物。上述差异代谢物映射到KEGG富集通路，富集程度较高的是嘌呤代谢、嘧啶代谢、玉米素生物合成、碳代谢、氨基酸生物合成。嘌呤可参与植物氮代谢、黄酮合成及激素合成过程，帮助植物应对不良环境[37]；嘌呤和嘧啶核苷酸参与植物的许多生化过程，包括发芽开花结实等，它们是核酸合成的基石，是合成初生代谢物以及次生代谢物的前体[38]；此外，植物嘌呤和嘧啶代谢的重要过程是初级代谢、次级代谢和基因表达所必需的，是细胞生长和生化过程的基础[39]。而映射到这两条通路中的差异代谢物均在刺梨中上调，因此，笔者认为嘌呤代谢及嘧啶代谢通路的差异是刺梨与无籽刺梨在种子上差异的原因之一，并推断刺梨比无籽刺梨具有更高的对逆境胁迫的耐受性。

差异代谢物中有171种是Rr-3、Rr-5与Rs共同差异的物质，其中，在两个刺梨基因型均上调的差异代谢物有111种，包括87种抗氧化物质(31种鞣质，15种核苷酸及其衍生物，12种酚酸，10种鞣质，7种黄酮，5种其他，2种脂质，2种萜类，2种有机酸，1种木脂素与香豆素)，31种中药化学物质，8种关键活性成分，23种物质既是抗氧化物质又是中药化学物质(丙二酸，胞嘧啶，组胺，延胡索酸，胸腺嘧啶，*L*-谷氨酸，黄嘌呤，吡哆素，没食子酸，没食子酸甲酯，芥子醇，尿嘧啶核苷，鸟苷，鞣花酸，双没食子酸，迷迭香酸，水杨梅丁素，英国栎鞣花酸，特里马素Ⅰ，Glansrin C，Pterocarinin A，Glansrin A，Platycaryanin A)；无籽刺梨中上调的有53种物质，包括10种中药化学成分，3种关键活性成分。综上，与无籽刺梨相比，刺梨具更高的中药活性及抗氧化能力，其差异主要源于两类果实中酚类物质数量与含量的不同。

4　结　论

笔者在本研究中首次对刺梨及无籽刺梨果实次生代谢物中的具中药活性与抗氧化能力的次生代谢

物进行鉴定与差异分析。结果表明，在两个刺梨基因型与无籽刺梨果实中共检测到530种次生代谢物，其中包括118种中药化学成分与145种抗氧化物质，酚类物质是刺梨及无籽刺梨果实中最主要的抗氧化物质与中药化学成分；刺梨不论是在特有物质中还是在差异代谢物中均具较多数量的抗氧化物质及中药化学成分，从而具更高的中药活性及抗氧化能力，而酚类物质的数量及含量是导致刺梨与无籽刺梨抗氧化能力及中药活性差异的主要原因。

参考文献 References：

[1] DEVAUX P G，HORNING M G，HORNING E C. Benzyloxime derivatives of steroids. A new metabolic profile procedure for human urinary steroids[J]. Analytical Letters，1971，4(3)：151-160.

[2] SUMNER L W，LEI Z，NIKOLAU B J，SAITO K. Modern plant metabolomics：advanced natural product gene discoveries，improved technologies，and future prospects[J]. Natural Product Reports，2015，32(2)：212-229.

[3] 张晓磊，张瑞英 . 代谢组学及其在农作物研究中的应用[J]. 生物技术通讯，2018，29(3)：446-450.
ZHANG Xiaolei，ZHANG Ruiying. Metabolomics and its application in the crop research[J]. Letters in Biotechnology，2018，29(3)：446-450.

[4] WANG D D，ZHANG L X，HUANG X R，WANG X，YANG R N，MAO J，WANG X F，WANG X P，ZHANG Q，LI P W. Identification of nutritional components in black sesame determined by widely targeted metabolomics and traditional Chinese medicines[J]. Molecules，2018，23(5)：1180.

[5] CHEN L M，WU Q C，HE T J，LAN J J，DING L，LIU T F，WU Q Q，PAN Y M，CHEN T T. Transcriptomic and metabolomic changes triggered by *Fusarium solani* in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Genes，2020，11(2)：177.

[6] CHU C，DU Y M，YU X T，SHI J，YUAN X L，LIU X M，LIU Y H，ZHANG H B，ZHANG Z F，YAN N. Dynamics of antioxidant activities，metabolites，phenolic acids，flavonoids，and phenolic biosynthetic genes in germinating Chinese wild rice (*Zizania latifolia*)[J]. Food Chemistry，2020，318：126483.

[7] JIANG L L，LU M，RAO T Z，LIU Z Y，WU X M，AN H M. Comparative analysis of fruit metabolome using widely targeted metabolomics reveals nutritional characteristics of different *Rosa roxburghii* genotypes[J]. Foods，2022，11(6)：850.

[8] HE J Y，ZHANG Y H，MA N，ZHANG X L，LIU M H，FU W M. Comparative analysis of multiple ingredients in *Rosa roxburghii* and *R. sterilis* fruits and their antioxidant activities[J]. Journal of Functional Foods，2016，27：29-41.

[9] ZHU J Z，ZHANG B，WANG B X，LI C，FU X，HUANG Q. *In-vitro* inhibitory effects of flavonoids in *Rosa roxburghii* and *R. sterilis* fruits on α-glucosidase：Effect of stomach digestion on flavonoids alone and in combination with acarbose[J]. Journal of Functional Foods，2019，54：13-21.

[10] 安华明，刘明，杨曼，樊卫国 . 刺梨有机酸组分及抗坏血酸含量分析[J]. 中国农业科学，2011，44(10)：2094-2100.
AN Huaming，LIU Ming，YANG Man，FAN Weiguo. Analysis of main organic acid compositions in *Rosa roxburghii* Tratt.[J]. Scientia Agricultura Sinica，2011，44(10)：2094-2100.

[11] 鲁敏，安华明，赵小红 . 无籽刺梨与刺梨果实中氨基酸分析[J]. 食品科学，2015，36(14)：118-121.
LU Min，AN Huaming，ZHAO Xiaohong. Analysis of amino acids in *Rosa sterilis* and *Rosa roxburghii* fruits[J]. Food Science，2015，36(14)：118-121.

[12] 林陶，李婕羚，付远洪，杨卫灵 . 无籽刺梨与野生刺梨果实的氨基酸含量及组成[J]. 山东化工，2017，46(18)：76-79.
LIN Tao，LI Jieling，FU Yuanhong，YANG Weiling. Determination of amino acids in *Rosa sterilis* and wild *Rosa roxburghii* by HPLC[J]. Shandong Chemical Industry，2017，46(18)：76-79.

[13] LI L L，LU M，AN H M. Expression profiles of the genes involved in *L*-ascorbic acid biosynthesis and recycling in *Rosa roxburghii* leaves of various ages[J]. Acta Physiologiae Plantarum，2017，39(2)：1-9.

[14] REN B，CHEN C，LI C，FU X，YOU L，LIU R H. Optimization of microwave-assisted extraction of sargassum thunbergii polysaccharides and its antioxidant and hypoglycemic activities[J]. Carbohydr Polym，2017，173：192-201.

[15] WU H Y，LI M M，YANG X R，WEI Q，SUN L Z Y，ZHAO J C，SHANG H M. Extraction optimization，physicochemical properties and antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from roxburgh rose (*Rosa roxburghii* Tratt.) leaves[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2020，165(PtA)：517-529.

[16] XU J W，VIDYARTHI S K，BAI W B，PAN Z L. Nutritional constituents，health benefits and processing of *Rosa Roxburghii*：A review[J]. Journal of Functional Foods，2019，60：103456.

[17] WU P H，HAN S C H，WU M H. Beneficial effects of hydroalcoholic extract from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit on hyperlipidemia in high-fat-fed rats[J]. Acta Cardiologica Sinica，2020，36(2)：148-159.

[18] 时京珍，陈秀芬，彭冬 . 两种刺梨对小鼠炎症等的比较研究[J]. 贵州医药，1996，22(5)：268-269.
SHI Jingzhen，CHEN Xiufen，PENG Dong. Comparative study on the effects of two kinds of *Rosa roxburghii* on inflammation in mice[J]. Guizhou Medicine，1996，22(5)：268-269.

[19] LI H，FANG W Y，WANG Z，CHEN Y. Physicochemical，biological properties，and flavour profile of *Rosa roxburghii* Tratt.，*Pyracantha fortuneana*，and *Rosa laevigata* Michx fruits：A comprehensive review[J]. Food Chemistry，2022，366：130509.

[20] 张丹，韦广鑫，王文，冯飞，曾凡坤 . 安顺普定刺梨与无籽刺梨营养成分及香气物质比较研究[J]. 食品工业科技，2016，37

(12)：149-154.
ZHANG Dan，WEI Guangxin，WANG Wen，FENG Fei，ZENG Fankun. Comparative research on basic ingredients and volatile aroma compounds of *Rosa roxburghii* Tratt. and *Rosa sterilis* S. D. Shi[J]. Science and Technology of Food Industry，2016，37(12)：149-154.

[21] HOU Z Q，YANG H Z，ZHAO Y，XU L，ZHAO L，WANG Y T，LIAO X J. Chemical characterization and comparison of two chestnut rose cultivars from different regions[J]. Food Chemistry，2020，323：126806.

[22] 张丹，韦广鑫，曾凡坤 . 贵州不同产地无籽刺梨的基本营养成分及香气物质比较[J]. 食品科学，2016，37(22)：166-172.
ZHANG Dan，WEI Guangxin，ZENG Fankun. Proximate nutritional composition and volatile aroma compounds of *Rosa sterilis* S. D. Shi fruits from different growing areas of Guizhou province[J]. Food Science，2016，37(22)：166-172.

[23] NIU Y W，WANG R L，XIAO Z B，SUN X X，WANG P P，ZHU J C，CAO X Y. Characterization of volatile compounds of *Rosa roxburghii* Tratt. by gas chromatography-olfactometry，quantitative measurements，odor activity value，and aroma intensity[J]. Molecules，2021，26(20)：6202.

[24] 吴洪娥，金平，周艳，朱立，周洪英 . 刺梨与无籽刺梨的果实特性及其主要营养成分差异[J]. 贵州农业科学，2014，42(8)：221-223.
WU Hong'e，JIN Ping，ZHOU Yan，ZHU Li，ZHOU Hongying. Characteristics and main nutrition components of *R. roxburghii* and *R. sterilis* fruits[J]. Guizhou Agricultural Science，2014，42(8)：221-223.

[25] ZENG F F，GE Z W，LIMWACHIRANON J，LI L，FENG S M，WANG Y S，LUO Z S. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Rosa roxburghii* fruit and identification of main bioactive phytochemicals by UPLC-Triple-TOF/MS[J]. International Journal of Food Science & Technology，2017，52(4)：897-905.

[26] HUANG D S，LI C，CHEN Q，XIE X，FU X，CHEN C，HUANG QI，HUANG Z B，DONG H. Identification of polyphenols from *Rosa roxburghii* Tratt. pomace and evaluation of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity[J]. Food Chemistry，2022，377：131922.

[27] 刘佳，黄思洋，陈钰沁，朱艳玲，赵明智，付娟姬，杨伶俐 . 大黄中总鞣质的提取方法研究[J]. 昆明学院学报，2021，43(6)：109-113.
LIU Jia，HUANG Siyang，CHEN Yuqin，ZHU Yanling，ZHAO Mingzhi，FU Juanji，YANG Lingli. Study on extraction process of total tannin in rhubarb[J]. Journal of Kunming University，2021，43(6)：109-113.

[28] CHEN W，GONG L，GUO Z L，WANG W S，ZHANG H G，LIU X Q，YU S B，XIONG L Z，LUO J. A novel integrated method for large-scale detection，identification，and quantification of widely targeted metabolites：Application in the study of rice metabolomics[J]. Molecular Plant，2013，6(6)：1769-1780.

[29] LI H Y，LV Q Y，LIU A. Comparative metabolomics study of Tartary [*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn] and common (*Fagopyrum esculentum* Moench) buckwheat seeds[J]. Food Chemistry，2022，371：131125.

[30] MOURE A，FRANCO D，SINEIRO J，DOMíNGUEZ H，JOSÉNÚÑEZ M，LEM J M. Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds[J]. Food Research International，2001，34(2/3)：103-109.

[31] MARTINEZ-VILLALUENGA C，PENAS E，CISKA E，PISKUL M K，KOZLOWSKA H，VIDAL-VALVERDE C，FRIAS J. Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds[J]. Food Chemistry，2010，120(3)：710-716.

[32] BENZIE I F F，STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"：The FRAP assay[J]. Analytical Biochemistry，1996，239(1)：70-76.

[33] FRAGA C G，CLOWERS B H，MOORE R J，ZINK E M. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry，XCMS，and chemometrics[J]. Analytical Chemistry，2010，82(10)：4165-4173.

[34] LIU M H，ZHANG Q，ZHANG Y H，LU X Y，FU W M，HE J Y. Chemical analysis of dietary constituents in *Rosa roxburghii* and *Rosa sterilis* fruits[J]. Molecules，2016，21(9)：1204.

[35] 周广志，鲁敏，安华明 . 刺梨果实发育过程中主要活性物质含量及其抗氧化性分析[J]. 食品科学，2018，39(22)：20-25.
ZHOU Guangzhi，LU Min，AN Huaming. Analysis of bioactive substance contents and antioxidant activities in *Rosa roxburghii* fruits during development[J]. Food Science，2018，39(22)：20-25.

[36] 周广志，鲁敏，安华明 . 刺梨及其近缘种质叶片主要活性物质含量及抗氧化性分析[J]. 核农学报，2019，33(8)：1658-1665.
ZHOU Guangzhi，LU Min，AN Huaming. Analysis of main active substances and antioxidant activities in leaves of *Rosa roxburghii* and the two related species[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences，2019，33(8)：1658-1665.

[37] WATANABE S，MATSUMOTO M，HAKOMORI Y，TAKAGI H，SHIMADA H，SAKAMOTO A. The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism[J]. Plant，Cell & Environment，2014，37(4)：1022-1036.

[38] STASOLLA C，KATAHIRA R，THORPE T A，ASHIHAR H. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants[J]. Journal of Plant Physiology，2003，160(11)：1271-1295.

[39] ZRENNER R，STITT M，SONNEWALD U，BOLDT R. Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants[J]. Annual Review of Plant Biology，2006，57：805-836.